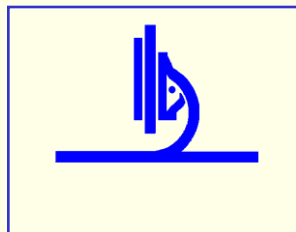


Il controllo delle malattie dei pesci nel bacino del Mediterraneo

*Francesco Agnetti, Mario Latini,
Enrico Di Raimo & Claudio Ghittino*



Centro di Riferimento Regionale per l'Ittiopatologia
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche
Sezione Diagnostica di Terni – c.ghittino@izsum.it



XV Convegno Nazionale SIPI

Workshop “Acquacoltura Mediterranea: aspetti normativi e sanitari a confronto”

Erice (TP), 24-10-2008

Contenuto della comunicazione

- **Stato dell'arte sui metodi di controllo delle malattie dei pesci (approccio medico-scientifico vs approccio legislativo)**
- **Normativa europea sui farmaci per acquacoltura**
- **Farmaci registrati e/o tollerati in Europa**
- **Recenti problematiche di controllo sanitario: cambiamento climatico e patologie dominanti**
- **Esigenze terapeutiche nei Paesi dell'area mediterranea**
- **Aggiornamento sui presidi immunizzanti**



Controllo delle malattie dei pesci

- **Metodi di cura (TERAPIA)**
- **Metodi di prevenzione (PROFILASSI – igienica e medica)**
- **Come concetto generale, “prevenire è meglio che curare”**
- **Tale concetto non sempre risulta però applicabile in piscicoltura!**

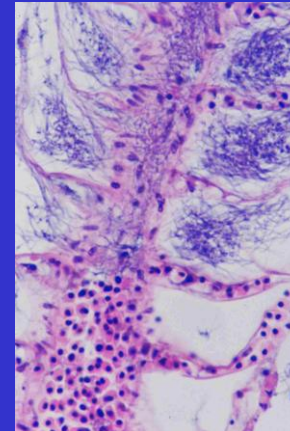


Impiego di farmaci in acquacoltura

Approccio medico-scientifico

1) Come **presidi profilattici** (profilassi igienica):
trattamenti periodici mirati a prevenire una determinata malattia

- Applicazione di **bagni medicati** settimanali, a base di disinfettanti (es. ammoni quaternari, cloramina, sale)
- Efficaci nel novellame per prevenire l'insorgenza di alcune patologie esterne condizionate (es. Malattia Branchiale, erosione della cute e delle pinne)



Impiego di farmaci in acquacoltura

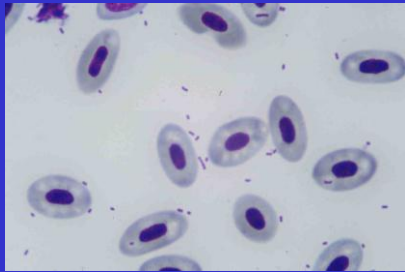
Approccio medico-scientifico

2) Come **presidi terapeutici**:

trattamenti mirati a curare una determinata malattia

- Somministrazione di **mangimi medicati** a base di:

- antibiotici (efficaci contro le setticemie batteriche)
- antiparassitari efficaci contro protozoi e vermi interni o crostacei esterni (es. emamectina, teflubenzuron)



- Applicazione di **bagni medicati** giornalieri, a base di:

- antimicrobici (es. ammoni quaternari, clorammina, permanganato di potassio, acqua ossigenata + acido peracetico)
- antimicotici (es. bronopol)
- antialgali (es. solfato di rame)
- antiparassitari (es. formalina, azamethiphos, cipermetrina)



Impiego di farmaci in acquacoltura

Approccio legislativo

Normativa europea sui farmaci per animali in produzione zootecnica (inclusi i pesci)

Principali aspetti presi in esame dal legislatore europeo:

