XV Convegno Nazionale della Società Italiana di Patologia Ittica

S.I.P.I.

22-24 ottobre 2008

Erice (TP)

Atti del Convegno

ATTI DEL
XV CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I.

Società Italiana di Patologia Ittica

22-24 ottobre 2008

Erice (TP)

Con il patrocinio di:

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SICILIA

C I T T A' D I E R I C E

FACOLTA' DI MEDICINA VETERINARIA DI MESSINA

Sponsor del XV Convegno S.I.P.I.

BCC CREDITO COOPERATIVO "G.TONIOLO" DI SAN CATALDO

IZS DELLA SICILIA

C I T T A' D I E R I C E

ASSOCIAZIONE PISCICOLTORI ITALIANI

PROVINCIA DI TRAPANI

Sponsor del XV Convegno S.I.P.I.

SKRETTING

ALLER AQUA

Schering-Plough Animal Health

LA SALUTE ANIMALE PER LA SALUTE DELL'UOMO
FATRO

AGCI AGRITAL
ASSOCIAZIONE GENERALE COOPERATIVE ITALIANE
Settore Agro Ittico Alimentare

AcquaVet
CONSULENZA VETERINARIA PER IL MONDO ACQUATICO
www.acquavet.com

BioMar Group

CONFCOOPERATIVE
Trapani

Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Trapani

VERONESI

Valle Zuliani
Soc. Agricola S.R.L.

ericina

Illica Capo San Vito

PROGRAMMA

XV CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I.
Società Italiana di Patologia Ittica

22-24 ottobre 2008
Erice (TP)
Sala Convegni ex Convitto Sales

MERCOLEDÌ 22 OTTOBRE 2008
SESSIONE MATTUTINA

ORE 08.30-09.30 REGISTRAZIONE DEI PARTECIPANTI ED ISCRIZIONE AL CONVEGNO

ORE 09.30-10.00 **DEGUSTAZIONE DI BENVENUTO**

ORE 10.00-10.30 APERTURA DEI LAVORI
SALUTI DELLE AUTORITÀ
Saluto del Presidente della S.I.P.I.

Ore 10.30-11.45 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - I SESSIONE**
Moderatore Dott.ssa Teresa BOSSÙ
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma

Ore 10.30-10.45 Latini M., Bovo G.
I nuovi paesi dell'Unione Europea e l'approccio al miglioramento dei controlli veterinari per le malattie notificabili dei pesci. L'esperienza della Polonia

Ore 10.45-11.00 Manfrin A., Fasolato L., Bovo G.
Monitoraggio sanitario delle aziende ittiche nella regione Veneto: risultati e problematiche ad esso correlate

Ore 11.00-11.15 Ciulli S., Grodzki M., Galletti E., Rosica I., Crivella F., Prosperi S.
Infezione da *Betanodavirus* in triglia di fango (*Mullus barbatus* L. 1758)

Ore 11.15-11.30 Gobbo F., Vascellari M., Rampazzo E., Cappellozza E., Manfrin A., Rosteghin M., Bovo G.
Identificazione di Koi Herpesvirus (KHV) in carpe koi (*Cyprinus carpio* var. koi) importate da Singapore

Ore 11.30-11.45 Agnetti F., Salamida S., Sola D., Rogato F., Brachelente C., Latini M., Ghittino C.
Osservazioni su un caso di epiteliocisti in orate (*Sparus aurata*) d'allevamento

Ore 11.45-12.15 **COFFEE BREAK**

Ore 12.15-13.45 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - II SESSIONE**
Moderatore Francesco CASTIGLIONE
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo

Ore 12.15-12.30 Bossù T., Amiti S., Del Bove M., Cardeti G.
Principali isolamenti batterici in allevamento di sogliola (*Solea solea*)

Ore 12.30-12.45 Prearo M., Colussi S., Corvonato R., Serracca L., Giorgi I., Zuccon F., Acutis P.L.
Saggi di PCR per l'identificazione e lo screening di isolati ittici appartenenti al genere *Vibrio*

Ore 12.45-13.00 Greco G., Tarsitano E., Moscato M., Centoducati G., D'Abramo M., Latronico F., Greco M.F., Blasi M., Caggiano M., Buonavoglia D.
Attività antibatterica dell'olio essenziale estratto da *Ocinum basilicum* in spigole di allevamento con infezione da *Vibrio alginolyticus*

Ore 13.00-13.15 Sarti M., Cervellione F., Giusto C., Manzano M., Pecchini A., Luzzana U.
Modulazione della microflora intestinale come strategia di controllo nei confronti della *Rainbow Trout Gastro Enteric syndrome* (RTGE)

Ore 13.15-13.30 Paolini A., Ridolfi V., Cocchietto M., Spina M., Orsini G., Zezza D., Giorgetti G.
Prova di vaccinazione in allevamento contro la Bocca Rossa della trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) utilizzando un ceppo stabulogeno in formulazione orale microincapsulata

Ore 13.30-13.45 Mancuso M., Zaccone R., Costanzo M.T.
Risposta immunitaria di *Seriola dumerilii* (Risso 1810) all'infezione sperimentale con *Listonella* (*Vibrio*) *anguillarum*

Ore 13.45-15.00 **Pausa Pranzo**

SESSIONE POMERIDIANA

Ore 15.00-16.30 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - III SESSIONE**
Moderatore Dott. Amedeo MANFRIN
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD)

Ore 15.00-15.15 Bulfon C., Volpatti D., Contessi B., Galeotti M.
Immunizzazione di stadi giovanili di branzino (*Dicentrarchus labrax*) con un vaccino commerciale contro la vibriosi: monitoraggio della risposta immunitaria mediante E.L.I.S.A. e chemiluminescenza

Ore 15.15-15.30 Fioravanti M.L., Florio D., Caffara M., Konecny R., Prearo M., Quaglio F., Kikinger R.
Episodio di mortalità in pesci delle isole Maldive

Ore 15.30-15.45 Giorgi I., Ercolini C., Pezzolato M., Varello K., Gallo F., Bozzetta E., Pavoletti E., Prearo M.
Presenza di micobatteri atipici in una popolazione di cefali del Mar Ligure orientale

Ore 15.45-16.00 Salogni C., Cervellione F., Zanoni M., Gelmetti D., Alborali G.L.
Descrizione di un focolaio di micobatteriosi da *Mycobacterium marinum* in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) caratterizzato da elevata mortalità

Ore 16.00-16.15 Salogni C., Zanoni M., Tagliabue S., Pacciarini M.L., Giovannini S., Alborali G.L.
Isolamento di *Mycobacterium marinum* da lesioni granulomatose in carpe (*Cyprinus carpio*) da ripopolamento

Ore 16.15-16.30 Florio D., Fioravanti M.L., Gustinelli A., Turci F., Konecny R., Nikowitz T., Wathuta E.M., Magana A., Opachi E.O., Matolla G.K., Warugu H.W., Liti D., Mbaluka R., Thiga B., Waidbacher H.
Aspetti veterinari e di sanità pubblica nell'allevamento della tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Kenya

Ore 16.30-17.00 **COFFEE BREAK**

Ore 17.00-18.30 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - IV SESSIONE**
Moderatore Dott. Cristian SALOGNI
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia

Ore 17.00-17.15 Narcisi V., Cargini D., Mosca F., Calzetta A., Traversa D., Tiscar P.G.
Presenza di *Bonamia ostreae* e *Bonamia exitiosa* in ostriche piatte (*Ostrea edulis*) provenienti dal Golfo di Manfredonia, Mare Adriatico

Ore 17.15-17.30 Paladini G., Florio D., Caffara M., Gustinelli A., Quaglio F., Fioravanti M.L.
Descrizione di *Loma acerinae* (Microsporidia) in Gobidi pescati nel Mar Adriatico

Ore 17.30-17.45 Caffara M., Marcucci C., Di Veroli A., Fabrizi A., Goretti E.
Presenza di stadi actinosporei di parassiti Myxozoa in popolazioni di oligocheti del fiume Nera (Umbria)

Ore 17.45-18.00 Beraldo P., Volpatti D., Bulfon C., Picco R., Galeotti M.
Tipizzazione dell'infiltrato cellulare nelle enteriti da *Enteromyxum leei* in sarago pizzuto (*Diplodus puntazzo*)

Ore 18.00-18.15 Merella P., Cherchi S., Quaglio F., Fioravanti M.L., Gustinelli A., Garippa G., Salati F.
Episodio di mortalità da *Sciaenocotyle panceri* (Monogenea: Microcotylidae) in ombrina boccadoro *Argyrosomus regius* allevata in Sardegna

Ore 18.15-18.30 Cusimano M., Macrì D., Gustinelli A., Randazzo V., Fioravanti M.L., Ferrantelli V., Castiglione F.
Presenza di *Gastrolecithus planas* (Cestoda: Phyllobothriidae) in *Cetorhinus maximus* (Condroichthyes: Squalidae) dei mari italiani

Ore 18.30-20.00 **Assemblea dei Soci**

GIOVEDÌ 23 OTTOBRE 2008
SESSIONE MATTUTINA

Ore 08.30-10.00 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - V SESSIONE**
Moderatore Prof. Francesco QUAGLIO
Facoltà di Medicina Veterinaria, Legnaro (PD)

Ore 08.30-08.45 Gaglio G., Marino F., Prudente C., Busalacchi B., Moravec F., Giannetto S.
***Philometra filiformis* (Nematoda, Philometridae) in pagello fragolino (*Pagellus erythrinus*) nel Tirreno meridionale**

Ore 08.45-09.00 Castiglione F., Cusimano M., Fioravanti M.L., Gustinelli A., Chetta M., Palombo P., Vicari D., Ferrantelli V.
Indagine parassitologica su cetacei spiaggiati lungo le coste siciliane

Ore 09.00-09.15 Costa A., Sciortino S., Reale S., Marino F., Macrì D., D'Amelio S.
Identificazione molecolare mediante PCR-RFLP di Nematodi Anisakidae isolati da teleostei e molluschi cefalopodi

Ore 09.15-09.30 Costa A., Castiglione F., Palumbo P., Di Noto A.M., Caracappa S.
Indagine sulla diffusione di Nematodi Anisakidae in teleostei della Sicilia occidentale

Ore 09.30-09.45 Salogni C., Mioso P.M., Astuti M., Domeneghini M., Alborali G.L.
Piano di monitoraggio opistorchiasi nei pesci delle acque lombarde: risultati preliminari

Ore 09.45-10.00 Marino F., Castiglione F., Sferruzza I., Macrì D., Algozino A., Minardi S., Fascetto M., Meschini L., Barbagallo G., Carfì S., La Terra D., Ferrantelli V.
Mortalità da tossine algali in carpe (*Cyprinus carpio*) del lago di Pergusa (EN)

Ore 10.00-10.30 **COFFEE BREAK**

Ore 10.30-11.45 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - VI SESSIONE**
Moderatore Dott. Vincenzo FERRANTELLI
Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo

Ore 10.30-10.45 Abete M.C., Pascale M., Tarasco R., Giorgi I., Pellegrino M., Arsieni P., Leogrande M., Prearo M.
Episodio di mortalità acuta in trote fario (*Salmo trutta*) nel bacino idrografico della Dora Baltea (Valle d'Aosta). Esempio di sinergia d'intervento sul territorio

Ore 10.45-11.00 Latini M., Agnetti F., Cari R., Pecorelli I., Ghittino C.
Morie di pesci per inquinamento: episodio di intossicazione da etanolo

Ore 11.00-11.15 Rogato F., Perini F., Agonigi R., Pecchini A., Luzzana U.
Strategie nutrizionali per il controllo delle dismetabolie nell'orata (*Sparus aurata*) nel periodo invernale

Ore 11.15-11.30 Fasolato L., Manfrin A., Mancin M., Moro L., Borroni I., Bovo G.
Indagine preliminare sulle cause di mortalità perinatale in trota fario (*Salmo trutta trutta*)

Ore 11.30-11.45 Guerrera M.C., Marino F., Germanà A., Sfacteria A., Lanteri G., Foti F., Macrì B.
Anomalie congenite in zebrafish wild-type e transgenici

Ore 11.45-13.00 **COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE – VII SESSIONE**
Moderatore Dott. Fabio MARINO
Facoltà di Medicina Veterinaria, Messina

Ore 11.45-12.00 Volpatti D., Bulfon C., Passone D., Calligaro C., Beraldo P., Galeotti M.
Dimostrazione immunoistochimica dei recettori CD35 e CD16 in branzino (*Dicentrarchus labrax*)

Ore 12.00-12.15 Beraldo P., Pascotto E., Sarti M., Galeotti M.
Su due quadri anatomopatologici a eziologia sconosciuta in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*)

Ore 12.15-12.30 Gregori M., Prearo M., Miragliotta V., Cecchini S., Pretti C., Leotta R., Abramo F.
Centri melanomacrofagici nel rene di adulti di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) sottoposti a stimolazione del sistema immunitario e successiva infezione con *Yersinia ruckeri*: approccio morfometrico

Ore 12.30-12.45 Sirri R., Mandrioli L., Brunetti B., Bacci B., Sarli G.
Neoplasia viscerale infiltrante maligna in una carpa koi (*Cyprinus carpio* var. koi): aspetti anatomoistopatologici

Ore 12.45-13.00 Carella F., Restucci B., Accardo M., Bucalo S., De Vico G.
Un caso di germinoma in *Patella coerulea*

Ore 13.00-13.30 **PREMIAZIONE TESI S.I.P.I. 2008 -**
Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per la miglior tesi su argomenti di Ittiopatologia
Dott. Marino PREARO
Responsabile scientifico di "ITTIOPATOLOGIA"

Ore 13.30 **Pausa Pranzo**

COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - SESSIONE POSTER
(I posters sono a disposizione dei congressisti e l'eventuale discussione può essere effettuata durante le pause di lavoro delle diverse sessioni)

P1 - Greco G., Centoducati G., Campana M., Latronico F., D'Abramo M., Greco M.F., Ciccone F., Tarsitano E., Botto A., Buonavoglia D.
Azione antibatterica nei confronti di *Vibrio alginolyticus* dell'olio essenziale di basilico (*Ocinum basilicum* L.) estratto secondo la tecnologia dei fluidi supercritici

P2 - Mancuso M., Maricchiolo G., Zaccone R., Genovese L.
Lattococcosi: primo caso di infezione oculare in adulto di *Seriola dumerilii* (Risso, 1810)

P3 - Fioravanti M.L., Caffara M., Florio D., Gustinelli A., Quaglio F., Tarsitano E., Centoducati G., Crescenzo G.
Monitoraggio parassitologico in molluschi bivalvi stabulati nelle saline di margherita di Savoia (FG)

P4 – Carella F., Marino F., Maiolino P., Grassi P., Danzè A., Mancuso M., Maricchiolo G., De Vico G.
Aspetti microbiologici e anatomo-istopatologici della Shell Disease Sindrome in cinque differenti specie di Crostacei Decapodi

P5 - Rapisarda G., Macrì F., Manganaro M., Marino F., Mazzullo G., Quaglio F.
Iperostosi in ricciola (*Seriola dumerilii*) e pagro (Pagrus pagrus)

P6 - Dörr A.J.M., Abete M.C., Elia A.C., Gasco L., Marchis D., Pacini N., Ferro G.L., Squadrone S., Prearo M.
Prove di appetibilità e sintomatologia in vasca in trote iridea (*Oncorhynchus mykiss*) trattate con melamina

---

GIOVEDÌ 23 OTTOBRE 2008
POMERIGGIO

ORE 14.30 -16.30 **VISITE LIBERE IN ERICE**

ORE 16.30 **RITROVO E TRASFERIMENTO IN PULLMAN PRESSO AZIENDA VINICOLA**

ORE 20.30 ***CENA SOCIALE PRESSO "TRATTORIA DEL SALE"***

VENERDÌ 24 OTTOBRE 2008

CORSO DI AGGIORNAMENTO S.I.P.I.

ORGANIZZATO IN COLLABORAZIONE CON

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SICILIA

ASSOCIAZIONE PISCICOLTORI ITALIANI

WORKSHOP

"ACQUACOLTURA MEDITERRANEA: ASPETTI NORMATIVI E SANITARI A CONFRONTO"

ORE 08.00-08.30	**REGISTRAZIONE DEI PARTECIPANTI**
ORE 08.30-09.00	**APERTURA DEL CORSO** **DOTT. ANDREA ANTONIO RIELA** (DIRETTORE GENERALE IZS SICILIA) SALUTO DELLE AUTORITÀ SALUTO DEL PRESIDENTE A.P.I. SALUTO DEL PRESIDENTE S.I.P.I.

MODERATORI:

DOTT. SANTO CARACAPPA

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SICILIA - PALERMO

DOTT. CLAUDIO GHITTINO

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELL'UMBRIA E DELLE MARCHE – PERUGIA

ORE 09.00-10.00 "**THE ROLE OF OIE IN SETTING INTERNATIONAL STANDARDS FOR PREVENTING SPREAD OF AQUATIC ANIMAL DISEASE**"
Dr. Barry HILL
Vice-President, OIE Aquatic Health Standards Commission – Great Britain

ORE 10.00-11.00 "**AQUATIC ANIMAL LEGISLATION ACCORDING TO 2006/88/EC DIRECTIVE**"
Dr. Giuseppe BOVO
Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD)

ORE 11.00-11.30 *COFFEE BREAK*

ORE 11.30-12.30 "**EPIDEMIOLOGY IN THE CONTROL OF FISH DISEASES**"
Dr. Ignacio DE BLAS
Department of Animal Pathology, Faculty of Veterinary, University of Zaragoza – Zaragoza (Spain)

ORE 12.30-13.30 "**AQUACULTURE PRODUCTION AND MAIN FISH DISEASES IN MEDITERRANEAN EC COUNTRIES**"
Dr. Gaspare BARBERA
Associazione Piscicoltori Italiani - Verona

Ore 13.30-14.30 **Pausa Pranzo**

MODERATORI:

DOTT. VINCENZO FERRANTELLI

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLA SICILIA – PALERMO

DOTT. GIUSEPPE BOVO

ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE DELLE VENEZIE – LEGNARO (PD)

ORE 14.30-15.10 "**LEGISLATION AND HEALTH SITUATION IN AQUACULTURE IN CROATIA**"
DR. Snježana ZRNČIĆ
Croatian Veterinary Institute; Dept. of Pathology, Laboratory for Fish Diseases – Zagreb (Croatia)

ORE 15.10-15.50	"**LEGISLATION AND HEALTH SITUATION IN AQUACULTURE IN TURKEY**" Dr. Buket OZKAN OZYER *Bornova Veterinary Control and Research Institute – Izmir (Turkey)*
ORE 15.50-16.30	"**LEGISLATION AND HEALTH SITUATION IN AQUACULTURE IN ISRAEL**" Dr. Angelo COLORNI *National Center for Mariculture of the Israel Oceanographic and Limnological Research – Eilat (Israel)*
ORE 16.30-16.40	*COFFEE BREAK*
ORE 16.40-17.20	"**LEGISLATION AND HEALTH SITUATION IN AQUACULTURE IN TUNISIA**" Dr. Mohamed BANNOUR *Aquaculture Tunisienne – Chott Meriem – Sousse (Tunisia)*
ORE 17.20-18.20	"**FISH DISEASES CONTROL IN THE MEDITERRANEAN BASIN**" Dr. Claudio GHITTINO *Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche – Perugia*
ORE 18.20-19.20	**DISCUSSIONE GUIDATA SUGLI ARGOMENTI TRATTATI** Dr. Vincenzo FERRANTELLI *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia – Palermo*
ORE 19.20-19.50	**TEST DI VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO** Dr. Francesco CASTIGLIONE – Dr. Salvatore DARA *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia – Palermo*
ORE 19.50-20.00	**CONSIDERAZIONI FINALI E CHIUSURA LAVORI** Dr. Santo CARACAPPA *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia – Palermo*

ABSTRACT

Comunicazioni orali

I NUOVI PAESI DELL'UNIONE EUROPEA E L'APPROCCIO AL MIGLIORAMENTO DEI CONTROLLI VETERINARI PER LE MALATTIE NOTIFICABILI DEI PESCI. L'ESPERIENZA DELLA POLONIA

Latini M., Bovo G.*

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche. * Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie*

Dal 1 maggio 2004, con l'entrata della Polonia nell'Unione Europea (U.E.), i Servizi Veterinari polacchi (che lavorano per il Ministero dell'Agricoltura) si sono dovuti adeguare agli standard europei. Con la Decisione della Commissione 2891 del 02/08/2005 l'Unione Europea ha stabilito il finanziamento di progetti mirati allo scopo di migliorare e potenziare tale adeguamento. Il progetto che presentiamo ha avuto come obiettivo quello di potenziare le capacità di controllo dei Servizi Veterinari nell'ambito della sanità animale. Per quanto concerne la patologia ittica esso si è interessato della Setticemia Emorragica Virale (VHS) e della Necrosi Emopoietica Infettiva (IHN). L'aspetto organizzativo è stato curato da agenzie private che si sono fatte carico di collegare i Servizi Veterinari, il Ministero dell'Agricoltura e l'U.E. In questo ambito era prevista anche la presenza di una figura veterinaria esperta del settore con compiti di supervisione. Sono state effettuate quattro esercitazioni, in cui è stata simulata la presenza di una delle due malattie, in quattro zone diverse del Paese per poter dare la possibilità a tutto il personale veterinario dei distretti (323 presenti su tutto il territorio polacco, diviso in 16 regioni) di accedere all'addestramento. Le zone prescelte sono state: Mogilno, Olsztin, Strzelce Krajenskie, Gdansk. L'esercitazione iniziava con la comunicazione di un sospetto focolaio di malattia all'ufficio veterinario del distretto competente. Questi si organizzava per effettuare in giornata un sopralluogo, una necroscopia in loco ed un prelievo di campioni nell'azienda sospetta. I campioni prelevati venivano spediti all'Istituto Nazionale di Ricerca Veterinaria di Pulawy. Nel frattempo l'azienda veniva messa sotto sequestro. Una volta ricevuta la conferma della malattia da parte del laboratorio (che per comodità della simulazione si faceva coincidere con la seconda giornata di esercitazione), il Servizio Veterinario predisponeva un incontro presso la Direzione di Distretto (l'equivalente della Prefettura). Nella riunione effettuata insieme al Direttore di Distretto, alla polizia locale, ai vigili del fuoco e ai responsabili degli enti che di volta in volta potevano essere interessati (es. guardiapesca, guardie di parchi nazionali, ecc.), si organizzava la gestione del focolaio. Su decisione del responsabile del Servizio Veterinario si procedeva allo stamping out e alla disinfezione o si predisponevano gli accorgimenti necessari per la restrizione dei movimenti fino alla vendita di tutti gli animali presenti. A questi provvedimenti veniva sempre aggiunto un divieto di pesca nei bacini idrografici attigui all'allevamento ed un controllo a campione dei pesci presenti nei fiumi e laghi nelle immediate vicinanze dell'azienda colpita. L'ultima giornata di esercitazione si dedicava alla discussione delle problematiche emerse durante le due giornate di esercitazioni pratiche e alla predisposizione di eventuali scenari successivi e possibili atti d'intervento del Servizio Veterinario competente. Le esercitazioni effettuate hanno evidenziato una difficoltà nel reperimento di personale specializzato in ittiopatologia. Estremamente difficoltoso è risultato inoltre il controllo di un territorio caratterizzato da un ampio sviluppo di laghi e fiumi, soprattutto nel nord est del Paese. Punto di forza di tutto il controllo è stata l'ottima organizzazione dei Servizi Veterinari distrettuali e la loro capacità di coordinamento e collaborazione con le forze istituzionali locali.

MONITORAGGIO SANITARIO DELLE AZIENDE ITTICHE NELLA REGIONE VENETO: RISULTATI E PROBLEMATICHE AD ESSO CORRELATE.

Manfrin A., Fasolato L., Bovo G.*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Laboratori di Adria (RO) e (*) di Legnaro (PD).

Dal 1997 è attivo presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, in collaborazione con i Servizi Veterinari della Regione Veneto, un monitoraggio sanitario nei confronti delle principali patologie delle specie ittiche d'acqua dolce, con particolare riferimento alle malattie virali contemplate dal D.P.R. 555/92 e dal D.P.R. 263/97 (Necrosi Ematopoietica Infettiva o NEI, Setticemia Emorragica Virale o SEV, Viremia Primaverile della Carpa o VPC). La vigilanza ha interessato circa 70 aziende ed era caratterizzata da un prelievo di 30 soggetti da cui erano effettuati gli esami virologici su colture cellulari (EPC e BF2) a partire da pool di organi target (rene anteriore, milza, cervello e/o cuore). Il numero delle aziende monitorate e dei campioni esaminati sono variati di anno in anno in funzione del numero di impianti che intraprendevano l'iter per il riconoscimento ufficiale e in base alla programmazione annuale concordata con i servizi veterinari regionali. In totale sono stati analizzati 13.380 pool di organi e la prevalenza di aziende infette, in proporzione al numero di siti produttivi monitorati per anno, è variata da un minimo del 5% (anno 2001) ad un massimo del 44,4% del 2005. Complessivamente è stato possibile riscontrare come infette per NEI e/o SEV 34 aziende su 77 controllate (41,5% di prevalenza), mentre in nessun caso è stato possibile isolare il virus della Viremia primaverile della carpa. Oltre ai risultati delle indagini verranno discussi i fattori che possono aver influito sulle diverse percentuali di positività: periodo e modalità del campionamento, fluttuazioni annuali delle patologie, cambiamenti gestionali dell'impresa, formazione tecnica del personale addetto al campionamento e alle analisi.

INFEZIONE DA *BETANODAVIRUS* IN TRIGLIA DI FANGO (*MULLUS BARBATUS* L. 1758)

Ciulli S., Grodzki M., Galletti E., Rosica I., Crimella F., Prosperi S.

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna.

Con questo lavoro abbiamo voluto approfondire lo studio dell'infezione da *Betanodavirus* nella triglia di fango (*Mullus barbatus* L. 1758). Questa specie è risultata sensibile a questa infezione in lavori precedenti, anche se attualmente non è mai stata riportata la presenza di sintomatologia in soggetti di triglia. La presenza del virus è stata messa in evidenza con tecniche di RT-nested/PCR evidenziando un basso livello di contaminazione virale tipico dei portatori asintomatici.
Soggetti di triglia di fango sono stati campionati nel Medio Adriatico durante l'arco di un anno (ottobre 2006-settembre 2007) per un totale di 137 soggetti. Il campionamento è stato così strutturato al fine di valutare se si trattasse di un'infezione legata all'elevata diffusione del virus tipica del periodo estivo nei pesci di allevamento, oppure se questo ospite possa rappresentare un serbatoio del *Betanodavirus* anche durante il periodo invernale nel quale generalmente non è osservata la malattia negli ospiti di allevamento (branzino Europeo, *Dicentrarchus labrax*).
La tecnica RT-nested/PCR è stata applicata ai campioni rappresentati da un pool di materiale encefalico prelevato da 3-5 soggetti per un totale di 30 pool.
Successivamente si è proceduto a testare alcuni campioni in singolo al fine di valutare l'effettiva numerosità dei campioni positivi.
La tecnica RT-nested/PCR si è rilevata idonea all'evidenziazione della presenza del virus in pool di encefali di triglia di fango.
Venti dei trenta campioni esaminati sono risultati positivi ed è stato possibile evidenziare la positività dei campioni durante tutto l'arco dell'anno.
L'analisi dei campioni in singolo ha permesso di evidenziare l'elevata diffusione del virus nei singoli soggetti mostrando una positività di almeno 2-3 soggetti nella maggior parte dei pool testati.
La caratterizzazione genetica di alcuni dei virus evidenziati ha classificato i ceppi trovati in triglia di fango come appartenenti alla specie RGNNV, ampiamente diffusa in specie ittiche allevate e selvatiche del Mar Mediterraneo, mentre non ha evidenziato la presenza di altre specie virali del genere *Betanodavirus*, recentemente segnalate in pesci di allevamento.
Concludendo si può affermare che da questo studio risulta che la triglia di fango può rappresentare un serbatoio del *Betanodavirus* che ospita il virus durante tutto l'arco dell'anno. Fortunatamente sembra che questa specie non sia ancora stata interessata dall'infezione con le nuove specie di *Betanodavirus* probabilmente diffuse tramite il commercio di materiale ittico vivo di allevamento. Questo ritrovamento incoraggia ad intensificare i controlli sul materiale ittico commerciato al fine di minimizzare i rischi di introduzione di nuovi virus nel patrimonio ittico autoctono dell'Adriatico.

