

**ATTI DEL**  
**XVII CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I.**  
**Società Italiana di Patologia Ittica**

**19-21 maggio 2011**

**Sala Convegni**  
**Hotel Monte Sarago**  
**C.so Mazzini, 233**  
**Ostuni (BR)**

---

*Con la collaborazione di:*

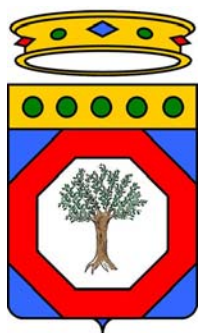


**Panittica Pugliese S.p.A.**



**Istituto Zooprofilattico  
Sperimentale del Piemonte,  
Liguria e Valle d'Aosta**

*Con il patrocinio di:*



**Regione Puglia**



**Comune di Ostuni**



**Azienda Sanitaria Locale Brindisi**



**Facoltà di Medicina Veterinaria  
di Bari**



**Ordine dei Medici Veterinari  
della Provincia di Brindisi**



**Ordine Nazionale dei Biologi**



**Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
della Puglia e della Basilicata**

*Sponsor del XVII Convegno S.I.P.I.*



# PROGRAMMA

# **XVII CONVEGNO NAZIONALE S.I.P.I. Società Italiana di Patologia Ittica**



*in collaborazione con:*

*Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Brindisi*

*Associazione Piscicoltori Italiani*

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta*

---

19-21 maggio 2011

Sala Convegni  
Hotel Monte Sarago  
C.so Mazzini, 233 - OSTUNI (BR)



## **GIOVEDÌ 19 MAGGIO 2011**

**ORE 08.30-09.00** REGISTRAZIONE DEI PARTECIPANTI ED ISCRIZIONE AL CONVEGNO

**ORE 09.00-09.30** APERTURA DEI LAVORI E SALUTO DELLE AUTORITÀ

Dott. Claudio Ghittino (Presidente SIPI)

Dott. Ernesto Camassa (Presidente Ordine Veterinari Brindisi)

### **TERZO INCONTRO TECNICO-SCIENTIFICO S.I.P.I.**

*in collaborazione con:*

*Associazione Piscicoltori Italiani*



*Ordine dei Medici Veterinari  
della Provincia di Brindisi*



### **"NUOVE FRONTIERE IN MARICOLTURA: LA DIVERSIFICAZIONE PRODUTTIVA"**

Moderatori - Dott. Claudio GHITTINO  
Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Perugia

Dott. Licio CORBARI  
Maribrin, Brindisi – Delegato Associazione Piscicoltori Italiani

ORE 09.30-10.10

#### **DIVERSIFICAZIONE IN MARICOLTURA: LE SPECIE ITTICHE ALTERNATIVE**

*PROF. EMILIO TIBALDI*  
(Università degli Studi di Udine, Facoltà)

ORE 10.10-10.35 **ESPERIENZE DI ALLEVAMENTO E PROBLEMATICHE PATOLOGICHE: IL TONNO ROSSO (*THUNNUS THYNNUS*, L. 1758)**

*DOTT. MICHELE MOSCATO, DOTT.SSA MIRIAM CAMPANA*  
(Panittica Pugliese S.p.A. – Torre Canne di Fasano BR)

ORE 10.35-11.00 **ESPERIENZE DI RIPRODUZIONE IN AMBIENTE CONTROLLATO DELLA RICCIOLA (*SERIOLA DUMERILII*)**

*DOTT. ANDREA FUSARI*  
(A.G.E.I. S.c.r.l. - Roma)

ORE 11.00-11.30 COFFEE BREAK

ORE 11.30-12.10 **ESPERIENZE DI ALLEVAMENTO E PROBLEMATICHE PATOLOGICHE: LA TILAPIA**

*DOTT. AVI ELДАР*  
(Kimron Veterinary Institute – Beit Dagan, Israel)

ORE 12.10-12.50 **LA TENACIBACULOSI/FISH TENACIBACULOSIS**

*PROF. JESUS LOPEZ ROMALDE*  
(Dep. de Microbiología y Parasitología, Facultad de Biología - Santiago de Compostela, Spain)

ORE 12.50-13.30 DISCUSSIONE

---

ORE 14.00-17.30 **VISITA PRESSO L'IMPIANTO DI PANITTICA PUGLIESE S.p.A. – TORRE CANNE DI FASANO (BR)**



## VENERDÌ 20 MAGGIO 2011

- ORE 09.00-10.40      COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE - I SESSIONE  
**Moderatore - Dott. Marco VANELLI**  
 Fatro S.p.A., Ozzano Emilia (BO)
- Ore 09.00-09.20  
**Episodio di Necrosi Ematopoietica da *Cyprinid Herpesvirus-2* in pesci rossi, *Carassius auratus* (L.), di importazione**  
 Pretto T., Quaglio F., Rampazzo E., Zambon M., Vendramin N., Terregino C. & Manfrin A.
- Ore 09.20-09.40  
**Inquadramento anatomoistopatologico di lesioni riferibili a Red Mark Syndrome/Strawberry Disease in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*)**  
 Galeotti M., Giavenni R., Volpatti D., Beraldo P. & Feist S.W.
- Ore 09.40-10.00  
***Garra rufa*: valutazione dello stato sanitario di alcune partite impiegate in centri estetici**  
 Prearo M., Arsieni P., De Vita V., Di Donfrancesco B., Righetti M., Giorgi I., Saragaglia C., Amato G. & Pavoletti E.
- Ore 10.00-10.20  
**L'infezione da *Aeromonas veronii* nella spigola: un problema emergente per la maricoltura mediterranea?**  
 Ghittino C., Prearo M., Anzalone L., Latini M., Agnetti F., Ottaviani D. & Eldar A.
- Ore 10.20-10.40  
***Yersinia ruckeri*: caratterizzazione fenotipica e sensibilità antibiotica dei ceppi isolati in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) nel Nord Italia**  
 Salogni C., Grassi A., Mioso P.M., Gradassi M. & Alborali G.L.
- ORE 10.40-11.10      COFFEE BREAK
- ORE 11.10-13.00      COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE – II SESSIONE  
**Moderatore - Dott. Amedeo MANFRIN**  
 Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Adria (RO)
- Ore 11.10-11.30  
**Prove di patogenicità *in vitro* su ceppi di *Vibrio alginolyticus***  
 Bossù T., Amiti S., Di Giamberardino F., Cardeti G., Dante G. & Ingle E.
- Ore 11.30-11.50  
**Effetto di diete integrate con carvacrolo sulla risposta immunitaria e sulla resistenza a *Listonella (Vibrio) anguillarum* nel branzino (*Dicentrarchus labrax*)**  
 Volpatti D., Bulfon C., Tulli F., Assante D. & Galeotti M.



Ore 11.50-12.10

**Isolamento di *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* da un delfino (*Stenella striata*)**

Currò V., Palumbo P., Martorana C., Randazzo V., Marineo S. & Caracappa S.

Ore 12.10-12.30

**Caratterizzazione di lesioni granulomatose di una popolazione di cefali del Mar Ligure orientale nel triennio 2008-2010**

Varello K., Prearo M., Serracca L., Giorgi I., Audino V., Righetti M., Pezzolato M., Ercolini C. & Bozzetta E.

Ore 12.30-12.50

**Attività antibatterica *in vitro* di piante officinali nei confronti di *Listonella (Vibrio) anguillarum* (sierotipo O1 e O2), *Yersinia ruckeri*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida* e *Lactococcus garvieae***

Bulfon C., Volpatti D., Assante D. & Galeotti M.

ORE 13.00-14.30

LIGHT LUNCH

ORE 14.30-16.00

COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE – III SESSIONE

**Moderatore - Prof. Marco GALEOTTI**

Facoltà di Medicina Veterinaria, Udine

Ore 14.30-14.50

**Valutazione della tollerabilità di *Dicentrarchus labrax* a un disinfettante commerciale tramite prova di tossicità *in vivo***

Volpe E., Sirri R., Mandrioli L., Fabbri S., Menegatti R. & Ciulli S.

Ore 14.50-15.10

**Indagini preliminari sull'impiego di un test rapido per la valutazione della risposta allo stress in condizioni di campo**

Cervellione F., Rogato F., Sarti M., Luzzana U. & Zarza Araque C.

Ore 15.10-15.30

**Studio dell'espressione immunoistochimica del recettore toll-like 4 e delle  $\beta$ 2-integrine nella cute normale e in corso di dermatiti di origine batterica in diverse specie ittiche**

Magi G.E., Berardi S., Renzoni G. & Rossi G.

Ore 15.30-15.50

**Valutazione dell'espressione di CYP1A e HASP70 in *Zosterisessor ophiocephalus* nell'ambito di un piano di monitoraggio della Laguna di Venezia**

Vascellari M., Pascoli F., Gioacchin G., Negrato E., Melchiotti E., Carnevali O., Bertotto D., Mutinelli F. & Radaelli G.

Ore 15.50-16.10

**Citocromo P450: evidenziazione mediante PCR dell'espressione genica fisiologica in trote iridee (*Oncorhynchus mykiss*) allevate**

Canonico C., Anzalone L., Potenziani S., Rocchegiani E., Ghittino C. & Latini M.

- ORE 16.10-16.30 COFFEE BREAK
- ORE 16.30-17.30 COMUNICAZIONI SCIENTIFICHE – IV SESSIONE  
**Moderatore - Dott. Gerardo CENTODUCATI**  
 Facoltà di Medicina Veterinaria, Bari
- Ore 16.30-16.50  
**Episodio di peste del gambero in *Cherax destructor* allevati in Italia**  
 Quaglio F., Pretto T., Corrarati B., Zambon M., Gustinelli A. & Manfrin A.
- Ore 16.50-17.10  
**Segnalazione di *Kudoa thyrsites* (Myxosporrea: Multivalvulida) in un pesce spada catturato nel Mediterraneo**  
 Gaglio G., Marino F., Napoli E., Ruscica D. & Giannetto S.
- Ore 17.10-17.30  
**Composizione della parassitofauna in anguille selvatiche e d'allevamento in Italia**  
 Gustinelli A., Leone M., Caffara M. & Fioravanti M.L.
- Ore 17.30-17.50  
**Metazoan parasites of wild gilthead seabream *Sparus aurata* L. from three Sardinian Lagoons (South Western Mediterranean)**  
 Culurgioni J., Cannella S., Sabatini A., Sanna N., Torcivia A. & Figus V.
- Ore 17.50-18.10  
**L'allevamento del riccio di mare (*Paracentrotus lividus*): dalla riproduzione controllata alla produzione commerciale**  
 Ingle E. & Paoloni C.
- ORE 18.15 Premiazioni  
**Dott. Marino PREARO**  
 Segretario-Tesoriere S.I.P.I. – Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Torino
- PREMIAZIONE TESI – Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per la miglior tesi su argomenti di Ittiopatologia**
- PREMIAZIONE MIGLIORE COMUNICAZIONE – Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per la migliore comunicazione orale**
- PREMIAZIONE MIGLIOR POSTER – Proclamazione del vincitore del premio S.I.P.I. per il miglior poster**
- POSTER PRESENTATI:
- 1 – **Red Mark Syndrome nella trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) allevata nel Nord Italia: descrizione anatomo-patologica, istologica ed indagine eziologica**  
 Cervellione F., Salogni C., Mioso P.M., Alborali G.L. & Gelmetti D.