- **Sicurezza alimentare:** sono stati stabiliti **Limiti Massimi Residuali (LMR o MRL)** dei farmaci nell'alimento (per la tutela del consumatore)
- **Tutela ambientale:** produzione zootecnica eco-compatibile



Normativa europea sui farmaci:

Regolamento CEE 2377/90

Contempla 4 categorie di composti, ripartiti in altrettanti allegati:

- **Allegato I:** farmaci con LMR definitivi
- **Allegato II:** farmaci che non necessitano di LMR
- **Allegato III:** farmaci con LMR temporanei
- **Allegato IV:** farmaci a cui non possono essere assegnati LMR (quindi vietati)



Regolamento CEE 2377/90 e successive modifiche

- Farmaci degli allegati I e III ammessi in acquacoltura (da EMEA – European Medicines Agency)

Antibiotici	Allegato	Specie	Tessuto	LMR
Ampicillina	I	SPA (*)	muscolo	50µg/kg
Amoxicillina	I	SPA	muscolo	50µg/kg
Flumechina	I	pesce	muscolo + pelle	600µg/kg
Acido oxolinico	I	pesce	muscolo + pelle	100µg/kg
Sarafloxacin	I	salmonidi	muscolo + pelle	30µg/kg
Enrofloxacin	I	SPA	muscolo	100µg/kg
Sulfamidici (tutti)	I	SPA	muscolo	100µg/kg
Trimetoprim	I	SPA	muscolo	50µg/kg
Ossitetraciclina	I	SPA	muscolo	100µg/kg
Clortetraciclina	I	SPA	muscolo	100µg/kg
Tetraciclina	I	SPA	muscolo	100µg/kg
Tiamfenicolo	I	pesce	muscolo + pelle	50µg/kg
Florfenicolo	I	pesce	muscolo + pelle	1000µg/kg
Eritromicina	I	SPA	muscolo	200µg/kg
Antiparassitari (contro i crostacei)				
Cipermetrina	I	salmonidi	muscolo + pelle	50µg/kg
Deltametrina	I	pesce	muscolo + pelle	10µg/kg
Emamectina	I	salmonidi	muscolo + pelle	100µg/kg
Diflubenzuron	I	salmonidi	muscolo + pelle	1000µg/kg
Teflubenzuron	I	salmonidi	muscolo + pelle	500µg/kg

(*) tutte le Specie per Produzione Alimentare



Regolamento CEE 2377/90 e successive modifiche

- Farmaci dell'allegato II ammessi in acquacoltura

Antimicrobici, antifungini e antiparassitari	Allegato	Specie
Sale (sodio cloruro)	II	SPA (*)
Ammoni quaternari (benzalconio cloruro)	II	SPA
Cloramina T (tosilclorammido sodico)	II	pesce
Acqua ossigenata (perossido d'idrogeno)	II	SPA
Acido peracetico	II	SPA
Solfato di rame	II	SPA
Bronopol	II	pesce
Azamethiphos	II	salmonidi
Iodofori	II	pesce
MS222 (tricaina metansolfonato)	II	pesce

(*) tutte le Specie per Produzione Alimentare

NB: la legislazione europea considera la **formalina** un **presidio sanitario** e non un farmaco, quindi non la include nell'allegato II. Può essere usata, ad es., per la disinfezione delle vasche vuote.



Regolamento CEE 2377/90 e successive modifiche

- **Farmaci dell'allegato IV di cui non è ammesso l'impiego in acquacoltura**

Cloramfenicolo: precedentemente ammesso in alcuni Paesi (es. Francia), ora vietato per i possibili effetti collaterali nell'uomo (anemia aplastica, incidenza 1 soggetto su 25.000-40.000)

Nitrofurani (Furazolidone, Furaltadone): precedentemente ammessi in diversi Paesi (es. in Italia, Francia), ora vietati in quanto potenzialmente cancerogeni

PS: anche se non incluso nell'Allegato IV, il *Verde Malachite*, precedentemente ammesso in molti Paesi, è ora vietato in quanto potenzialmente mutagene



Registrazione dei farmaci per pesci nei Paesi della UE

- Se ammessi dal regolamento europeo, i farmaci devono poi essere registrati per i pesci nei vari Stati membri (o deve esserne autorizzata l'importazione da uno Stato membro nel quale siano già stati registrati)

PROBLEMA!