IDENTIFICAZIONE DI KOI HERPESVIRUS (KHV) IN CARPE KOI (*CYPRINUS CARPIO* VAR. KOI) IMPORTATE DA SINGAPORE

Gobbo F., Vascellari M., Rampazzo E., Cappellozza E., Manfrin A., Rosteghin M., Bovo G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10 - Legnaro (PD).

Nell'aprile 2008, presso un impianto di importazione di pesci ornamentali tropicali situato nel territorio di giurisdizione dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, si è verificato un episodio di mortalità che ha interessato un gruppo di 125 carpe koi (*Cyprinus carpio* var. koi), di recente importazione da Singapore. Gli animali presentavano anoressia ed anomalie natatorie, con periodi di stazionamento sul fondo della vasca. La mortalità media riferita era di 5-6 animali/giorno e si è mantenuta costante anche a seguito di un trattamento con FMC® (miscela di formaldeide, verde malachite e blu di metilene), sostanza routinariamente utilizzata, come primo intervento, dal responsabile della serra in casi di comparsa di mortalità. Al termine dell'episodio, la mortalità cumulata ha raggiunto il 100%. Nei soggetti pervenuti al laboratorio, tre carpe koi congelate e due moribonde, si sono evidenziate, a livello branchiale, ipertrofia e presenza di aree necrotiche multifocali. Tutti i cinque soggetti esaminati presentavano ipertrofia del parenchima renale e, all'apertura della cavità celomatica, era presente un versamento emorragico. In un soggetto erano inoltre presenti aderenze del pacchetto gastro-intestinale. L'esame parassitologico delle branchie ha evidenziato una moderata infestazione da agenti appartenenti alla classe Trematoda, ordine Monogenea. L'esame batteriologico, effettuato su prelievo dal rene dei due soggetti moribondi, ha consentito di ottenere, in terreno Thiosulfate Citrate Bile Sucrose agar (TCBS) la crescita di due diversi tipi di colonie batteriche: piccole, giallastre ed emolitiche le prime, (bacilli medi Gram negativi); scure e mucose le seconde (bacilli corti Gram negativi). Nessuna crescita batterica è stata invece evidenziata su terreno Agar sangue Esculina (ASE) incubato a 25°C. Le prove biochimiche, eseguite mediante kit API 20E bioMérieux®, hanno consentito di identificare gli agenti isolati come *Vibrio cholerae* e *Shewanella putrefaciens*, entrambi di scarso significato patogeno. Il successivo approfondimento diagnostico eseguito sul ceppo di *Vibrio cholerae* ha escluso la sua appartenenza ai sierotipi O1 e O139 e la proprietà enterotossigena. L'esame istopatologico, effettuato sulle branchie dei due soggetti moribondi, ha evidenziato aree di necrosi diffusa dell'epitelio branchiale oltre ad una moderata presenza di elementi parassitari e di aggregati batterici. L'esame virologico, eseguito su pool di organi, mediante osservazione diretta al ME ed inoculazione su colture cellulari CCB per la ricerca del virus della carpa koi (KHV) è risultato negativo, mentre un'evidente reazione positiva per KHV, in seguito confermata dal Centro di Referenza di Wageningen (Olanda), è stata ottenuta mediante l'indagine con PCR. La mortalità osservata, malgrado la presenza di una concomitante infestazione parassitaria, che normalmente viene controllata mediante trattamento terapeutico e l'isolamento di due agenti batterici, entrambi considerati di scarso o nullo significato patologico, è molto probabilmente da fare risalire all'infezione da KHV. L'episodio osservato rappresenta il primo caso di Herpesvirosi della carpa koi descritto nel territorio nazionale e costituisce un esempio pratico della reale possibilità di diffusione di importanti agenti patogeni tramite importazione di pesci ornamentali. La contemporanea presenza, nello stesso lotto, come nel caso illustrato, di più agenti patogeni può complicare il quadro clinico ed interferire sul referto diagnostico definitivo. Poiché la malattia è inserita in allegato IV della Direttiva 2006/88/CE, come malattia soggetta a notifica obbligatoria, è necessario che durante gli episodi di mortalità grave che coinvolgono specie sensibili, non ci si limiti ai primi accertamenti, ma vengano anche incluse idonee indagini virologiche.

OSSERVAZIONI SU UN CASO DI EPITELIOCISTI IN ORATE (*SPARUS AURATA*) D'ALLEVAMENTO

Agnetti F., Salamida S., Sola D., Rogato F.[1], Brachelente C.[2], Latini M., Ghittino C.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Centro di Riferimento Regionale per l'Ittiopatologia, Via L.A. Muratori, 4 – 05100 Terni; [1] Hendrix S.p.A., Frazione San Zeno - 37060 Mozzecane (VR); [2] Dipartimento di Scienze Biopatologiche e Igiene delle Produzioni Animali e Alimentari, Via S. Costanzo, 4 - 06126 Perugia.

L'Epiteliocisti è una patologia batterica causata da bacilli intracellulari Gram negativi appartenenti al gruppo delle Chlamydiaceae. Descritta per la prima volta nella carpa, è stata poi diagnosticata in numerose altre specie ittiche dulciacquicole e marine, soprattutto d'allevamento. Il periodo in cui si manifesta con maggior frequenza è l'estate e, sebbene le branchie siano il sito d'infezione più comune, anche l'apparato tegumentario può esserne coinvolto, con particolare riguardo allo strato epiteliale. Ai fini diagnostici, accanto al rilevamento macroscopico delle lesioni branchiali e/o cutanee, è fondamentale l'esame istologico (eventualmente affiancato da quello ultramicroscopico), in quanto i microrganismi coinvolti non possono essere coltivati sui comuni terreni colturali. Nel presente lavoro viene descritto un caso di Epiteliocisti verificatosi nel luglio 2008 in orate (*Sparus aurata*) allevate intensivamente in gabbie galleggianti. I suddetti pesci si presentavano magri, letargici e con dispnea; all'esame anatomopatologico sono stati evidenziati pallore ed ipermucosità branchiale, in assenza di ulteriori lesioni macroscopiche ai visceri. L'esame microscopico a fresco delle lamelle branchiali ha evidenziato numerose formazioni cistiche rifrangenti rotondeggianti, intercalate negli spazi interlamellari, associate ad edema e fusione delle lamelle secondarie e una modica presenza di monogenei. L'esame istologico, condotto su campioni di branchie fissati in formaldeide al 4%, ha evidenziato la presenza di due diverse tipologie di lesione: cisti a contenuto amorfo e cisti granulose basofile, di dimensioni variabili, riscontrate per lo più a carico dell'epitelio delle lamelle secondarie e, in alcuni casi, associate ad iperplasia epiteliale e a fusione lamellare. L'esame al TEM, effettuato sempre su campioni branchiali, ha permesso di evidenziare cellule epiteliali ipertrofiche caratterizzate dalla presenza di un grande vacuolo fagosomiale contenente batteri a diverso grado di sviluppo, nucleo sospinto alla periferia della cellula e mitocondri disposti attorno al vacuolo; all'interno, immersi in un materiale amorfo, si sono potuti distinguere i corpi reticolati, intermedi ed elementari. I suddetti esami hanno consentito di giungere alla diagnosi di Epiteliocisti. Pur non essendo stato fatto alcun trattamento terapeutico in allevamento, la patologia è spontaneamente regredita (come anche confermato da esami a fresco eseguiti dopo circa 20 giorni dall'episodio morboso, risultati negativi). Il caso descritto ripercorre alcuni aspetti già focalizzati da altri Autori: a) la malattia si presenta con maggior frequenza in estate e vede come ospiti soprattutto pesci d'allevamento piuttosto che quelli selvatici, per la presenza di condizioni predisponenti quali sovraffollamento ed eventuali infezioni/infestazioni concomitanti; b) il quadro sintomatologico e anatomopatologico riguarda esclusivamente gli apparati respiratorio e tegumentario, con maggiore coinvolgimento, nell'orata, del primo distretto; c) gli strumenti diagnostici fondamentali sono l'esame istologico e la microscopia elettronica; d) dal punto di vista diagnostico, nell'orata, l'Epiteliocisti deve sempre essere differenziata dalla Linfocisti.

PRINCIPALI ISOLAMENTI BATTERICI IN ALLEVAMENTO DI SOGLIOLA (*SOLEA SOLEA*)

Bossù T., Amiti S., Del Bove M., Cardeti G.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana, Roma.

Vengono riportati i risultati relativi agli isolamenti microbiologici e virologici ottenuti da 140 campioni di sogliole (*Solea solea*) allevate ed inviati presso il laboratorio della Direzione Operativa Sviluppo e Sicurezza delle produzioni ittiche dell'IZS di Roma, nel corso di diversi episodi di mortalità.
I differenti ceppi batterici isolati da organi interni (rene, cervello, milza) sono stati identificati attraverso il profilo biochimico con sistemi miniaturizzati API® e/o macrometodo, mentre gli esami virologici sono stati condotti su occhi e cervello dove è stata effettuata la ricerca di nodavirus con RT-nPCR e la semina su colture cellulari.
I risultati ottenuti confermano che Pasteurellosi e Flexibatteriosi costituiscono le principali cause batteriche di mortalità, mentre per i virus resta confermato il betanodavirus isolato in un unico episodio.
Non è mai stato isolato *Vibrio anguillarum* che invece è riportato come causa di mortalità negli allevamenti di sogliole, sono invece state isolate diverse specie di *Vibrio* sp. in concomitanza a Flexibatteriosi ed alla presenza di lesioni cutanee.

SAGGI DI PCR PER L'IDENTIFICAZIONE E LO SCREENING DI ISOLATI ITTICI APPARTENENTI AL GENERE *VIBRIO*

Prearo M., Colussi S., Corvonato R., Serracca L., Giorgi I., Zuccon F., Acutis P.L.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino.

Nell'ambito del progetto di ricerca denominato: "Approccio polifasico nell'identificazione di isolati appartenenti al genere *Vibrio* in materiale ittico" è stata messa a punto una nuova metodica di multiplex PCR che consente la contemporanea identificazione di *V. alginolyticus* e *V. parahaemolyticus* con l'uso di primer specifici appositamente disegnati per il gene della collagenasi e per il gene *tl* (emolisina termolabile). La metodica descritta ed altre tecniche di PCR precedentemente pubblicate sono state utilizzate per eseguire la classificazione degli isolati presenti nella collezione del laboratorio di Ittiopatologia dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Torino.
Per valutare l'accuratezza della multiplex PCR sono stati utilizzati 14 ceppi certificati DSMZ, 1 ceppo certificato ATCC appartenenti al genere *Vibrio* e al genere *Aeromonas* e 44 ceppi isolati da prodotti ittici. Lo screening è stato condotto su 106 isolati di campo: all'estrazione del DNA, eseguita mediante freeze-boiling, è seguita l'applicazione della multiplex PCR e della PCR per *V. anguillarum* basata sull'amplificazione del gene *rpoN* (fattore sigma). Le PCR sono state condotte in un volume di reazione pari a 50 µl, mediante utilizzo di Platinum® qPCR Supermix-UDG (Invitrogen) 25 µl, con aggiunta dei rispettivi primer (300 nM) specifici.
V. parahaemolyticus è identificato da una banda caratteristica di 450 bp, mentre *V. alginolyticus* da una banda di 737 bp. Campioni non appartenenti alle due specie in esame, utilizzati come veri negativi, quali *V. anguillarum* e differenti specie del genere *Aeromonas*, hanno invece mostrato assenza di banda. La sensibilità e la specificità, del metodo, calcolate ad un livello di confidenza del 95%, sono risultate del 100%, rispettivamente (86,3-100%) e (85,0-100%).
Lo screening ha fornito i seguenti risultati: il 100% dei campioni ritenuti *V. anguillarum* dalle analisi biochimiche è risultato tale anche con il metodo molecolare, mentre per *V. alginolyticus* e *V. parahaemolyticus* l'identità di risultato tra metodi fenotipici e molecolari è stata del 95% e del 66% rispettivamente. Sono state evidenziate quattro coinfezioni (due *V. parahaemolyticus*/*V. alginolyticus* e due *V. anguillarum*/*V. alginolyticus*). La PCR è stata inoltre determinante nell'assegnazione della specie dei ceppi caratterizzati fenotipicamente come *Vibrio* spp. La concordanza complessiva tra metodi biochimici e molecolari è stata valutata tramite indice K, pari a 0,84 (i.c. 95% = 0,63-0,99), indice ritenuto molto buono secondo la tabella di valutazione Altman.
La multiplex PCR si è rivelata di semplice e rapido utilizzo ed applicata a isolati ittici ha inoltre consentito di rilevare alcuni casi di coinfezione, evidenziando ulteriormente l'inefficacia delle tecniche biochimiche che conducono invece all'identificazione di un unico patogeno.
Lo studio ha mostrato come i metodi molecolari presentino alcuni vantaggi rispetto all'utilizzo dei metodi biochimici tradizionali, messi a punto su isolati clinici e non sempre efficaci nel riconoscimento di isolati ittici, così come scarsamente attendibili nel riconoscimento di specie con un'elevata similarità genetica come nel caso di *V. alginolyticus* e *V. parahaemolyticus* (> del 99%).

ATTIVITÀ ANTIBATTERICA DELL'OLIO ESSENZIALE ESTRATTO DA *OCINUM BASILICUM* IN SPIGOLE DI ALLEVAMENTO CON INFEZIONE DA *VIBRIO ALGINOLYTICUS*

Greco G.*, Tarsitano E.*, Moscato M.**, Centoducati G.*, D'Abramo M.*, Latronico F.*, Greco M.F.*, Blasi M.*, Caggiano M.**, Buonavoglia D.*

**Dipartimento di Sanità Pubblica e Zootecnia (DiSPeZ), Facoltà di Medicina Veterinaria-Università degli Studi di Bari; **"Panittica Pugliese Azienda Agricola" S.p.A., - Torrecanne di Fasano (BR).*

L'attività antibatterica di diversi olii essenziali di origine vegetale nei confronti di batteri Gram negativi appartenenti ai generi *Aeromonas, Pseudomonas* e *Vibrio* è stata più volte documentata mediante prove di efficacia *in vitro*.
In considerazione degli indubbi vantaggi conseguenti alla limitazione dell'impiego degli antibiotici a scopo terapeutico nelle specie ittiche destinate all'alimentazione umana, è stata condotta una prova in spigole di allevamento mirata alla valutazione dell'attività antibatterica dell'olio essenziale estratto da basilico (*Ocinum basilicum*) nei confronti di *V. alginolyticus*. Lo studio è stato condotto su 9.000 avannotti di spigola (*Dicentrarchus labrax*) del peso medio di 2,7 g. Gli animali sono stati distribuiti in 6 vasche ciascuna delle quali contenente 1.500 avannotti. Le sei vasche sono state denominate A1, A2, B1, B2, C1 e C2. Gli animali delle vasche A1 ed A2 sono stati alimentati per 60 gg con mangime convenzionale. Gli animali delle vasche B1 ed B2 sono stati alimentati per 30 gg con mangime convenzionale e per i successivi 30 gg con mangime convenzionale addizionato di estratto di basilico in misura dello 0,685%. Gli animali delle vasche C1 ed C2 sono stati alimentati per 60 gg con mangime convenzionale addizionato di estratto di basilico in misura dello 0,685%. Dopo 30 giorni dall'inizio della prova, gli animali delle vasche A1, B1 e C1 sono stati sottoposti ad infezione sperimentale con *V. alginolyticus*. Gli animali delle vasche A2, B2 e C2 sono stati tenuti come controllo. A partire dal giorno successivo all'infezione sperimentale e per i successivi 10 giorni, da ciascuna vasca quotidianamente sono stati prelevati 10 soggetti sui quali sono stati eseguiti gli esami batteriologici.
I risultati, seppur preliminari, sono incoraggianti per motivazioni molteplici. Innanzitutto è stato realizzato un modello sperimentale dell'infezione da *V. alginolyticus* nella spigola. In secondo luogo sia nelle vasche B1 che in quella C1 si è osservata una più rapida risoluzione dell'infezione evidenziando che l'impiego di fitoestratti in acquacoltura potrebbe essere una valida alternativa all'impiego di antibiotici in animali destinati al consumo alimentare umano.

Progetto finanziato da: Programma POR-PUGLIA 2000-2006. SFOP – Asse IV – Misura 4.13 – Sottomisura 4.13E "Azioni innovative" ed Asse III – MISURA 3.12 -Miglioramento delle risorse umane nel settore della ricerca e sviluppo tecnologico. Azione a) Intervento specifico A.1. Sostegno all'offerta di alta formazione. Avviso n. 22/2006.

MODULAZIONE DELLA MICROFLORA INTESTINALE COME STRATEGIA DI CONTROLLO NEI CONFRONTI DELLA *RAINBOW TROUT GASTRO ENTERIC SYNDROME* (RTGE)

Sarti M.[1], Cervellione F.[1], Giusto C.[2], Manzano M.[2], Pecchini A.[1], Luzzana U.[1]

[1] Skretting Italia, Frazione San Zeno, Mozzecane (VR), Italy; [2] Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Udine, Udine, Italy.

La *Rainbow Trout Gastro Enteric Syndrome* (RTGE) è una patologia emergente della trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), diagnosticata per la prima volta in Europa nel 1992 in Francia. In Italia è stata segnalata per la prima volta nel 2001, diffondendosi negli anni successivi in maniera piuttosto rapida e arrivando a rappresentare un serio problema per la troticoltura nazionale. L'RTGE si manifesta con una mortalità solitamente non elevata associata ad un forte calo del *feed intake*, peggioramento generalizzato delle *performance* zootecniche e delle condizioni ambientali delle vasche di allevamento, nelle quali si assiste ad un evidente aumento dei solidi sospesi, con feci collose e biancastre. L'agente eziologico dell'RTGE è *Candidatus arthromitus*, batterio strettamente anaerobio che alberga l'intestino della trota iridea a temperature superiori ai 14-15°C. L'importanza della microflora intestinale nei pesci ai fini del mantenimento dello stato di salute degli animali è oggetto negli ultimi anni di un crescente interesse da parte della ricerca: dal momento che l'organo di elezione del *C. arthromitus* è appunto l'intestino, appare evidente che la modulazione della microflora intestinale medesima potrebbe utilmente concorrere alla messa a punto di una strategia di controllo nei confronti dell'RTGE. Obiettivo del presente lavoro è stato appunto verificare in campo l'effetto di una dieta contenente estratti naturali di origine vegetali sulla modulazione della microflora intestinale della trota iridea e sulla resistenza nei confronti dell'RTGE.

Sono state utilizzate trote iridee di taglia inziale intorno ai 250 grammi soggette a diversi protocolli di alimentazione con la dieta sperimentale. Campioni dell'intestino sono stati analizzati mediante la tecnica "Denaturing Gradient Gel Electrophoresis" (DGGE) per verificare la composizione della microflora intestinale, e l'andamento della mortalità è stato registrato.

La dieta sperimentale ha effettivamente modificato la composizione del microbiota intestinale e si è dimostrata efficace nel ritardare l'inizio della mortalità da RTGE rispetto al controllo. Per quanto l'interpretazione del possibile rapporto tra i risultati della DGGE e le osservazioni cliniche sul campo richieda ulteriori conferme ed approfondimenti, i risultati del presente lavoro supportano l'ipotesi dell'importanza della modulazione della microflora intestinale ai fini del controllo dell'RTGE, aprendo la strada ad ulteriori sviluppi.

PROVA DI VACCINAZIONE IN ALLEVAMENTO CONTRO LA BOCCA ROSSA DELLA TROTA IRIDEA (ONCORHYNCHUS MYKISS) UTILIZZANDO UN CEPPO STABULOGENO IN FORMULAZIONE ORALE MICROINCAPSULATA

Paolini A.[1], Ridolfi V. [1], Cocchietto M. [2], Spina M. [1], Orsini G. [1], Zezza D. [1], Giorgetti G. [1]

[1] Istituto Zooprofilattico dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" – Teramo; [2] Fondazione Callerio - Trieste

La Bocca Rossa, sostenuta da *Yersinia ruckeri*, è una delle malattie batteriche che più incide nell'allevamento della trota, manifestandosi in tutto l'arco dell'anno e colpendo pesci di tutte le taglie. I vaccini esistenti in commercio sono formulazioni per immersione, modalità di somministrazione stressante per gli animali che necessita inoltre di un notevole dispendio di manodopera; questo, oltre al costo della quantità di soluzione vaccinale richiesta, rende inattuabile la vaccinazione di richiamo per bagno nei soggetti oltre i 30 grammi di peso, età in cui una vaccinazione di richiamo si rende necessaria. E' auspicabile pertanto poter disporre di un richiamo orale, somministrabile con il mangime.
Il presente lavoro ha lo scopo di mettere a punto un vaccino stabulogeno orale contro la yersiniosi e di testarne l'efficacia mediante il confronto della mortalità nei vaccinati e nel controllo (Relative Percentage Survival, RPS) a seguito di infezione naturale. L'antigene utilizzato per la preparazione dei vaccini è costituito da cellule intere di *Y. ruckeri* inattivate con formalina (FKC), liofilizzate e microincapsulate in microsfere di alginato di calcio rivestite da chitosano, allo scopo di preservare l'antigene dalla degradazione gastrica. Il ceppo utilizzato per il vaccino è stato isolato nel corso di un focolaio di Bocca Rossa presso l'allevamento in cui si è svolta la sperimentazione. In due raceway adiacenti sono stati sistemati due gruppi da 200.000 trote iridee (*Oncorhynchus mykiss*) del peso medio di 30 g., appartenenti allo stesso lotto. I pesci erano stati vaccinati in avannotteria, alla taglia di 2 g., con vaccino commerciale per immersione. Ad uno dei due gruppi è stata somministrata la vaccinazione di richiamo orale, l'altro ha costituito il gruppo controllo. L'antigene microincapsulato, sospeso in olio di pesce, è stato miscelato al mangime, la somministrazione è avvenuta dal 26 ottobre al 10 novembre 2007, con una interruzione di 5 giorni; la dose complessiva somministrata è di 3,8 x 10^8 FKC/pesce. I due gruppi sperimentali sono stati monitorati per 6 mesi. Il gruppo non vaccinato (controllo) è stato colpito da due focolai di Bocca Rossa, il primo iniziato il 24 novembre 2007, il secondo il 15 febbraio 2008; entrambi i focolai sono stati trattati con sulfamidici potenziati. Il gruppo vaccinato non è stato colpito da Bocca Rossa, facendo registrare un RPS di 72,6 nel focolaio del 2007 (mortalità gruppo vaccinato 0,62%, mortalità gruppo controllo 2,25%) e un RPS di 67,4 nel focolaio del 2008 (mortalità gruppo vaccinato 0,62%, mortalità gruppo controllo 2,25%). I pesci vaccinati inoltre, non avendo subito la patologia e i sintomi ad essa conseguenti, tra cui l'anoressia, hanno mostrato un incremento ponderale migliore (U di Mann-Whitney=223,5; p=0,002); al termine dei 6 mesi di osservazione i pesci del controllo presentavano un peso medio di 110 g., i vaccinati di 162,3 g. I risultati sono soddisfacenti considerando i valori di RPS, elevati nonostante la mortalità nel gruppo controllo sia stata tamponata dagli interventi terapeutici. Quindi tra gli effetti positivi, oltre alla mancata perdita degli animali, al miglior accrescimento e al minor costo di smaltimento delle carcasse, si può aggiungere che, poiché nel gruppo vaccinati non si è reso necessario l'intervento terapeutico, si è avuto un risparmio economico ed un vantaggio per l'ambiente, nel quale non si sono riversati i 9,2 kg di principi attivi e loro cataboliti che la terapia avrebbe comportato.

RISPOSTA IMMUNITARIA DI *SERIOLA DUMERILII* (RISSO 1810) ALL'INFEZIONE SPERIMENTALE CON *LISTONELLA (VIBRIO) ANGUILLARUM*

Mancuso M., Zaccone R, Costanzo M.T.

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero - CNR, Spianata S. Raineri 86, 98122 Messina.

La *Seriola dumerilii*, comunemente chiamata ricciola, è il più grande Carangide semi-pelagico, diffuso in tutto il mondo.
Grazie alla qualità delle sue carni ed al rapido accrescimento è considerato un ottimo candidato per la diversificazione delle specie allevabili.
È noto che in ambienti confinati, quali sono gli impianti di allevamento, l'incidenza di infezioni è molto elevata; tuttavia le notizie sulla sensibilità alle malattie batteriche di questa specie sono finora scarse.
Al fine di studiare la sensibilità verso la vibriosi è stato condotto uno studio sulla risposta immunitaria specifica tramite ELISA indiretta durante un challenge con *Listonella (Vibrio) anguillarum* sierotipo O1.
300 giovanili di ricciola (peso medio 40 g.), sono stati catturati lungo le coste Siciliane (Tirreno Meridionale) ed acclimatati per un mese presso l'impianto sperimentale di acquacoltura dell'IAMC-CNR di Messina, sottoposti a fotoperiodo naturale ed alimentati giornalmente con *Trachurus trachurus* e *Loligo vulgaris*.
Dopo tale periodo sono state allestite 4 vasche (300 l) contenenti 25 esemplari ciascuno e una vasca di controllo.
I pesci, previa calcolo della DL_{50} ($1,5 \times 10^5$ cell./100 g. peso corporeo), sono stati inoculati con 0,1 ml di sospensione batterica, mentre il controllo è stato inoculato con soluzione fisiologica sterile. La temperatura è stata mantenuta a 24°C durante tutto il periodo dell'esperimento.
Dopo 24 ore dall'inoculo del patogeno, i pesci, iniziavano a manifestare la sintomatologia clinica.
La mortalità è stata monitorata giornalmente e sono stati effettuati dei prelievi di sieri in pool dopo 1, 5, 10, 15, 20 e 42 giorni dall'inoculo.
I risultati mostrano che gli anticorpi contro *L. anguillarum* sono significativamente più elevati negli infetti rispetto al controllo ($P<0,01$).
I livelli anticorpali iniziavano ad aumentare già a partire dal 5° giorno dall'inoculo del patogeno, raggiungendo il massimo dopo 20 giorni, indicando una rapida risposta immunitaria.

IMMUNIZZAZIONE DI STADI GIOVANILI DI BRANZINO (*DICENTRARCHUS LABRAX*) CON UN VACCINO COMMERCIALE CONTRO LA VIBRIOSI: MONITORAGGIO DELLA RISPOSTA IMMUNITARIA MEDIANTE E.L.I.S.A. E CHEMILUMINESCENZA.

Bulfon C., Volpatti D., Contessi B., Galeotti M.

Dipartimento di Scienze Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Udine.