**2 – Descrizione di un episodio di Red Mark Syndrome in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) in Piemonte**

Righetti M., Pezzolato M., Giorgi I., Bozzetta E., Varello K., Pavoletti E., Arsieni P. & Prearo M.

**3 – Isolamento di specie batteriche di non comune riscontro in corso di episodi morbosi in spigole e orate allevate in Italia**

Florio D., Gustinelli A., Quaglio F., Zanoni R.G., Caffara M. & Fioravanti M.L.

**4 – Aeromonadi mobili produttori di verocitotossine in focolai di malattie ulcerative e sistemiche in Poecilidi, in Puglia**

Greco G., Greco M.F., Donno F., Moschidou P., Centoducati G., Tarsitano E., Buonavoglia D. & Buonavoglia C.

**5 – Identificazione di *Vibrio fluvialis* in ippocampo (*Hippocampus* sp.)**

Cocchi M., Di Giusto T., Sello M., Genero N., Clapiz L., Di Sopra G., Passera A., Bregoli M. & Deotto S.

**6 – Isolamento di micobatteri atipici in ittiofauna selvatica**

Giorgi I., Righetti M., Pavoletti E., Arsieni P., Deregibus S., Forneris G. & Prearo M.

**7 – Prove di trattamento orale in Caribe piranha (*Pygocentrus cariba* Humboldt, 1821) affetto da foruncolosi**

Prearo M., Viola E., Arsieni P., Rosso A., De Vita V., Mogliotti P. & Pavoletti E.

**8 – Sviluppo e prima validazione di sistemi hi-tech contro *Lactococcus garvieae* in *Oncorhynchus mykiss***

Volpatti D., Cocchietto M., Galeotti M., Bulfon C., Zorzin L., Ballestrazzi R., Bassignana D., Voinovich D., Gallo D., Prearo M., Tesi E. & Sava G.

**9 – Diffusione del parassita *Marteilia* sp. negli allevamenti di *Mytilus galloprovincialis* siti nel Golfo di la Spezia**

Serracca L., Prearo M., Rossini I., Battistini R., Cencetti E., Corsi M., Fabiani B. & Ercolini C.

**10 – Microsporidiosi branchiale in *Micromesistius poutassou* del Tirreno meridionale**

Bonfiglio R., Gaglio G., Lanteri G., De Stefano C., Marino F. & Macrì B.

**11 – Indagine sugli ectoparassiti di maggior rilievo sanitario in pesci marini allevato in Grecia ed in Italia**

Kapota A., Gustinelli A., Rigos G., Caffara M., Quaglio F. & Fioravanti M.L.

12 – **Episodio di mortalità da *Sparicotyle chrysophrii* in orate (*Sparus aurata*) in gabbia**

Susini F., Fichi G., Macori G., Cocumelli C., Cardeti G., Alimonti C., Forletta R., Gustinelli A. & Fioravanti M.L.

13 – **First report of *Anisakis pegreffii* larvae (Nematoda, Anisakidae) in wild European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.) from Mediterranean waters (Southern Sardinia)**

Culurgioni J., Mattiucci S., Paoletti M. & Figus V.

14 – ***Ostreopsis ovata*: caratterizzazione delle biotossine algali attraverso uno studio interdisciplinare**

Ferrari A., Bolognesi C., Marazzotta G., Schiavetti I. & Vivaldi B.

15 – **Gravi episodi di mortalità in giovanili di storione russo (*Acipenser gueldenstaedtii*): descrizione del quadro anatomopatologico**

Pavoletti E., Giorgi I., Pedron C., Varello K., Pezzolato M., Di Donfrancesco B., Righetti M., Bozzetta E., Antuofermo E. & Prearo M.

16 – **Alimentazione sperimentale con diverse concentrazioni di melamina cianurata in trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*): valutazione del grado di deposizione dei cristalli a livello renale**

Pacini N., Elia A.C., Righetti M., Minardi D., Giorgi I., Dörr A.J.M., Pezzolato M., Abete M.C., Gasco L., Bozzetta E., Varello K., Pavoletti E. & Prearo M.

17 – **Anatomia radiologica e innervazione autonoma della vescica natatoria dei teleostei Ciprinidi**

Zaccone D., Macrì F., Rapisarda G., Giorgianni P., Previti A. & Marino F.

**ORE 18.30 ASSEMBLEA DEI SOCI**

**ORE 21.00 CENA SOCIALE**



**SABATO 21 MAGGIO 2011**

**WORKSHOP**

**"AGGIORNAMENTO SUGLI ASPETTI IGIENICO-SANITARI  
DEI MOLLUSCHI BIVALVI"**

*in collaborazione con:*

*Ordine dei Medici Veterinari  
della Provincia di Brindisi*

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale  
del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta*



ORE 08.30 - 09.00

REGISTRAZIONE PARTECIPANTI E SALUTO DELLE AUTORITÀ

**MODERATORI:**

***DOTT. ERNESTO CAMASSA***

Presidente Ordine dei Medici Veterinari della Provincia di Brindisi

***PROF. GIOVANNI NORMANNO***

Facoltà di Medicina Veterinaria di Bari

ORE 09.00 – 09.50

**ANATOMIA, FISILOGIA E ASPETTI IMMUNITARI DEI  
MOLLUSCHI BIVALVI**

***PROF. PIETRO GIORGIO TISCAR***

Università degli Studi di Teramo, Facoltà di Medicina Veterinaria - Teramo

ORE 09.50 – 10.40

**MALATTIE NOTIFICABILI IN MOLLUSCHICOLTURA**

***DOTT. GIUSEPPE ARCANGELI***

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Centro di Referenza Nazionale per lo Studio e la Diagnosi delle Malattie dei pesci, crostacei e molluschi – Adria (RO)

ORE 10.40 – 11.00

COFFEE BREAK

ORE 11.00 – 11.50

**PROTOZOI ZONOSICI IN MOLLUSCHI BIVALVI**

*PROF.SSA ANNUNZIATA GIANGASPERO*

Università degli Studi di Foggia, Facoltà di Agraria - Foggia

ORE 11.50 – 12.40

**TOSSINFEZIONI DA MOLLUSCHI: *VIBRIO* TOSSIGENI**

*DOTT.SSA DONATELLA OTTAVIANI*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Centro di Referenza Nazionale per il controllo microbiologico e chimico dei molluschi bivalvi vivi - Ancona

ORE 12.40 – 13.30

**CONTAMINAZIONE DA PCB E DIOSSINE NEI MOLLUSCHI**

*DOTT.SSA ARIANNA PIERSANTI*

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Centro di Referenza Nazionale per il controllo microbiologico e chimico dei molluschi bivalvi vivi - Ancona

ORE 13.30 – 14.00

**DISCUSSIONE FINALE**

***ORE 14.00***

***CHIUSURA DEI LAVORI CONGRESSUALI***

**ORE 14.00 – 15.00 LIGHT LUNCH**

# **ABSTRACT**

## **Terzo Incontro Tecnico-Scientifico S.I.P.I.**

**DIVERSIFICAZIONE IN MARICOLTURA: LE SPECIE ITTICHE ALTERNATIVE**

Tibaldi E. &amp; Cardinaletti G.\*

*Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Udine*

Da oltre un ventennio la diversificazione delle produzioni si pone all'attenzione dei maricoltori mediterranei quale possibile strategia imprenditoriale in risposta all'ampliamento della domanda di prodotti ittici freschi e trasformati ed al progressivo declino dei profitti causato dalla forte competitività dell'offerta di specie ittiche da lungo tempo allevate quali l'orata e la spigola e solo in parte mitigato da una loro miglior presentazione, qualificazione e differenziazione per taglia alla vendita o dalla trasformazione in preparazioni *ready to cook/eat*.

In questa direzione, dagli inizi degli anni novanta ad oggi, oltre una trentina di specie ittiche marine sono state ed in parte continuano ad essere oggetto di studio e sperimentazione da parte di enti pubblici di ricerca ed imprese private del settore. Inizialmente, i nuovi candidati per la maricoltura sono stati individuati tra le specie ittiche naturalmente presenti e diffuse nel Mediterraneo, quindi note ed apprezzate dal consumatore, a rapido accrescimento ed il cui processo di domesticazione potesse avvenire controllandone il ciclo biologico con tecniche e tecnologie mutuata o mutuabili da quelle messe a punto per l'allevamento di spigola ed orata. Nel medesimo arco di tempo, per varie difficoltà e limiti di ordine biologico, patologico, tecnico-gestionale e per ragioni economico-commerciali, tra le quali l'assenza di preliminari analisi di mercato, solo un numero limitato degli originari potenziali candidati, ha superato i primi passaggi del processo di domesticazione dando luogo a produzioni rilevabili statisticamente, che tuttavia nel 2009, la FEAP stimava nel loro complesso rappresentare una quota irrisoria (<2%) del volume totale della produzione della maricoltura mediterranea.

Tra questi sono innanzitutto da annoverare alcuni Sparidi quali il pagro (*Pagrus pagrus*), i pagelli (*Pagellus bogaraveo* e *P. erythrinus*) ed il sarago pizzuto (*D. puntazzo*) caratterizzati tuttavia da un consumo localistico, limitato ad alcuni Paesi (Penisola Iberica, Grecia, Italia e Francia meridionali) e per i quali il dato produttivo aggregato sembra oscillare di poco negli ultimi anni intorno a 450-550 T. Anche per le sogliole, ed in particolare per *Solea senegalensis*, il livello di controllo del ciclo biologico in cattività ha raggiunto un buon grado di affidabilità tanto che se ne prevede nel futuro un sensibile incremento produttivo rispetto al dato attuale (< 50T/anno), soprattutto nella Spagna mediterranea.