Tali registrazioni richiedono pratiche dispendiose in termini di tempo e denaro, il business è limitato, per cui le ditte farmaceutiche risultano poco interessate nella licenza.

- i farmaci registrati per pesci possono essere impiegati dietro ricetta veterinaria “ordinaria” (in triplice copia non ripetibile)
- i farmaci registrati per altre specie animali per produzione alimentare possono essere utilizzati per pesci solo dietro ricetta veterinaria in deroga (cosiddetto “sistema a cascata”)



Antibiotici registrati per pesci nei Paesi della UE

In Europa possono essere registrate esclusivamente premiscele, addizionabili ai mangimi durante la produzione (mangimi medicati).

Gli antibiotici, quindi, possono essere somministrati ai pesci solo per bocca.

E' vietata la somministrazione per iniezione o tramite bagno medicato (problemi nel caso di anoressia dei pesci!)

- Per gli antibiotici registrati per pesci si applica un tempo di sospensione variabile a secondo della molecola (esempio: flumechina 5 giorni)
- Per gli antibiotici registrati per altre specie animali per produzione alimentare si applica indistintamente un tempo di sospensione di 500 gradi giorno (es.: eritromicina)



Premiscele registrate per uso orale nei pesci nei principali Paesi mediterranei UE ed in Israele

<u>Classi:</u> Principi attivi	E	F	I	GR	IL
<u>Penicilline:</u> Amoxicillina	c	c	r		
<u>Chinoloni:</u> Acido oxolinico Flumechina	i r	r r	r	r r	
<u>Sulfamidici potenziati:</u> Sulfadiazina + Trimetoprim	c	r	r	r	r
<u>Tetraciclina:</u> Ossitetraciclina	i	r	r	r	r
<u>Fenicoli:</u> Florfenicolo	i	c	c		r
<u>Macrolidi:</u> Eritromicina	c	c	c		c

r = registrato

i = autorizzazione eccezionale all'importazione

c = uso eccezionale (sistema a cascata), solo dietro prescrizione veterinaria in deroga



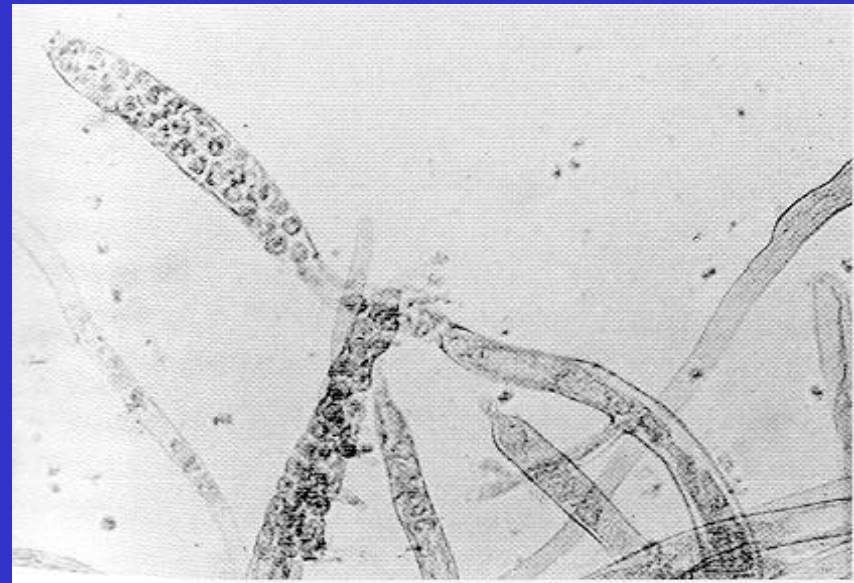
Antiparassitari registrati per uso orale e per bagno, per il trattamento dei “pidocchi marini” del salmone (crostacei caligidi)