Il branzino *(Dicentrarchus labrax)* è una delle specie più sensibili alle infezioni provocate da *Vibrio anguillarum* e numerosi sono i vaccini commerciali che offrono un'efficace protezione nei confronti di questo patogeno.
Nell'ambito di un ampio progetto di ricerca (PRIN 2006) finalizzato a valutare lo sviluppo funzionale del sistema immunitario di questa specie ittica e le sue implicazioni nella vaccinazione, una formulazione commerciale contro la vibriosi è stata somministrata ad avannotti e giovanili di branzino al fine di monitorare la modulazione di alcuni parametri di risposta immunitaria.
Avannotti e giovanili di branzino sono stati immunizzati con un vaccino commerciale contro *V. anguillarum* (AquaVAC Vibrio VAB, biotipo 01 e 02, Schering Plough) adottando un protocollo di somministrazione per bagno (immersione per 60 sec in sospensione diluita 1:10), seguito da richiamo per via intraperitoneale (0,1 ml/soggetto). Nel corso della prova sono stati effettuati prelievi di siero ed organi linfatici (milza e rene anteriore) da soggetti di controllo e vaccinati di 95, 165, 233 e 291 gg.
Mediante saggio E.L.I.S.A. è stata studiata la risposta anticorpale specifica nei confronti di *V. anguillarum* sierotipo 01 e 02 (ceppo 77/I03 e ceppo 32/ITT; IZSVe) e del vaccino commerciale stesso. Mediante saggio di chemiluminescenza in micropiastra (luminol) è stata valutata l'attività di "burst" ossidativo dei leucociti purificati da milza e rene, indotta da stimoli quali: phorbol myristate acetate (PMA); *Micrococcus luteus*; lipopolisaccaride da *Escherichia coli* (LPS); vaccino AquaVAC Vibrio VAB.
Le analisi condotte sui campioni di siero hanno evidenziato un sensibile incremento degli anticorpi specifici per *V. anguillarum* nei soggetti immunizzati due volte tramite immersione, e un incremento consistente in quelli successivamente sottoposti al richiamo per via intraperitoneale. Il saggio E.L.I.S.A. messo a punto e utilizzato per tale finalità è risultato più sensibile rivestendo la micropiastra con la sospensione batterica ottenuta dal vaccino, rispetto alla sospensione ottenuta in laboratorio dai ceppi 77/I03 e 32/ITT.
Il rilascio di specie reattive dell'ossigeno (ROS) è stato promosso, rispetto alle colture di leucociti non stimolati, dal PMA e, in misura minore, da *M. luteus*. L'incubazione delle cellule con LPS e con il vaccino commerciale è apparsa ininfluente. Sono state inoltre evidenziate differenze nella cinetica di rilascio delle specie reattive dell'ossigeno, in funzione del tipo di sostanza stimolante utilizzata.
Inoltre l'analisi della chemiluminescenza, condotta su leucociti purificati da soggetti di controllo a diversi stadi di sviluppo (da 95 a 291 gg post schiusa), stimolati con i mitogeni PMA e *M. luteus*, ha rivelato una acquisizione di funzionalità, in termini di rilascio di prodotti reattivi dell'ossigeno, negli stadi più avanzati di crescita.

EPISODIO DI MORTALITÀ IN PESCI DELLE ISOLE MALDIVE

Fioravanti M.L.[1], Florio D.[1], Caffara M.[1], Konecny R.[2], Prearo M.[3], Quaglio F.[4], Kikinger R.[5]

[1] Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna; Ozzano Emilia (BO); [2] Department of Freshwater Ecology University of Vienna, Austria; [3] Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle D'Aosta, Torino; [4] Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova; Legnaro (PD); [5] Bio Station Kuramathi, Rasdhoo Atoll, Maldives.

Scopo della ricerca è stato individuare l'eziologia di due episodi di elevata mortalità verificatisi nell'estate e nel mese di dicembre 2007 in pesci di alcuni atolli delle isole Maldive. Sui campioni ittici pervenuti in laboratorio sono stati condotti esami necroscopici, parassitologici, batteriologici ed istopatologici. Sono stati esaminati 1 *Scarus ghobban* (Scaridae), 1 *Aphareus* sp. (Lutjanidae), 11 *Odonus niger* (Balistidae) spiaggiati e 2 esemplari moribondi di quest'ultima specie. Sono state inoltre condotte indagini tossicologiche per la ricerca di arsenico, cadmio, cromo, mercurio e piombo.
Al verificarsi della mortalità sono stati rilevati i parametri ambientali: temperatura, ossigeno disciolto, pH e conducibilità elettrica. L'esame parassitologico ha evidenziato la presenza di metacercarie di Trematodi Digenei nel cristallino e di un nematode a livello intestinale in *Aphareus* sp., e di crostacei Copepodi a livello branchiale e Microsporidi a livello renale in *O. niger*. L'esame batteriologico ha permesso l'isolamento di *Streptococcus iniae* in *S. ghobban* e in *Aphareus* sp. All'esame virologico, condotto mediante RT-PCR, solo *S. ghobban* è risultato positivo per *Betanodavirus*. All'esame istopatologico, sebbene fossero presenti fenomeni degenerativi post-mortali, sono state osservate alla colorazione di Gram, in *S. ghobban* e in un soggetto di *O. niger*, piccole colonie batteriche Gram positive di forma ovoidale o sferica disposte a catenella, riferibili a streptococchi. L'esame tossicologico ha evidenziato livelli di metalli pesanti nella norma.
I parametri ambientali rientravano anch'essi nella norma: temperatura 27,2-29,0°C, pH 8,2, conduttività 49,66-50,9 mS/cm, ossigeno disciolto 5,3-5,9 mg/l.
La presenza dei parassiti nei pesci esaminati a bassi livelli d'infestazione, così come il riscontro di *Betanodavirus* in un unico soggetto, non sarebbero responsabili dell'episodio morboso osservato. L'isolamento di *Streptococcus iniae* appare invece interessante in quanto rappresenterebbe uno dei patogeni di più importante riscontro nelle specie ittiche sia dulciacquicole che marine.
Dai risultati ottenuti si può evincere quindi che l'agente eziologico responsabile del grave episodio di mortalità descritto possa essere *S. iniae* in associazione con altri fattori biotici e abiotici; inoltre essendo agente di zoonosi si rendono necessarie ulteriori indagini sulla presenza di questo patogeno nelle acque delle isole Maldive alla luce dell'estrema importanza delle attività turistiche di queste aree geografiche.

PRESENZA DI MICOBATTERI ATIPICI IN UNA POPOLAZIONE DI CEFALI DEL MAR LIGURE ORIENTALE

Giorgi I., Ercolini C.*, Pezzolato M., Varello K., Gallo F.*, Bozzetta E., Pavoletti E., Prearo M.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta; Via Bologna, 148 – 10154 Torino; * Sezione di La Spezia, Via degli Stagnoni, 96 – 19100 La Spezia.*

Gli isolamenti di micobatteri atipici in materiale ittico sul nostro territorio, risultano essere ancora molto scarsi; non sono stati condotti, fino ad oggi, sufficienti piani di monitoraggio atti a rilevare la loro eventuale presenza in popolazioni selvatiche, sia dulciacquicole che marine. Le segnalazioni effettuate sul territorio nazionale si basano essenzialmente su reperti occasionali o più frequentemente su episodi conclamati in situazioni di allevamento, ma non esiste una ricerca sistematica sulla fauna ittica selvatica che possa tracciare la reale situazione epidemiologica. A tal scopo è stato intrapreso un monitoraggio a partire dal maggio e fino ad agosto 2008, con prelievi a cadenza mensile, su cefali appartenenti alle specie *Mugil cephalus* e *Liza aurata* prelevati dalla zona costiera di Bocca di Magra nel comune di Amelia (SP). Su tutti i soggetti pescati si è condotto l'esame anatomopatologico, un esame colturale (su terreni di primo isolamento come Agar sangue e Marine Agar con prelievo da rene e milza) e un esame colturale su terreni selettivi per la ricerca di Micobatteri (da fegato); inoltre si è approntato un esame istologico di porzioni di fegato e di milza per l'eventuale evidenziazione di granulomi. I campioni di fegato avviati all'esame colturale per la ricerca di micobatteri, sono stati omogenati in stomacher, decontaminati con cetylpiridinium, centrifugati e infine seminati su tubi di Löwenstein-Jensen e Stonebrink. I terreni sono stati incubati ad una temperatura di 28±2°C fino allo sviluppo di colonie, oppure, in assenza di crescita, per sessanta giorni dalla data di semina. Tutte le colonie sviluppatesi sono state colorate con il metodo Ziehl-Neelsen (ZN) e quelle risultate acido-alcool resistenti trapiantate per la successiva identificazione. La caratterizzazione fenotipica è stata eseguita valutando la morfologia, la temperatura e la velocità di crescita, la capacità di produrre pigmento e la fotoinduzione. Inoltre, su ogni ceppo si sono eseguiti i seguenti test biochimici: arilsulfatasi a 3 e 14 giorni, crescita su MacConckey senza cristalvioletto, riduzione dei nitrati, capacità di idrolisi del Tween 80, catalasi semiquantitativa, crescita su terreno con il 5% di NaCl, ureasi, mannitolo, inositolo e citrato di sodio. Per l'esame istologico, i campioni prelevati in sede autoptica e fissati in formalina, sono stati inclusi in paraffina e tagliati al microtomo in sezioni di 4±2 µ di spessore a diversi livelli. In parte sono stati destinati alla colorazione con Ematossilina-Eosina e in parte alla colorazione ZN. Sui 146 esemplari esaminati, 61 sono risultati positivi all'esame colturale per Micobatteri (41,8%) con l'identificazione di 19 *Mycobacterium fortuitum*, 15 *M. abscessus*, 7 *M. flavescens*, 2 *M. chelonae* e 8 per *Mycobacterium* spp. Tuttora 10 sono in corso di identificazione. All'esame istologico, solamente su 12 esemplari è stato possibile mettere in evidenza la presenza di lesioni granulomatose a livello soprattutto di milza, con positività marcata alla colorazione di ZN. I risultati di questo monitoraggio preliminare, su cefali di una ben determinata zona costiera, hanno evidenziato che la percentuale di pesci interessati da Micobatteriosi ittica è elevata e si attesta grossomodo sui valori riscontrati per le specie ornamentali. I risultati ottenuti da questo lavoro possono essere valutati come spia della presenza dell'infezione tubercolare anche nell'ambiente delle acque libere; inoltre, la dimostrata patogenicità di specie un tempo considerate saprofite, deve fare riflettere sull'insidiosità di questi micobatteri, sia per i pesci sia per l'uomo.

DESCRIZIONE DI UN FOCOLAIO DI MICOBATTERIOSI DA *MYCOBACTERIUM MARINUM* IN TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) CARATTERIZZATO DA ELEVATA MORTALITA'

Salogni C.[1], Cervellione F.[2], Zanoni M.[1], Gelmetti D.[1], Alborali G.L.[1]

[1]*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia;* [2]*Skretting Italia, Mozzecane (VR).*

La Micobatteriosi ittica è stata rilevata in un ampio numero di specie acquatiche in tutto il mondo sia in pesci d'allevamento che selvatici, d'acqua dolce o salata. Nell'episodio riportato è descritto un focolaio di micobatteriosi ittica da *Mycobacterium marinum* in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) all'ingrasso allevati intensivamente in un impianto di acquacoltura alimentato con acqua di fiume.
La patologia, comparsa nell'estate del 2007, era caratterizzata da un quadro clinico aspecifico con anoressia, letargia, esoftalmo e melanosi cutanea. L'acqua presentava una temperatura variabile tra i 18 e 22°C. I pesci in questione erano stati vaccinati 21 giorni antecedenti all'insorgenza dell'evento morboso con vaccino adjuvato stabulogeno verso *Lactococcus garvieae* per via intraperitoneale.
La mortalità era caratterizzata da un'entità dell'1-2% giornaliero e si è protratta per tutta l'estate fino alla perdita del 95% dell'intero stock ittico interessato (10 tonnellate circa).
Gli esemplari pervenuti al laboratorio sono stati sottoposti a esame anatomopatologico che ha evidenziato epatomegalia, lieve spleno-nefromegalia nonché la presenza di lesioni nodulari grigiastre, di dimensioni variabili da pochi millimetri ad un centimetro, alcune con margini netti altre sfumati, localizzate prevalentemente in sede epatica, splenica e renale.
La diagnosi differenziale si è posta tra le patologie in grado di determinare lesioni granulomatose e/o nodulari come la Nefrite Batterica, micosi sistemiche, Malattia Proliferativa Renale ed alle patologie di origine non infettiva quali nefrocalcinosi e neoplasie.
I campioni sono stati poi sottoposti a esami routinari parassitologici microscopici a fresco e dopo colorazione, colturali da visceri su Agar sangue e TSA e KDM2, micologici microscopici e colturali (Sabouraud solido e brodo) e virologici su monostrato cellulare (BF-2 e RTG-2). Sugli organi con lesioni si è eseguito l'esame istologico.
La ricerca dei micobatteri, da pool di organi (fegato, rene e milza), ha previsto le seguenti fasi: omogeneizzazione, decontaminazione (idrossido di sodio al 4%), esame colturale su terreni specifici solidi a base di rosso d'uovo (Löwestein-Jensen e Stonebrink) preparati a becco di clarino ed incubati in aerobiosi a 22 e 37°C per 42 giorni, ed infine identificazione (Biochimica, PCR e sequenziamento RNAr 16s).
L'esame istologico ha consentito di individuare il carattere granulomatoso delle lesioni riscontrate e la presenza di batteri alcol-acido resistenti.
L'esame colturale per i micobatteri ha dato esito positivo con isolamento e tipizzazione di *Mycobacterium marinum*. I restanti esami hanno dato esito negativo.
Fattori stressanti quali la vaccinazione effettuata e le elevate temperature registrate nell'impianto possono aver ragionevolmente favorito l'andamento particolarmente "virulento" e la diffusione dell'infezione nell'episodio morboso descritto.
La distruzione di tutti i pesci sopravvissuti, unitamente a un vuoto sanitario protratto e a un'accurata operazione di disinfezione ha evitato la ricomparsa della malattia.

ISOLAMENTO DI *MYCOBACTERIUM MARINUM* DA LESIONI GRANULOMATOSE IN CARPE (*CYPRINUS CARPIO*) DA RIPOPOLAMENTO

Salogni C., Zanoni M., Tagliabue S., Pacciarini M.L., Giovannini S., Alborali G.L.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia.

La Micobatteriosi ittica è stata rilevata in un ampio numero di specie acquatiche in tutto il mondo sia in pesci d'allevamento che selvatici, d'acqua dolce o salata.
Sul territorio italiano tale patologia è stata riscontrata oltre che su specie acquatiche ornamentali anche su quelle allevate a scopo alimentare fra cui la trota iridea, la trota fario, la spigola ed il persico spigola.
Nel caso riportato è descritto il riscontro di lesioni granulomatose causate da *Mycobacterium marinum* in carpe (*Cyprinus carpio*) destinate ad immissione in acque pubbliche.
Gli esemplari pervenuti al laboratorio, trovati morti nelle vasche di trasporto durante le operazioni di semina, sono stati sottoposti a esame anatomopatologico che ha evidenziato la presenza di lesioni ulcerose cutanee e nodulari grigiastre, di dimensioni variabili da pochi millimetri mezzo centimetro, localizzate prevalentemente in sede epatica, splenica e renale.
La diagnosi differenziale si è posta tra le patologie in grado di determinare lesioni granulomatose e/o nodulari come le micosi sistemiche, le infestazioni parassitarie (*Acanthamoeba* sp., *Hoferellus* sp., *Sphaerospora* sp., ecc.) e le patologie non infettiva quali nefrocalcinosi e neoplasie.
I campioni sono stati sottoposti ad esami routinari parassitologici, colturali da visceri su Agar sangue e TSA micologici microscopici e colturali (Sabouraud solido e brodo) e virologici su monostrato cellulare (BF-2 ed EPC). Sugli organi con lesioni è stato eseguito l'esame istologico.
La ricerca dei micobatteri, da pool di organi (fegato, rene e milza), ha previsto le seguenti fasi: omogeneizzazione, decontaminazione (idrossido di sodio al 4%), esame colturale su terreni specifici solidi a base di rosso d'uovo (Löwestein-Jensen e Stonebrink) preparati a becco di clarino ed incubati in aerobiosi a 22 e 37°C per 42 giorni, ed infine identificazione (Biochimica, PCR e sequenziamento RNAr 16s).
Di tutti gli esami eseguiti solo quello colturale per i micobatteri ha dato esito positivo con isolamento e tipizzazione di *Mycobacterium marinum*. L'esame istologico ha consentito di individuare il carattere granulomatoso delle lesioni riscontrate nonché la presenza di batteri alcol-acido resistenti.
L'episodio descritto rappresenta un'ulteriore segnalazione sul territorio nazionale della presenza di *Mycobacterium marinum* in specie ittiche allevate e potenzialmente destinate a produrre alimenti quali la carpa. La diffusione di agenti patogeni come i micobatteri in acque pubbliche attraverso ripopolamenti deve essere attentamente valutata e monitorata al fine di evitare rischi per la salute pubblica e per l'ittiofauna selvatica.

ASPETTI VETERINARI E DI SANITÀ PUBBLICA NELL'ALLEVAMENTO DELLA TILAPIA (*OREOCHROMIS NILOTICUS*) IN KENYA

Florio D.[1], Fioravanti M.L.[1], Gustinelli A.[1], Turci F.[1], Konecny R.[2], Nikowitz T.[3], Wathuta E.M.[4], Magana A.[4], Otachi E.O.[4], Matolla G.K.[4], Warugu H.W.[4], Liti D.[5], Mbaluka R.[6], Thiga B.[6], Waidbacher H.[7]

[1] Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Bologna University, Ozzano Emilia (BO), Italy; [2] Environment Agency, Vienna, Austria; [3] Dept. Freshwater Ecology, Vienna University, Austria; [4] Egerton University, Kenya; [5] Moi University, Kenya; [6] Dept. Fisheries, Kenya; [7] Dept. Water, Atmosphere, Environment, Vienna University, Austria.

Nell'ambito del progetto europeo "Integrating BOMOSA cage fish farming system in reservoirs, ponds and temporary water bodies in Eastern Africa", si è condotto uno studio sui fattori sanitari di carattere strettamente veterinario e di potenziale interesse in sanità pubblica che possono interessare l'allevamento della tilapia (*Oreochromis niloticus*) in Kenya. Nell'arco dei primi due anni del progetto sono state sottoposte ad esami necroscopici e parassitologici 637 tilapie conducendo, quando ritenuto opportuno, esami istologici e batteriologici. Sul totale dei soggetti esaminati, 53 erano soggetti selvatici, 420 provenivano da bacini in terra e 164 da gabbie galleggianti approntate secondo il sistema "BOMOSA". La presenza di parassiti è stata individuata in 544 (85,4%) dei soggetti esaminati ed in particolare in 43 (81,1%) dei soggetti selvatici, 363 (86,4%) dei soggetti allevati in bacini in terra e 138 (84,1%) di quelli allevati in gabbia. Nel corso dell'indagine sono stati isolati i seguenti parassiti: metacercarie di digenei Diplostomatidae (46,5%), *Trichodina* spp. (28,6%), monogenei Dactylogyridae (22,6%), *Trichodinella* spp. (11,1%), *Myxobolus* spp. (8,9%), metacercarie di digenei Clinostomatidae (8,8%), peritrichi sessili (7,7%), *Acanthosentis tilapiae* (7,4%), Black Spot disease (6,4%), crostacei Copepoda (4,5%), monogenei Gyrodactylidae (3,9%), *Sphaerospora* spp. (3,9%), *Cryptobia branchialis* (2,3%), cestodi larvali del genere *Amirthalingamia* (2,2%), larve di nematodi del genere *Contracaecum* (1,7%), metacercarie di digenei Euclinostomatidae (1,6%), *Ichthyobodo* spp. (0,5%), coccidi (0,2%). Metacercarie non identificate sono state inoltre trovate in diversi distretti nel 9% dei soggetti esaminati. La composizione della parassitofauna non ha mostrato differenze di rilievo tra soggetti selvatici ed allevati, ad eccezione degli ectoparassiti (protozoi e monogenei) che sono stati riscontrati con più alte prevalenze ed intensità d'infezione nelle tilapie d'allevamento. Per quanto concerne i possibili risvolti in sanità pubblica, fra i parassiti riscontrati vanno posti in evidenza i digenei Clinostomatidae ed i nematodi Anisakidae del genere *Contracaecum*, potenzialmente patogeni per l'uomo qualora i prodotti ittici parassitati fossero consumati crudi o poco cotti. Gli esami batteriologici condotti per individuare le cause di frequenti mortalità osservate nel corso del trasporto di avannotti in allevamento e per valutare lo stato sanitario di tilapie allevate in gabbia hanno permesso di isolare esclusivamente batteri opportunisti quali *Acinetobacter* spp., *Chryseobacterium* spp., *Pseudomonas* spp. e *Aeromonas* spp. a livello sistemico e Flavobacteriaceae dalle lesioni cutanee.

Acknowledgements. The BOMOSA project (Contract no. 032103) is a research project supported by the European Commission under the Sixth Framework Programme. Coordinator: Prof. H. Waidbacher.

PRESENZA DI *BONAMIA OSTREAE* E *BONAMIA EXITIOSA* IN OSTRICHE PIATTE (*OSTREA EDULIS*) PROVENIENTI DAL GOLFO DI MANFREDONIA, MARE ADRIATICO.

Narcisi V., Cargini D., Mosca F., Calzetta A., Traversa D., Tiscar P.G.

Dipartimento di Scienze Biomediche Comparate, P.zza Aldo Moro, 64100, Teramo, Italia.

L'ostrica piatta *Ostrea edulis*, specie presente nel Mediterraneo, risulta ampiamente distribuita lungo i fondali delle coste adriatiche ove costituisce oggetto di pesca e, in alcuni casi, di azioni di molluschicoltura.
La normativa comunitaria vigente (Direttiva 2006/88/CE) cita nell'elenco delle malattie dei molluschi soggette a condizioni di polizia sanitaria, tra le malattie esotiche, l'infezione da *Bonamia exitiosa* per le specie *Ostrea angasi* e *Ostrea chilensis* e, tra le malattie non esotiche, l'infezione da *Bonamia ostreae* per un gruppo di molteplici specie compresa *Ostrea edulis*: entrambi i patogeni possono causare anche elevatissimi tassi di mortalità nelle comunità di ostriche colpite.
Negli anni passati, campionamenti di ostriche piatte provenienti dall'Adriatico settentrionale e dall'Adriatico meridionale (Golfo di Manfredonia) hanno rilevato, a livello microscopico ed ultrastrutturale, la presenza di parassiti appartenenti al genere *Bonamia* rispettivamente in 8 soggetti ed in 1 soggetto. Sulla base di questi dati, un nuovo campionamento di ostriche piatte originarie del Golfo di Manfredonia, è stato condotto durante il 2007.
Gli individui di ostriche sono stati campionati nei mesi di Febbraio, Maggio, Luglio, Settembre e Novembre 2007 (n=150/mese). La ricerca del parassita è stata effettuata utilizzando metodiche citologiche, istologiche, molecolari e ultrastrutturali.
In tre soggetti, prelevati rispettivamente in Luglio, Settembre e Novembre, si evidenziavano, all'indagine citologica ed all'esame istologico, piccoli organismi nucleati intra ed extracellulari.
Lo studio ultrastrutturale effettuato su un campione mostrava alcune caratteristiche tipiche dei parassiti appartenenti al gruppo di *B. exitiosa*. Le successive analisi molecolari confermavano la presenza di sequenze genomiche specifiche di *B. exitiosa* in due campioni, mentre in un mollusco si poteva dimostrare la presenza di sequenze tipiche di *B. ostreae*.
Indagini retrospettive svolte sui campioni di ostriche conservati in blocchetti di paraffina ed appartenenti agli individui ritrovati positivi nel passato, accertavano la presenza di DNA della specie *B. ostreae* sia nei campioni collezionati nel Nord Adriatico che in quelli dell'Adriatico meridionale.
Lo studio effettuato indica l'esistenza di patogeni appartenenti al genere *Bonamia* nel Mare Adriatico, confermando la presenza di *B. ostreae* già da molti anni. In aggiunta, la ricerca ha rilevato *B. exitiosa* in *Ostrea edulis*, evidenziando sia l'esistenza di una specie esotica nel Mar Adriatico che la presenza della stessa nell'ostrica piatta europea.
Ulteriori indagini sono dunque necessarie al fine di valutare l'influenza di *Bonamia* spp. sui banchi naturali di ostriche nell'ambito delle specifiche condizioni ambientali del Mare Adriatico con lo scopo di garantire una corretta gestione e valorizzazione della risorsa.

DESCRIZIONE DI *LOMA ACERINAE* (MICROSPORIDIA) IN GOBIDI PESCATI NEL MAR ADRIATICO

Paladini G.[1], Florio D.[1], Caffara M.[1], Gustinelli A.[1], Quaglio F.[2], Fioravanti M.L.[1]

[1] Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna; Ozzano Emilia (BO); [2] Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova; Legnaro (PD).

A seguito di episodi di microsporidiosi intestinale osservati in spigole (*Dicentrarchus labrax*) d'allevamento ed alla luce di infezioni similari rilevate in passato in gobidi del Mar Adriatico, nel 2008 si è condotto uno studio parassitologico volto a verificare il possibile ruolo dei gobidi quali ospiti naturali dell'infezione. Cinque soggetti di *Gobius niger* e 3 di *G. paganellus* pescati lungo la costa dell'Emilia Romagna sono stati sottoposti ad esame necroscopico e parassitologico. I microsporidi individuati sono stati sottoposti ad identificazione su base morfologica seguendo le chiavi riportate da Canning & Lom (1986) e Lom & Dyková (1992). Porzioni di intestino positive per microsporidi sono state in parte fissate in formalina tamponata al 10% per l'esame istologico ed in parte sottoposte a PCR impiegando primers specifici per microsporidi (18F_f: 5'-CACCAGGTTGATTCTGCC-3'; 1492_r: 5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3') che amplificano una porzione del 16S rRNA. Il prodotto di PCR è stato sottoposto a sequenziamento e la sequenza ottenuta analizzata mediante BLAST. L'analisi molecolare è stata condotta seguendo la stessa procedura anche su microsporidi isolati dall'intestino di spigole parassitate. Un soggetto di *Gobius niger* ed uno di *G. paganellus* sono risultati positivi per la presenza di microsporidi a livello intestinale. In entrambi i soggetti all'esame stereomicroscopico del tratto intestinale si rilevava la presenza di formazioni biancastre rotondeggianti di diametro compreso tra 300 e 450 μm, all'interno delle quali l'esame microscopico a forte ingrandimento permetteva di evidenziare la presenza di spore riferibili morfologicamente a microsporidi. Le spore osservate presentavano forma ovoidale con estremità anteriore affusolata ed un vacuolo posteriore cospicuo che raggiungeva la metà del corpo della spora. All'esame istologico le formazioni cistiche osservate a fresco si rilevavano xenomi, che si caratterizzavano per la persistenza del nucleo della cellula ospite che appariva ipertrofico e/o frammentato, dalla presenza di una parete eosinofila, dalla coesistenza di stadi di sviluppo del parassita frammisti a spore mature. Per quanto concerne *G. paganellus*, gli xenomi apparivano diffusi prevalentemente nella lamina propria, con atrofia dell'epitelio della mucosa ed apparivano ben isolati gli uni dagli altri, mentre in *G. niger* erano presenti anche nella sottomucosa intestinale e spesso apparivano coalescenti e/o aggregati. La parete dello xenoma si presentava eosinofila e circondata da un sottile strato di cellule appiattite. In corrispondenza degli xenomi, anche quando maturi, non si osservavano reazioni infiammatorie. La morfologia e le dimensioni delle spore, così come la localizzazione e la formazione di xenomi relativamente grandi hanno fatto riferire i microsporidi reperiti al genere *Loma*. La comparazione mediante BLAST della sequenza ottenuta (1185 bp), ha restituito un'identità del 99,9% con la specie *Loma acerinae* (Jírovec, 1930) Lom & Pekkarinen, 1999, mentre l'analisi condotta sui microsporidi della spigola ha escluso la loro identità con questa specie, non permettendo in questo caso di confermare il ruolo dei gobidi quale serbatoio dell'infezione. La specie *L. acerinae*, descritta finora in pesci selvatici dulciacquicoli della famiglia Percidae in Finlandia, rappresenta una nuova segnalazione per quanto concerne i gobidi ed il territorio italiano.

PRESENZA DI STADI ACTINOSPOREI DI PARASSITI MYXOZOA IN POPOLAZIONI DI OLIGOCHETI DEL FIUME NERA (UMBRIA)

Caffara M., Marcucci C.[1], Di Veroli A.[1], Fabrizi A.[1], Goretti E.[1]

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO); [1] Dipartimento di Biologia Cellulare ed Ambientale, Università di Perugia.