Negli ultimi dieci anni tra gli Scienidi, l'ombrina boccadoro (*Argyrosomus regius*), con produzioni che nel 2008 hanno raggiunto l'ordine di alcune migliaia di tonnellate (FAO, 2010), non rappresenta più un semplice candidato per la maricoltura mediterranea, bensì una promettente realtà, con volumi produttivi costanti in Italia, Francia e Grecia, ma in rapida ascesa in Egitto, Spagna e Turchia. Anche per la possibilità di diversificare il prodotto finale tra fresco e trasformato, l'interesse del settore per le specie ittiche di grande taglia e rapido accrescimento oltre che all'ombrina boccadoro, si è di recente rivolto all'allevamento di grandi pelagici come la ricciola (*Seriola dumerili*) soprattutto in Italia, Spagna e Grecia, incoraggiato dai primi successi ottenuti nel controllo della riproduzione, dell'allevamento larvale e dei giovanili. Un discorso a parte merita infine l'allevamento del tonno rosso (*Thunnus thynnus*), praticato da oltre un decennio anche nel Mediterraneo e che le statistiche più recenti collocano ad un livello di produzione dell'ordine di alcune migliaia di tonnellate annue, con prodotto finale destinato principalmente al ricco mercato nipponico. Finora basato sull'ingrasso di soggetti selvatici, questa forma di allevamento vede appunto nella dipendenza dalle risorse aliutiche il principale limite alla sua sostenibilità. Tuttavia, i recenti positivi risultati sulla capacità di ottenere embrioni vitali da riproduttori *wild* in cattività e sulla gestione delle prime fasi larvali, aprono nuove prospettive sulla possibilità di un futuro allevamento a ciclo chiuso del tonno rosso anche nell'ottica della necessaria salvaguardia di una specie minacciata di estinzione.



## ESPERIENZE DI ALLEVAMENTO E PROBLEMATICHE PATOLOGICHE: IL TONNO ROSSO (*THUNNUS THYNNUS*, L. 1758)

Moscato M. & Campana M.

*Panittica Pugliese Azienda Agricola S.p.A., – Torre Canne di Fasano (BR)*

L'esperienza tecnico-scientifica di seguito riportata rientra nell'ambito del progetto di ricerca strategico ALLOTUNA, realizzato in collaborazione con la Facoltà di Medicina Veterinaria di Bari, avente lo scopo di realizzare la messa a punto delle prime fasi del ciclo di allevamento del tonno rosso (*Thunnus thynnus* L.) in Italia. Il lavoro, svolto nel triennio 2008-2010, prevedeva la produzione di uova embrionate, mediante induzione ormonale da parte di riproduttori stabulati in gabbia presso l'impianto Mare Nostro (Vibo Marina, Calabria) e successiva schiusa nell'impianto a terra di Panittica Pugliese Società Agricola S.p.A. (Torre Canne di Fasano, Brindisi).

La carenza di dati scientifici cui fare riferimento sulle metodiche di allevamento larvale del tonno rosso, ha fatto sì che nel 2008 (fine giugno – inizio di settembre), primo anno del progetto ALLOTUNA, sia stato soprattutto di sperimentazione preliminare sulle fasi di incubazione delle uova, schiusa delle larve e loro allevamento. In base alle osservazioni condotte in avannotteria, a fronte di un indice di schiusa prossimo all'80% (dopo circa 30 ore dall'emissione), le primissime fasi di allevamento larvale sono risultate particolarmente difficoltose, a causa di numerose problematiche di diversa natura che hanno reso gli indici di sopravvivenza nei primi giorni di vita estremamente bassi (circa l'1%). I motivi principali probabilmente sono stati la difficoltà di creare una corretta idrologia delle vasche di allevamento, onde evitare che le larve ne toccassero il fondo ("sinking syndrome") e carenze di tipo nutrizionale durante le varie fasi di accrescimento. La prima alimentazione delle larve è stata effettuata somministrando rotiferi arricchiti nei primi giorni; successivamente sono stati offerti nauplii di *Artemia* e per finire, larve di orata appena schiuse. Ciò ha determinato un accrescimento molto rapido, ma non omogeneo, in seguito al quale sono stati notati i primi ed evidenti fenomeni di cannibalismo. Nonostante non sia stata raggiunta la fase di svezzamento vero e proprio, l'ultimo avannotto di tonno è deceduto a 63 gps (giorni post schiusa), alla lunghezza totale di 8,7 cm e peso di 7,2 grammi.

Nel 2009, grazie alle osservazioni e ai dati raccolti nel primo anno ed applicando alcune modifiche ai parametri ambientali/gestionali utilizzati precedentemente, i risultati ottenuti sono stati sensibilmente migliori. Il tasso di mortalità è risultato sempre molto elevato, soprattutto nei primi 10 gps; decisivo è stato il raggiungimento dello svezzamento da preda viva ad alimento inerte, mediante la somministrazione prima di sardine tritate decongelate e poi di un "pastone" costituito da sardine tritate e da una farina appositamente formulata. Durante la fase di svezzamento è stato osservato un notevole aumento della mortalità; parte dei soggetti deceduti è stata conservata a -20°C e/o in formalina tamponata al 10% per condurre accertamenti diagnostici presso il Laboratorio di Ittiopatologia del Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale dell'Università di Bologna. Le indagini parassitologiche, batteriche e virali condotte sui campioni congelati, hanno dato sempre esito negativo, mentre l'esame istologico ha evidenziato un quadro diffuso di setticemia batterica da Gram-negativi in branchie, cute, muscolo ed organi interni. Probabilmente, l'alimentazione con sarde macinate può aver provocato, nei soggetti più deboli, un accumulo di batteri nell'apparato gastroenterico e da qui la diffusione nei muscoli e in tutti gli organi, come evidenziato dall'esame istologico. Il protocollo alimentare adottato per i pochi avannotti rimasti, ha comunque prolungato la loro sopravvivenza ed aumentato anche l'indice di accrescimento; l'ultimo tonno, infatti, è deceduto a 110 gps, alla lunghezza totale di 16,9 cm e peso di 55,9 grammi.

Nel 2010 i parametri ambientali/gestionali e i protocolli alimentari sono stati ulteriormente modificati e perfezionati rispetto al biennio precedente. Sono stati riscontrati, comunque, diversi e gravi fenomeni di mortalità, sia durante l'allevamento larvale che post-svezzamento; anche in questo caso alcuni campioni sono stati congelati e/o fissati in formalina per le indagini parassitologiche, batteriche, virali ed istologiche. Queste ultime hanno messo in evidenza, sia nelle larve che negli avannotti, quadri di grave malattia branchiale caratterizzata da iperplasia dell'epitelio, edema delle lamelle, congestione, teleangectasie e presenza di batteri opportunisti. L'esito negativo dell'esame batteriologico effettuato

su un campione di “pastone” (omogenato di sardine eviscerate + alimento sfarinato del commercio), utilizzato come alimento per i giovanili di tonno, ha confermato che la nuova procedura utilizzata per la sua preparazione e conservazione, ha rispettato i più elevati standard igienico-sanitari. Infine le indagini morfometriche dei tonni campionati hanno dato sempre risultati, in termini di lunghezza e peso in rapporto all’età, nettamente superiori rispetto al 2008 e 2009; l’ultimo tonno, infatti, è deceduto all’età di 148 gps, alla lunghezza totale di 24,5 cm e peso di 238,4 grammi. Soprattutto nel 2010, inoltre, è stata riscontrata una maggiore incidenza di gravi deformità a carico delle ossa craniali, in particolare della mascella, mandibola ed opercoli. E’ necessario stabilire con esattezza, quando inizia la fase di ossificazione di queste ossa per comprendere, effettivamente, quali siano i reali fattori che interferiscono. Solo successivamente si potrà tentare di individuare quali parametri ambientali e nutrizionali verificare ed eventualmente modificare.

In questi tre anni di sperimentazione sono stati raggiunti risultati di grande rilievo per quanto riguarda la standardizzazione dei parametri chimico-fisici da rispettare, delle misure igieniche e dei protocolli di alimentazione da applicare. Allo stato attuale, le preziose informazioni scientifiche conseguite, ci permettono di affermare che il tonno rosso è una specie non solo addomesticabile ed allevabile, ma anche riproducibile.

## **ESPERIENZE DI RIPRODUZIONE IN AMBIENTE CONTROLLATO DELLA RICCIOLA (*SERIOLA DUMERILII*)**

Fusari A.<sup>1</sup>, Gennari L.<sup>1</sup>, Fronte B.<sup>2</sup>, Pretti C.<sup>2</sup>, Bennati L.<sup>3</sup> & Bronchini S.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> A.GE.I. S.C.r.l., Roma; <sup>2</sup> Facoltà di Medicina Veterinaria, Pisa; <sup>3</sup> Agroittica Toscana S.r.l., Piombino (LI)

La ricciola è una delle specie innovative su cui l'acquacoltura italiana punta per la diversificazione delle produzioni ittiche marine.

Specie epibentonica e/o pelagica diffusa in quasi tutte le acque tropicali e temperate, si nutre di pesci, crostacei e molluschi. Può arrivare a pesare 50 kg, in natura raggiunge i 12 kg al IV anno di età, e a questa età oltre il 50% dei soggetti va incontro a maturità sessuale. La ricciola è una candidata interessante non solo per ampliare lo spettro delle specie allevate, ma anche in relazione al rapido accrescimento e le taglie ragguardevoli che può raggiungere, che potrebbero permettere di fornire un prodotto di grande taglia per il quale il mercato mostra interesse (Garcia & Diaz, 1995).

A partire dalla fine degli anni '90, in alcune avannotterie nel Mediterraneo vengono prodotte uova fertili di ricciola, ma queste produzioni restano a livello sperimentale, con limitate produzioni di avannotti.

Le tappe salienti del processo di messa a punto delle tecniche riproduttive della ricciola sono le seguenti:

- 1986 Inizio dell'allevamento in gabbia di giovanili selvatici (Giappone);
- 1994 Prime esperienze di allevamento in gabbia di giovanili selvatici in Italia;
- 1997 Primi adulti catturati e trasferiti in vasca in Grecia;
- 1998 Fecondazione e allevamento larvale con uova ottenute da genitori pescati in periodo riproduttivo (Italia);
- 2000 Deposizione in vasca di genitori mantenuti in gabbia. Produzione di avannotti (Italia);
- 2003 Prime deposizioni indotte con utilizzo di ormoni a lento rilascio (Grecia).

Nel Mediterraneo negli anni 2006 e 2007 sono state prodotte circa 70 t da acquacoltura, a partire da soggetti selvatici catturati in mare, mentre la pesca si aggira sulle 2500 t/anno (Istat, 2007).