- **Nel Regno Unito sono registrati per il salmone i seguenti prodotti:**
 - **Per uso orale:** emamectina (analogo dell'ivermectina) e tiflobenzuron (inibitore della chitina)
 - **Per bagno:** acqua ossigenata, azamethiphos (organo-fosforato), cipermetrina (piretroide)
 - Possibilità di ricorrere al sistema a cascata per le altre specie ittiche d'allevamento
- **Mancanza di registrazione negli altri Paesi della UE: in Grecia è stata tentata, senza successo, la registrazione della deltametrina contro le infestazioni da *Ceratothoa oestroides* (isopode marino)**



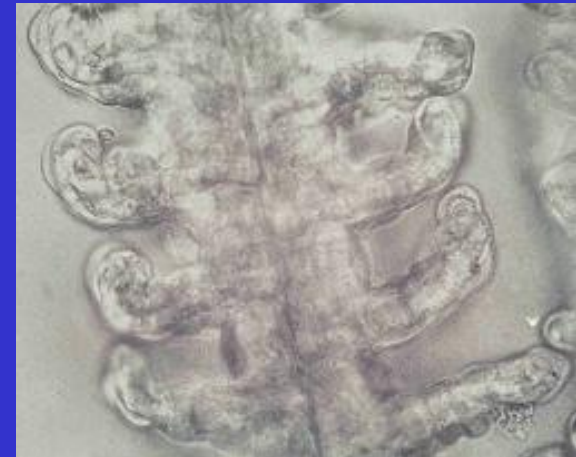
Antifungini registrati per il trattamento della Saprolegniosi (bagno)

- In diversi Paesi europei, Francia e Italia incluse, è stato recentemente registrato il bronopol come antifungino per i pesci
- Dose d'impiego:
 - uova embrionate 50ppm/30min.
 - pesci 20ppm/30min.
- Efficacia in discussione



Antimicrobici e antiparassitari registrati per la disinfezione dei pesci (bagno)

- Grave carenza normativa nella UE: mancanza di registrazioni. In quasi tutti i Paesi, fra cui Spagna, Italia e Grecia, l'uso di **cloramina T**, **solfato di rame** e **formalina** non è consentito ufficialmente, ma è ufficiosamente “tollerato”
- In Francia **acqua ossigenata**, **cloramina T** e **formalina** sono ammesse per la disinfezione dei pesci. Il verde malachite è stato ammesso fino al 2002 per il solo impiego nel novellame (pesci inf. 5 g), ora è vietato
- Nel Regno Unito l'**acqua ossigenata** (registrata contro il pidocchio del salmone) può essere usata con il sistema a cascata per il trattamento delle malattie batteriche esterne
- In Israele la **formalina** è registrata. Il **solfato di rame** e l'**acqua ossigenata** sono ammessi come “orphan drugs”. Per il trattamento delle infestazioni da crostacei (es. lerneosi, argulosi) è ammesso il **bromex** (dibromo dicloroetil dimetil fosfato)



Considerazioni generali sui farmaci

Per antibiotici ed antiparassitari, il legislatore europeo e le ditte farmaceutiche hanno preso in considerazione maggiormente le esigenze dei Paesi nordici e centro-europei, rispetto a quelle dei Paesi mediterranei

Ciò, probabilmente, per l'entità della produzione d'acquacoltura, fino a pochi anni or sono più sviluppata nell'Europa centro-settentrionale

Nell'ultimo decennio anche l'acquacoltura mediterranea ha visto un notevole incremento, non supportato però da un'adeguata registrazione di farmaci



In Spagna, Italia, Grecia, Turchia, Israele dominano le *patologie d'acqua calda*, esasperate dal recente riscaldamento climatico (global warming)

Trote: Flavobatteriosi, Lattococcosi, Streptococcosi
Malattia Proliferativa Renale, Ittioftiriasi

Orate e spigole: ERV, Vibriosi, Fotobatteriosi,
Streptococcosi, Micobatteriosi, Enteromixidiosi,
Oodiniasi, Criptocarioniasi, Infestazioni da monogenei,
Caligidosi, Isopodosi



I farmaci attualmente registrati spesso si rivelano inefficaci nel controllo di queste patologie.