Nonostante negli ultimi anni in Italia si sia osservata una crescente attenzione nei confronti delle malattie parassitarie sostenute da organismi del phylum Myxozoa nelle specie ittiche marine e dulciacquicole, ancora scarse sono le informazioni inerenti il loro complesso ciclo biologico ed in particolare la fase che avviene all'interno di organismi bentonici, solitamente oligocheti, che esita nella formazione di actinospore, stadio infettante per l'ospite vertebrato.
Al fine di verificare la presenza di stadi actinosporei in oligocheti provenienti dal bacino del Fiume Nera (Italia Centrale), in cui sono presenti sia popolazioni selvatiche di trota fario (*Salmo trutta*) che allevamenti di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), nel periodo Aprile 2005-Aprile 2007 sono stati raccolti ed esaminati 2792 oligocheti.
Il primo campionamento è stato condotto in 24 stazioni ubicate a monte e a valle i 12 impianti di troticoltura presenti nel comprensorio della Valnerina Umbra. I campionamenti successivi (Dicembre 2005, Marzo, Luglio, Ottobre 2006 e Aprile 2007) hanno riguardato solo le 4 stazioni in cui gli oligocheti raccolti sono risultati positivi per actinospore. Gli oligocheti campionati sono stati separati dal sedimento, suddivisi in base alla presenza/assenza di setole capillari e posti in piastre multiple da 24 pozzetti come descritto da Yokoyama *et al.* (1991, J. Parasitol 81: 446-451). Ciascuna piastra è stata esaminata ogni 2-3 giorni per la presenza di actinospore per un periodo di circa 2 mesi. Gli oligocheti positivi sono stati tagliati in due parti; l'anteriore, è stata utilizzata per la determinazione tassonomica mentre la posteriore è stata fissata in formalina tamponata al 10% per la conduzione dell'esame istologico. Le actinospore rilasciate sono state identificate sia morfologicamente che mediante PCR.
Dei 2792 oligocheti raccolti 1068 erano lumbriculidi, di questi 73 (6,8%) hanno rilasciato actinospore morfologicamente riferibili al gruppo collettivo Echinactinomyxon, tranne nel caso di un unico esemplare di lumbriculide, raccolto in Aprile 2007, che ha rilasciato actinospore morfologicamente riferibili al gruppo collettivo Aurantiactinomyxon.
Entrambe le tipologie di actinospore sono state sottoposte ad indagine molecolare mediante amplificazione della SSU rDNA con nested PCR. Il prodotto di PCR è stato sequenziato e le sequenze ottenute analizzate mediante BLAST. Le actinospore del morfotipo Echinactinomyxon hanno evidenziato una identità del 95% con *Myxobolus neurotropus* (DQ846661) descritto nel cervello di *Oncorhynchus mykiss*, mentre il morfotipo Aurantiactinomyxon ha mostrato il 99,8% d'identità con *Chloromyxum truttae*/Aurantiactinomyxon pavinsis segnalati in *Salmo trutta*/*Stylodrilus heringianus*.
Ulteriori indagini sulle popolazioni ittiche presenti in questo areale sono necessarie al fine di verificare la presenza di stadi myxosporei e di correlarli agli stadi actinosporei identificati nel corso di questa ricerca.

TIPIZZAZIONE DELL'INFILTRATO CELLULARE NELLE ENTERITI DA *ENTEROMYXUM LEEI* IN SARAGO PIZZUTO (*DIPLODUS PUNTAZZO*)

Beraldo P., Volpatti D., Bulfon C., Picco R., Galeotti M.

Dipartimento di Scienze Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Udine.

Enteromyxum leei è un mixosporidio istozoico, agente eziologico di gravi enteriti parassitarie di diverse specie ittiche marine. In sarago pizzuto (*Diplodus puntazzo*) la malattia parassitaria ha generalmente un andamento acuto con elevati tassi di mortalità, soprattutto nei soggetti durante il primo anno di produzione (fase acuta della malattia a fine estate). Da studi condotti di recente, nell'ambito del progetto finalizzato allo studio di fattori limitanti la produzione del sarago pizzuto, nel corso della malattia, i quadri anatomopatologici a livello enterico erano caratterizzati da un imponente infiltrato cellulare della lamina propria e della sottomucosa, accompagnati da fenomeni iperplastici a carico dell'epitelio intestinale. I quadri infiammatori osservati erano riconducibili a enterite proliferativa (fase acuta dell'infezione) ed enterite linfocitaria cronica profonda (fase cronica dell'infezione). Per definire i contorni istopatologici dei quadri osservati, è stato affrontato uno studio preliminare istochimico ed immunoistochimico per descrivere e tipizzare l'infiltrato cellulare nelle enteriti causate da *E. leei* in sarago pizzuto.
Da soggetti affetti da enteromixosi sono state ottenute sezioni in paraffina di intestino, fissato in soluzione di Bouin, le quali sono state colorate con ematossilina-eosina e caratterizzate tramite le colorazioni di Twort (Gram), Giemsa, PAS (o PAS-alcian blu), tricromica di Masson, Cleveland e Blu di toluidina. Il protocollo della valutazione istologica ha previsto la stima delle cellule granulari eosinofiliche/mastociti (numero medio di cellule per campo a 400 ingrandimenti, a livello della tonaca propria in porzioni di intestino) e i parametri di infiltrazione cellulare: il tipo cellulare, la distribuzione tissutale e il tipo strutturale. Su sezioni in paraffina di intestino è stata valutata l'immunoreattività cellulare nei confronti di 4 anticorpi, GM-CFSRα (C-18), IL-1β v(H-153), CD35 (CR1) e CD16 (H-80) (Santa Cruz Biotechnology, Inc), al fine di tipizzare l'infiltrato cellulare descritto nelle enteriti. I quadri di enterite osservati sono contraddistinti da un imponente infiltrato linfocitaria (con scarsa presenza di plasmacellule), da mastociti (cellule granulari eosinofiliche), granulociti eosinofili e macrofagi. Topograficamente, tramite la colorazione di Cleveland, i mastociti sono diffusi e/o formano densi strati nella lamina propria e nella sottomucosa, assumendo talvolta aspetto pervasale nella tonaca muscolare e si localizzano a livello sub- e intraepiteliale quale prima difesa aspecifica nei confronti dei vari stadi parassitari. I granulociti eosinofili infiltrano maggiormente la sottomucosa e spesso sono pervasali; inoltre queste cellule infiltranti sono frequentemente diffuse tra gli adipociti del grasso periviscerale e gli acini pancreatici. Il pannello anticorpale utilizzato ha messo in evidenza un "pattern" di immunoreattività che sarà discusso.

EPISODIO DI MORTALITÀ DA *SCIAENOCOTYLE PANCERI* (MONOGENEA: MICROCOTYLIDAE) IN OMBRINA BOCCADORO *ARGYROSOMUS REGIUS* ALLEVATA IN SARDEGNA

Merella P.[1], Cherchi S.[2], Quaglio F.[3], Fioravanti M.L.[3], Gustinelli A.[3] Garippa G.[1], Salati F.[2]

[1] Sezione di Parassitologia e Malattie Parassitarie, Dipartimento di Biologia Animale, Università di Sassari; [2] Centro per l'Ittiopatologia e l'Acquacoltura, Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna; [3] Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO).

L'ombrina boccadoro (*Argyrosomus regius*) è un pesce bentopelagico diffuso nell'Atlantico centro-orientale, nel Mar Mediterraneo e nel Mar Nero, che per le sue caratteristiche di rapido accrescimento e la buona qualità delle carni rappresenta una delle specie alternative di maggiore interesse per la maricoltura mediterranea. Nel settembre 2007 si è assistito ad un episodio di mortalità a carico di uno stock di ombrine boccadoro importate dalla Francia ed ingrassate in un impianto di gabbie offshore della Sardegna nord-orientale. Il lotto derivava dall'unione di due differenti semine (Peso=8,3 g), effettuate in agosto 2005 (G1, N=93442) e luglio 2006 (G2, N=45000), poi riunite in un'unica gabbia in maggio 2007. La difformità di taglia rendeva comunque distinguibili i soggetti dei due gruppi anche una volta riuniti. Nel settembre 2007 i pesci hanno iniziato a manifestare segni aspecifici quali letargia e cachessia, con una mortalità a stillicidio, che si è protratta per circa due mesi. La mortalità totale è stata valutata intorno al 5% esclusivamente a carico del gruppo di taglia maggiore. Da settembre 2007 a gennaio 2008, 65 soggetti di taglia compresa tra 240 e 1100 g sono stati prelevati e sottoposti ad esame parassitologico, batteriologico, virologico ed istopatologico. Nel periodo in cui si manifestava la patologia, la temperatura dell'acqua a 1 m di profondità era compresa tra 21 e 24°C, con salinità tra 37 e 38‰. Gli esami virologico e batteriologico sono risultati entrambi negativi. All'esame parassitologico è stata rilevata la sola presenza a livello branchiale di una specie di monogeneo microcotilide, *Sciaenocotyle panceri*, con altissimi livelli di infestazione (P=100%, Range I=70-1000) nel settembre 2007, che progressivamente si sono ridotti nei mesi successivi. All'esame necroscopico le branchie apparivano anemiche, con ipersecrezione mucosa e invase da parassiti, da cui si staccavano lunghi grappoli di uova giallastre. Gli organi viscerali, in particolare fegato, cuore e milza, apparivano anemici. All'osservazione istopatologica si confermava la presenza di grave anemia branchiale, con emorragie e assenza di eritrociti nei capillari delle lamelle. Nel punto di adesione del parassita le lamelle apparivano degenerate ed in alcuni casi amputate. Gli organi viscerali mostravano segni di anemia meno evidenti. L'episodio descritto rappresenta la prima segnalazione di infestazione da *S. panceri* in ombrine boccadoro in ambiente di allevamento. *Sciaenocotyle panceri* è un parassita comune in *Umbrina cirrosa*, con un'unica precedente segnalazione in ombrine boccadoro selvatiche del Mediterraneo. A differenza di altri microcotilidi, parassiti descritti in letteratura come ematofagi, nei campioni di *S. panceri* esaminati non è stata messa in evidenza attività ematofagica, mentre l'azione anemizzante veniva prodotta in seguito alla rottura dei filamenti branchiali da parte delle strutture di adesione (clamps) dell'organo di attacco (haptor) del parassita. I differenti livelli di infestazione, virulenza e mortalità riscontrati nei due gruppi non sono di facile interpretazione. Si può ipotizzare la pre-esistenza del parassita nei pesci G1 e la trasmissione a quelli di taglia minore (G2) in seguito alla coabitazione nella stessa gabbia. Le interessanti potenzialità che l'ombrina boccadoro presenta come specie innovativa in maricoltura rende estremamente importante lo studio degli agenti patogeni in grado di determinare problematiche sanitarie e commerciali in questa specie ittica, oltre che la messa a punto di opportune strategie di profilassi volte ad impedirne la diffusione.

PRESENZA DI *GASTROLECITHUS PLANUS* (CESTODA: PHYLLOBOTHRIIDAE) IN *CETORHINUS MAXIMUS* (CONDROICHTHYES: SQUALIDAE) DEI MARI ITALIANI

Cusimano M.[1], Macrì D.[1], Gustinelli A.[2], Randazzo V.[1], Fioravanti M.L.[2], Ferrantelli V.[1], Castiglione F.[1]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo; [2] Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO).

Lo squalo elefante *Cetorhinus maximus* Gunnerus, 1765 (Famiglia Cetorhinidae) rappresenta uno dei più grandi squaliformi descritti al mondo, potendo raggiungere la lunghezza massima di 15 m ed un peso di 8 tonnellate. E' una specie innocua per l'uomo e ben conosciuta lungo le coste dei mari italiani sebbene le segnalazioni della sua presenza siano poco frequenti. Poter disporre quindi di un esemplare in buono stato di conservazione per condurre indagini di tipo parassitologico rappresenta un evento di estrema singolarità e rilievo. Nel Febbraio 2008 è rimasto ammagliato in reti da posta fissa nei pressi di S. Nicola l'Arena, marineria facente capo al Comune di Palermo, un soggetto maschio di 6,55 m di lunghezza. Le notevoli dimensioni dello squalo hanno costretto gli autori a condurre l'indagine autoptica in loco, conferendo successivamente presso il Laboratorio di Ittiopatologia dell'IZS della Sicilia il campione di visceri per la conduzione dell'esame parassitologico. Il presente lavoro ha il fine di implementare i dati pregressi relativi alla parassitofauna di elasmobranchi del Golfo di Palermo.

I parassiti reperiti sono stati puliti in soluzione fisiologica, fissati in etanolo 70°, chiarificati in lattofenolo di Amman, quindi sottoposti ad osservazione microscopica ed al rilevamento delle caratteristiche morfometriche utili all'identificazione di specie. Alcuni parassiti sono stati colorati con carminio boracico, al fine di caratterizzare la disposizione e la morfologia degli apparati sessuali; 2 soggetti sono stati processati per le indagini al SEM.

L'indagine ha evidenziato la presenza nello stomaco di circa 20 esemplari adulti di cestodi Tetraphyllidea, identificati come appartenenti alla specie *Gastrolecithus planus* Linton, 1922 (Famiglia Phyllobothriidae) in base alle caratteristiche dello scolice e alla presenza di 4 botridi concavi appaiati dorso-ventralmente. Ogni botride inoltre presentava anteriormente un piano muscolare, una ventosa accessoria, due piccoli prolungamenti laterali e un'appendice bifida localizzata nell'angolo antero-dorsale. Lo strobilo presentava le seguenti caratteristiche: proglottidi di forma quadrangolare e craspedoti con testicoli disposti dorsalmente rispetto all'utero ed anteriormente e lateralmente rispetto all'ovaio; tasca del cirro sub-cilindrica e armata; pori genitali alternati irregolarmente ed ovaio bilobato che si estendeva trasversalmente al margine posteriore delle proglottidi.

La presenza del parassita, caratterizzato da una stretta specie-specificità, risulta essere legata alla distribuzione geografica del suo ospite definitivo, come indicato da diversi autori relativamente alle acque del Pacifico prossime al Giappone e a quelle dell'Oceano Atlantico lungo le coste della Francia e del Senegal. La presenza di *G. planus* nel Mediterraneo è riportata unicamente vicino all'isola di Maiorca (Spagna), mentre completamente assenti sono i dati bibliografici riferibili al cestode parassita in Italia.

Il presente studio fornisce un dato conoscitivo importante per quanto concerne la presenza di *Gastrolecithus planus* in *C. maximus* dei mari italiani.

PHILOMETRA FILIFORMIS (NEMATODA, PHILOMETRIDAE) IN PAGELLO FRAGOLINO (*PAGELLUS ERYTHRINUS*) NEL TIRRENO MERIDIONALE

Gaglio G., Marino F., Prudente C., Busalacchi B.*, Moravec F.**, Giannetto S.

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria – Facoltà di Medicina Veterinaria di Messina; * IAMC-CNR Messina; ** Istituto di Parassitologia, Centro di Biologia, Accademia delle Scienze della Repubblica Ceca.*

I nematodi appartenenti al genere *Philometra* sono stati descritti in diverse specie di teleostei quali parassiti delle gonadi: *P. filiformis* in *Pagellus erythrinus*; *P. lateolabracis* in *Epinephelus marginatus*, *Mycteroperca rubra*, *Thunnus thynnus*, *Glaucosoma hebraicum*, *E. fasciatus*, *E. cyanopodus*, *Lateolabrax japonicus*, *Dicentrarchus labrax*, *Seriola dumerilii*, *Argyrosomus regius*; *P. saltatrix* in *Pomatomus saltatrix*; *P. carolinensis* e *P. cynoscionis* in *Cynoscion nebulosus.* Nella nostra indagine sono stati esaminati un totale di 56 pagelli fragolini (54 femmine e 2 maschi), provenienti da campagne di pesca effettuate nel Tirreno meridionale (periodo autunnale) o campionati in pubblici mercati (periodo invernale-estivo), con lo scopo di effettuare indagini di natura parassitologica e istopatologica riguardanti la presenza di nematodi philometridi. Dopo essere stati opportunamente pesati e misurati, i soggetti sono stati sottoposti ad esame necroscopico routinario. Nel caso di gonadi parassitate gli elminti isolati sono stati fissati e chiarificati per l'identificazione al microscopio ottico. Per l'esame istopatologico, sono state ottenute sezioni a tutto spessore trasversali e longitudinali di tessuto gonadico. Dei 56 esemplari analizzati, 12 (P=21%) presentavano lesioni gonadiche riferibili alla presenza di nematodi parassiti. All'esame esterno le gonadi mostravano talora la presenza di nematodi rossastri filiformi nel parenchima in posizione sottosierosa; a volte le gonadi apparivano aumentate di volume in maniera irregolare, di colorito variegato da arancio a rosso scuro e di consistenza a tratti aumentata, talora fibrotica. In questi soggetti, i nematodi apparivano di dimensioni maggiori e di un colore rosso cupo. In sezione si potevano cogliere livelli diversi di infestazione, dal meno grave, caratterizzato da alcuni focolai lobulari emorragici nel contesto di un parenchima normale, fino alla gravità massima, con sostituzione pressoché totale del parenchima gonadico da parte dei nematodi e dalle lesioni emorragiche da essi indotte. L'osservazione microscopica dei nematodi permetteva di identificarli come *Philometra filiformis* (Stossich, 1896). I parassiti campionati in estate risultavano essere femmine gravide di 20-24 cm di lunghezza, il cui corpo appariva dilatato, con utero repleto di larve. Le femmine non gravide erano invece sottilissime, rossastre e lunghe 3-4 cm. Istologicamente, le gonadi mostravano aspetti lesivi di grado variabile in relazione all'aspetto macroscopico. In tutti i soggetti, la presenza dei nematodi si associava a distruzione, di grado ed estensione variabile, del parenchima gonadico che in sezione appariva cribrato. Nei casi meno gravi, i nematodi erano repertati tra gli oociti a diverso grado di maturazione. Nelle porzioni viciniori ai parassiti, l'unica lesione era data da lacune ematiche, espressione della grave emorragia causata dal passaggio dei nematodi. Nelle ovaie gravemente infestate dai parassiti si potevano cogliere focolai di necrosi con atresia degli oociti. Dalla disamina della letteratura sull'argomento, la nostra è la prima segnalazione nel Tirreno meridionale di *Philometra filiformis* in *Pagellus erythrinus*. Nei casi occorsi alla nostra attenzione l'esame istopatologico permetteva di comprendere, il danno tissutale indotto dalla presenza dei nematodi. La gravità e l'estensione delle lesioni talora erano tali da suggerire l'ipotesi di "castrazione parassitaria".

INDAGINE PARASSITOLOGICA SU CETACEI SPIAGGIATI LUNGO LE COSTE SICILIANE

Castiglione F.[1], Cusimano M.[1], Fioravanti M.L.[2], Gustinelli A.[2], Chetta M.[1], Palumbo P.[1], Vicari D. [1], Ferrantelli V.[1]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo; [2] Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna.

Lo spiaggiamento di cetacei a livello mondiale è un evento piuttosto frequente attribuibile ad esempio a disturbi dell'eco-localizzazione e/o ad un errato rilevamento della topografia del luogo da parte del cetaceo, mentre esigue e controverse sono le informazioni disponibili in merito alle infestazioni parassitarie ed alla loro relazione con gli spiaggiamenti.
Scopo del presente lavoro è fornire un contributo all'ampliamento dei dati relativi alla parassitofauna in cetacei spiaggiati lungo le coste nazionali, con particolare riferimento ad esemplari rinvenuti lungo le coste siciliane nel periodo 2002-2008.
Tredici esemplari di cetacei, 1 globicefalo (*Globicephala melas*), 1 cogia di Owen (*Kogia sima*), 1 delfino comune (*Delphinus delphis*), 2 tursiopi (*Tursiops truncatus*) e 8 stenelle (*Stenella coeruleoalba*) sono stati sottoposti ad esame anatomo-patologico e parassitologico presso l'IZS della Sicilia.
I parassiti reperiti sono stati puliti in soluzione fisiologica, fissati in etanolo 70°, chiarificati in lattofenolo di Amman e in parte colorati con carminio boracico e sottoposti ad osservazione microscopica per il rilevamento delle caratteristiche tassonomiche utili all'identificazione di specie. Alcuni soggetti sono stati inoltre processati per la microscopia elettronica a scansione (SEM).
Parassiti sono stati individuati e raccolti solo in 5 esemplari di *Stenella coeruleoalba* spiaggiati nel corso del 2007-08 lungo le coste del palermitano, trapanese e messinese.
Trematodi digenei Campulidae sono stati rinvenuti nell'intestino e nello stomaco di 3 soggetti, cestodi Tetrabothridaea sono stati raccolti allo stadio adulto nell'intestino e nello stomaco di 3 soggetti e, allo stadio larvale, nell'intestino e nello stomaco di 2 stenelle. Stadi larvali plerocerchi di cestodi ascrivibili a *Phyllobotrium* spp. sono stati osservati nel tessuto sottocutaneo e nella porzione muscolare della parete addominale di 3 soggetti; plerocerchi di *Monorygma* spp. sono stati riscontrati nella muscolatura addominale e nel tessuto sottocutaneo di 2 soggetti. Nematodi appartenenti al genere *Anisakis* spp. sono stati reperiti in muscolo, intestino e stomaco di 3 soggetti.
Le infestazioni multiple sono state riscontrate in 3 esemplari mentre 2 stenelle sono risultate infestate da un'unica specie parassitaria.
I parassiti raccolti rappresentano un dato preliminare della parassitofauna di cetacei spiaggiati lungo le coste della regione Sicilia.
Sebbene le condizioni dei campioni esaminati siano sempre risultate non idonee per la conduzione di esami istopatologici, si può ipotizzare che i parassiti rinvenuti, sempre presenti con intensità d'infestazione poco elevate (infestazioni medie di 20 parassiti/ospite per digenei e nematodi, 40 parassiti/ospite per i cestodi), non siano da ritenere l'origine degli spiaggiamenti.

IDENTIFICAZIONE MOLECOLARE MEDIANTE PCR-RFLP DI NEMATODI ANISAKIDAE ISOLATI DA TELEOSTEI E MOLLUSCHI CEFALOPODI

Costa A.[1], Sciortino S.[1], Reale S.[1], Marino F.[2], Macrì D.[1], D'Amelio S.[3]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia, Palermo; [2] C.I.S.S. Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria Università degli Studi Messina; [3] Dipartimento Scienze di Sanità Pubblica Università degli Studi "La Sapienza" Roma.

Nematodi della famiglia Anisakidae, appartenenti ai generi *Anisakis, Pseudoterranova* e *Contracaecum* e della famiglia Raphidascarididae, appartenenti al genere *Hysterothylacium* includono parassiti distribuiti in tutto il mondo: il loro ciclo vitale coinvolge mammiferi marini (cetacei, pinnipedi) o uccelli ittiofagi o specie ittiche marine come ospiti definitivi e varie specie di invertebrati acquatici, teleostei e molluschi cefalopodi come ospiti intermedi e/o paratenici. Scopo del nostro lavoro è stato quello di sottoporre a caratterizzazione molecolare forme larvali di nematodi isolate da 100 campioni di specie ittiche marine (di cui 98 teleostei e 2 molluschi cefalopodi) pervenuti presso i nostri laboratori per indagine parassitologica, provenienti da mercati ittici siciliani. Sui soggetti campionati è stata effettuata la ricerca di stadi larvali di nematodi Anisakidae, previa apertura della cavità celomatica in modo da evidenziare le superfici parietali e viscerali, mediante esame visivo ed osservazione allo stereomicroscopio. Nel tessuto muscolare i nematodi sono stati ricercati tramite transilluminazione. I parassiti riscontrati sono stati isolati, fissati in alcool etilico 70% e sottoposti all'identificazione morfologica a livello di genere mediante microscopio ottico, previa chiarificazione in lattofenolo di Amman, utilizzando le chiavi morfometriche indicate in bibliografia: sono state identificate larve appartenenti ai generi *Anisakis* e *Hysterothylacium*, in alcuni esemplari anche in coinfestazione. In base alle caratteristiche morfologiche osservate al microscopio ottico, le larve di *Anisakis* sono state identificate come larve L3, appartenenti al morfotipo denominato *Anisakis* Type I (*sensu* Berland 1961) nei teleostei e al morfotipo denominato *Anisakis* Type II (*sensu* Berland 1961) nei molluschi cefalopodi. I nematodi identificati come genere *Hysterothylacium* apparivano riferibili in particolare a larve di quarto stadio, subadulti e adulti. Diverse larve appartenenti ad entrambi i generi sono state sottoposte ad estrazione del DNA e a successiva PCR, mediante l'impiego di primers che permettono di amplificare la regione comprendente ITS1-5.8S-ITS2 dell'rRNA nucleare. L'amplificato è stato sottoposto a restrizione enzimatica con *Hha*I, *Hinf*I e *Taq*I e a sequenziamento. Le sequenze ottenute, sono state analizzate mediante il software BLAST2 che le allinea con quelle più simili presenti in GenBank. Riguardo all'analisi biomolecolare per il genere *Anisakis*, i dati di RFLP sono stati analizzati mediante elettroforesi su gel che ha rivelato i modelli di restrizione tipici per le specie, in base alle chiavi di lettura indicate in bibliografia (D'Amelio *et al* 2000): i profili di digestione ottenuti hanno permesso di identificare come *A. pegreffii* le larve isolate dai teleostei e *A. physeteris* dai molluschi cefalopodi, in base alla combinazione dei patterns RFLP. L'amplificazione del DNA, estratto invece dai nematodi riferibili morfologicamente al genere *Hysterothylacium*, ha prodotto un frammento di ~ 1100 bp e diversa posizione dei frammenti di restrizione dopo elettroforesi e visualizzazione su gel di agarosio al 2,5%. La digestione delle regioni ITS con *Hha*I ha prodotto in questo caso quattro bande approssimativamente di 400, 350, 220 e 180 bp, con *Hinf*I due bande di circa 700 e 410 bp mentre la restrizione con *Taq*I ne ha prodotto quattro di circa 350, 320, 170 e 120 bp. I risultati del sequenziamento hanno mostrato identità del frammento di PCR ottenuto con la sequenza ITS di *Hysterothylacium aduncum*, specie riscontrata anche nel Mar Mediterraneo.

INDAGINE SULLA DIFFUSIONE DI NEMATODI ANISAKIDAE IN TELEOSTEI DELLA SICILIA OCCIDENTALE

Costa A., Castiglione F., Palumbo P., Di Noto A.M., Caracappa S.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Palermo.

Forme larvali di nematodi Anisakidae appartenenti al genere *Anisakis*, ospiti definitivi mammiferi marini (cetacei), sono state documentate nei visceri e/o nella muscolatura di numerose specie ittiche e cefalopodi (ospiti intermedi) di importanza commerciale nei mari italiani: del genere *Anisakis* è nota l'importanza come agente di zoonosi. Frequente inoltre è il riscontro del genere *Hysterothylacium* (stadi larvali ed adulti nei visceri di teleostei), a volte anche in coinfestazione, genere al momento considerato non patogeno per l'uomo. Obiettivo della presente indagine è stato quello di valutare la diffusione di nematodi Anisakidae in teleostei marini provenienti dalle zone costiere della Sicilia (Trapani, Mazara del Vallo) concentrando l'attenzione sulle specie note per la loro presenza. Nel periodo febbraio 2007-giugno 2008 sono stati esaminati 204 campioni di teleostei mediante esame visivo ed osservazione allo stereomicroscopio. I parassiti riscontrati sono stati isolati, contati, fissati in alcool etilico 70% ed identificati morfologicamente mediante microscopio ottico. Per ogni genere parassitario sono state calcolate la percentuale di positività o prevalenza (P), l'intensità media (Im) e l'abbondanza (A) in relazione a specie ittica e taglia del pesce. I nematodi sono stati identificati come appartenenti ai generi *Anisakis* e *Hysterothylacium*, in alcuni esemplari anche in coinfestazione. In base alle caratteristiche morfologiche osservate al microscopio ottico, le larve di *Anisakis* sono state identificate come larve L3 appartenenti al morfotipo denominato *Anisakis* Type I (*sensu* Berland 1961); riguardo ai nematodi identificati morfologicamente come genere *Hysterothylacium*, sono stati reperite in particolare larve L4, forme subadulte e adulte. Nella tabella successiva sono riportate Prevalenza (P), Intensità media (Im) e Abbondanza (A) osservate per specie ittica esaminata.