Nel 2009 ha preso avvio il progetto RIPRO.SE.DU.TO. (RIPROduzione della SEriola DUmerilii in TOscana), che ha visto coinvolti ARSIA, Agroittica toscana srl e Università di Pisa.

Gli obiettivi del progetto erano i seguenti: 1) l'addomesticamento e condizionamento dei genitori; 2) l'ottenimento di uova viabili; 3) la produzione di larve e avannotti da riproduzione in ambiente controllato.

Il lotto di riproduttori è stato costituito a partire da soggetti catturati in natura in Grecia, nel Principato di Monaco, in Liguria e presso l'isola di Capraia. In totale 42 soggetti di taglia compresa tra i 4 e i 29 kg sono stati trasferiti in una vasca appositamente predisposta presso l'Agroittica Toscana. La vasca era al coperto, e si è cercato di ricreare per quanto possibile condizioni ambientali "simil-naturali" per favorire la corretta maturazione dei riproduttori. I parametri ambientali presi in considerazione sono stati temperatura, illuminazione e alimentazione. Sono state prese come riferimento le condizioni ambientali di uno dei naturali luoghi di deposizione, ovvero il Canale di Sicilia, Mar Tirreno Meridionale (Figura 1 e Figura 2).

Nella fase iniziale del progetto è stata effettuata la valutazione del sesso: il lotto è risultato composto 22 femmine, 14 maschi. 6 individui sono deceduti durante le manipolazioni. Ciascun individuo è stato marcato con microchip sottocutaneo per garantire il riconoscimento individuale di ciascun soggetto. Successivamente, nel corso della stabulazione, sono stati effettuati campionamenti per la valutazione dello stadio di maturazione delle gonadi femminili, mediante prelievo di oociti con catetere.

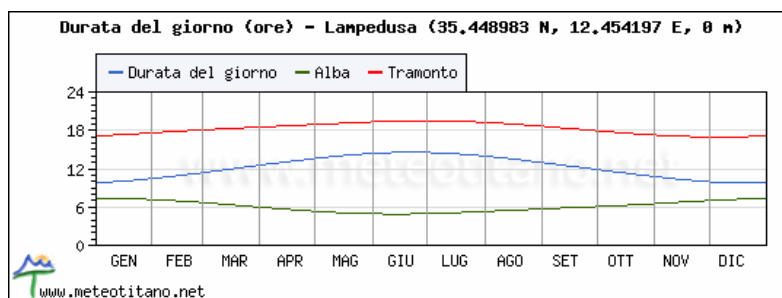


Figura 1 - Andamento annuale del fotoperiodo naturale rilevata a Lampedusa, Canale di Sicilia

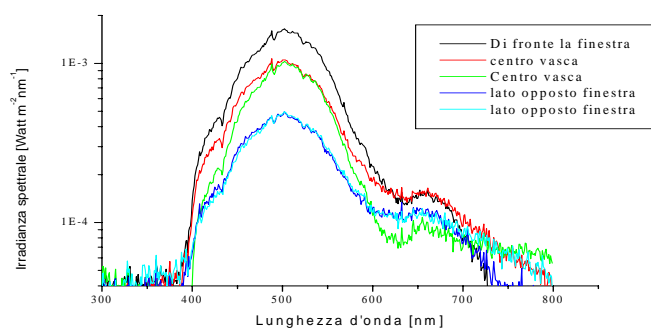


Figura 2 - Irradianze spettrali misurate all'interno della vasca di stabulazione dei genitori.

Sono state effettuate due prove di induzione ormonale, nel periodo maggio-giugno 2009 e 2010. Le prove di induzione ormonale messe a punto nella stagione 2009 hanno permesso di definire un protocollo che è stato poi perfezionato nel 2010. Il principio attivo utilizzato nei trattamenti è stato l'lh-rh, somministrato con due modalità: 1) lento rilascio e 2) rilascio acuto. Gli implant utilizzati per il lento rilascio contenevano dosaggi di 450 µg o 580 µg, dosati in relazione al peso e al sesso del soggetto. In coincidenza con la dose finale di lh-rh, è stata abbinata anche la gonadotropina corionica (hcg).

Il trattamento effettuato nella stagione 2010 ha permesso di conseguire la deposizione di circa 2 kg di uova, con tasso di fecondazione del 95%. Da questo lotto di uova sono state ottenute circa 50.000 larve di 10 giorni di età, con vescica natatoria attivata.

Nel complesso le attività condotte nei due anni di progetto hanno permesso di conseguire la messa a punto di tecniche di cattura, manipolazione, trasferimento e anestesia dei genitori e delle corrette procedure di condizionamento dei genitori finalizzate alla loro maturazione.

Inoltre è stato possibile acquisire esperienza nei trattamenti terapeutici, con particolare riguardo alla profilassi e al trattamento di soggetti feriti nelle manipolazioni.

Le attività condotte nel corso del progetto hanno confermato da un lato l'importanza delle interazioni delle varie componenti biotiche e abiotiche nella corretta maturazione e riproduzione in cattività della ricciola, dall'altro la buona domesticazione della specie. Risulta confermato che gli indici di accrescimento, superiori alle altre specie ittiche allevate sia in fase giovanile che adulta, unitamente alla resistenza alle patologie presenti negli impianti di acquacoltura, ne fanno probabilmente la migliore candidata alla diversificazione delle produzioni di acquacoltura a livello regionale nonché nazionale.

**Bibliografia e siti consultati**

- Garcia A. & Diaz M.V. (1995). Culture of *Seriola dumerilii*. *Proceedings of the seminar of the CIHEAM . Nicosia (Cyprus)*.
- Hamasaki K., Tsuruoka K., Teruya K., Hashimoto H. (2009). Feeding habits of hatchery reared larvae of greater amberjack *Seriola dumerilii*. *Aquaculture*, 288, 3-4: 216-225.
- Jerez S. *et al.* (2006). Natural spawning of greater amberjack (*Seriola dumerilii*) kept in captivity in the Canary Islands. *Aquaculture*, 252: 199-207.
- Liao I.C. & Huang Y.S. (1996). Methodological approach used for the domestication of potential candidates for aquaculture. *Taiwan Fisheries Research Institute, 199 Hou-Ih Road, Keelung 202, Taiwan*.
- Mazzola A. *et al.* (1996). Sistemi di maricoltura open-sea per l'allevamento di *Seriola dumerilii* nel golfo di Castellammare. *Biol. Mar. Medit.*, 3, 1: 176-185.
- Mylonas C., Papandroulakis N., Smboukis A., Papadaki M. & Divanach P. (2004). Induction of spawning of cultured greater amberjack (*Seriola dumerilii*) using GnRH $\alpha$  implants. *Aquaculture*, 237, 1-4: 141-154.
- Tachihara K. *et al.* (1993). Spawning , eggs, larvae and juveniles of the purplish Amberjack *Seriola dumerilii*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59, 9: 1479-1488.
- [www.eas.org](http://www.eas.org)
- [www.fao.org](http://www.fao.org)
- [www.istat.it](http://www.istat.it)

**ESPERIENZE DI ALLEVAMENTO E PROBLEMATICHE PATOLOGICHE: LA TILAPIA**

Eldar A.

*Kimron Veterinary Institute, Beit-Dagan, Israele*

A lungo, la tilapia, è stata considerata una specie africana d'interesse limitato in termini di quantitativi prodotti. La realtà è però profondamente cambiata negli ultimi 5-10 anni. Se agli inizi del 2000 la produzione globale consisteva in 850.000 tonnellate annue, dopo un decennio le quote si aggirano sui 4 milioni di tonnellate annue. La tilapia è quindi la terza specie ittica prodotta a livello mondiale.

Essendo fondamentalmente un pesce tropicale, man mano che con il suo allevamento ci si allontana dall'equatore, si favorisce la predisposizione all'insorgenza della Saprolegniosi, che a tutt'oggi è il killer numero uno per le tilapie. La comunicazione, quindi, si focalizzerà in parte sulle moderne vie di controllo di questa micosi (sviluppo di linee genetiche precoci e/o linee resistenti, impiego di farmaci di nuova generazione, ecc.).

La gamma di patologie delle tilapie non si limita certo a quelle ambientali/climatiche. Come ogni gruppo di specie ittiche, anche le tilapie possono contrarre le più svariate malattie. Fra quelle infettive ad eziologia batterica, La Streptococcosi e la Rickettsiosi sono le più importanti. Nel corso dell'intervento verrà affrontata con particolare enfasi la recente problematica sanitaria rappresentata dalla Rickettsiosi, fornendo aggiornamenti sullo stato dell'arte della patologia e sugli attuali indirizzi di ricerca.

**LA TENACIBACULOSI / FISH TENACIBACULOSIS**

Romalde J.L.

*Departamento de Microbiología y Parasitología. CIBUS-Facultad de Biología. Universidad de Santiago de Compostela. 15782, Santiago de Compostela. Spain.*

*Tenacibaculum maritimum*, a filamentous Gram negative bacterium, is the etiological agent of tenacibaculosis in marine fish, previously called marine flexibacteriosis. Today, tenacibaculosis is one of the most threatening bacterial infections limiting the culture of many species of commercial value in distinct geographical areas of the world. The disease is characterized by a high morbidity and a low but constant mortality. The pathology of the disease caused by this marine microorganism, that had a strict requirement for seawater, has been mainly associated to characteristic gross lesions on the body surface of fish. The taxonomy of *T. maritimum* was a matter of controversy and confusion during decades and it has only recently been clarified. In fact, from the first proposed name, *Flexibacter marinus*, to the last reclassification into the new genus *Tenacibaculum* has been more than 20 years. In addition, some other species pathogenic for fish have been more recently described including *Tenacibaculum ovolyticum*, agent of mortalities in halibut, and *T. soleae*, *T. discolor* and *T. gallaicum* causing sporadic problems in turbot and sole. It can be expected that new species with pathogenic pathogenic appear in the near future.

The current state of knowledge regarding fish tenacibaculosis will be analyzed, including taxonomical, pathological and epidemiological aspects, as well as the latest diagnostic methods and preventive measures for this important bacterial fish disease.

# **ABSTRACT**

# **Comunicazioni orali**



**EPISODIO DI NECROSI EMATOPOIETICA DA *CYPRINID HERPESVIRUS-2* IN PESCI ROSSI, *CARASSIUS AURATUS* (L.), DI IMPORTAZIONE**

Preto T.<sup>1</sup>, Quaglio F.<sup>2</sup>, Rampazzo E.<sup>1</sup>, Zambon M.<sup>1</sup>, Vendramin N.<sup>1</sup>, Terregino C.<sup>1</sup> & Manfrin A.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Legnaro (PD); <sup>2</sup> Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria – Università di Padova.