Emerge pertanto l'esigenza di registrare per pesci ulteriori molecole rispetto alle attuali, in modo particolare antibiotici (eritromicina, florfenicolo), disinfettanti ed antiparassitari



Antibiotici per pesci registrati in Italia

- *Amoxicillina:* dose 40-80 mg/Kg p.v.die/3-5 gg
tempo di sospensione 150 gradi giorno
(premiscela in commercio fisicamente non adeguata ai mangimi per pesci)
- *Flumechina:* dose 12 mg/Kg p.v.die/5 gg
tempo di sospensione 5 gg
- *Sulfadiazina+Trimetoprim:* dose 24+4,8 mg/Kg p.v.die/3-5 gg
tempo di sospensione 500 gradi giorno
- *Ossitetraciclina:* dose 75 mg/Kg p.v.die/7-14 gg
tempo di sospensione 30 gg

Questi antibiotici sono efficaci nei confronti delle principali infezioni da Gram - ma inefficaci nei confronti dei Gram +



La **lattococcosi** (infezione da *Lactococcus garvieae*) nelle trote è la patologia più temuta in Spagna e Italia, in quanto colpisce soprattutto pesci di grossa taglia



L'antibiotico di elezione, **l'eritromicina (50mg/kg p.v. die/10gg)**, può essere somministrato solo dietro ricetta veterinaria in deroga (sistema di prescrizione non incentivato dai Servizi Veterinari, visti anche i lunghi tempi di sospensione che devono essere applicati: 500 gradi giorno)

Ne sono derivate pesanti mortalità, che hanno contribuito al calo del 30% della produzione nazionale di trote sia in Spagna che in Italia



La **flavobatteriosi viscerale** (infezione da *Flavobacterium psychrophilum*) è la patologia dominante nelle avannotterie di salmonidi



In Italia, non essendo disponibili in commercio mangimi medicati a base di amoxicillina, la malattia viene attualmente contrastata con la somministrazione di **florfenicolo** (6,6mg/kg p.v. die/8gg), previa ricetta veterinaria in deroga (**problemi di fotosensibilizzazione** del novellame con i dosaggi indicati di 10mg/kg p.v.!).



Globalizzazione dei mercati d'acquacoltura

Problema della competitività della produzione europea nel contesto mondiale

Necessità di una normativa sui farmaci meno farraginoso:

- ottimizzazione della tempistica per la registrazione
- maggior flessibilità d'impiego del sistema a cascata

⇒ prendendo spunto anche dalla **normativa americana**



Normativa americana sui farmaci per pesci da consumo

Negli USA possono essere percorse tre vie
per i trattamenti farmacologici:

1) Impiego di farmaci registrati per pesci dalla FDA (Food and Drug Administration), che includono:

- PER BAGNO

- Ossitetraciclina
- Formalina (in uso sia come fungicida che come parassitocida)
- Acqua ossigenata
- Come anestetico è ammessa la tricaina metansolfonato (MS222)

- PER OS (Mangime medicato)

- Ossitetraciclina
- Sulfadimetossina + Ormetoprim
- Florfenicolo

Inoltre vi è una lista di prodotti non registrati (farmaci a bassa priorità di controllo), per i quali l'agenzia di controllo non applica le leggi che ne proibirebbero l'uso (es. cloruro di sodio, iodofori)