Specie	n. esaminati	% infest.	n. infestati per genere	P%	Im	A
Lepidopus caudatus	10	100	10 *Anisakis*	100	4,6	4,6
Trachurus trachurus	37	62,2	17 *Anisakis* 6 *Hysterothylacium* (2 coinfest.)	46 16,2 6,7	23,1 6,3	10,6 1,0
Scomber scombrus	20	35	7 *Anisakis*	35,0	2,0	0,7
Merluccius merluccius	43	30,2	7 *Anisakis* 6 *Hysterothylacium* (2 coinfest.)	16,3 14,0 4,7	4,6 7,8	0,7 1,1
Mullus barbatus	39	25,6	10 *Hysterothylacium*	25,6	5,4	1,4
Mullus surmuletus	13	61,5	8 *Hysterothylacium*	61,5	4,3	2,6
Engraulis encrasicolus	6	16,7	1 *Hysterothylacium*	16,7	1,0	0,2
Aspitrigla cuculus	9	44,4	4 *Hysterothylacium*	44,4	9,0	4,0
Pagellus erythrinus	7	71,4	5 *Hysterothylacium*	71,4	2,8	2,0
Serranus scriba	14	85,7	12 *Hysterothylacium*	85,7	4,3	3,6
Zeus faber	6	83,3	5 *Hysterothylacium*	83,3	8,8	7,3
Totale	**204**		**98**			

In 98 (48%) dei 204 pesci esaminati è stata riscontrata la presenza di nematodi Anisakidae appartenenti al genere *Anisakis* (20%)e *Hysterothylacium* (28%). Nei suri (*T. trachurus*) si è riscontrata il maggiore valore di intensità. Riguardo alla taglia dei soggetti esaminati, i suri e i naselli di taglia superiore ai 25 cm sono risultati significativamente più parassitati. Il reperimento di larve di *Hysterothylacium*, anche con alte prevalenze, in diverse specie ittiche indica la necessità di una maggiore attenzione all'identificazione parassitaria a livello di genere.

PIANO DI MONITORAGGIO OPISTORCHIASI NEI PESCI DELLE ACQUE LOMBARDE: RISULTATI PRELIMINARI

Salogni C.[1], Mioso P.M. [1], Astuti M.[2], Domenechini M.[2], Alborali G.L.[1]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia;
[2] Servizio Veterinario, Regione Lombardia, Milano.

L'infestazione del distoma *Opisthorchis felineus* nell'uomo è stata segnalata in numerosi Paesi (Russia, Polonia, Germania, Grecia, Albania, Spagna, Francia, Svizzera e Turchia) tra cui l'Italia e rappresenta insieme a quella di *O. viverrini (Sud-est asiatico), Clonorchis sinensis* (Sud-est asiatico, Russia) e *Metorchis conjunctus* (Nord America), un problema di sanità pubblica legato al consumo di carni di pesce crudo o poco cotto. L'infestazione nell'uomo è caratterizzata dalla localizzazione epatica del parassita responsabile di colangite catarrale che può evolvere in colangiocarcinoma e fibrosi epatica.
Il cambiamento delle tradizioni alimentari nel nostro Paese, ed in particolare l'utilizzo di alimenti crudi o poco cotti, ha portato ad un aumento del consumo di pesci come i ciprinidi che rappresentano i principali ospiti intermedi di *Opistorchis* sp.
Le recenti segnalazioni sul territorio nazionale dell'opistorchiasi nell'uomo (32 segnalazioni tra il 2003 e 2007) conseguenti al consumo di carpacci e marinature di pesci quali la tinca e la carpa provenienti dai Laghi di Trasimeno e Bolsena, ha indotto alcune Regioni, tra cui la Lombardia, ad attuare un piano di monitoraggio nei confronti di tale parassitosi.
Nel presente lavoro sono riportati i risultati preliminari delle analisi di laboratorio effettuate presso la Sezione Diagnostica dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna di Brescia.
Il campionamento è stato eseguito nei mesi di maggio e giugno del 2008 ed ha riguardato 318 campioni appartenenti alle seguenti specie ittiche: pesce persico (77), scardola (70), carassio (36), tinca (26), cavedano (20), persico sole (19), savetta (13), vairone (12), carpa (9), rutilo (6), bottatrice (6), pesce gatto (5), agone (5), pigo (5), lucioperca (4), alborella (4), trota lacustre (1).
Le provincie coinvolte sono state quelle di Brescia, Como, Lecco, Sondrio e Varese. Sono stati monitorati i seguenti laghi: Garda, Iseo, Idro, Como, Maggiore, Pusiano, Varese, Garlate e Lugano.
L'indagine è stata eseguita sui singoli pesci tramite esame del filetto per transilluminazione e a pool (per provenienza e specie ittica) tramite digestione cloro peptica. L'identificazione delle metacercarie, come appartenenti a parassiti della famiglia Opistorchididae, è stata eseguita su base morfologica.
E' stata riscontrata positività, con vario grado d'infestazione e specie coinvolta, in tutte le acque monitorate con l'eccezione del Lago di Garlate.
Le specie ittiche riscontrate positive sono tutte appartenenti alla famiglia dei ciprinidi (tinca, scardola, carpa, cavedano, vairone e carassio) con l'eccezione del pesce gatto (*Ictalurus melas*) proveniente dal Lago di Varese. Tutte le metacercarie evidenziate erano vitali.
Ulteriori approfondimenti diagnostici dovranno riguardare l'estensione delle indagini alle principali acque fluviali lombarde.

MORTALITA' DA TOSSINE ALGALI IN CARPE (*CYPRINUS CARPIO*) DEL LAGO DI PERGUSA (EN)

Marino F. [2], Castiglione F. [1], Sferrazza I. [3], Macrì D. [1], Algozino A. [3], Minardi S. [3], Fascetto M. [3], Meschini L. [3], Barbagallo G. [3], Carfì S. [4], La Terra D. [1], Ferrantelli V. [1]

[1] Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia; [2] Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Centro di Ittiopatologia Sperimentale della Sicilia, Sez. di Patologia, Università di Messina; [3] Dip. di Prevenzione, AUSL 4 Enna; [4] Dip. di Prevenzione, AUSL 7 Ragusa.

Il lago di Pergusa è uno dei pochi di origine naturale e l'unico di tipo endorreico in Sicilia, ed è parte integrante dell'omonima Riserva Naturale Orientata; dotato di scarsa capacità autodepurativa, in esso è possibile osservare il fenomeno delle maree rosse da cianobatteri. Nel Febbraio 2008, sono state registrate numerose mortalità in pesci precedentemente introdotti nel lago. Campioni di teleostei deceduti sono stati inviati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale per l'espletamento di indagini microbiologiche e alla Sezione di Patologia dell'Università di Messina per indagini di natura istopatologica. Campioni di acqua sono stati prelevati dal lago e processati presso il laboratorio di Sanità Pubblica dell'AUSL 4 di Enna. Inoltre 7 soggetti venivano catturati vivi e trasportati immediatamente presso le vasche del Centro di Ittiopatologia Sperimentale della Sicilia (CISS). Gli animali presentavano emorragie puntiformi cutanee diffuse a tutto il corpo. La sintomatologia e le lesioni sparivano spontaneamente nell'arco della settimana successiva al trasporto. L'esame istopatologico confermava il quadro macroscopico con emorragie in diversi organi e tessuti; inoltre si repertavano imponenti quadri degenerativi al rene. L'esame microbiologico confermava la presenza di diverse specie batteriche patogene opportuniste, non riferibili comunque alla causa *mortis*. La valutazione dell'acqua confermava valori dei parametri compatibili con uno stato di eutrofizzazione, aggravata da stratificazione della temperatura e anossia degli strati profondi della colonna d'acqua, nonché la presenza di 149.000.000 cell/l di *Prymnesium parvum*, un'alga nanoplanctonica che conferisce un colore giallo oro alle acque (per questo nota come alga "golden") e che produce esotossine attive su numerosi organismi, tra cui i pesci. Le tossine di questa alga vengono considerate lesive per le branchie ed emolitiche. Nei casi studiati, l'iperplasia della mucosa branchiale è dovuta al danno meccanico derivante dalla presenza di alghe unicellulari in sospensione. L'emolisi, vero effetto tossico dell'alga, permette invece di giustificare i quadri di nefrosi emoglobinurica documentati. La presenza delle carpe nel lago risale a circa cinque anni e rappresenta una specie alloctona nociva per il delicato equilibrio dell'habitat lacustre; è stata immessa da ignoti per transfaunazione da invasi viciniori, senza alcun criterio di ripopolamento ittico. La sua attuale presenza nel bacino può costituire un serio pericolo per le sue enormi capacità riproduttive e di vitalità, che aumentano notevolmente gli indici di biomassa degli habitat acquatici e quindi il pericolo di eutrofizzazione delle acque con scarsa capacità di autodepurazione.

EPISODIO DI MORTALITÁ ACUTA IN TROTE FARIO (*SALMO TRUTTA*) NEL BACINO IDROGRAFICO DELLA DORA BALTEA (VALLE D'AOSTA). ESEMPIO DI SINERGIA D'INTERVENTO SUL TERRITORIO

Abete M.C., Pascale M.[1], Tarasco R., Giorgi I., Pellegrino M., Arsieni P., Leogrande M., Prearo M.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino; [1] Ittiologo, Via Martiri della Libertà, 21 - 10060 Osasco (TO).

Gli episodi di mortalità presenti nella fauna ittica selvatica, sono relativamente frequenti, ma molto spesso non è possibile determinarne con certezza la causa, adducendo frequentemente l'origine della moria a fonti di inquinamento industriale, urbano o a scarichi agricoli incontrollati generici. La scarsa efficacia dei controlli e delle operazioni di vigilanza sull'asta dei fiumi, con mancanza di conoscenza della tipologia possibile degli scarichi effettuati, le segnalazioni di episodi di mortalità non sempre tempestive e la scarsa rapidità nel raccogliere i campioni dopo le varie comunicazioni, portano ai laboratori d'analisi campioni molto spesso non idonei per le analisi di routine; inoltre, non indicando le possibili cause inquinanti che possono aver creato l'episodio di mortalità, limitano di molto le eventuali ricerche mediante analisi chimiche, particolarmente indaginose.
Scopo del presente lavoro è quello di descrivere un episodio di mortalità acuta avvenuto nel tardo inverno del 2007 presso il tratto della Dora Baltea che scorre nella città di Aosta, in esemplari di trota fario (*Salmo trutta trutta*), in cui, grazie alla tempestività di segnalazione ed al sinergismo di attività di diverse competenze, si è potuta dimostrare la causa morte ed individuare i trasgressori. Il Comando della Stazione Forestale di Aosta, in data 9 febbraio ha constatato una moria di pesci presente lungo il tratto della Dora Baltea compreso tra Aosta e Pollein; il Consorzio Regionale per la Tutela, l'Incremento e l'Esercizio della Pesca, che si è occupato tempestivamente del prelievo del pesce morto, ha riportato sul verbale redatto in quella occasione, di aver recuperato diverse centinaia di individui di diversa taglia. Contemporaneamente l'ARPA competente per territorio ha provveduto a campionamenti di acqua di scarico provenienti dal polo industriale insito nel contesto cittadino e acqua direttamente dall'alveo del fiume. Il Corpo Forestale dello Stato ha effettuato il campionamento ufficiale, consegnando alcuni esemplari di fauna ittica morta, ancora in buono stato di conservazione, alla sezione territoriale dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale che ha provveduto celermente ad inviare gli stessi al Laboratorio di Ittiopatologia di Torino. Le trote fario sono state sottoposte ad esame anatomopatologico e colturale di primo isolamento; contemporaneamente è stato condotto un prelievo di porzioni di branchie e contenuto gastrico per gli esami chimici (ricerca di Fe, Cr e Pb). I risultati dei vari accertamenti hanno portati ad evidenziare una grave ipermucosità branchiale, con presenza di grave Malattia Branchiale e di materiale solido tra le lemelle branchiali; non si evidenziavano altri segni esterni ed i visceri si presentavano nella norma; l'esame colturale è risultato negativo. Gli esami chimici hanno portato alla evidenziazione di tenori di ferro estremamente elevati, sia a livello branchiale, sia a livello del contenuto gastrico (rispettivamente 1.869,8 ppm e 16.352,2 ppm). Grazie a questi risultati, messi in correlazione con quelli ottenuti dall'ARPA (alti tenori di ferro e di altri metalli nei sedimenti e nell'acqua analizzata) e dalle prove ottenute dalla magistratura tramite sopralluoghi direttamente nel sito industriale, si è potuto accertare come la causa di tale episodio acuto, sia stata un riversamento accidentale di materiale refluo ad alto contenuto ferroso effettuato dall'impianto industriale indagato, che ha causato la morte dei soggetti per asfissia.

MORIE DI PESCI PER INQUINAMENTO: EPISODIO DI INTOSSICAZIONE DA ETANOLO

Latini M., Agnetti F., Cari R., Pecorelli I., Ghittino C.

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Centro di Riferimento Regionale per l'Ittiopatologia, Via L.A. Muratori, 4 – 05100 Terni

Le morie di pesci lungo fiumi o laghi è purtroppo una costante che si ripresenta ogni estate sempre con maggiore frequenza. Vari fattori ne sono ovviamente la causa. Le alte temperature estive giocano un ruolo importante per il conseguente abbassamento del livello di ossigeno nelle acque. Spesso a questo fenomeno naturale si associano eventi inquinanti portati dall'uomo in maniera fraudolenta o meno, che operando in un ambiente già stressato creano il danno finale e la morte della fauna ittica. Tempestività di azione ed integrazione tra i vari enti sono l'unica possibilità per addivenire ad una diagnosi certa.
Il caso di intossicazione qui presentato è avvenuto nel luglio 2008 ed è iniziato con una segnalazione di pesci morti lungo il percorso del parco fluviale del Tevere, nel tratto di Ponte San Giovanni (PG), per un totale di circa 1.000 m. di asta fluviale. Nella zona colpita è stato effettuato un prelievo di pesci e di acqua, con particolare attenzione ad un'ansa del fiume Tevere dove erano maggiormente concentrati pesci morti e dove l'acqua tendeva a stagnare. I pesci esaminati in laboratorio appartenevano alla famiglia dei ciprinidi (carassi, lasche, scardole). Sui campioni sono stati svolti esami anatomopatologici, batteriologici, parassitologici, virologici, istologici e chimici.
Gli esami effettuati sui pesci non hanno evidenziato lesioni riferibili a malattie infettive e non sono stati isolati ceppi batterici o virali patogeni. Alla necroscopia è stato rilevato un atteggiamento asfittico, con bocca aperta e opercoli leggermente divaricati. L'esame isologico non è stato di aiuto per i processi autolitici già presenti nei campioni analizzati. Unica positività è stata una lieve infestazione da *Argulus* spp. Gli esami chimici non hanno evidenziato tracce di pesticidi o cloruri negli organi (branchie e visceri) dei soggetti esaminati. Sulle acque è stata effettuata dall'A.R.P.A. una analisi dell'ossigeno disciolto, del C.O.D., del B.O.D.5, una ricerca di metalli pesanti e di pesticidi. Inoltre, poiché era presente una distilleria a circa 2 km a monte dell'ansa in oggetto, nell'acqua è stata ricercata la presenza di etanolo e di aldeide acetica, che è un prodotto di ossidazione dell'etanolo. I risultati hanno evidenziato un C.O.D. e un B.O.D.5 rispettivamente di 76 e 37 mg/l O_2, valori molto elevati rispetto a quelli medi normalmente presenti, che indicano la presenza di sostanze ossidabili e biodegradabili; un valore molto basso di ossigeno disciolto pari a 1,5 mg/l; una concentrazione di etanolo di 25 mg/l; la presenza di aldeide acetica; l'assenza di metalli pesanti e pesticidi. La presenza di etanolo non è stata più riscontrata nei prelievi effettuati i giorni successivi, mentre i valori di C.O.D., B.O.D.5 e ossigeno disciolto sono rientrati nella norma solo dopo tre giorni dall'evento.
Sperimentalmente è stato dimostrato nel danio zebrato (*Danio rerio*) che la presenza di 1% di etanolo in acqua può causare problemi per un'alterazione della funzione dell'acetilcolinesterasi (AchE). Noti sono anche gli effetti teratogeni (microftalmia e cecità) per l'esposizione prolungata dei pesci all'alcool etilico. Un'inibizione dell'AchE, quale quella determinata dall'etanolo, produce nello spazio sinaptico un accumulo di Ach e una conseguente iperstimolazione a livello delle terminazioni periferiche colinergiche (effetto muscarinico), della placca neuromuscolare, dei gangli simpatici (effetto nicotinico) e del SNC. Nelle sinapsi del SNC, l'aumento di Ach provoca alterazioni sensoriali, del comportamento, incoordinazione motoria e depressione respiratoria. Quest'ultima è compatibile con l'atteggiamento asfittico dei pesci riscontrato anche nel caso in questione.

STRATEGIE NUTRIZIONALI PER IL CONTROLLO DELLE DISMETABOLIE NELL'ORATA (*SPARUS AURATA*) NEL PERIODO INVERNALE

Rogato F., Perini F., Agonigi R., Pecchini A., Luzzana U.

Skretting Italia, Frazione San Zeno, Mozzecane (VR), Italy.

La difficoltà di adattamento alle basse temperature condiziona lo stato sanitario e le *performance* zootecniche dell'orata (*Sparus aurata*) nel periodo invernale. In particolare si assiste ad una depressione del sistema immunitario, riduzione del *feed intake* fino all'anoressia, problemi a livello di diversi processi metabolici (metabolismo lipidico nel fegato, omeostasi, bilanciamento osmotico). Dal punto di vista anatomico sono frequenti lesioni intestinali con evidenti riflessi negativi sulla funzionalità del digerente nonchè degenerazione ed atrofia del tessuto epatico. Nei casi più estremi, e in dipendenza da vari fattori tra cui ambiente, alimentazione e *management*, la situazione può evolvere fino al manifestarsi della classica *Winter Syndrome*, che si può presentare in forme diverse in funzione dell'età dell'animale, soprattutto per quanto riguarda l'andamento della mortalità. Un approccio corretto alle problematiche dell'allevamento dell'orata nel periodo invernale deve considerare interventi a più livelli, e tra questi quelli legati all'alimentazione, sia in fase di preparazione all'inverno che durante la stagione fredda, rivestono certamente un ruolo fondamentale. Obiettivo del presente lavoro è stato verificare l'effetto di una dieta sperimentale appositamente studiata per l'alimentazione invernale dell'orata sulle *performance* zootecniche e sullo stato sanitario di animali allevati in gabbie galleggianti in condizioni di campo.

Orate del secondo anno (media iniziale circa 250 g) sono state alimentate per circa un mese con la dieta sperimentale, a temperature intorno ai 15°C. Le taglie medie sono state verificate a inizio trattamento e tre mesi dopo il termine della prova mediante sistema VICASS, e le mortalità registrate giornalmente.

Dal punto di vista zootecnico, le gabbie alimentate con la dieta sperimentale hanno mostrato una crescita migliorativa rispetto all'atteso in misura compresa tra il 5 e l'8%.

Per quanto riguarda gli aspetti di ordine sanitario, le gabbie alimentate con la dieta sperimentale non hanno mostrato sintomi riconducibili a *Winter Syndrome*, che invece è stata diagnosticata nel resto dell'allevamento, dove ha determinato una mortalità strisciante che si è prolungata fino all'estate successiva. L'utilizzo della dieta sperimentale ha invece portato ad una riduzione della mortalità quantificata nello 0,1-0,2% al mese.

Questi risultati appaiono confermare l'importanza dei fattori legati all'alimentazione nel controllare dismetabolie e patologie tipiche del periodo invernale nell'orata, e pongono le basi per la messa a punto di specifici protocolli nutrizionali volti a sostenere le *performance* zootecniche e lo stato sanitario degli animali anche nelle difficili condizioni di bassa temperatura, per una migliore efficienza tecnica ed economica dell'allevamento.

INDAGINE PRELIMINARE SULLE CAUSE DI MORTALITÀ PERINATALE IN TROTA FARIO (*SALMO TRUTTA TRUTTA*).

Fasolato L.[1], Manfrin A.[1], Mancin M.[1], Moro L.[1], Borroni I.[2], Bovo G.[1]

[1]Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie; [2] Veterinario libero professionista.

Da alcuni anni, negli allevamenti di trota fario (*Salmo trutta trutta*) del territorio nazionale si verificano episodi di mortalità perinatale. Le perdite, in alcuni casi, hanno creato serie difficoltà nel reperimento del materiale ittico da destinare al ripopolamento delle acque pubbliche. Con la presente indagine si è voluto portare un contributo per chiarire le probabili cause nonché la dinamica dei fenomeni osservati. La ricerca è stata condotta prendendo in considerazione i seguenti aspetti: recupero e comparazione dei dati storici relativi agli episodi di mortalità verificatisi nella stagione 2003-2004 (7 aziende); intervista ai principali produttori di uova del Trentino Alto Adige (n° 4 allevamenti); studio di un episodio in atto durante il corso delle indagini (2007-2008). In base alle osservazioni effettuate in concomitanza degli episodi verificatisi nelle stagioni 2004-2005, sono stati individuati i principali fattori in grado di condizionare la riproduzione dei salmonidi. Per quanto riguarda l'alimentazione le indagini hanno considerato la natura del mangime (estruso e pellettato), il tenore in lipidi greggi e la qualità delle materie prime impiegate. L'intervista agli allevatori era volta alla comprensione della dinamica dell'evento considerando, nel dettaglio, gli stadi di sviluppo maggiormente colpiti (uova, uova embrionate, larve ed avannotti), la sintomatologia riscontrata, le soluzioni applicate nonché i risultati ottenuti. Dai dati anamnestici sono stati evidenziati alcuni aspetti sulla variabilità, tra azienda ed azienda, nel management dei riproduttori. Un elemento comune alle varie aziende considerate era l'utilizzo, a partire dal 2000, di mangimi di tipo estruso. Gli eventi di mortalità sono stati descritti, dai diversi proprietari, in modo sovrapponibile, con perdite osservate prima della schiusa delle larve, a seguito di una mancata o incompleta embrionatura. Per quanto riguarda l'episodio in atto, sono state effettuate indagini di tipo tossicologico sul mangime; studio dell'acidogramma di campioni di uova e mangime; stima dell'avvenuta embrionatura; analisi di tipo morfometrico di uova e larve; studio del profilo metabolico dei riproduttori post spremitura, nonché analisi batteriologiche e virologiche. Le indagini sono state eseguite su tre distinti lotti di uova. La percentuale di uova embrionate è risultata compresa tra il 63,5% e il 76,5%, mentre la sopravvivenza alla schiusa, stimata dall'allevatore, risultava pari al 13,3 % sulle uova totali prodotte. Inoltre è stato registrato un aumento significativo del tempo di interschiusa (da 4 a 10 giorni). Le indagini morfometriche hanno evidenziato una correlazione tra uova non vitali (x_m: 64,4% delle embrionate) e dimensioni delle macchie oculari, che sono risultate statisticamente inferiori rispetto a quelle delle uova normali. La ricerca nel mangime dei principali metalli pesanti ed altri possibili contaminanti selezionati, ha evidenziato valori nella norma, rispetto ai limiti suggeriti per i salmonidi, ad eccezione del Cadmio (0,64 ppm). Per quanto riguarda le indagini di natura infettiva, la sintomatologia osservata non era riconducibile a patologie note della fase larvale (*Blue-sac disease* ed *Early mortality* syndrome) e, gli esami microbiologici, eseguiti su pool di uova, non hanno evidenziato la presenza di agenti infettivi noti. Inoltre non sono emerse alterazioni del profilo metabolico dei riproduttori. Concludendo, si ritiene che gli episodi di mortalità perinatale, osservati nelle avannotterie di trota fario, negli ultimi anni, non siano da correlare ad agenti infettivi noti e possano invece avere, molto ragionevolmente, un'origine polifattoriale. La concomitanza dell'introduzione di diete ad elevata inclusione lipidica, l'innalzamento della temperatura dell'acqua nelle vasche dei riproduttori per alcuni mesi all'anno (>18°C) nonché la presenza di contaminanti, come nel caso del Cadmio, potrebbero aver indotto i fenomeni eclatanti osservati nelle annate 2003-2004 ed i casi sporadici osservati più recentemente.

ANOMALIE CONGENITE IN ZEBRAFISH WILD-TYPE E TRANSGENICI

Guerrera M.C.[1]*, Marino F.[2*], Germanà A.[1*], Sfacteria A.[2*], Lanteri G.[2*], Foti F.[2*], Macrì B.[2*]

*[1] Dip. di MOBIFIPA, Sez. di Morfologia; [2] Dip. di Sanità Pubblica Veterinaria, Sez. di Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria; * Centro di Ittiopatologia Sperimentale della Sicilia (CISS) c/o Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria – Università degli Studi di Messina.*

Lo zebrafish rappresenta un modello ampiamente utilizzato per lo studio della biologia dello sviluppo; esso offre, inoltre, l'opportunità di affrontare lo studio di numerose malattie umane, in virtù di un profilo genetico sovrapponibile per il 96% a quello umano. Il presente studio rappresenta una nota preliminare sulle malformazioni riscontrate a seguito dell'osservazione in vivo del fenotipo di embrioni di *Danio rerio,* normali e mutanti, nati presso il Centro di Ittiopatologia Sperimentale della Sicilia dell'Università degli Studi di Messina. Dall'esame morfologico condotto su larve della stessa nidiata di zebrafish wild-type (24 hpf) è emersa la presenza di malformazioni nel 10% degli embrioni. Nel 2% dei casi si trattava di mutanti *eyeless*, nel restante 8% di embrioni con ipoplasia del bulbo oculare unilaterale. Dall'ovodeposizione di soggetti diversi, ma sempre wild-type, abbiamo ottenuto circa 70 uova. Dall'osservazione eseguita nell'arco delle 48 hpf, è stato possibile osservare larve normalmente sviluppate. Con il trascorrere delle settimane è stato possibile riscontrare un'anomalia (14,2%), caratterizzata da uno sviluppo corporeo insufficiente, ma armonico nelle proporzioni, probabilmente ascrivibile a nanismo ipofisario (in fase di accertamento). Nel 13,3% di un'altra nidiata, è stata osservata l'agenesia della piastra opercolare monolaterale (10%) e bilaterale (3,3%), che interessava l'opercolo sia nella porzione fissa che in quella mobile. Inoltre, sono state documentate malformazioni scheletriche (lordosi) nel 10% dei soggetti della stessa nidiata. Dall'osservazione di uova a 48 hpf, emesse da zebrafish transgenici (BRN 3C), è emersa la presenza di anomalie scheletriche a carico dell'asse vertebrale in corrispondenza delle vertebre pre-emali, emali e caudali (20%). Sono state riscontrate anomalie delle pinne pettorali, anale e caudale con ipurale ed epurale deformati, nonché la presenza di un mostro doppio. In una nidiata della linea transgenica HuC è stato possibile riscontrare anidridia bilaterale (13%) e agenesia del tratto cefalico (2,5%). Nel 6% dei soggetti di una stessa nidiata di riproduttori transgenici ISLET, è stato riscontrato encefalocele. La linea transgenica ET-4 non ha presentato alcuna anomalia congenita. Come è ormai noto, lo zebrafish viene utilizzato come organismo sperimentale per lo studio di meccanismi genetici alla base di patologie umane congenite, poiché molti fenotipi, ottenuti mediante mutagenesi diretta, simulano diverse anomalie che si manifestano durante lo sviluppo umano. Lo zebrafish è oggi ampiamente utilizzato per affrontare il tema del rapporto intercorrente fra fenotipo e genotipo; come è noto, maggiore è il grado di variazione morfologica da uno standard di riferimento, il fenotipo selvatico, maggiore è il grado di "disturbo" genetico e/o epigenetico intervenuto durante lo sviluppo larvale. Data la bassa incidenza di teratologie gravi riscontrate, ci sentiamo di asserire che tali alterazioni siano ascrivibili a cause genetiche e non ambientali e, quindi, che la nursery funziona bene e le linee stabili di transgenici possono essere allevate tranquillamente. Con il presente studio abbiamo inteso arricchire il materiale iconografico, già presente in letteratura, relativo alle anomalie congenite riscontrabili in zebrafish wild-type e transgenici. In fase di accertamento è il probabile coinvolgimento dei geni responsabili di tali malformazioni.

DIMOSTRAZIONE IMMUNOISTOCHIMICA DEI RECETTORI CD35 E CD16 IN BRANZINO (*DICENTRARCHUS LABRAX*)

Volpatti D., Bulfon C., Passone D., Calligaro C., Beraldo P., Galeotti M.

Dipartimento di Scienze Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Udine.