La necrosi ematopoietica sostenuta da *Cyprinid Herpesvirus-2* (CyHV-2) è una patologia del pesce rosso, *Carassius auratus*, descritta per la prima volta nel 1992 in Giappone e segnalata in USA, Taiwan, Australia e Regno Unito.

Nell'inverno 2010-11 presso un centro di stabulazione di pesci ornamentali in Veneto, si sono verificati gravi episodi di mortalità in due partite di pesci rossi, *C. auratus* varietà *pearlscale*, importati da Singapore. Entambi i lotti, di 300 esemplari ciascuno, durante il trasporto sono stati sottoposti ad un drastico abbassamento della temperatura e all'arrivo sono stati collocati in vasche riscaldate a 24-26°C. Dopo cinque giorni di stabulazione tutti i soggetti presentavano aumento della frequenza respiratoria, letargia e inappetenza, con totale mortalità nel giro di quattro giorni dalla comparsa della sintomatologia clinica. In entrambi gli episodi sono stati prelevati e portati in laboratorio 20 soggetti che presentavano petecchie emorragiche ed aree di discromia cutanea. All'esame necroscopico si osservavano: branchie di aspetto necrotico con filamenti congesti, pallore delle lamelle ed eccesso di muco, splenomegalia, rene pallido ed edematoso. All'esame istologico si evidenziava malattia branchiale con iperplasia e necrosi dell'epitelio, emorragie alla base delle lamelle primarie e nel grasso periviscerale, necrosi a carico della milza, miocardio e del tessuto interstiziale renale. Le cellule in fase di degenerazione mostravano frequentemente inclusioni intranucleari debolmente basofile e marginazione della cromatina. *Aeromonas hydrophila* è stata isolata all'esame batteriologico dal rene di alcuni campioni. Sono state effettuate indagini virologiche per la ricerca di herpesvirus dei ciprinidi. Le analisi per KHV (Koi Herpes Virus) sono risultate negative, mentre campioni prelevati da rene, milza e cuore sono risultati positivi per CyHV-2 mediante nested-PCR. I prodotti di amplificazione sono stati successivamente sequenziati confermando la positività per CyHV-2.

Questa è la prima segnalazione di malattia da CyHV-2 in *C. auratus* in Italia. Gli autori ipotizzano che la malattia, presente in fase latente, sia stata condizionata da fattori stressanti, come il repentino sbalzo di temperatura avvenuto durante il trasporto.

## **INQUADRAMENTO ANATOMOISTOPATOLOGICO DI LESIONI RIFERIBILI A RED MARK SYNDROME/STRAWBERRY DISEASE IN TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*)**

Galeotti M.<sup>1</sup>, Giavenni R.<sup>2</sup>, Volpatti D.<sup>1</sup>, Beraldo P.<sup>1</sup> & Feist S.W.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Sezione di Patologia Veterinaria, Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Udine, Italia* – <sup>2</sup>*Medico Veterinario c/o SAIS S.r.l.* <sup>3</sup>*Cefas Weymouth Laboratory (CWL) UK.*

La Strawberry disease (SD) è un'affezione cutanea della trota iridea, la cui eziologia non è ancora del tutto chiarita. La malattia è stata segnalata per la prima volta in Idaho (USA) nel 1985 e, nel 2003 in Scozia, definita come Red Mark Syndrome (RMS)/Cold Water Strawberry Disease (CWSD). In Italia, da alcuni anni, la malattia è sporadicamente segnalata. La descrizione e il conseguente inquadramento anatomopatologico delle lesioni cutanee in corso di RMS/CWSD possono costituire un momento diagnostico efficace per chiarire l'eziopatogenesi della malattia. A tal fine, durante recenti episodi della malattia, intercorsi in due allevamenti dell'Italia del nord (morbilità 10-15%, Temperatura media 9°C), 10 trote adulte/allevamento, con segni clinici evidenti, sono state campionate e sottoposte a eutanasia (dose letale di anestetico) ai fini dell'indagine. Prima dell'esame necroscopico, i soggetti sono stati sottoposti a verifica batteriologica e parassitologica (esito negativo) e alla documentazione fotografica delle lesioni cutanee. Campioni codificati delle lesioni cutanee e gli organi interni sono stati fissati in formaldeide tamponata al 4% e in soluzione di Bouin per la caratterizzazione istochimica (E.E., Blu di toluidina, Tricromica di Masson, Giemsa) e per valutare l'espressione immunoistochimica di pan-citocheratina (CK), CK-AE1-AE2, Caderina E, Mieloperossidasi, Lisozima, CD3, CD68. L'indagine è stata parallelamente condotta su campioni di cute prelevati da 10 trote provenienti dal Cefas Weymouth Laboratory (UK). Macroscopicamente, si notano lesioni multifocali inquadrabili in quattro morfotipi, in base a severità, estensione e al tempo di comparsa: 1) lesioni iniziali di dimensione ridotta e non rilevate, caratterizzate da lieve desquamazione e modeste emorragie; 2) lesioni di stadio più avanzato di estensione maggiore e aspetto variabile [morfotipo 2a lesioni circolari, rilevate, con tumefazione del tessuto, essudazione sierio-fibrinosa e arrossamento da lieve a marcato; morfotipo 2b lesioni irregolari, tendenzialmente piatte o poco rilevate, tumefazione, essudazione modesta, arrossamento marcato, tendenza all'ulcerazione centrale]; 3) lesioni molto avanzate di estensione elevata, fortemente arrossate, tumefatte con presenza di essudato ai margini e ulcerazione profonda al centro. Il quadro istologico dei morfotipi conferma la classificazione macroscopica mostrando quadri peculiari anche se contraddistinti dalla costante presenza di un abbondante infiltrato linfoistiocitario a livello della giunzione dermoepidermica. Un elevato indice mitotico (morfotipo 1 e 2), interessamento del processo flogistico allo strato adiposo e muscolare (morfotipo 2 e 3) con scompaginamento dell'architettura e severa necrosi dello strato epidermico (morfotipo 3) dettagliano ulteriormente i quadri istologici dei morfotipi, che saranno discussi. La valutazione dell'espressione dei marcatori utilizzati, ancora in fase di attuazione, ha consentito di osservare positività epidermica alle citocheratine e alla caderina E.

Le lesioni multifocali sembrano incentrarsi nel sottocute, dove probabilmente inizia come infiltrato linfocitario, il quale è lentamente sostituito da abbondante infiltrato istiocitario, tanto da assumere carattere di istiocitosi. La lesione si estende poi verso la superficie coinvolgendo il derma e quindi l'epidermide. A questo livello si osservano spesso importanti processi flogistici in corrispondenza della giunzione dermoepidermica, con aree di distacco e formazione di microvescicole, riferibile a un quadro di dermatite lichenoidale. La lesione dell'epidermide rimane comunque un epifenomeno, rispetto al quadro lesivo generale.

## **GARRA RUFa: VALUTAZIONE DELLO STATO SANITARIO DI ALCUNE PARTITE IMPIEGATE IN CENTRI ESTETICI**

Prearo M., Arsieni P., De Vita V.\*, Di Donfrancesco B., Righetti M., Giorgi I., Saragaglia C., Amato G.\* & Pavoletti E.

*Laboratorio Specialistico di Ittiopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta – Torino; \* La Casetta in Canada – Settimo Torinese (TO).*

*Garra rufa* è un piccolo ciprinide, diffuso in Medio Oriente, nelle acque dolci dell'Anatolia, Siria, Giordania e nei bacini idrografici del Tigri e dell'Eufrate, dove vive in acque con temperature comprese tra i 15°C e i 28°C. E' una specie bentopelagica, che vive in branco. Presenta un corpo relativamente tozzo, allungato, con pinne robuste; la bocca, in posizione ventrale, presenta caratteristici barbigli. Si nutre prevalentemente di fitoplancton e detriti animali. Da centinaia di anni questa specie viene utilizzata nei Paesi asiatici ed in particolare in Turchia, nella zona di Kangal, nell'ittioterapia per cure podologiche e per il trattamento di alcuni disturbi dermatologici. Sono stati condotti alcuni studi scientifici per valutare l'effettiva efficacia dell'ittioterapia nel trattamento controllato della psoriasi; con tale sistema si possono ottenere benefici che si possono prolungare anche per alcuni mesi. Infatti, caratteristica di questa specie è quella di cibarsi anche della pelle malata o morta, senza intaccare le restanti parti del derma, asportando piccole porzioni di cute. Controversi appaiono ancora gli studi sulla presenza o meno di un enzima presente nella saliva di questi pesci, il ditranolo, efficace nel trattamento della psoriasi, ma che può avere degli effetti collaterali, quali irritazioni cutanee, dovute a sensibilità individuale. Grazie a queste sue capacità, questa specie ittica nei paesi d'origine ha fatto fiorire un florido mercato per il trattamento di patologie dermatologiche. Negli ultimi anni questa tendenza si sta diffondendo su scala mondiale all'interno di centri termali e, in molti Paesi, la pratica denominata fish pedicure, che consiste nell'immergere i piedi in una piccola vasca condizionata con questi pesci, si sta sviluppando anche in alcuni centri estetici. Attualmente in Italia questa pratica è poco diffusa, anche per la difficoltà oggettiva di intraprendere tale attività e la totale mancanza di controlli atti a verificarne l'idoneità sanitaria. Da ricordare che in molti Stati americani ed in Svizzera, l'utilizzo di questi pesci nei centri estetici sia vietato per questioni igieniche. Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare lo stato sanitario di alcune partite di *Garra rufa* acquistate da alcuni centri estetici di Torino direttamente da fornitori europei. Da giugno 2010 sono state analizzate con cadenza mensile, 11 partite diverse di *Garra rufa* provenienti da 3 diversi fornitori. I pesci sono giunti al laboratorio vivi, in sacchetti da trasporto e sono stati sottoposti alle analisi routinarie, previa anestesia profonda e spinalizzazione di tutti i soggetti. Sono stati condotti su tutti i campioni gli esami parassitologico e anatomopatologico, seguiti da un esame colturale su terreni di primo isolamento. Inoltre, da tutti i soggetti si è approntato un esame colturale su terreni specifici per la ricerca di eventuali micobatteri atipici. In alcuni casi i pesci sono apparsi estremamente magri e le lesioni più frequenti sono da ricondursi ad una sofferenza branchiale aspecifica. L'esame parassitologico è risultato sempre negativo, mentre all'esame colturale è stato possibile isolare, in alcuni soggetti, *Aeromonas hydrophila*, senza però riscontrarne segni patognomonicamente all'esame autoptico. La ricerca di micobatteri atipici ha sempre dato esito negativo. Nel mese di febbraio 2011 inoltre, è stata inviata al laboratorio una partita, già testata in arrivo ed utilizzata a scopo estetico per circa un mese, in cui si è segnalata una lieve mortalità in vasca. Dalle analisi condotte si è potuto osservare un eccessivo dimagrimento dei soggetti, con intestino totalmente privo di alimento ed un quadro di anemia epatica; è stato inoltre possibile isolare *Aeromonas sobria* da un esemplare. Tale quadro è senz'altro da ricondurre ad una eccessiva densità, ad una scarsa alimentazione dei soggetti e a fenomeni di stress ambientale. I risultati ottenuti da questo studio preliminare permettono, seppur con una certa riserva, di affermare che le partite in arrivo godono di un buono stato di salute; non è stato possibile però stabilire l'effettivo mantenimento di tale stato di salute nel tempo. Regolamentare quindi tale attività, effettuando anche maggiori controlli sanitari ed igienici delle partite utilizzate, renderebbe certamente tale pratica più sicura.