Normativa americana sui farmaci per pesci da consumo

2) Impiego di farmaci non registrati per pesci attraverso il processo di esenzione dell'INAD (Investigational New Animal Drug):

questo programma raccoglie dati per l'eventuale registrazione di nuovi farmaci, fra cui amoxicillina ed eritromicina per uso orale, cloramina T, benzalconio cloruro, solfato di rame e permanganato di potassio per bagno

3) Impiego di farmaci registrati per altre specie animali da consumo, tramite ricetta veterinaria in deroga (extralabel prescriptive use): tali farmaci vengono però fatti aderire a pillole non nutritive, in quanto non possono essere addizionati nel mangime. Possono essere somministrati anche per bagno e per immersione.



Normativa americana sui farmaci per pesci da consumo

La produzione d'acquacoltura negli USA è nettamente inferiore a quella europea ma dispone di una normativa più completa e snella, che potrebbe essere presa come esempio nella UE



Riepilogo sui farmaci per pesci

Attuale disponibilità di farmaci per acquacoltura nella UE:

Antibiotici:

- buona per i Paesi Nordici e del centro Europa
- insufficiente per i Paesi Mediterranei, viste le tipologie di patologie batteriche presenti nella trota e nei pesci di mare

Disinfettanti:

- insufficiente in tutta la UE e fattore limitante nel novellame (prevenzione e terapia delle malattie batteriche esterne e delle ectoparassitosi da protozoi e monogenei). I disinfettanti non danno residui nei pesci trattati, ma possono causare impatto ambientale e per questo sono osteggiati dalla legislatura europea

Antiparassitari per la cura delle crostaceosi:

- buona per la maricoltura nordica
- insufficiente per la maricoltura mediterranea, viste le tipologie di malattie dominanti (caligidosi e isopodosi)



Profilassi medica

Impiego di immunostimolanti in acquacoltura

La stimolazione del sistema immunitario dei pesci può essere ottenuta con:

- **immunomodulatori** (es. alimentazione con mangimi contenenti β -glucani) \longrightarrow **IMMUNITA' INNATA**
- **vaccinazione** \longrightarrow **IMMUNITA' ACQUISITA**



Metodi di vaccinazione nei pesci

- Per immersione
 - Adatta per il novellame fino a 5-10g, usata come prima vaccinazione
 - Efficacia intermedia/poco laboriosa
- Per iniezione endoperitoneale previa anestesia
 - Adatta per pesci oltre 50g, usata come prima vaccinazione o come richiamo
 - Efficacia elevata/molto laboriosa
- Per bocca
 - Adatta per tutte le taglie di pesci, usata come booster
 - Bassa efficacia/per niente laboriosa



Tipologie di vaccini disponibili

- **Vaccini antivirali e antiparassitari:** sono da tempo in fase di studio/sperimentazione, ma non sono disponibili in commercio. In Israele è attualmente autorizzato un vaccino attenuato contro la KHV (pesci portatori! Problema per l'esportazione delle carpe koi)
- **Vaccini antibatterici** - 2 tipologie:
 - **Bacterin:** somministrabili per immersione, iniezione e per bocca (microincapsulazione)
 - **Vaccini adiuvati:** somministrabili solo per iniezione (conferiscono un'immunità più duratura rispetto ai bacterin)
 - Per entrambe, formulazioni generalmente monovalenti, a volte bivalenti



Vaccini registrati per pesci nei Paesi dell'area mediterranea

Agenti patogeni (specie ittiche)	E	I	GR	IL
Piscicoltura dulciacquicola				
<i>Aeromonas salmonicida</i> (trota fario)	C			
<i>Yersinia ruckeri</i> (trota iridea)	C	C		
<i>Vibrio anguillarum</i> (trota iridea)	C	C		
<i>Lactococcus garvieae</i> (trota iridea)	C	A		C
<i>Streptococcus iniae</i> (trota iridea)				C
Maricoltura				
<i>Tenacibaculum maritimum</i> (rombo)	C			
<i>Aeromonas salmonicida</i> (rombo)	A			
<i>Vibrio anguillarum</i> (spigola, orata, rombo)	C	C	C	
<i>Photobacterium damsela</i> ssp. <i>piscicida</i> (spigola, orata)	C		C	
<i>Streptococcus parauberis</i> (rombo)	C			