Il fenomeno dell'opsonizzazione e il conseguente incremento dell'attività di fagocitosi da parte dei leucociti risultano determinanti nell'eliminazione dei patogeni dall'ospite. Le frazioni del complemento e gli anticorpi opsonizzanti sono molecole con un ruolo cruciale in tale processo, in associazione ai loro recettori: CR = complement receptor; FcR = recettore per la porzione Fc delle immunoglobuline.
Nei mammiferi sono stati identificati quattro tipi di recettori per il C3, rispettivamente CR1, CR2, CR3 e CR4. Il CR1 (CD35) risulta espresso da granulociti neutrofili, eosinofili e da alcune sottopopolazioni di linfociti B e T. Esso promuove il legame e la fagocitosi di particelle rivestite dalle frazioni complementari C3b e C4b. L'FcR (CD16) risulta espresso da numerose cellule di origine emopoietica (macrofagi e linfociti) e il suo ruolo appare determinante nella modulazione della risposta immunitaria mediata da anticorpi (rimozione di immunocomplessi o di particelle opsonizzate).
Nei teleostei le conoscenze relative alla struttura e alla funzione dei recettori per il complemento e per la porzione Fc delle immunoglobuline sono scarse. Il coinvolgimento di recettori omologhi al CR1 di mammifero è stato studiato in carpa (*Cyprinus carpio*) e trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), ma solo in quest'ultima specie sembra confermata l'esistenza di una molecola con funzioni simili. La presenza di FcR è stata oggetto di indagine in pesce gatto (*Ictalurus punctatus*), *Cyprinus carpio* e danio zebrato (*Danio rerio*). La distribuzione delle cellule che esprimono tale recettore è stata descritta solo in carpa.
Lo scopo della presente indagine è stato quello di valutare l'espressione dei recettori CD35 e CD16 in popolazioni cellulari di natura emopoietica localizzate in vari tessuti di branzino (*Dicentrarchus labrax*). Con tale finalità, sezioni istologiche ottenute da tessuti prelevati da avannotti e giovanili (fissati in soluzione di Bouin) sono state sottoposte ad indagine immunoistochimica utilizzando i seguenti anticorpi: anti CD35 (CR1) policlonale da capra e anti CD16 policlonale da coniglio (Santacruz Biotechnology, Inc). L'immunoreattività è stata evidenziata mediante ABComplex perossidasi e substrato diaminobenzidina (DAB).
Cellule positive per l'anticorpo anti CD35 sono state evidenziate a livello dei seguenti organi: tratto digerente, timo, rene anteriore, milza, cute, branchie, pancreas e fegato. Cellule positive per l'anticorpo anti CD16 sono state evidenziate a livello di organi linfatici (timo, rene anteriore e milza), branchie, pancreas e tratto digerente. Morfologia, dimensione e localizzazione delle cellule che esprimono i recettori oggetto di indagine saranno discusse, cercando di definire il loro potenziale ruolo nella risposta immunitaria in branzino.

SU DUE QUADRI ANATOPATOLOGICI A EZIOLOGIA SCONOSCIUTA IN TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)

Beraldo P.[1], Pascotto E.[1], Sarti M.[2], Galeotti M.[1]

[1] Dipartimento di Scienze Animali, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Udine; [2] Skretting Italia, Mozzecane (VR).

Il concetto di "eziologia sconosciuta" è supportato da episodi di malattia e/o quadri patologici peculiari e ben documentati per i quali l'agente causale rimane ignoto. Essi sono comunemente discussi in trattati di medicina umana o veterinaria per la singolarità e/o rilevanza epidemiologica. In ambito ittiopatologico, la mancanza di dissertazioni patologiche esaustive, sancita dalla recente storia di questa disciplina, spesso non consente di associare a episodi morbosi un'eziologia certa. Questo lavoro ha, quindi, lo scopo generale di inquadrare due fenomeni anatomopatologici specifici e ripetuti al fine conoscitivo e di fungere da stimolo per approfondimenti futuri. In quest'ottica, infatti, si descrivono due singolari quadri anatomopatologici occorsi in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), i quali si sono verificati nel corso di due anni consecutivi (non ricomparsi in seguito) e la cui eziologia tutt'ora ha un valore ipotetico. Nel primo caso si tratta di soggetti di taglia commerciale, caratterizzati dalla presenza nel primo o secondo arco branchiale, di una o più formazioni rotondeggianti, talora leggermente allungate, di 2-6 mm di diametro, di colore rosso cupo o bluastre e a superficie liscia. Le formazioni nodulari, simili a ematomi, erano di consistenza spugnosa e, al taglio, le più grandi presentavano uno spazio centrale cavitario subsferico. Il primo riscontro, a carattere sporadico (primo anno), ha interessato pochi soggetti, mentre nel secondo, il fenomeno patologico era di maggiore intensità, sebbene la mortalità non fosse significativa (non superiore a quella fisiologica). Le lesioni sono state segnalate per tre mesi circa e la sintomatologia era caratterizzata da letargia, nuoto superficiale e/o a spirale, anemia generalizzata, emorragie lineari branchiali e l'intestino era interessato da un'enterite con abbondante essudato catarrale giallastro. Il quadro patologico è riferibile a un processo difensivo subacuto riconducibile a un'infiammazione necrotico-emorragica multifocale. La negatività microbiologica (isolamento per batteri e funghi), la storia clinica e l'anamnesi ambientale fanno ipotizzare un'eziologia non infettiva. Il secondo quadro anatomopatologico è stato riscontrato contemporaneamente in due allevamenti, geograficamente non lontani tra loro, ma diversificati per l'approvvigionamento idrico, la dieta commerciale utilizzata e l'origine delle uova. Anche in questo caso non è stata registrata mortalità e il fenomeno è durato 3-4 mesi con una maggiore frequenza nei soggetti di 150 grammi (circa 5%) rispetto a quelli di taglia commerciale (1% circa). I soggetti presentavano prolasso della mucosa rettale (prolasso parziale), rovesciata verso l'esterno in forma di rosetta; il retto prolassato appariva interessato da complicanze flogistiche e si presentava congesto ed edematoso. Inoltre, in alcuni soggetti, il tratto posteriore dell'intestino appariva marcatamente ectasico, con iperplasia della mucosa, abbondante essudato catarrale e congestione dei vasi. Anche in questo caso, l'esclusione di agenti infettivi di malattia tramite riscontri laboratoristici, la diversa anamnesi ambientale e storia clinica delle due popolazioni di trote fanno propendere verso l'ipotesi di "coliti" (enteriti del tratto posteriore in forma cronica), stenosi del tubo digerente o stipsi, forse a matrice dietetica. Il prolasso rettale e la proctite hanno causato un leggero ritardo della crescita che non ha comunque compromesso l'utilizzo del prodotto finale.
La descrizione istopatologica di entrambi i quadri anatomopatologici e ulteriori considerazioni eziologiche saranno oggetto di discussione.

CENTRI MELANOMACROFAGICI NEL RENE DI ADULTI DI TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) SOTTOPOSTI A STIMOLAZIONE DEL SISTEMA IMMUNITARIO E SUCCESSIVA INFEZIONE CON *YERSINIA RUCKERI*: APPROCCIO MORFOMETRICO

Gregori M.[1], Prearo M.[2], Miragliotta V.[3], Cecchini S.[4], Pretti C.[1], Leotta R.[5], Abramo F.[1]

[1] Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Profilassi degli Alimenti, Università di Pisa; [2] Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Laboratorio di Ittiopatologia, Torino; [3] Dipartimento di Anatomia, Università di Pisa; [4] Dipartimento di Scienze delle Produzioni Animali, Università degli Studi della Basilicata, Potenza; [5]Dipartimento di Produzioni Animali, Università di Pisa.

I centri melanomacrofagici (CM) sono aggregati di macrofagi pigmentati, rilevabili nei tessuti ematopoietico ed epatico di animali poichilotermi. La morfologia dei CM può variare a seconda della specie, dell'età e stati patologici di varia natura. Nel presente studio è stata effettuata una valutazione quantitativa dei CM su campioni di rene, craniale e caudale, di soggetti adulti di trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) sottoposti a stimolazione immunitaria aspecifica e specifica e successiva infezione sperimentale con *Yersinia ruckeri* (*Yr*) rispetto a un gruppo di controllo. 120 adulti di trota iridea sono stati suddivisi in 6 gruppi inoculati per via intraperitoneale (IP) con: A) 0,2 mL di una sospensione contenente adiuvante di Freund completo (FCA) e PBS in rapporto 50/50 e 500 µg di gamma globuline umane (HGG); B) 0,2 mL di emulsione FCA/PBS-50/50; C) 500 µg di HGG solubilizzate in 0,2 mL di PBS; D) 0,2 mL di PBS; E) 0,1 mL di vaccino commerciale anti-*Yr* (Aquavac®, Schering Plough); F) 0,1 mL di vaccino anti-*Yr* emulsionato in 0,1 mL di FCA. L'infezione sperimentale è stata effettuata a distanza di 40 giorni dal trattamento immunizzante, mediante inoculazione IP di 0,1 mL di sospensione batterica allestita con il ceppo di referenza ATCC®, *Yr* Sierovariante I. I soggetti infettati ed un gruppo addizionale mantenuto come controllo, sono stati stabulati in vasche circolari per tutta la durata del periodo di osservazione clinica (14 giorni). Campioni di rene craniale e caudale da 5 trote sacrificate per ogni gruppo di trattamento e 5 trote di controllo sono stati processati per l'allestimento di sezioni istologiche (Ematossilina-Eosina). I parametri morfometrici sono stati espressi come % di tessuto occupato dai CM (%CM) e numero di CM/mm^2 (nCM). I valori ottenuti sono stati analizzati mediante ANOVA e test di Tuckey ($p<0,05$). Sono state valutate: a) distribuzione anatomica dei CM nelle trote sane; b) eventuali modificazioni dei parametri morfometrici correlabili allo stato di salute dei pesci in rapporto al pregresso trattamento immunizzante. L'analisi morfometrica condotta sul gruppo di controllo ha messo in luce l'esistenza di differenze dei parametri morfometrici misurati relativi ai CM tra rene anteriore (%CM:2,49; nCM:882,41) e posteriore (%CM:6,47, nCM:1551,55) con valori più alti in quest'ultimo. I valori dei due parametri morfometrici erano inoltre più alti nelle trote di controllo rispetto a quelle dei gruppi di trattamento e la differenza è risultata statisticamente significativa. Tra i 6 gruppi di trattamento, sottoposti ad infezione sperimentale con *Yr*, le trote asintomatiche, preventivamente inoculate con il vaccino anti-*Yr*, presentavano valori significativamente più alti rispetto ai soggetti sintomatici degli altri gruppi di trattamento. I risultati del presente studio sembrano essere di supporto alla ipotesi che i CM nei pesci rappresentino strutture anatomiche dinamiche, suscettibili di modificazioni in rapporto ad alterazioni omeostatiche dell'organismo. In particolare la riduzione dei parametri morfometrici relativi osservati nelle trote infettate sperimentalmente rispetto al gruppo di controllo sembra correlare con una deplezione macrofagica in soggetti con infezione da Yr.

NEOPLASIA VISCERALE INFILTRANTE MALIGNA IN UNA CARPA KOI (*CYPRINUS CARPIO* VAR. KOI): ASPETTI ANATOMOISTOPATOLOGICI

Sirri R., Mandrioli L., Brunetti B., Bacci B., Sarli G.

Servizio di Anatomia Patologica - Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Facoltà di Medicina Veterinaria, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna.

Un esemplare di carpa koi (*Cyprinus carpio* var. koi*)* di 3 anni e mezzo, 28 cm di lunghezza e 300 grammi di peso, proveniente da un allevamento di carpe koi in cui era praticata la riproduzione naturale in laghetto, era mantenuto in un acquario da 1.500 litri con sistema a ricircolo assieme ad esemplari della stessa specie. L'alimentazione si basava su mangime commerciale; non sono stati effettuati trattamenti chimici e antibiotici. Negli ultimi mesi l'esemplare aveva presentato letargia, addome rigonfio e aveva smesso di alimentarsi la settimana prima della morte. L'esame necroscopico, eseguito a distanza di 12 ore dal decesso avvenuto nel corso della notte, evidenziava marcata atrofia dei muscoli epiassiali e rigonfiamento simmetrico dell'addome; la cute soprastante si presentava assottigliata e priva di squame. In cavità celomatica era evidente una massa multinodulare, compatta e di consistenza dura, bianco-giallastra, di 7 x 5 x 3,5cm, che ne occupava gran parte dello spazio. Tale neoformazione appariva in stretta connessione con il fegato, del quale si riconoscevano alcune porzioni lobari residue; tratti di intestino, il rene, la vescica natatoria e la cistifellea risultavano invece separati dalla massa. Le gonadi non erano individuabili. I tessuti, fissati sia in formalina tamponata al 10% sia in fissativo di Bouin sono stati processati per l'istologia. La neoplasia, caratterizzata da un'architettura lobulare e suddivisa da marcati setti fibro-connettivali, risultava non incapsulata, infiltrante la parete intestinale e l'epatopancreas, con ampie aree di necrosi e di calcificazione. A piccolo ingrandimento, i lobuli neoplastici mostravano una moderata basofilia e a più forte ingrandimento le cellule all'interno dei lobuli erano organizzate in cordoni e lamine separate da un sottile stroma fibro-vascolare. Le cellule (10-15 μm), erano poligonali, con limiti citoplasmatici non ben distinguibili; il citoplasma presentava numerose e fini granulazioni. Il nucleo era voluminoso, polilobato e rotondeggiante, ipocromatico e centrale, con cromatina a zolle, nucleolo singolo; vi era moderata anisocitosi e anisocariosi. Le figure mitotiche erano numerose. Sparsi fra le cellule neoplastiche vi erano piccoli aggregati di cellule basofile rotonde (3 μm). Nello stroma erano presenti linfociti perivascolari e focolai melano-macrofagici.

Marcatori immunoistochimici (pancitocheratine, vimentina, laminina, estrogeni, fosfatasi alcalina placentare, alfa feto proteina, calretinina, enolasi neurono specifica, CD3, CD79, CD45-antigene correlato, catalasi, CD117, sub unità catalitica dell'enzima telomerasi) sono risultati per la maggior parte non immunoreattivi nel tessuto testato.

Sulla base del dato istologico, quindi, è stata formulata un' ipotesi diagnostica che include tra loro in diagnosi differenziale, una neoplasia di origine epatopancreatica, gonadica o del tessuto emolinfopoietico, da dirimere con indagini future.

UN CASO DI GERMINOMA IN *PATELLA COERULEA*

Carella F.[1], Restucci B. [2], Accardo M. [3], Bucalo S.[4], De Vico G.[1]

[1] Dipartimento delle Scienze Biologiche, Facoltà delle Scienze MM.FF.NN, Università degli Studi di Napoli Federico II, via Mezzocannone, 8, 80134, Napoli; [2] Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli ;[3] Dipartimento di Medicina Pubblica Clinica e Preventiva, Sezione di Anatomia Patologica, Seconda Università degli Studi di Napoli; [4] Nucleo Carabinieri Subacquei di Napoli.

Il germinoma è una neoformazione gonadica che origina da cellule progenitrici dell'epitelio germinativo, sporadicamente descritta in differenti specie di molluschi bivalvi marini. La sua incidenza, tuttavia, risulta significativamente elevata in alcune popolazioni di bivalvi nord-americane, come *Mercenaria mercenaria* e *Mya arenaria* e nel cannolicchio atlantico, *Ensis arcuatus,* nel Nord della Spagna (Galizia). In questo studio descriviamo le caratteristiche istopatologiche di un caso di germinoma rinvenuto nella gonade maschile di un esemplare del mollusco gasteropode *Patella coerulea*, proveniente dalla Foce del fiume Volturno (Campania, Italia). L'animale faceva parte di un campione di circa 30 individui, prelevati nell'area in questione allo scopo di valutarne la qualità ambientale. All'esame microscopico la gonade maschile presentava una normale struttura follicolare priva di parassiti. I follicoli contenevano tutti gli stadi gametogenetici, con cellule indifferenziate disposte alla periferia e spermi maturi presenti nel lume. In alcuni follicoli si osservavano masse solide di diverse dimensioni, che sembravano originare dall'epitelio germinativo. Le cellule che costituivano tali masse, apparivano atipiche, poliedriche, immature, con citoplasma eosinofilo, talora debolmente basofilo e mostravano nuclei vescicolosi, spesso con cromatina addensata e/o marginata e nucleoli prominenti. La presenza di numerose figure mitotiche suggeriva un elevato tasso di crescita delle masse, le quali rimanevano tuttavia confinate all'interno dei follicoli. L'atipia cellulare, la presenza di figure mitotiche, la mancata tendenza alla differenziazione e/o alla maturazione delle masse cellulari, l'interessamento di un numero limitato di follicoli, era compatibile con una diagnosi di germinoma di Stadio 1, secondo la stadiazione di Barber. Dalla letteratura consultata, non ci risultano segnalazioni precedenti di analoghi casi in *Patella coerulea*. Ulteriori studi sono in corso per chiarire la reale prevalenza della neoplasia, la biologia delle cellule coinvolte, e una possibile eziopatogenesi.

ABSTRACT

Poster

P1 –

AZIONE ANTIBATTERICA NEI CONFRONTI DI *VIBRIO ALGINOLYTICUS* DELL'OLIO ESSENZIALE DI BASILICO (*OCINUM BASILICUM L.*) ESTRATTO SECONDO LA TECNOLOGIA DEI FLUIDI SUPERCRITICI

Greco G.*, Centoducati G.*, Campana M.**, Latronico F.*, D'Abramo M.*, Greco M.F.*, Ciccone F.*, Tarsitano E.*, Botto A.***, Buonavoglia D.*

** Dipartimento di Sanità Pubblica e Zootecnia (DiSPeZ), Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Bari; ** "Panittica Pugliese Azienda Agricola" S.p.A., – Torrecanne di Fasano (BR); *** Exenia Group S.r.l., - Albignasego (PD).*

Vibrio alginolyticus è un batterio Gram negativo, alofilo, patogeno opportunista per diverse specie ittiche di allevamento. Nell'orata (*Sparus aurata*) *V. alginolyticus* causa una malattia caratterizzata da setticemia, emorragie epidermiche, ulcere cutanee in alcuni casi, accumulo di liquido in cavità peritoneale ed emorragie in sede epatica. Il controllo dell'infezione è affidato alla somministrazione di antibiotici sebbene l'impiego continuato di queste sostanze ponga problematiche legate ai residui nelle carni e all'induzione di antibiotico-resistenze che annulla l'efficacia degli stessi principi attivi impiegati.
Scopo del lavoro è stato quello di valutare l'azione antibatterica *in vitro* nei confronti di *V. alginolyticus* dell'olio essenziale di basilico (*Ocinum basilicum L.*), estratto con la tecnologia dei fluidi supercritici. Dieci ceppi di *V. alginolyticus* isolati da materiale biologico proveniente da un'azienda ittica in provincia di Brindisi, sono stati sottoposti a prove di sensibilità agli antibiotici (amoxicillina, tetraciclina, florfenicolo, cotrimoxazolo e sulfametoxazolo) e all'olio essenziale di basilico secondo la tecnica di Kirby-Bauer. Nessuna resistenza agli antibiotici è stata evidenziata nei ceppi saggiati. L'olio essenziale di basilico ha prodotto un alone di inibizione della crescita per tutti i ceppi saggiati con un diametro variabile tra 25 e 30 mm.
L'olio essenziale di basilico estratto con la metodologia dei fluidi supercritici ha mostrato attività battericida nei confronti di *V. alginolyticus.* L'impiego a scopo terapeutico di sostanze naturali di origine vegetale, apre nuove prospettive per il controllo delle infezioni di specie ittiche di acquacoltura destinate al consumo umano limitando gli effetti negativi, sul consumatore e sull'ambiente, conseguenti all'impiego di sostanze chimiche di sintesi.

Progetto finanziato da: Programma POR-PUGLIA 2000-2006. SFOP – Asse IV – Misura 4.13 – Sottomisura 4.13E "Azioni innovative" ed Asse III – MISURA 3.12 -Miglioramento delle risorse umane nel settore della ricerca e sviluppo tecnologico. Azione a) Intervento specifico A.1. Sostegno all'offerta di alta formazione. Avviso n. 22/2006.

P2 –
LATTOCOCCOSI: PRIMO CASO DI INFEZIONE OCULARE IN ADULTO DI *SERIOLA DUMERILII* (RISSO, 1810)

Mancuso M., Maricchiolo G., Zaccone R., Genovese L.

Istituto per l'Ambiente Marino Costiero (IAMC), sezione di Messina, Spianata S. Raineri 86, Messina.

Tra le malattie batteriche emergenti le infezioni da cocchi Gram positivi stanno assumendo sempre più importanza.
In particolare il genere *Streptococcus* colpisce alcune specie di pesci causando gravi problemi agli allevamenti. Insieme al genere *Streptococcus*, ve ne sono altri strettamente collegati a questo gruppo che causano delle patologie molto simili: *Lactococcus*, *Enterococcus* e *Vagococcus.*
Da quanto riportato in letteratura la lattococcosi è una patologia diffusa presso gli impianti di acquacoltura, sia di acqua dolce che salata; in particolare, *Lactococcus garvieae* (sin. *Enterococcus seriolicida*) è l'agente patogeno che colpisce le ricciole (*Seriola dumerilii*) di piccola taglia.
Nel presente lavoro, viene riportato un caso di lattococcosi in un esemplare adulto di *Seriola dumerilii*.
Nei primi giorni del mese di Settembre 2008 è stato notato un comportamento anomalo in un esemplare femmina di Ricciola (*S. dumerilii*), di circa 18 anni di età (peso 35 Kg) stabulato fin dallo stadio giovanile (40 g. circa) presso l'Impianto Sperimentale di Acquacoltura dell'IAMC - CNR di Messina, mostrava atassia (restando immobile sul fondo per parecchi giorni), letargia, anoressia, esoftalmia uni-laterale destra con una grave emorragia accompagnata da essudato biancastro.
Sono stati effettuati dei prelievi dall'occhio lesionato mediante tampone sterile, poi seminati su Marine Broth, incubati a 24°C per 24 h e successivamente seminati su Marine Agar e TSA.
Le colonie cresciute sono state isolate e sui ceppi sono state effettuate le analisi biochimiche e l'identificazione tramite API 20STREP.
La colorazione di Gram mostrava la presenza di cocchi isolati o in catenelle Gram positivi ed i ceppi risultavano negativi al test dell'ossidasi e della catalasi.
La patologia è stata riscontrata solo in un esemplare, probabilmente a causa di un trauma con lesione successivamente infettatasi.
Questo è comunque il primo caso di un infezione da *L. garvieae* in un esemplare adulto di ricciola: da quanto riportato in letteratura, infatti, questo tipo di patologia viene registrata in esemplari giovani e di circa 80 g. di peso.

P3 –
MONITORAGGIO PARASSITOLOGICO IN MOLLUSCHI BIVALVI STABULATI NELLE SALINE DI MARGHERITA DI SAVOIA (FG)

Fioravanti M.L.[1], Caffara M.[1], Florio D.[1], Gustinelli A.[1], Quaglio F.[3], Tarsitano E.[2], Centoducati G.[2], Crescenzo G.[2]

[1] Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università di Bologna, Ozzano Emilia (BO); [2] Dipartimento di Sanità e Benessere degli Animali, Università di Bari; [3] Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata e Igiene Veterinaria, Università di Padova; Legnaro (PD).

Nell'ambito del progetto POR della Regione Puglia dal titolo "Produzione, Tutela e Valorizzazione di molluschi autoctoni", sono stati condotti campionamenti periodici di ostrica concava (*Crassostrea gigas*) e vongola filippina (*Tapes philippinarum*) al fine di valutarne lo stato sanitario attraverso la ricerca di patogeni di origine parassitaria mediante esami macroscopici e microscopici, esami colturali per l'isolamento batterico ed analisi istologiche. Sono pervenuti presso il laboratorio di Ittiopatologia 75 soggetti di *T. philippinarum* e 49 di *C. gigas*. Sono stati dapprima rilevati i parametri morfometrici e quindi dopo l'apertura delle valve si è proceduto al prelievo di emolinfa per la conduzione dell'esame batteriologico e di porzioni di organi per l'esecuzione dell'esame istologico per la ricerca di *Bonamia* spp. e *Marteilia* sp. Porzioni di branchie, mantello e piede sono state sottoposte ad esame parassitologico a fresco e una parte delle branchie è stata posta in thioglycolato addizionato di cloramfenicolo per la ricerca di *Perkinsus* spp. (Apicomplexa: Perkinsidae) secondo la metodica di Ray (1952).
Dei 75 soggetti di *T. philippinarum* esaminati, 27 (77,7%) sono risultati positivi per *Nematopsis* spp., 22 (61,1%) per *Perkinsus* spp. e 2 (5,5%) per larve di digenei Bucephalidae. Per quanto riguarda *C. gigas* si è riscontrata la presenza di *Nematopsis* spp. in 2 (4%) dei 49 soggetti esaminati. L'esame batteriologico ha permesso di isolare *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio alginolyticus* e *Acinetobacter* spp. da 8 esemplari di *T. philippinarum* e di *Vibrio* spp. in 4 *C. gigas*. L'esame istologico non ha rilevato la presenza di *Bonamia* spp. e *Marteilia* sp. nelle ostriche. Lesioni istopatologiche si sono osservate a carico di muscolo e pancreas unicamente in *T. philippinarum* parassitate da cercarie di digenei Bucephalidae. Oocisti di Nematopsis, contenenti sporozoiti vermiformi si rilevavano nel connettivo branchiale a basso grado di infestazione senza lesioni apparenti. Nonostante la presenza di *Nematopsis* non abbia evidenziato lesioni istopatologiche risulta di particolare interesse la sua osservazione in due differenti specie di molluschi bivalvi in coabitazione nel medesimo ambiente produttivo. In seguito a questa osservazione sono stati campionati nello stesso sito alcuni esemplari di crostacei decapodi del genere *Carcinus* ospiti definitivi di questi Apicomplexa. L'esame parassitologico a fresco e l'esame istologico non hanno evidenziato la presenza di stadi di sviluppo di protozoi morfologicamente riferibili a *Nematopsis* spp. Ulteriori indagini si rendono necessarie al fine di per individuare l'ospite definitivo idoneo in questi ambienti produttivi.

Progetto finanziato da: Programma POR Puglia 2000-2006 SFOP (asse prioritario IV "Sistemi locali di sviluppo" Misura 4.13 "Interventi di supporto alla competitività e all'innovazione del sistema pesca" sottomisura 4.13E "Azioni innovative art. 17 Reg. 2792/99 SFOP e succ. mod.).

P4 –

ASPETTI MICROBIOLOGICI E ANATOMO-ISTOPATOLOGICI DELLA SHELL DISEASE SYNDROME IN CINQUE DIFFERENTI SPECIE DI CROSTACEI DECAPODI

Carella F.[1], Marino F.[2], Maiolino P.[3], Grassi P.[4], Danzè A.[5], Mancuso M.[6], Maricchiolo G.[6], De Vico G.[1]

[1] Dipartimento delle Scienze Biologiche, Facoltà delle Scienze MM.FF.NN, Università degli Studi di Napoli Federico II, via Mezzocannone, 8 - 80134 Napoli; [2] Centro di Ittiopatologia Sperimentale della Sicilia c/o Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Messina, Polo Universitario dell'Annunziata - 98168 Messina; [3] Dipartimento di Patologia e Sanità Animale, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli; [4] Acquario Mediterraneo di Giarre, Provincia di Catania; [5] Acquario Comunale di Messina, CESPOM.