## L'INFEZIONE DA *AEROMONAS VERONII* NELLA SPIGOLA: UN PROBLEMA EMERGENTE PER LA MARICOLTURA MEDITERRANEA?

Ghittino C.<sup>1</sup>, Prearo M.<sup>2</sup>, Anzalone L.<sup>1</sup>, Latini M.<sup>1</sup>, Agnetti F.<sup>1</sup>, Ottaviani D.<sup>1</sup> & Eldar A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, 06126 Perugia, Italy; <sup>2</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, 10154 Torino, Italy; <sup>3</sup> Kimron Veterinary Institute, 50250 Bet-Dagan, Israel.

Ad inizio 2010, Anzalone et al. avevano riportato focolai di infezione da *Aeromonas complex sobria* in diversi impianti di maricoltura italiani. Erano risultati colpiti esclusivamente gli allevamenti a terra, riforniti da acque con condizioni di salinità e temperatura variabili, e le spigole di taglia superiore ai 100 g, mentre le orate erano apparse del tutto refrattarie. Le perdite erano consistenti (20% di media), di tipo continuo ed a stitlicidio per le difficoltà nel controllo terapeutico. Basandosi sullo schema identificativo fenotipico di Abbott et al. (2003), i ceppi di *Aeromonas* coinvolti erano stati classificati nell'ambito del *sobria* complex e, più nello specifico, ritenuti degli *Aeromonas jandaei* e/o degli *A. schubertii*.

Il presente lavoro vuole sensibilizzare gli ittiopatologi sull'importanza che sta assumendo la malattia in questione, diffusasi ulteriormente negli allevamenti italiani di spigola (*Dicentrarchus labrax*), ed aggiornare sull'esatta tassonomia del germe coinvolto.

Nel periodo compreso tra fine 2010 ed inizio 2011, l'infezione è stata individuata soprattutto negli allevamenti a terra riforniti costantemente da acque calde (18-22°C), sia in condizioni di salinità bassa (15-20‰) che normale (35‰). La taglia dei pesci colpiti risultava variare tra i 50-100 ed i 400-500 g ed i trattamenti con mangimi medicati a base di ossitetraciclina, flumechina o sulfatrimetoprim si sono spesso rivelati poco efficaci, causa precoce anoressia e frequenti ricadute.

All'esame necroscopico i pesci colpiti presentavano tipici segni di diatesi emorragica, visibili soprattutto a carico della parte ventrale del corpo. A differenza della Vibriosi, caratterizzata da estesi spandimenti emorragici cutanei di color rosso vivo, nell'Aeromoniasi sono state osservate soprattutto soffiusioni emorragiche circolari di color rosato, aventi centro più chiaro e diametro di 0,5-2 cm. Le emorragie viscerali sono risultate poco diffuse e l'unico segno interno costantemente rilevato è stata la splenomegalia.

Il germe responsabile dell'infezione è stato facilmente isolato tramite prelievo dal rene anteriore, semina su marine agar e/o agar sangue, incubazione a 22°C per 24 ore. I ceppi sono stati sottoposti a test identificativi biomolecolari e biochimici. Relativamente ai primi, l'identificazione si è basata sul gene della subunità ribosomiale 16S (16S rDNA), considerato un gene evolutionalmente conservato e quindi a spiccato valore tassonomico: il DNA genomico è stato estratto ed il gene del 16S (1500 bp circa) è stato amplificato e sequenziato. La sequenza ottenuta è stata comparata con quelle presenti nelle banche dati. Tutti i ceppi testati, provenienti dai diversi focolai geografici d'infezione, hanno mostrato un'omologia del 99% con *Aeromonas veronii*. Biochimicamente, sono risultati inquadrabili come *A. veronii* biovar *sobria*.

*Aeromonas veronii* biovar *sobria* è un germe specificamente diverso da *A. sobria* sensu stricto, ma viene spesso riferita incorrettamente come quest'ultima. Unitamente ad *A. jandaei*, *A. schubertii* ed *A. trota*, appartiene all'*Aeromonas complex sobria*.

*A. veronii* biovar *sobria* è stata segnalata come germe saprofita del tratto digerente delle sanguisughe, e più nello specifico come un endosimbionte con la funzione di contribuire alla digestione del sangue. E' quindi ipotizzabile un suo passaggio dalle sanguisughe al pesce dove, nella spigola, ha trovato le condizioni ideali per trasformarsi in patogeno.

**YERSINIA RUCKERI: CARATTERIZZAZIONE FENOTIPICA E SENSIBILITA' ANTIBIOTICA DEI CEPPI ISOLATI IN TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) NEL NORD ITALIA**

Salogni C.<sup>1</sup>, Grassi A.<sup>1</sup>, Mioso P.M.<sup>1</sup>, Gradassi M.<sup>1</sup> & Alborali G.L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia.*

*Yersinia ruckeri*, agente causale della Bocca Rossa, una importante malattia a carattere setticemico di molte specie di salmonidi allevate tra cui la trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), è presente a livello mondiale con almeno 6 differenti sierotipi (Stevenson & Frerichs 1989). In Italia è stato isolato ed identificato sino ad ora solo il sierotipo 01. La segnalazione della presenza sul territorio nazionale di ceppi di *Y. ruckeri* immobili in trota iridea (Ghittino *et al.* 2010) ed in altre specie allevate quali lo storione (Salogni *et al.* 2010), unitamente all' evidenza di fenomeni di mancata o insufficiente protezione vaccinale per *Y. ruckeri*, ha evidenziato la necessità di indagare sulla reale presenza e diffusione dei sierotipi e biotipi, nonché sulla sensibilità ai chemio antibiotici. 42 ceppi di *Yersinia ruckeri*, conservati nella ceppoteca del laboratorio di Ittiopatologia della sezione Diagnostica dell'IZSLER di Brescia, sono stati sottoposti a caratterizzazione fenotipica. Tutti i ceppi provenivano da organi (cervello, rene, fegato e milza) di trota iridea con quadri setticemici ascrivibili a Bocca Rossa, ed erano stati isolati in purezza mediante esame colturale su agar sangue e TSA. Gli isolamenti hanno coinvolto 27 aziende site nel nord Italia dal 2005 al primo quadrimestre del 2011. Le colonie erano caratterizzate da colorazione biancastra e da diametro massimo, dopo 48-72 h d'incubazione, di 3-4 millimetri, con aspetto liscio, piatto, rotondo, con margini netti e senza emolisi. La colorazione di Gram ha evidenziato dei piccoli bacilli Gram negativi. L'identificazione dei germi isolati è stata eseguita tramite caratterizzazione biochimica, sierologica e genomica. La caratterizzazione biochimica è stata eseguita in macrometodo e con sistema miniaturizzato API20E (bioMérieux). In modo particolare sono state valutate alcune importanti caratteristiche fenotipiche come la mobilità e la capacità di idrolizzare il Tween 80, che rappresentano le principali prove in grado di differenziare i due biotipi distinguibili all'interno del sierotipo 01 Hagerman. L'esame sierologico ha previsto l'utilizzo di diversi sieri (Bionor Mono Yr, Microtek International L.td, rabbit anti-*Yersinia ruckeri* serotype I & II) in test di agglutinazione rapida su vetrino. L'indagine genetica che ha avuto carattere di conferma, è stata fatta tramite il sequenziamento del 16sRNA e comparazione con banche dati quali Microseq e gene bank BLAST. Infine su tutti i ceppi isolati è stata valutata la sensibilità a diversi antibiotici (Amoxicillina, Tetraciline, Sulfamidico potenziato, Flumequine, Florfenicolo, Tiamfenicolo) mediante tecnica della diffusione in agar (Kirby-Bauer). Gli esami eseguiti hanno permesso di identificare tutti e 42 i ceppi come *Yersinia ruckeri* sierotipo 01 Hagerman, confermando la sola presenza di questo sierotipo sul territorio nazionale. L'uso della tipizzazione biochimica in macrometodo, affiancato ai sistemi miniaturizzati, si è dimostrato indispensabile in considerazione delle numerose analogie fenotipiche che *Y. ruckeri* ha con altre enterobatteriacee quale ad esempio *Hafnia halvei*. Tests di facile esecuzione quali la mobilità e l'idrolisi del Tween 80 hanno permesso di evidenziare la presenza sul territorio nazionale di entrambi i biotipi (biotipo 01: mobile e idrolizzante Tween 80; biotipo 2: immobile e non idrolizzante il Tween 80). In modo particolare la presenza del biotipo 2 è stata individuata a partire dal 2006 con un singolo isolamento. La prevalenza di tale biotipo è poi aumentata negli anni successivi per attestarsi a circa il 30% del totale dei campioni esaminati. Di tale evidenza bisognerà tener conto nella produzione dei presidi immunizzanti essendo nota la mancanza di protezione crociata dell'immunità conseguita utilizzando batterine di ceppi di *Y. ruckeri* mobili rispetto a quelli immobili. In merito alla sensibilità agli antibiotici testati in vitro si è rilevata un'alta percentuale di sensibilità al Sulfamidico potenziato, seguito dalle Tetraciline e Florfenicolo. Minore sensibilità è stata rilevata per Flumequine. Amoxicillina e Tiamfenicolo si sono dimostrati invece poco efficaci.