C: vaccini commerciali
A: autovaccini



Principali vaccini commercializzati

- In **troscultura** i bacterin contro **yersiniosi** e **vibriosi** (sia mono che bivalenti) ed in **maricoltura** i bacterin contro la **vibriosi**, se somministrati per immersione, sono estremamente efficaci, conferendo un'immunità della durata di circa un anno. Dibattuta è l'efficacia della vaccinazione orale.
- In **maricoltura** scarsa è l'efficacia del vaccino per immersione contro la **fotobatteriosi** (ex pasteurellosi).



Principali vaccini commercializzati

- I vaccini adiuvati contro **lattococcosi** e **streptococcosi** delle trote (soprattutto autovaccini), quando somministrati per iniezione previa anestesia, conferiscono un'immunità della durata di circa 6-8 mesi (rispetto ai 3 mesi dei bacterin corrispondenti, somministrati sempre per iniezione)
- L'anestetico autorizzato nei Paesi europei è generalmente la tricaina (MS222)



Riepilogo sui vaccini per pesci

- La disponibilità di prodotti registrati è modesta ed insufficiente a coprire le esigenze della piscicoltura mediterranea
- Occorre potenziare la ricerca e la sperimentazione per la messa a punto di nuovi vaccini e rendere meno complicato l'iter di registrazione/importazione dei presidi immunizzanti

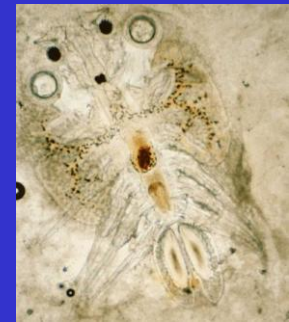
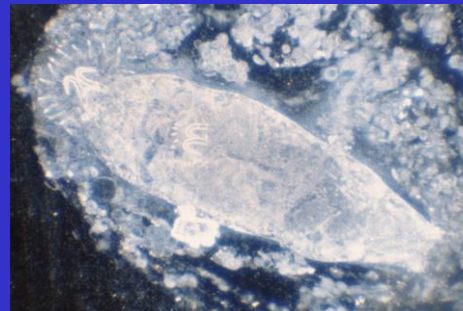
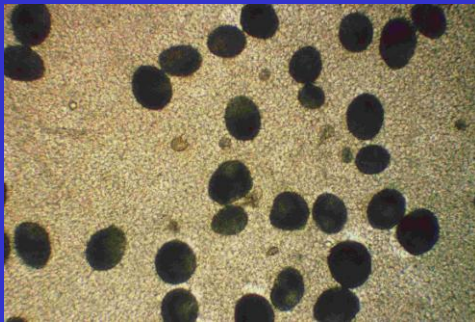


CONCLUSIONI

Provvedimenti urgenti per il futuro prossimo:

- registrazione prioritaria di **vaccini** e **antibiotici** per la prevenzione/cura delle infezioni da germi Gram positivi (vaccini adiuvati contro lattococcosi e streptococcosi; eritromicina e florfenicolo)

- registrazione di **disinfettanti** e **antiparassitari** per la prevenzione/cura delle infezioni batteriche esterne e delle ectoparassitosi (solfato di rame, formalina, organo-fosforati di nuova generazione)



In caso contrario, si verificherà un decremento delle produzioni ittiche in Europa meridionale, con sbilanciamento delle produzioni tra nord e sud dell'Unione e gravi ripercussioni economiche.



Grazie per l'attenzione!

Cascata delle Marmore, Terni