In questo studio sono descritte le lesioni anatomo-istopatologiche, supportate da indagini microbiologiche, in 5 specie di crostacei decapodi provenienti da ambienti artificiali e naturali in corso di *"Shell disease syndrome"*: 10 *Melicerthus kerathurus, 2 Paramola cuvieri,* 10 *Palinurus elephas,* 6 *Nephrops norvegicus* e 50 *Carcinus aestuarii*.
Gli animali presentavano, a livello del carapace e degli arti, erosioni ed ulcere di colorito bruno-scuro o nero (brown spot), di dimensioni e forma variabili, spesso ombelicate. In taluni individui, all'atto della muta, le lesioni superficiali venivano perdute con guarigione degli animali, mentre la presenza di lesioni profonde preludeva spesso alla morte dei soggetti.
L'esame istologico dell'esoscheletro evidenziava lesioni di diversa entità: erosioni epicuticolari che talvolta si estendevano all'endocuticola, fino a più estese e profonde ulcere, accompagnate da totale perdita della struttura esoscheletrica protettiva ed interessamento dell'epitelio sottostante, con formazione di pseudomembrane e infiltrati emocitari. A livello degli arti, e precisamente delle giunture, la lesione sembrava farsi strada tra le articolazioni, provocandone il successivo distacco o inducendo l'animale all'autotomia.
Il termine *"Shell disease syndrome"*, descrive solitamente una condizione patologica che si manifesta più comunemente in crostacei che vivono in condizioni ambientali artificiali (come sistemi d'acquacoltura e acquari). Essa può essere tuttavia osservata anche in soggetti selvatici che vivono in acque inquinate ed estuari, in particolare laddove la carica batterica sia particolarmente elevata. Il riscontro di tale lesione in animali selvatici della foce del Volturno, area ad elevato tasso d'inquinamento organico ed inorganico e in animali in cattività, ci stimola ad approfondire le ricerche sulle relazioni causali tra patologia riscontrata e stress ambientale.

P5 –
IPEROSTOSI IN RICCIOLA (*SERIOLA DUMERILII*) E PAGRO (*PAGRUS PAGRUS*)

Rapisarda G.[1], Macrì F.[1], Manganaro M.[1], Marino F.[1], Mazzullo G.[1], Quaglio F.[2]

Centro di Ittiopatologia Sperimentale della Sicilia (CISS), Sez. Patologia Generale e Anatomia Patologica Veterinaria, Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria – Università degli Studi di Messina; [2] Dip. di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Università di Padova.

L'iperostosi è una lesione produttiva del tessuto osseo con eziopatogenesi e significato funzionale sconosciuto, descritta in 92 specie appartenenti a 22 famiglie di teleostei marini, rara in quelli d'acqua dolce. L'iperostosi ricorre principalmente in specie tropicali e sub-tropicali, con relativi pochi riscontri in specie temperate. Quadri di crescita iperostotica appaiono spesso specie-specifici e si manifestano in soggetti maturi. Una porzione dello scheletro di una ricciola (*Seriola dumerilii*) veniva inviata da una mensa pubblica sita nella provincia di Messina. Lo scheletro intero di un pagro (*Pagrus pagrus*) veniva inviato da un privato. Due spine emali delle vertebre dorsali dell'esemplare di ricciola mostravano dilatazioni misuranti cm 1,3 x 1,6 e 1,4 x 1,7. Il tessuto osseo era espanso alle estremità con un aspetto palloniforme. Il periostio appariva normale e rivestiva entrambe le masse neoformate. Nel pagro, tre spine emali delle vertebre caudali apparivano coinvolte dalla neoformazione. Due processi emali risultavano dilatati con un aspetto "a nocciola", mentre il più caudale dei tre processi era semplicemente ispessito per tutta la lunghezza del suo asse maggiore. Lo studio radiografico ha messo in evidenza aree caratterizzate da elevata radiopacità, simili a tessuto osseo, di aspetto denso e omogeneo, con margini lisci e ben definiti e nessuna tendenza alla distruzione dell'osso. Microscopicamente, il tessuto neoformato era costituito da cellule ossee ben differenziate disposte a formare un aspetto spongioso; la zona più esterna appariva più densa e conteneva canali pieni di cellule e di vasi. Il collagene della matrice ossea presentava un alto grado di ossificazione. Nessuna modificazione neoplastica o infiammatoria veniva documentata a carico degli osteoblasti, osteociti e osteoclasti. I risultati dello studio macroscopico, radiologico ed istologico ci conducevano, per entrambi i casi presi in esame, verso una diagnosi di iperostosi. Dalla disamina della bibliografia, questo lavoro appare essere il primo report di tale lesione nella ricciola e nel pagro, due tra le specie ittiche più apprezzate nei mercati Mediterranei. Si pone il problema della diagnosi differenziale con l'osteoma e probabilmente queste due lesioni sono spesso state confuse. Sebbene l'iperostosi possa presentare elevate prevalenze in alcune specie ittiche, le lesioni qui descritte sono da annoverare tra i reperti occasionali. Le dilatazioni delle ossa sono percettibili esternamente nei pesci più grandi. La localizzazione di queste lesioni, solitamente profonda nei tessuti corporei, in prossimità della colonna vertebrale, fa sì che spesso esse sfuggano alla routinaria ispezione sanitaria dei prodotti ittici. Solo in quei casi in cui il pesce viene sezionato ed esaminato attentamente è possibile vedere le deformità del tessuto osseo.

P6 –
PROVE DI APPETIBILITÀ E SINTOMATOLOGIA IN VASCA IN TROTE IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) TRATTATE CON MELAMINA

Dörr A.J.M.[1], Abete M.C.[2*], Elia A.C.[1], Gasco L.[3], Marchis D.[2*], Pacini N.[1], Ferro G.L.[2*], Squadrone S.[2*], Prearo M.[2]

[1] Dipartimento di Biologia Cellulare e Ambientale, Laboratorio di Ecotossicologia; Università di Perugia, Via Elce di sotto, 8 – 06123 Perugia; [2] Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Via Bologna, 148 – 10154 Torino; [*]C.Re.A.A, Centro di Referenza Nazionale per la sorveglianza e il monitoraggio dell'Alimentazione Animale; [3] Dipartimento di Scienze Zootecniche, Facoltà di Agraria, Via L. da Vinci, 44 – 10095 Grugliasco (TO).

La melamina è stata oggetto di recenti allerte comunitarie in quanto rinvenuta in materie prime ad uso zootecnico destinate anche all'acquacoltura. La melamina (2,4,6-triammino-1,3,5-triazina, $C_3H_6N_6$), è un composto eterociclico. A temperatura ambiente è un solido bianco cristallino scarsamente solubile in acqua. In virtù del numero di atomi di azoto, può trovare impiego quale fertilizzante, ma il suo uso principale è nell'industria della plastica, per la produzione di resine melaminiche, che in combinazione con la formaldeide trovano impiego anche nella produzione di materiali destinati al contatto con gli alimenti. La melamina è stata aggiunta agli alimenti per animali, con lo scopo di aumentarne fraudolentemente il contenuto proteico, ma non avendo nessuna proprietà nutritiva, viene considerata una falsa proteina. Tale contaminante è stato rinvenuto in materie prime proteiche di origine vegetale, come le proteine della soia, del grano o del mais. Lo scopo del presente lavoro è di valutare gli effetti tossicologici di questa triazina sulla trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) alimentata con una dieta addizionata con melanina.
Ad oggi è stato condotto un esperimento di appetibilità con la preparazione sperimentale di un mangime arricchito contenente 50 g di melamina/kg di mangime. In particolare, 20 trote iridea sono state alimentate per 30 giorni con tale mangime in una vasca rifornita da acqua di pozzo a flusso continuo. I risultati preliminari conseguiti hanno evidenziato una buona appetibilità del mangime prodotto e durante la prima fase sperimentale non sono stati osservati casi di mortalità. La sintomatologia osservata è stata atassia natatoria, con comportamenti anomali dei soggetti trattati e melanosi. Successivamente, parte dello stock di sperimentazione è deceduto (mortalità a stillicidio nei 40 giorni successivi il termine dell'alimentazione di prova con perdita di circa il 60% dei soggetti trattati) con manifestazioni evidenti di atassia, letargia e di anoressia (intossicazione subacuta). L'allestimento di esperimenti di tossicità subacuta a flusso continuo per 90 giorni in pesci in allevamento, mediante somministrazione di mangimi a diverse concentrazioni di melanina, consentirà di valutare gli aspetti anatomopatologici ed istopatologici dei vari tessuti. Inoltre verranno indagati la potenziale genotossicità della melanina e i valori di alcuni biomarkers di stress ossidativo nel fegato e rene, quali glutatione ridotto e ossidato, glutatione perossidasi, glutatione reduttasi, glutatione S-transferasi, superossido dismutasi e catalasi. I risultati preliminari qui esposti sono propedeutici alla fase successiva di sperimentazione sulla tossicità della melamina e sono risultati utili per stabilite i livelli di incorporazione nel mangime. Alla luce delle mortalità occorse in animali d'affezione negli Usa e degli ultimi casi di intossicazioni occorsi nella popolazione infantile della Cina alimentata con prodotti contenenti quantitativi elevati di melamina, tale ricerca risulta di essere di attualità e i risultati attesi potranno essere di ausilio nella comprensioni di alcune manifestazioni degli anni passati, la cui causa non è stata ritrovata anche se è stato supposto da più parti una fraudolenta immissione di sostanze azotate non proteiche.

ABSTRACT Workshop

ACQUACOLTURA MEDITERRANEA: ASPETTI NORMATIVI E SANITARI A CONFRONTO

THE ROLE OF OIE IN SETTING INTERNATIONAL STANDARDS FOR PREVENTING SPREAD OF AQUATIC ANIMAL DISEASES

Barry HILL

Vice-President, OIE Aquatic Health Standards Commission.

The World Organisation for Animal Health (OIE) (www.oie.int) provides guidelines, through the Aquatic Animal Health Code, for preventing the international spread of aquatic animal diseases. The OIE provides the only standards recognised under the SPS Agreement of the World Trade Organisation for animal health conditions applying to international trade in animals and animal products. The aim is to ensure the sanitary safety of international trade in live animals and their products. This is achieved by providing guidelines on the health measures to be used by the veterinary authorities of importing and exporting countries to prevent the transfer of agents pathogenic for animals, while avoiding unjustified trade barriers.

The development of guidelines for aquatic animals (fish, molluscs, crustaceans and amphibians) is the result of the continuous work of one of the OIE's Specialist Commissions, the OIE Aquatic Animal Health Standards Commission ("Aquatic Animals Commission"). The Aquatic Animals Commission is assisted by internationally renowned independent experts, OIE ad hoc groups and expertise at the many OIE Reference Laboratories for aquatic animal diseases. The main published standards produced by the OIE for aquatic animals are the Aquatic Animal Health Code ("Aquatic Code") and the Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals ("Aquatic Manual"). The views of OIE Member Countries are systematically sought through the circulation of draft and revised texts and other proposals appended to the Commission's meeting reports to the National Delegates of all OIE Member Countries. In addition, the Aquatic Animals Commission collaborates closely with the OIE Terrestrial Animal Health Standards Commission on issues needing a harmonised approach in the Terrestrial Code and the Aquatic Code, and meets with the OIE Biological Standards Commission and the OIE Scientific Commission to ensure consistency of scientific standards in the two Diagnostic Manuals.

The Aquatic Animals Commission comprises five elected members experienced in the fields of methods for surveillance, diagnosis, control and prevention of infectious aquatic animal disease and meets twice a year. The Commission also draws upon the expertise of internationally renowned experts to prepare draft texts for new chapters of the Aquatic Code and the Aquatic Manual or to revise existing chapters in light of advances in scientific knowledge. The Aquatic Manual provides a uniform approach to the diagnosis of, and surveillance for, the diseases listed in the Aquatic Code, so that the requirements for health certification in connection with international trade in aquatic animals and aquatic animal products can be met. The Aquatic Manual is continually revised and updated as new information on aquatic animal diseases in general, and new emerging diseases in particular, becomes available.

The five members of the Aquatic Animals Commission are elected for a 3 year term by the International Committee of the OIE at the General Session in May of the election year. The OIE requires that the Commission members shall be internationally recognised specialists in the fields of methods for surveillance, diagnosis and prevention of infectious aquatic animal diseases and shall have extensive international experience, at the regional or global level. Key functions of the Commission are to:

- propose the most appropriate methods for surveillance, diagnosis and disease prevention for sanitary security of trade or international movement of aquatic animals and their products covering diseases listed in the Aquatic Code;

- oversee production of the Aquatic Code and Aquatic Manual;

- promote the dissemination amongst Veterinary and other Competent Authorities of information on aquatic animal diseases;

- keep the International Committee and the Director General informed of scientific progress on methods for surveillance, diagnosis and disease prevention likely to improve the prevention and the control of aquatic animal diseases;

- identify issues that require in-depth review and propose, to the Director General, the composition and terms of reference of experts or Ad hoc Groups of experts convened specifically to study such issues, and if necessary, to participate in the work of these Groups;

- assess applications for appointment as OIE Reference Laboratory and advise the International Committee;

- facilitate and work with the worldwide network of reference laboratories and collaborating centres in the field of aquatic animals, so as to achieve OIE's mandate.

The Commission meets formally at OIE, Paris in March and September/October each year but does much work by electronic communication between meetings. International leading experts are asked to assist the Commission by attending its meetings as invited specialists in fish, mollusc, crustacean or amphibian diseases to provide additional specialist knowledge. In addition, the Commission may ask the Director General of the OIE to set up ad hoc groups to address specific technical and scientific issues, and such groups report back to the Commission, usually with their recommendations. The President of the Commission reports on its activities and new proposals to the International Committee at the OIE General Session in May, and includes any reports from the ad hoc groups. Any recommendations of the Commission for changes to the Aquatic Code and the Aquatic Manual are put forward for formal adoption. The adopted texts are made publicly available as soon as possible on the OIE web site.

In addition to being published as hard copy, the Aquatic Code and the Aquatic Manual are also made available electronically on the OIE web site under ‘Health standards’. The latest edition (11^{th}) of the Aquatic Code (2008) incorporates modifications proposed by the Aquatic Animals Commission and approved by Delegates during the OIE General Session in May 2008. The latest edition (5^{th}) of the Aquatic Manual (2006) is currently undergoing revision and updating to account for advances in the science of aquatic animal diseases, and the new edition will be published in 2009.

AQUATIC ORGANISM LEGISLATION ACCORDING TO 2006/88/EC DIRECTIVE

Giuseppe BOVO

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (PD), ITALY.

By August 2008 all European MS should have implemented in their own legislation the directive 2006/88/CE "***on animal health requirements for aquaculture animals and products thereof, and on the prevention and control of certain diseases in aquatic animals".*** This recent directive repeals the existing ones 91/67/EEC, 93/53/EEC and 95/70/EC while 2004/453/EC shall continue to apply for the purpose of this Directive pending the adoption of the necessary provisions.
Fish, molluscs and Crustacea have been included in a common document in order to harmonize the general control methods and apply the same approach whenever possible.
According to a shared strategy it is important to ensure that the main aquatic animal diseases do not spread from originally infected areas to free areas. Harmonised animal health provisions for placing on the market of aquatic animals have been therefore laid down and a list of important fish, mollusc and Crustacea diseases and species susceptible thereto have been adopted.
In order to ensure early detection of any possible outbreak of animal disease, those persons in contact with aquatic animals of susceptible species will be obliged to notify any suspect case of disease to the competent authority. Furthermore routine inspections and samplings have been foreseen in all the farms, particularly those rearing susceptible species, in order to ensure that aquaculture production business operators may become familiar with, and apply, the general rules on disease control and biosecurity laid down in the directive.
The definition of farm and zones, identified on geographical basis and already consolidated during the past legislation, has been maintained while a new epidemiological unit has been introduced. In fact the *Compartment* is a new epidemiological unit consisting of one farm or more farms under a common biosecurity system containing an aquatic animal population with a distinct health status with respect to a specific disease.
To enhance the animal health status of the Community, epidemiologically based programmes to control and eradicate certain diseases have been foreseen and they should be adopted at MS or Community level.
Because of the importance of the analytical results on control programs the laboratories involved in the examination of official samples must work in accordance with internationally approved procedures or criteria based on performance standards and must use diagnostic methods that have, as far as possible, been validated. In addition they have to participate to the proficiency tests regularly organized by the Community Reference Laboratory and obtain a positive score.
Attention has been paid on import of live animals which should have at least the same health status of the area where they are introduced. Ornamental fish for which an important trade exists do not pose a high risk except if they are kept outside closed systems or aquariums, in direct contact with the natural waters as the case of koi carps. In this case they are compared to other farmed species and included in the directive.

EPIDEMIOLOGY IN THE CONTROL OF FISH DISEASE

Ignacio DE BLAS

Department of Animal Pathology, Faculty of Veterinary, University of Zaragoza (Spain)
c/ Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza (Spain).

Epidemiology is an important tool for the control and eradication of animal diseases, and it gets more importance since approval of European Directive 88/2006, in which a risk-based epidemiological surveillance system was proposed for disease investigation for diseases of aquatic animals. Epidemiology provide theoretical basis for disease study like sampling strategy, sample size calculation, reliability of diagnostic tests, calculation of prevalence and incidence and estimation of risk factors, among others.
Control of fish diseases has two basic approaches: detection of disease (as key part of surveillance and eradication programmes) and calculation of prevalence (to evaluate efficacy of a control programme).
In first case we need to know if diseases (or infection) are present in a territory or a population. So we must design a surveillance system taking into account different epidemiological tools. First of all is to design an efficient sampling methodology, and in this case it is recommended a non probabilistic sampling method, since animals with more probability of infection are selected. In order to get this aim, we use epidemiological data, as susceptibility and risk factors, to increment probability of detection of a diseased/infected animal, and in consequence we establish some objective criteria for sampling, usually related with features of animal (specie, age, sex…) or environment (temperature, season…).
Another important element to determine is the sample size (n), that in this case it is related with the expected minimum prevalence (normally, 2% or 5%) (really, it is the minimum expected diseases animals: d), population size (N) and confidence level (CL). It is relevant to indicate that with great populations (as occurs with fish) the sample size is more or less constant, and it is frequent to work with samples sizes of 150, 60 and 30 fish, that correspond respectively with 2%, 5% al 10% of minimum expected prevalence with a 95% of confidence level. Used formula is:

$$n = \left(1 - (1 - CL)^{\frac{1}{d}}\right) \cdot \left(N - \frac{d-1}{2}\right)$$

The last factor to take into account is diagnostic accuracy since we need to use the more sensitive diagnostic test (to minimize false negatives). False negatives are infected animals that we cannot to detect, and in consequence our final classification of a population could be wrong. Furthermore, we also must take into account other factors like imperfect specificity or use of pools for diagnostic.
The second case to discuss is the estimation of prevalence, when we know that a disease is present in a population, we need to know the prevalence, to decide measures to implement, and its evolution, as an indicator of efficacy of disease control measures.
This kind of surveys is significatively different of previous ones. Related with sampling methodology, we must use a probabilistic sampling method, in other words, all the fish in a population have the same probability to be select to take part of the sample. So the sampling strategy is usually complex, and different approaches are possible: pure random, systematic, stratification, cluster selection, multi-step sampling... It is necessary to know the characteristics of the population to select the more adequate.

The second question related with sampling is the calculation of sample size that depends on expected prevalence (P), expected precision (E) and confidence level (Z, which corresponds to value of desired confidence level in a normal distribution: 1.96 for a 95% confidence level). The formula to be applied in this case is the next one:

$$n = Z^2 \cdot \frac{P \cdot (1 - P)}{E^2}$$

Based in previous formulae, it is possible to see that maximum sample size corresponds to a prevalence of 50% (0.5), and in consequence this is the value to use when we work with populations where prevalence is unknown.
Finally in this case we need to consider also sensitivity and specificity of diagnostic test in order to understand the role of false negatives and false positives in the calculation of true prevalence. In other case, we only know the apparent prevalence, calculated as percentage of positive results in a sample. So if we use different diagnostic protocols, could be difficult to compare results. Formulae to calculate true prevalence is:

$$\text{True Prevalence} = \frac{\text{Apparent Prevalence} + \text{Specificity} - 1}{\text{Sensitivity} + \text{Specificity} - 1}$$

Unfortunately we don't know currently sensitivity and specificity for most of diagnostic protocols used in fish health, and more efforts are needed in this direction.
However, there are more applications of epidemiology for control of fish disease, and for example it is possible to design epidemiological surveys to detect risk factors that can be used to improve the epidemiological surveillance or to design new strategies in order to control the disease or to minimize the health impact.

AQUACULTURE PRODUCTION AND MAIN FISH DISEASES IN MEDITERRANEAN EC COUNTRIES

Gaspare BARBERA

Associazione Piscicoltori Italiani

Aquaculture in the Mediterranean region is an activity which started many centuries ago. As in many parts of the world, aquaculture production in the Mediterranean EC countries has been expanding rapidly over recent years. As regards to species, recent aquaculture developments focus on sea bass and sea bream, however species diversification has become a major challenge to Mediterranean aquaculture. The technology applied has evolved rapidly as a result of the modifications of existing farming facilities (e.g. water recirculation for land based installations) and the development of new farming concepts (e.g. off-shore submerged netcage technology). As a consequence of such developments, nowadays, in the Mediterranean a wide-range of production activities of marine species co-exist in different environments using a variety of production technologies; from extensive mollusc or fish production to highly intensive raceways or netcage fish farming.
The different types and technologies of farming (structural features and management of farms, their spread in the territory) greatly influence the emergence of fish diseases.
Mediterranean aquaculture production data, on the basis of API, FEAP and its Member Associations collected data will be presented and analysed. The diffusion and importance of the main disease affecting the finfish farmed species in this region, will be also reported and discussed.

LEGISLATION AND HEALTH SITUATION IN CROATIAN AQUACULTURE

Snježana ZRNČIĆ, Dražen ORAIĆ

Croatian Veterinary Institute, Dept. of Pathology, Laboratory for Fish Diseases, Savska 143, 10000 Zagreb, Croatia

Croatia is with its south part the Mediterranean country while with its northern part it belongs to the Central Europe. Aquaculture sector in Croatia is diverse and depends upon natural conditions. Almost same quantities are produced in freshwater and marine aquaculture. Warm water freshwater aquaculture is situated in the continental (northern) part of the country and the major produced species are common carp (*Cyprinus carpio*), grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), silver carp (*Aristychthys nobilis*), bighead (*Hypophthaltmichthys molitrix*), catfish (*Silurus glanis*), pike (*Esox lucius*) and pike perch (*Zander lucioperca*) while salmonids' farms are in the mountain region cultivating rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta* m. *fario*). Along the Adriatic coastline long 5800 km there are several farms of sea bream (*Sparus aurata*), sea bass (*Dicentrarchus labrax*). Some quantities of fry for cultivation farmers are buying from 4 Croatian hatcheries while the rest is imported from other Mediterranean countries. On the same farms small amounts of sharp snout sea bream (*Diplodus puntazzo*) and dentex (*Dentex dentex)* are produced. The farming of all mentioned species until market size is carrying out in cages of different shape and size. In the recent decade some tuna (*Thunnus thynnus*) farms have been established. This type of aquaculture is based on the fattening captured fish of different size, age and origin caught in Mediterranean Sea according to ICCAT. Cultivation of molluscs species; oysters (*Ostrea edulis*) and mussels (*Mytilus galloprovincialis*) has the longest tradition, from the Roman times. Overall annual production in fresh water and in the sea is about 16.000 tons and the consumption of fish is low, about 10 kg *per capita.* The major part of the production is being exported. Control of fish viral diseases listed by EC/OIE is performed according to the "Decree on the measures of animal health protection against infectious and parasite diseases" issued yearly by Ministry of Agriculture, Fisheries and Rural Development. During the present year an "Ordinance on animal health requirements for aquaculture animals and products thereof, and on the prevention and control of certain diseases in aquatic animals" based on Council Directive 2006/88/EC was been adopted. A field survey is carrying out to study the occurrence and distribution of viruses causing diseases of major impact in salmonids, cyprinid or marine fish farming, namely viral haemorrhagic septicaemia (VHS), infectious haematopoietic necrosis (IHN) in salmonids, spring viraemia of carp (SVC) and koi herpes virosis (KHV) in cyprinds and viral encephalopathy and retinopathy (VER) in sea bass. The same regulation prescribes surveillance of molluscs diseases caused by *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*. This report derives from systematic clinical, parasitological, pathoanatomical, histopathological, bacteriological and virological monitoring of cultivated fish and shellfish on larger part of production during last several years. Among pathological conditions recognised on our farms, some specific viruses like infectious pancreatic necrocisis virus is present and there were an occurence of infecious haematopoetic necrosis virus in carantine. Bacterial diseases are very often the cause of mortalities in all kind of cultivated species. The most serious problems are caused by bacteria from the genus Aeromonas, Vibrio, Flavobacterium, Tenacibaculum and occasionally Photobacterium. Parasites represent frequently established causative nosologic agents but the most serious problems are caused by those caused my myxosporidiums. One of the very interesting problematic is pathology in tuna farming. Until now there were several outbreaks on the tuna farms along the coast, but until now there is no systematic approach to the study of the diseases and epizootiology of the some

isolated parasites or bacteria. This is the field which will require the utmost effort in finding some answers and improvment in zootechnics and zoohygiene. Similarly, as in other European coutries there are several drugs approved for use in aquaculture; antibacterials like potentiated sulphonamides, quinolones, florphenicol, tetracycline and erythromycin are the most often used mixed in the feed. One of the biggest problem is the lack of fish feed mills and that's the reason why farmers have to prepare the medicated feed by themselves what can cause mistakes in dosage, application etc. Furthermore, there are no antiparasitic drug at the local market what faces the carp farmers with big problems in the case of heavy infestation by ectoparasites or tapeworms. Local aquaculture market is too small for pharmaceutic industry and they have no interest for registration of different drugs in Croatia. An advantage is attained by implementation of vaccination of sea bass fry in hatchery as well as oral revaccination in the cages on farms.

LEGISLATION AND HEALTH SITUATION IN AQUACULTURE IN TURKEY

Buket OZKAN OZYER

Bornova Veterinary Control and Research Institute

Introduction

Turkey is surrounded on three sides by Mediterranean Sea , Agean Sea and Black Sea and has a big potential for aquaculture. Total lenght of Turkish coastlines are 8 333 km. The country has also rich inland waters that are 200 lakes, 159 dams lakes and 750 small dam lakes or ponds, and river systems (33 rivers) with significant capture fishery and aquaculture potential.

Aquaculture is a new industry for Turkey in comparison with other farm animals. Aquaculture in Turkey was started with rainbow trout in 1970s. Approximately ten years later sea bass and sea bream were begin to produce in 1980s. Aquaculture is currently becoming even more popular and is a very impotant sector in Turkey.

The percapita consumption of fishery products in Turkey is around 7 kg which is quite low in comparison to global and European average figures when compared to Turkey's available aquatic resources.

Total fish production in Turkey is 701,395 tons in 2007* including cultured and catch fish. Cultured fish production is 139,873 tons which is 19.9 % of total production. Total number of fresh water fish farms registrated by Ministry are 1 281** and total cultured fresh water fish production is 59,033 tons in 2007. The main cultured fresh water fish are rainbow trout (98,98 % total cultured fresh water fish) and comman carp. Total number of marine fish farms registrated by Ministry are 352 and total cultured marine fish production is 80,840 tons in 2007*. The main cultured marine fish are sea bass and sea bream. Additionally, a few farms are making trials for rearing new species such as tuna, turbot, conger eel, sharpsnout seabream, waker, mearge, croaker, dentex, brown mearge and common seabream.

Total number of registrated by Ministry bivalve mollusc farms are 3 and total cultured bivalve mollusc production is 1,100 tons. Total number of catch bivalve mollusc is 50,146 tons in 2007. The main bivalve mollusc species are carpet shell, striped venus, mediterranean mussel, beared horse mussel and warty venus.

Common Fish Diseases -

Marine fish diseases

Main bacterial diseases of sea bass and seabream are vibriosis which caused by *Listonella anguillarum* and other vibrio sp. and pasteurellosis caused by *Photobacterium damsela subsp. piscidia*. Other bacterial diseases are myxobacteriosis (*Tenacibaculum maritimum*), streptococcosis (*Streptococcus iniae, Streptococcus uberis*), motil aeromonas septicaemia (*Aeromonas hydrophilia*), winter diseases (*Pseudomonas anguilliseptica*) and clamidiosis (clamidia like organism).

Main viral diseases; Lymphocystis is comman all juvenil sea bream. The diagnosis of lymphocystis is based on clinical sign and macroscopical aspect. IPNV was isolated from sea bass on two farms in black sea. Diagnosis of VNN has been just started in laboratory.