**PROVE DI PATOGENICITÀ *IN VITRO* SU CEPPI DI *VIBRIO ALGINOLYTICUS***

Bossù T.\*, Amiti S.\*, Di Giamberardino F.\*, Cardeti G.\*, Dante G.\* & Ingle E.\*\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale Lazio e Toscana, Via Appia Nuova, 1411 – 00178 Roma; \*\* Università degli Studi dell'Insubria, Dip. di Biologia Strutturale e Funzionale, via J.H. Dunant, 3 – 21100 Varese.

*Vibrio alginolyticus* è isolato frequentemente in episodi di mortalità in orate e spigole con sintomatologia a carico della cute, in particolare ulcere cutanee superficiali ed in alcuni casi ascite ed emorragie epatiche; è stato anche associato, insieme ad altre specie di *Vibrio*, ad episodi di mortalità in larve di numerose specie ittiche.

Sulla base dei profili biochimici sono stati selezionati 8 ceppi di *Vibrio alginolyticus* di cui due ambientali ed i rimanenti isolati in corso di episodi di mortalità in spigole ed orate allevate. L'attività patogena *in vitro* è stata valutata per le cellule batteriche e per i prodotti extracellulari di ogni ceppo. In particolare sono state condotte prove per la valutazione dell'idrofobicità, dell'attività emoagglutinante nei confronti di eritrociti di spigola ed orata, prove di inibizione dell'emoagglutinazione e ricerca di esoemoagglutinine, prove di citotossicità dei prodotti extracellulari nei confronti di linee cellulari BF<sub>2</sub> ed EPC; è stata inoltre valutata la capacità dei ceppi di aderire alle colture cellulari suddette e l'attività idrolitica dei prodotti extracellulari.

I risultati ottenuti mostrano come a fronte di una omogeneità del profilo biochimico vi siano differenze relative alla idrofobicità, al profilo enzimatico ed all'emoagglutinazione, mentre non ne sono state rilevate rispetto alla citotossicità.

## EFFETTO DI DIETE INTEGRATE CON CARVACROLO SULLA RISPOSTA IMMUNITARIA E SULLA RESISTENZA A *LISTONELLA (VIBRIO) ANGUILLARUM* DEL BRANZINO (*DICENTRARCHUS LABRAX*)

Volpatti D.\* , Bulfon C.\* , Tulli F.\*\* , Assante D.\* & Galeotti M.\*

\* Sezione di Patologia Veterinaria, \*\* Sezione di Acquacoltura - Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università di Udine.

Il carvacrolo (2-metil-5-(1-metil)-fenolo), derivato fenolico contenuto in alta percentuale negli oli essenziali di origano e timo (fam. *Labiatae*), è un additivo alimentare ufficialmente riconosciuto da FAO/WHO, Consiglio d'Europa, U.S. FDA, al quale sono attribuite funzioni di promotore della crescita (animali da reddito), antimicrobico, anti-infiammatorio, immunomodulante (medicina umana e veterinaria).

La ricerca è stata finalizzata a valutare l'effetto dell'integrazione dietetica (0,025 e 0,05% della dieta) di carvacrolo sulle performances di crescita, sulla risposta immunitaria umorale (proteine totali, immunoglobuline totali, attività del lisozima), sulla risposta immunitaria cellulare (fagocitosi, burst respiratorio, contenuto di perossidasi, pinocitosi) e sulla resistenza a *Listonella (Vibrio) anguillarum* sierotipo O1 nel branzino (*Dicentrarchus labrax*).

Nove gruppi di giovanili di branzino ( $69,2 \pm 0,22$  g) sono stati mantenuti in condizioni controllate di allevamento e alimentati con le diete sperimentali per 9 settimane.

L'inclusione di carvacrolo nella dieta non ha inciso negativamente sulla sopravvivenza dei pesci, sul comportamento alimentare, sulle performances di crescita, espresse come aumento di peso, tasso di crescita specifico, fattore di conversione ( $P > 0,05$ ). Similmente, la somministrazione di carvacrolo non ha determinato differenze significative nel rendimento della carcassa, negli indici viscerosomatico ed epatosomatico, nel tenore di grasso periviscerale ( $P > 0,05$ ).

Il siero (10 sogg/dieta) e i leucociti di rene anteriore (5 sogg/dieta) sono stati prelevati dopo 1, 4 e 8 settimane di alimentazione. Le due dosi di carvacrolo hanno indotto una significativa diminuzione delle proteine, delle immunoglobuline e dell'attività del lisozima nel siero ( $P < 0,01$ ), hanno stimolato solo moderatamente la fagocitosi e la pinocitosi dei leucociti mentre non hanno modificato il contenuto di perossidasi dei leucociti. Nel corso della prova la produzione di ROS da parte dei leucociti è risultata minore nei branzini alimentati con il carvacrolo rispetto a quanto rilevato nei soggetti di controllo, e significativamente più bassa ( $P < 0,05$ ) in quelli alimentati per 7 giorni con la dose 0,05%. Questi risultati suggeriscono che il carvacrolo somministrato con la dieta agisce come antiossidante, piuttosto che come promotore della risposta immunitaria aspecifica del branzino.

Dopo 8 settimane di alimentazione, i branzini sono stati sottoposti ad infezioni sperimentali per via intraperitoneale con *L. (V.) anguillarum* ( $6 \times 10^6$  UFC/ml, 200  $\mu$ l/sogg,  $>DL_{50}$ ;  $2 \times 10^6$  UFC/ml, 200  $\mu$ l/sogg,  $<DL_{50}$ ). Come atteso, l'esposizione dei soggetti sperimentali alla dose infettante superiore alla  $DL_{50}$  non ha consentito di rilevare protezione nei confronti del patogeno, per entrambi i livelli di carvacrolo somministrati. Nel caso dell'infezione con dose inferiore alla  $DL_{50}$  il tasso di mortalità cumulativa nei pesci alimentati con entrambe le dosi di carvacrolo è risultato minore rispetto a quello dei soggetti non trattati. Il valore di RPS (percentuale relativa di sopravvivenza) era pari al 75% nei soggetti alimentati con carvacrolo allo 0,025% e al 31% nei soggetti alimentati con carvacrolo allo 0,05%. La protezione conferita da questo derivato fenolico sembra dipendere principalmente dalla sua azione antibatterica, sebbene siano necessari ulteriori approfondimenti per spiegare l'apparente minore efficacia della dose più alta.

Ricerca finanziata da: Ministero delle Politiche Agricole e Forestali – Progetto “Azione Concertata per l'identificazione di contributi scientifici per lo sviluppo dell'acquacoltura biologica in Italia”.

**ISOLAMENTO DI *PHOTOBACTERIUM DAMSELAE* SUBSP. *DAMSELAE* DA UN DELFINO (*STENELLA STRIATA*)**

Currò V., Palumbo P., Martorana C., Randazzo V., Marineo S. & Caracappa S.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia "A. Mirri", Via Gino Marinuzzi, 3 - Palermo, Italy.*

La carcassa di un giovane esemplare di delfino (*Stenella striata*) è stata rinvenuta presso il litorale dell'aeroporto Falcone-Borsellino di Palermo.

L'analisi post-mortem ha rivelato che gli organi interni non mostravano alcuna lesione macroscopica per cui non è stato possibile identificare la *causa mortis*.

Gli organi sono stati sottoposti a esame tossicologico, microbiologico e parassitologico.

L'analisi parassitologica ha rivelato la presenza di cisti parassitarie nel pannicolo adiposo della pinna caudale.

L'analisi batteriologica è stata mirata soprattutto alla ricerca di *Brucella* spp. e *Salmonella* spp. con esito negativo, mentre è stato possibile identificare nel fegato la presenza di *Photobacterium damsela* subsp. *damsela*.

L'identificazione di *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* riveste una notevole importanza; questo microrganismo, infatti, è un patogeno opportunista per una grande varietà di ospiti sia pesci che mammiferi. Nei casi di infezione che hanno interessato l'uomo la maggior parte dei pazienti raggiunge condizioni critiche e spesso la morte nonostante il trattamento antibiotico precoce. *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* riveste quindi importanza anche dal punto di vista zoonotico.

Considerata la nota patogenicità del batterio sia nei confronti dell'uomo che di mammiferi marini, in un prossimo futuro, molto verosimilmente, amplieremo le nostre indagini su altre specie acquatiche.



## CARATTERIZZAZIONE DI LESIONI GRANULOMATOSE IN UNA POPOLAZIONE DI CEFALI DEL MAR LIGURE ORIENTALE NEL TRIENNIO 2008-2010

Varello K., Prearo M., Serracca L.\* , Giorgi I., Audino V., Righetti M., Pezzolato M., Ercolini C.\* & Bozzetta E.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Torino (Italia); \* Sezione Territoriale di La Spezia, Laboratorio di Microbiologia Marina – La Spezia.*