---

* According to Turkish Statistical Institute

** According to Ministry of Agriculture and Rural Affairs

Main parasitic diseases agents of sea bass and seabream are *Isopoda sp, Trichodina sp., Dactylogyrus sp., Gyrodactylus spp Lernanthrophus sp., Caligus sp., Ichtyobodo necatrix, Microcotyle sp., Apyosoma sp, Amyloodinium sp, Ceratomyxa sp., Myxosporodean protozoonlar., Eimeria sp.*and *Cryptocaryon irritans*.

Fresh water fish diseases

Main bacterial diseases for rainbow trout is ERM caused by Yersinia ruckeri. Other bacterial diseases are lactococcosis (Lactococcus garivieae), motil aeromonas septicaemia (Aeromonas hydrophilia), Hitra diseases (*Vibrio salmonicidia*) and rainbow trout fry syndrome (*Flavabacterium psychophlium*). Also bacterial kidney diseases (*Renibacterium salmoninarum*) was reported from cultured black sea salmon (*Salmo trutta labrax*) in Black sea region. Main bacterial diseases of comman carp are motil aeromonas septicaemia and Pseudomoniasis.

Main viral disease of rainbow trout is IPN in Turkey. There are nearly 60 IPNV isolates from 6 regions of Turkey. VHS is other important viral diseases and there are 2 VHSV isolates one region of Turkey. From the data has carried out in the survey about comman carp diseases there are no any viral diseases.

Main parasitic diseases agents in rainbow trout are *Ichtyopthyrius multifilis,Trichodina sp., Gyrodactylus spp* and *Oodinium sp.*,

Bivalve mollusc diseases

There are two bivalve mollusc diseases in notifiable diseases list. These are marteliosis (infection with *Marteilia refringens*) and bonamiasis (infection with *Bonamia ostrea*). The Bivalve Mollusc Surveillance Programme has started about marteliosis, bonamiasis and perkinsosis in 2004 and has continued at present. This programme carry out according to EC legislation 95/70/EEC and 91/67/EEC. There aren't any isolate about bonamiasis and marteliosis. Only perkinsosis case had been reported from carpet calm (*Ruditapes decussatus*) in Turkey.

Legislations

In Turkey, the authority responsible for animal health control and fisheries is the Ministry of Agriculture and Rural Affairs. The Ministry performs its duties through mainly two General Directorates. These are General Directorate of Protection and Control (GDPC) which is responsible for controling and monitoring of aquatic animal movements, combating against aquatic animal diseases, regulating the requirements for import and export of animals and products of animal origin and inspection and supervision fishery products and General Directorates of Agriculture Productions which is responsible for fishering. Releated to aquatic animal health, GDPC performs its operations through the Provincial and District Directorates, Institutes of Veterinary Control and Research and Warehause and Customs Veterinary Directorates. Control sections of 81 Provincial and District Directorates of Ministry are responsible for implementing fishing and animal health regulation arrengement in the annual ministerial circulars. Diagnosis of presence of disease is carried out by a laboratory approved by the Competent Authority of Ministry. Bornova Veterinary Control and Research Institute is responsible for diagnosis of aquatic animal diseases as National Reference Laboratory in Turkey.

All activities in fisheries and aquaculture are based the fisheries law No:1380, enacted in 1971. It is amended by law 3288 of 1986. Based on this law, regulations and circulars are prepared to regulate fisheries. This law includes protection, production and inspection of aquatic products. In accordance with the laws, every year commercial fisheries and sport fishing circulars are published and announced in the official journal about the restriction for stock control (http://www.kkgm.gov.tr/regulation/laws.html).

Turkey is trying to adapt EC rules and follows most of EC regulations. Turkey follows EC regulations including 91/67/EC, 93/53/EC, 95/70/EEC and 2001/183/EC releated on aquatic animals diseases and diagnostic methods. Also Turkey follows OIE about aquatic

animals diseases and diagnostic methods. All animal health control in Turkey are based on the law of animal health control No:3285, enacted in 1986. The aim of this law is to prevent the transmission of diseases from animals and animals materials to human and other animals. Based on this law, notifiable diseases will be determined by the Animal Health Information Organisation and approved by the Ministry. The aquatic animals diseases which are in notifiable diseases list are VHS, IHN, SVC, BKD, crayfish plaque disease, bonamiasis and marteliosis. In accordance with the law, every year aquaculture health control circulars are published and announced in the official journal about the cotrol for these diseases.

When fish on farm are suspected with these list diasese, official service immediately activates to confirm presence of disease, including clinical examination and have taken the samples necessary for laboratory examination. If a laboratory report confirms these diseases in fish, an official veterinarian will prepare a report for the animal Health Control Commision which declares outbreak. This commision will pass a decision about the outbreak in order to control and eradicate the disease. A cordon and quarantina will be set up by this commission.

LEGISLATION AND HEALTH MANAGEMENT AQUACULTURE IN ISRAEL

Angelo COLORNI

National Center for Mariculture of the Israel Oceanographic and Limnological Research, Eilat, Israel. Head of the Pathobiology Department.

There is no single aquaculture statute governing fish farming in Israel. However, general regulations, standards, codes of practice and policies aimed at minimizing pollution of rivers, lakes, reservoirs, aquifers, and the sea - under the jurisdiction of the Israeli Ministry for Environmental Protection - all apply. Fish farmers frequently apply to the Fishery Department of the Ministry of Agriculture for permission to introduce new species or genetically improved species, to increase production, satisfy market demand and generate export options. A special Introduction Committee (under the patronage of the Dept. of Fisheries & Aquaculture – Min. Agriculture) issues the permit for a particular introduction or vetoes it whenever there is concern that the species in question may adversely affect local ecosystems (Lake Kinneret and the Gulf of Eilat in particular).
Predation, competition, genetic impoverishment and disease are the parameters considered for ecological impact.
The aquaculture industry in Israel is highly developed (20,000 tons of fish - approximately one third of the fish consumed in the country - are produced annually in ponds and reservoirs over a total area of 3000 hectares) and is based almost entirely on science-linked technologies. A two-way flow of information between researchers and farmers exists, with Government agencies, academic institutions, industry and cooperative bodies working together to seek solutions and meet new challenges. Through a network of extension services, problems in the field are brought directly to the researchers for solutions, and scientific results are quickly transmitted to the field for trial adaptation and implementation. Diaminostilbene derivatives, used as fluorescent whitening agents in the textile industry, were found to be therapeutically effective and environment-friendly in the control of *Saprolegnia*, an opportunistic saprotrophic aquatic mold and a constant concern in freshwater ponds in the north of the country during winter, while *Prymnesium parvum*, an ichthyotoxic flagellated microalga that recently re-appeared in Israel in closed circulation systems in the south, is controlled by ammonium sulfate.
Despite the strong support received by the Government, after an expansion peak in the 1970s fish farming sharply declined as a consequence of the chronic shortage of fresh water in the country. In addition, following a decade-long controversy, the Government ruled to discontinue fish farming in the Red Sea near the southern city of Eilat by 2008 because it was deemed damaging to nearby coral reefs. Attempts are being made to compensate for this situation by developing technologically advanced, storm-resistant submersible cages in the Mediterranean Sea, expanding brackish water aquaculture, investigating the suitability of geothermal water to aquaculture, encouraging the practice of polyculture, and employing closed systems of recirculated water.
The Government decision not to allow sea-cage farming in the Red Sea has led to intensive R&D of inland recirculation and integrated marine systems. The margins of flexibility in these systems are extremely narrow and the consequence of errors is usually catastrophic. Disease control also becomes problematic. Two parasitoses, sustained by *Amyloodinium ocellatum*, a dinoflagellate protophyton highly adapted to parasitism, and *Cryptocaryon irritans*, a ciliate protozoan found in marine fishes in tropical, subtropical and temperate seas, appear to be the main hazard to fish health in these systems.
Fish farming in the desert may at first sound like an anomaly, but the belief that arid land is unproductive and non-fertile is wrong: throughout the arid Negev and Arava regions,

impressive yields of both edible and ornamental fish have been obtained by some 15 farms. Desert aquaculture and agri-aquaculture take advantage of:

- Large quantities of brackish ground water, only partially suitable to agriculture
- Warm ambient climate
- Long hours of sunshine
- Geothermal bores that with greenhouse use maintain high temperature in the winter
- Dry climate that allows water cooling in the summer
- Cheap land
- Year-round production• Minimal ecological risks
- Geographic isolation: natural quarantine

In addition, the desert in Israel has become a fertile ground for innovative aquaculture industries. One such enterprise is located at Kibbutz Ketura in the heart of the Arava desert. The crop being grown there is *Haematococcus pluvialis*, a microalga which is very rich in astaxanthin. This carotenoid is not only an important part of the diet of salmon and crustaceans, endowing them with their characteristic bright pink hue, but is also a powerful anti-oxidant increasingly recognized for its disease-fighting properties. Israel is now the world's leading supplier of natural astaxanthin for human consumption. The Kibbutz Ketura facility, run by Algatechnologies Ltd. (Algatech), was established in 1998 based on the scientific research of Prof. Sammy Boussiba of Ben-Gurion University of the Negev, and has been producing astaxanthin in commercial quantities since 2003.

In the city of Ashkelon on the Mediterranean coast of Israel, the Seambiotic Company, established in 2003, utilizes carbon dioxide emissions from a coal burning power plant for cultivation of a marine diatom (*Skeletonema costatum*) containing a high percentage of lipids and carbohydrates which can be processed into bio-fuels. Algae biofuels are non-toxic, contain no sulfur, and are highly biodegradable. This technology uses existing resources (sea water and solar energy) without harming agriculture (such as corn or sugar cane) as a source of food, is applicable on arid land, and is a great step towards the reduction of air pollution and global warming. Also, integrated agri-aquaculture systems were refined and made more efficient. Recycled water, rich in fertilizing organic waste produced by the fish, has been used to irrigate olive and date palm groves or grow greenhouse produce in what was considered terrible soil. "Desert" cherry tomatoes, peppers, asparagus, and melon are regularly exported to Europe, especially during winter. The flourishing of agriculture in the country's semi-arid and hyper-arid regions is largely the result of a concentrated investment in research related to salt and drought-resistant plant species, green/hot house technologies and aquaculture. Although Israel's agricultural production has expanded sixteen-fold in the last 60 years, thanks to Israel's advanced irrigation technology and water management, water usage did not increase. By the year 2020 Israel's population is expected to grow to 8.5 million. This will cause huge increases in demand for agricultural produce. Urban use of land and water will also increase enormously. The amount of fresh water allocated for agriculture was reduced radically, by 50% (to 580 million cubic meters) in 2000, following a severe drought. By 2020 it is unlikely to exceed this amount, and - in particular for freshwater aquaculture - may well be considerably less. The future direction and success of Israeli farming will depend on water availability, on the ability to further minimize water use, and on the ability to use more saline water and/or recycled wastewater and less potable water.

LEGISLATION AND HEALTH SITUATION IN AQUACULTURE IN TUNISIA.

Mohamed BANNOUR

Aquaculture Tunisienne; Tunisia

Abstract:
In Tunisia, the aquaculture production has reached actually 3700 tons per year; which represents approximately 3 per cent from the total halieutic Tunisian production. This production has been in continuous increase during these last years. However, it doesn't follow the development expected by the public authorities despite the presence of an important identified potential which is equivalent to 20 thousand tons.
The aquaculture is under the authority of the ministry of agriculture and hydraulic resources throughout its state secretary, charged with fishing, in addition to the general direction of fishing and aquaculture. The sanitary constituent is under the supervision the general direction of the veterinary services of the same ministry.
The law 94-13 of January 31, 1994 constitutes the aquaculture outline law in Tunisia. On the other hand, the aquatic sanitary regulation resides at an embryonic stage since the activity is recent.
Nevertheless, this legislation is from a community inspiration in the case in which Tunisia is considered as a privileged partner of the European community.
In order to establish an epidemiologic surveillance, a guard national zoo-sanitary center was created in April 2007.

Législation et situation sanitaire de l'aquaculture en Tunisie

Résumé
La production actuelle de l'aquaculture en Tunisie est d'environ 3700 tonnes par an, ce qui représente environ 3 pour cent de la production halieutique totale tunisienne. Cette production n'a cessée d'augmenter durant ces dernières années. Toute fois, elle n'évolue pas avec la vitesse attendue par les autorités publiques et ce malgré l'existence d'important potentiel identifié équivalent à 20 milles tonnes.
L'aquaculture est sous la tutelle du ministère de l'agriculture et des ressources hydrauliques à travers son secrétariat d'état chargé de la pêche ainsi que la direction générale de la pêche et de l'aquaculture. Le volet sanitaire est du ressort de la direction générale des services vétérinaires du même ministère.
La loi 94-13 du 31 janvier 1994 constitue la loi cadre de l'aquaculture en Tunisie. Toute fois, la réglementation sanitaire aquacole demeure embryonnaire compte tenu du caractère récent de cette activité. Néanmoins, cette législation est d'inspiration communautaire dans la mesure ou la Tunisie se considère comme étant un partenaire privilégié à la communauté européenne.
Afin d'instaurer une surveillance épidémiologique, un centre national de veille zoo sanitaire à été crée en avril 2007.

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, Via Muratori 4, 05100 Terni (Italy).

Il controllo delle malattie dei pesci può essere attuato tramite metodi di cura (terapia) e/o metodi preventivi (profilassi igienica e profilassi medica). Secondo un approccio medico-scientifico, i farmaci in piscicoltura possono essere impiegati come presidi profilattici igienici, con trattamenti periodici mirati a prevenire una determinata malattia, o più comunemente come presidi terapeutici, con trattamenti volti a curare la malattia. Nel primo caso vengono applicati bagni medicati settimanali a base di disinfettanti, efficaci nel novellame per scongiurare l'insorgenza di alcune patologie condizionate (es. malattia branchiale, erosione della cute e delle pinne). Nel secondo caso vengono somministrati mangimi medicati a base di antibiotici (efficaci contro le setticemie batteriche) o antiparassitari (efficaci contro protozoi, elminti interni o crostacei esterni) oppure vengono applicati bagni medicati giornalieri a base di antimicrobici (es. ammoni quaternari, cloramina), antimicotici (es. bronopol), antialgali (es. solfato di rame) o antiparassitari (es. formalina, esteri fosforici di nuova generazione).
Secondo un approccio legislativo, i farmaci per animali in produzione zootecnica, pesci inclusi, devono garantire sia la sicurezza alimentare che la tutela ambientale. Per garantire la sicurezza alimentare sono stati stabiliti Limiti Massimi Residuali (LMR) dei farmaci negli alimenti. La normativa europea sui farmaci per uso zootecnico (Reg. CE 2377/90 e successive modifiche) contempla 4 categorie di composti, ripartiti in altrettanti allegati: nell'allegato 1 sono inseriti i farmaci con LMR definitivi, nell'allegato 2 quelli che non necessitano di LMR, nell'allegato 3 quelli con LMR temporanei, nell'allegato 4 quelli a cui non possono essere assegnati LMR, quindi vietati (es. cloramfenicolo e nitrofurani; anche se non incluso nell'allegato 4, il verde malachite è pure vietato). Se ammessi dalle norme europee, i farmaci devono poi essere registrati per i pesci nei vari Stati membri della UE, o deve esserne autorizzata l'importazione da uno Stato membro nel quale siano già registrati. Tali registrazioni richiedono pratiche dispendiose in termini di tempo e denaro, il business della piscicoltura è limitato, per cui le ditte farmaceutiche risultano poco interessate nella licenza. I farmaci registrati per i pesci possono essere impiegati dietro ricetta veterinaria "ordinaria", mentre i farmaci registrati per altre specie animali per produzione alimentare possono essere utilizzati per i pesci con il cosiddetto "sistema a cascata", dietro ricetta veterinaria in deroga.
Per quanto riguarda gli antibiotici, nei Paesi dell'UE 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. Per gli antibiotici registrati per i pesci si applica un tempo di sospensione variabile a seconda della molecola impiegata (es. 5 giorni per la flumechina, 30 giorni per l'ossitetraciclina). Per gli antibiotici registrati per altre specie animali per produzione zootecnica si applica indistintamente un tempo di sospensione di 500 gradi giorno (es. per l'eritromicina).
Per ciò che concerne gli antiparassitari per il trattamento dei "pidocchi marini" (crostacei caligidi), per il salmone atlantico nel Regno Unito sono registrati sia prodotti per uso orale (es. emamectina e tiflobenzuron), che prodotti per bagno (es. azamethiphos e cipermetrina). Per le altre specie ittiche d'allevamento vi è la possibilità di ricorrere al "sistema a cascata".

Fra gli antifungini per il trattamento per bagno della saprolegniosi dei salmonidi, nei Paesi dell'UE (e recentemente anche in Italia) è stato registrato il bronopol, ma la sua efficacia è spesso messa in discussione.
In ultima analisi, per ciò che attiene agli antimicrobici e antiparassitari per la disinfezione dei pesci vi sono limitate registrazioni in Europa. In quasi tutti i Paesi, l'uso per bagno di cloramina, solfato di rame e formalina non è consentito ufficialmente, ma è ufficiosamente tollerato. Solo in Francia e Norvegia (così come negli USA) cloramina e formalina possono essere regolarmente impiegate per la disinfezione dei pesci.
Come concetto generale, si può affermare che 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 di piscicoltura, fino a pochi anni or sono molto più sviluppata nell'Europa centro-settentrionale. Nell'ultimo decennio anche la piscicoltura mediterranea ha visto un notevole incremento, non supportato però da un'adeguata registrazione di farmaci utili a contrastare le principali malattie delle specie ivi allevate. Nei Paesi mediterranei, infatti, dominano le cosiddette "patologie d'acqua calda", esasperate dal recente riscaldamento climatico. I farmaci registrati si rivelano il più delle volte inefficaci a controllare queste patologie. In Italia, ad esempio, sono registrati antibiotici (flumechina, sulfa-trimetoprim, ossitetraciclina) efficaci nei confronti delle principali infezioni da Gram negativi, ma inefficaci nei confronti dei Gram positivi. Nelle trote, la lattococcosi (infezione da *Lactococcus garvieae*) è la patologia dominante più temuta dagli allevatori, colpendo soprattutto pesci di grossa taglia. L'antibiotico di elezione, l'eritromicina, 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 osservati. Sono pertanto derivate pesanti mortalità, che hanno contribuito a far calare del 30% la produzione annua italiana di trote. Una situazione analoga si è verificata anche in Spagna.
Il settore piscicoltura nel bacino del Mediterraneo si trova attualmente in uno stato di sofferenza per la limitata disponibilità di farmaci efficaci. Ciò è particolarmente sentito per la categoria dei disinfettanti e quella degli antibiotici. Il trattamento delle malattie batteriche esterne e delle ectoparassitosi è di fatto reso impossibile per la mancanza di disinfettanti regolarmente registrati. A tal proposito, tenuto conto delle principali patologie presenti nell'area, risulterebbe opportuno autorizzare l'uso per bagno corto (30-60 minuti di trattamento) di formalina (attiva contro protozoi e monogenei esterni), solfato di rame (attivo contro l'oodiniasi), cloruro di benzalconio e cloramina (attivi contro i flavobatteri). Il trattamento delle infezioni da cocchi positivi, ed in particolare della lattococcosi e della streptococcosi, è poco efficace con l'impiego dei classici antibiotici registrati e sarebbe utile poter disporre di nuovi antibiotici, quali florfenicolo ed eritromicina.
Il controllo delle malattie con metodi basati sulla profilassi medica viene attuato tramite stimolazione del sistema immunologico dei pesci. Tale stimolazione può avvenire somministrando con il mangime immunomodulatori quali i glucani (immunità innata), oppure, più efficacemente, con la vaccinazione (immunità acquisita); quest'ultima può essere effettuata per immersione, per iniezione endoperitoneale previo anestesia, o per bocca.
L'attuale disponibilità di vaccini è limitata ad alcune infezioni batteriche dei pesci; mancano infatti in commercio vaccini efficaci contro le malattie virali e quelle parassitarie. Esistono due tipologie di vaccini antibatterici: i bacterin, somministrabili sia per immersione che per iniezione e per bocca, ed i vaccini adiuvati, somministrabili esclusivamente per iniezione; in linea generale, i secondi conferiscono un'immunità più duratura rispetto ai primi.
I bacterin registrati e commercializzati nei vari Paesi mediterranei comprendono due prodotti utilizzati in troticoltura (vaccino anti bocca rossa o yersiniosi e vaccino anti

vibriosi classica) e due prodotti utilizzati in maricoltura (vaccino anti vibriosi classica e vaccino anti fotobatteriosi o ex pasteurellosi), somministrati sia per immersione che per bocca (in quest'ultimo caso come richiamo). Il vaccino contro la bocca rossa e quello contro la vibriosi sono estremamente efficaci, conferendo per immersione una immunità della durata di circa un anno. Contestata è l'utilità di queste vaccinazioni per bocca (tramite somministrazione con il mangime dell'antigene vaccinale microincapsulato), così come dibattuta è l'efficacia del vaccino contro la fotobatteriosi.

Per quanto riguarda i vaccini adiuvati, in alcuni Paesi (Spagna, Italia, Israele) sono disponibili autovaccini contro la lattococcosi e contro la streptococcosi da *Streptococcus iniae*. Tali autovaccini, 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, tra cui l'Italia, è l'MS222.

Per concludere, così come per i farmaci, anche per i vaccini la disponibilità di prodotti registrati è molto modesta ed insufficiente a coprire le esigenze della piscicoltura mediterranea. Occorre pertanto potenziare la ricerca e la sperimentazione per la messa a punto di nuovi vaccini e rendere meno farraginoso l'iter di registrazione dei presidi immunizzanti.

INDICE AUTORI

INDICE AUTORI

ABETE M.C. 44, 60
ABRAMO F. 51
ACCARDO M. 53
ACUTIS P.L. 21
AGNETTI F. 19, 45, 76
AGONIGI R. 46
ALBORALI G.L. 29, 30, 42
ALGOZINO A. 43
AMITI S. 20
ARSIENI P. 44
ASTUTI M. 42
BACCI B. 52
BANNOUR M. 75
BARBAGALLO G. 43
BARBERA G. 67
BERALDO P. 35, 49, 50
BLASI M. 22
BORRONI I. 47
BOSSÙ T. 20
BOTTO A. 55
BOVO G. 15, 16, 18, 47, 64
BOZZETTA E. 28
BRACHELENTE C. 19
BRUNETTI B. 52
BUCALO S. 53
BULFON C. 26, 35, 49
BUONAVOGLIA D. 22, 55
BUSALACCHI B. 38
CAFFARA M. 27, 33, 34, 57
CAGGIANO M. 22
CALLIGARO C. 49
CALZETTA A. 32
CAMPANA M. 55
CAPPELLOZZA E. 18
CARACAPPA S. 41
CARDETI G. 20
CARELLA F. 53, 58
CARFÌ S. 43
CARGINI D. 32
CARI R. 45
CASTIGLIONE F. 37, 39, 41, 43
CECCHINI S. 51
CENTODUCATI G. 22, 55, 57
CERVELLIONE F. 23, 29
CHERCHI S. 36
CHETTA M. 39
CICCONE F. 55
CIULLI S. 17
COCCHIETTO M. 24
COLORNI A. 73
COLUSSI S. 21
CONTESSI B. 26
CORVONATO R. 21
COSTA A. 40, 41
COSTANZO M.T. 25
CRESCENZO G. 57
CRIMELLA F. 17
CUSIMANO M. 37, 39
D'ABRAMO M. 22, 55
D'AMELIO S. 40
DANZÈ' A. 58
DE BLAS I. 65

DEL BOVE M. **20**
DE VICO G. **53, 58**
DI NOTO A.M. **41**
DI RAIMO E. **75**
DI VEROLI A. **34**
DOMENECHINI M. **42**
DÖRR A.J.M. **60**
ELIA A.C. **60**
ERCOLINI C. **28**
FABRIZI A. **34**
FASCETTO M. **43**
FASOLATO L. **16, 47**
FERRANTELLI V. **37, 39, 43**
FERRO G.L. **60**
FIORAVANTI M.L. **27, 31, 33, 36, 37, 39, 57**
FLORIO D. **27, 31, 33, 57**
FOTI F. **48**
GAGLIO G. **38**
GALEOTTI M. **26, 35, 49, 50**
GALLETTI E. **17**
GALLO F. **28**
GARIPPA G. **36**
GASCO L. **60**
GELMETTI D. **29**
GENOVESE L. **56**
GERMANÀ A. **48**
GHITTINO C. **19, 45, 76**
GIANNETTO S. **38**
GIORGETTI G. **24**
GIORGI I. **21, 28, 44**
GIOVANNINI S. **30**
GIUSTO C. **23**
GOBBO F. **18**
GORETTI E. **34**
GRASSI P. **58**
GRECO G. **22, 55**
GRECO M.F. **22, 55**
GREGORI M. **51**
GRODZKI M. **17**
GUERRERA M.C. **48**
GUSTINELLI A. **31, 33, 36, 37, 39, 57**
HILL B. **62**
KIKINGER R. **27**
KONECNY R. **27, 31**
LANTERI G. **48**
LA TERRA D. **43**
LATINI M. **15, 19, 45, 76**
LATRONICO F. **22, 55**
LEOGRANDE M. **44**
LEOTTA R. **51**
LITI D. **31**
LUZZANA U. **23, 46**
MACRÌ B. **48**
MACRÌ D. **37, 40, 43**
MACRÌ F. **59**
MAGANA A. **31**
MAIOLINO P. **58**
MANCIN M. **47**
MANCUSO M. **25, 56, 58**
MANDRIOLI L. **52**
MANFRIN A. **16, 18, 47**
MANGANARO M. **59**
MANZANO M. **23**
MARCHIS D. **60**
MARCUCCI C. **34**
MARICCHIOLO G. **56, 58**
MARINO F. **38, 40, 43, 48, 58, 59**
MATOLLA G.K. **31**
MAZZULLO G. **59**

MBALUKA R.	**31**
MERELLA P.	**36**
MESCHINI L.	**43**
MINARDI S.	**43**
MIOSO P.M.	**42**
MIRAGLIOTTA V.	**51**
MORAVEC F.	**38**
MORO L.	**47**
MOSCA F.	**32**
MOSCATO M.	**22**
NARCISI V.	**32**
NIKOWITZ T.	**31**
ORAIĆ D.	**68**
ORSINI G.	**24**
OTACHI E.O.	**31**
ÖZKAN ÖZYER B.	**70**
PACCIARINI M.L.	**30**
PACINI N.	**60**
PALADINI G.	**33**
PALUMBO P.	**39, 41**
PAOLINI A.	**24**
PASCALE M.	**44**
PASCOTTO E.	**50**
PASSONE D.	**49**
PAVOLETTI E.	**28**
PECCHINI A.	**23, 46**
PECORELLI I.	**45**
PELLEGRINO M.	**44**
PERINI F.	**46**
PEZZOLATO M.	**28**
PICCO R.	**35**
PREARO M.	**21, 27, 28, 44, 51, 60**
PRETTI C.	**51**
PROSPERI S.	**17**
PRUDENTE C.	**38**
QUAGLIO F.	**27, 33, 36, 57, 59**
RAMPAZZO E.	**18**
RANDAZZO V.	**37**
RAPISARDA G.	**59**
REALE R.	**40**
RESTUCCI B.	**53**
RIDOLFI V.	**24**
ROGATO F.	**19, 46**
ROSICA I.	**17**
ROSTEGHIN M.	**18**
SALAMIDA S.	**19**
SALATI F.	**36**
SALOGNI C.	**29, 30, 42**
SARLI G.	**52**
SARTI M.	**23, 50**
SCIORTINO S.	**40**
SERRACCA L.	**21**
SFACTERIA A.	**48**
SFERRAZZA I.	**43**
SIRRI R.	**52**
SOLA D.	**19**
SPINA M.	**24**
SQUADRONE S.	**60**
TAGLIABUE S.	**30**
TARASCO R.	**44**
TARSITANO E.	**22, 55, 57**
THIGA B.	**31**
TISCAR P.G.	**32**
TRAVERSA D.	**32**
TURCI F.	**31**
VARELLO K.	**28**
VASCELLARI M.	**18**
VICARI D.	**39**
VOLPATTI D.	**26, 35, 49**
WAIDBACHER H.	**31**

WARUGU H.W. **31**

WATHUTA E.M. **31**

ZACCONE R. **25, 56**

ZANONI M. **29, 30**

ZEZZA D. **24**

ZRNČIĆ S. **68**

ZUCCON F. **21**