*Mycobacterium* spp. e *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* sono riconosciute come le principali cause di lesioni granulomatose nei pesci. Molti batteri del genere *Mycobacterium* sono stati identificati quali agenti causali di Micobatteriosi atipiche nei pesci tra cui le specie più frequentemente isolate sono *M. marinum*, *M. chelonae*, *M. fortuitum*, ma molte altre sono state isolate in individui in cui non è stato possibile riscontrare lesioni riconducibili a micobatteriosi. La Fotobatteriosi colpisce numerose specie ittiche sia selvatiche che allevate soprattutto di acqua salata o salmastra. Lo scopo del presente lavoro è quello di valutare la diffusione delle infezioni da *Mycobacterium* spp. in una popolazione di cefali del Mar Ligure orientale [Bocche di Magra, Sarzana (SP)] e di effettuare una diagnosi differenziale con quelle da *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida*. Centocinquantanove cefali (*Mugil cephalus* e *Liza* spp.) sono stati pescati, sottoposti ad esame necroscopico in condizioni di asepsi ed esaminati per evidenziare la presenza di lesioni. Porzioni di fegato e milza sono state campionate e divise in 2 aliquote; una congelata per gli esami batteriologico e molecolare (PCR) e l'altra fissata in formalina tamponata al 10% destinata all' esame istopatologico mediante colorazioni Ematossilina-Eosina (EE) e Ziehl-Neelsen (ZN). All'esame anatomopatologico un solo animale presentava lesioni granulomatose a livello di fegato e milza. All'esame istologico con EE sono stati riscontrati granulomi singoli o multipli in 67 dei soggetti analizzati (42,14%). Le lesioni si presentavano a diverso stadio di evoluzione, da granulomi in stadio iniziale costituiti da cluster di cellule epitelioidi e macrofagi circondati da linfociti e plasmacellule, a granulomi in stadio avanzato caratterizzati da un'area centrale di materiale amorfo eosinofilo circondato da cellule epitelioidi, linfocitarie e da una sottile capsula connettivale. Inoltre, al centro dei granulomi si sono potuti evidenziare numerosi pigmenti ceroidi. In 31 di questi soggetti è stato possibile evidenziare bastoncelli alcool acido resistenti, di circa 4 µm, in gruppi a livello delle aree necrotiche centrali dei granulomi confermati come micobatteri dall'esame colturale. I micobatteri sono risultati particolarmente numerosi a livello splenico rispetto al fegato. I restanti 36 soggetti sono risultati negativi alla colorazione ZN. Inoltre, cinquantasei soggetti sono risultati positivi per *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* all'esame colturale e alla PCR di cui 30 senza il riscontro di lesioni granulomatose, 20 con presenza di granulomi ZN positivi e 6 con presenza di granulomi ZN negativi. Questi dati preliminari evidenziano come le infezioni da micobatteri atipici siano presenti nell'area di costa e nella specie da noi prese in considerazione. Si conferma quindi, la diffusione di *Mycobacterium* spp. in specie ittiche selvatiche sulle quali non erano ancora presenti segnalazioni. Per quanto riguarda l'esame istopatologico si è potuta evidenziare la presenza di lesioni granulomatose, con relativa presenza di batteri alcool-acido resistenti in 31 soggetti confermati anche all'esame colturale. Dei casi in cui alla lesione non si è evidenziata la positività alla ZN, 6 risultavano positivi per *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* mentre per i restanti si può ipotizzare che si tratti comunque di lesioni da fotobatteriosi in uno stadio avanzato di evoluzione in cui non sia più riscontrabile la presenza del batterio. A questo riguardo infatti bisogna sottolineare come i quadri istopatologici si presentassero diverso grado di sviluppo. L'identificazione in un numero elevato di soggetti di *Photobacterium damsela* ssp. *piscicida* dimostra la diffusione di questo batterio nei cefali nel Mar Ligure anche se con un minore riscontro di lesioni granulomatose.

*Ricerca effettuata con fondi di ricerca del Ministero della Salute, Ricerca Corrente 2008.*

**ATTIVITÀ ANTIBATTERICA *IN VITRO* DI PIANTE OFFICINALI NEI CONFRONTI DI *LISTONELLA (VIBRIO) ANGUILLARUM* (SIEROTIPO O1 E O2), *YERSINIA RUCKERI*, *PHOTOBACTERIUM DAMSELAE* SUBSP. *PISCICIDA* E *LACTOCOCCUS GARVIEAE***

Bulfon C., Volpatti D., Assante D. & Galeotti M.

*Sezione di Patologia Veterinaria, Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università di Udine.*

L'impiego di antibiotici e chemioterapici per il controllo delle malattie in acquacoltura favorisce la selezione di ceppi batterici antibiotico-resistenti e l'accumulo di residui nei tessuti del pesce e nell'ambiente. Le piante rappresentano una possibile fonte di principi attivi alternativi ai farmaci tradizionali, in quanto ricche di principi attivi con proprietà antibatteriche e immunostimolanti, facilmente reperibili in commercio, poco costose e biocompatibili. L'obiettivo della ricerca è stato quello di valutare l'attività antibatterica *in vitro* di 15 estratti etanolici fluidi commerciali (EPO s.r.l. Estratti Piante Officinali, Milano) ottenuti da piante officinali (*Achillea millefolium*, *Arnica montana*, *Calendula officinalis*, *Cetraria islandica* Acharius, *Equisetum arvense*, *Glycyrrhiza glabra*, *Grindelia robusta*, *Lavandula officinalis*, *Melissa officinalis*, *Origanum vulgare*, *Orthosiphon stamineus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia officinalis*, *Thymus vulgaris* e *Vaccinium vitis-idaea*) nei confronti di ceppi di *Listonella (Vibrio) anguillarum* (sierotipo O1 e O2), *Yersinia ruckeri*, *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *Lactococcus garvieae*, isolati nel corso di episodi spontanei di malattia, al fine di indagare il loro potenziale impiego in acquacoltura come agenti antimicrobici naturali. L'azione inibente di ciascun estratto è stata studiata mediante determinazione della concentrazione minima inibente (CMI) con metodo delle diluizioni in brodo e analisi del meccanismo d'azione. I protocolli sono stati dedotti dalla letteratura disponibile e parzialmente modificati. Gli estratti utilizzati hanno inibito la crescita dei batteri con valori di CMI compresi tra 8 mg/ml e 336 mg/ml. Le piante appartenenti alla famiglia delle *Labiatae* hanno dimostrato la maggiore azione antibatterica. Per l'origano e la lavanda le MIC variavano da 8 mg/ml a 68 mg/ml. L'origano contiene un'alta percentuale di carvacolo e timolo, due derivati fenolici capaci di inibire la crescita di batteri Gram+ e Gram-, penetrando nel doppio strato lipidico della membrana, disorganizzandone la struttura e alterandone la permeabilità. Le prove *in vitro* hanno perciò contemplato anche la valutazione dell'attività antibatterica di questi due composti chimici, sia singolarmente che in associazione (Sigma-Aldrich). Entrambi hanno dimostrato una marcata azione antibatterica nei confronti di tutti i ceppi utilizzati, inibendone la crescita a basse concentrazioni (MIC comprese tra 30 µg/ml e 200 µg/ml). A concentrazione pari alla MIC, il carvacolo e il timolo hanno mostrato un'azione batteriostatica, senza evidenza di sinergia o antagonismo. L'estratto di origano ha mostrato un'azione simile su *L. garvieae*, *Y. ruckeri*, *P. damsela* subsp. *piscicida*, mentre è risultato battericida nei confronti di *L. (V.) anguillarum* O1 e O2. Tale riscontro potrebbe dipendere dalla concomitante azione di altri componenti attivi in esso contenuti (terpeni, tannini, flavonoidi). L'attività antibatterica dell'estratto di lavanda è da attribuire a composti chimici diversi dai fenoli (geraniolo, linaiolo, cineolo, limonene, pinene). La melissa, il rosmarino e la salvia, seppure dotati di discreta attività antibatterica, sono risultati meno efficaci (MIC comprese tra 34 mg/ml e 336 mg/ml), probabilmente perché i loro componenti (tannini, flavonoidi, derivati dell'acido rosmarinico e dell'acido caffeico, eucalipto, canfora, citronella) esercitano una minore azione inibente. Il timo ha dimostrato inaspettatamente la minore attività antibatterica (attivo solo su *L. (V.) anguillarum* e *P. damsela* subsp. *piscicida*), pur contenendo in natura elevate quantità di carvacolo e timolo. L'estratto commerciale da esso purificato potrebbe derivare da gruppi di piante povere dei due derivati fenolici. Tra i batteri studiati, *P. damsela* subsp. *piscicida* è risultato il più sensibile, mentre *Y. ruckeri* quello più resistente. *L. garvieae* ha mostrato una resistenza agli estratti vegetali di carvacolo e timolo inattesa essendo un batterio Gram+. Tale riscontro può essere attribuito al fatto che il ceppo saggiato è dotato di capsula, che limita la penetrazione delle sostanze all'interno delle cellule.

*Ricerca finanziata da: MiPAF – Progetto “Azione Concertata per l'identificazione di contributi scientifici per lo sviluppo dell'acquacoltura biologica in Italia”.*

**VALUTAZIONE DELLA TOLLERABILITÀ DI *DICENTRARCHUS LABRAX* A UN DISINFETTANTE COMMERCIALE TRAMITE PROVA DI TOSSICITÀ *IN VIVO***Volpe E.<sup>1</sup>, Sirri R.<sup>1</sup>, Mandrioli L.<sup>1</sup>, Fabbri S.<sup>2</sup>, Menegatti R.<sup>2</sup> & Ciulli S.<sup>1</sup><sup>1</sup> *Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli studi di Bologna;* <sup>2</sup> *Valle Ca' Zuliani Soc. Agr. Srl.*

Nella realtà europea e italiana il branzino (*Dicentrarchus labrax*) è una delle specie marine con più elevato interesse per l'acquacoltura. L'Italia in particolare si distingue per la produzione di novellame, immettendo gli avannotti prodotti anche sul mercato europeo. L'acquacoltura cerca di rispondere all'aumento costante della domanda intensificando la produzione, con conseguente richiesta di migliori standard igienici per ridurre i rischi sanitari legati alla diffusione delle malattie infettive. Le pratiche di disinfezione costituiscono l'attività fulcro dell'igiene veterinaria, interessando tutti i settori operativi dell'itticoltura.

L'uso dei disinfettanti deve essere strettamente orientato su strumenti e strutture in cui non siano presenti organismi ittici al fine di non contravvenire alla normativa che regola i farmaci veterinari; nonostante ciò la valutazione dell'interazione tra il prodotto chimico testato e i soggetti allevati fornisce interessanti informazioni che si prestano ad un duplice utilizzo. La verifica dell'innocuità del prodotto usato aumenta i margini di sicurezza nel suo utilizzo su strumentazioni e vasche che entrino in contatto con il pesce allevato; inoltre permette in via preliminare di valutare l'eventualità di una nuova destinazione d'uso del prodotto testato.

Il presente lavoro ha avuto l'obiettivo di testare su avannotti di branzino la tossicità di un prodotto disinfettante commerciale, del quale era già stata valutata l'attività virucida, e di stabilirne i limiti di tollerabilità.

Il protocollo sperimentale per il quale è stato ottenuto il parere positivo del Comitato Etico Scientifico (Prot. n. 55948-X/10 del 01/12/2010) ha previsto in una prima prova l'uso del prodotto commerciale Virkon® in soluzioni a concentrazione scalare (1.000-10 ppm), somministrato tramite bagno di 3 ore; nella seconda prova il prodotto è stato somministrato per immersione continua per 96 ore alla concentrazione di 10 ppm. In entrambe le prove i soggetti testati erano costituiti da gruppi di 50 branzini del peso di 0,5 grammi. In ogni prova erano presenti gruppi di controllo. La tossicità è stata valutata tramite la sopravvivenza dei soggetti e l'esame istologico di alcuni avannotti. Le concentrazioni maggiori hanno determinato un'elevata mortalità degli animali. L'esame istologico ha individuato gravi processi patologici a carico delle branchie e del rene, riferibili all'attività specifica del disinfettante. Infatti, è stata evidenziata una grave branchite necrotizzante acuta, unita a degenerazione e necrosi multifocale dell'epitelio dei tubuli renali. La concentrazione di 10 ppm ha permesso invece la sopravvivenza del 100% dei soggetti, sia dopo bagno di 3 ore che dopo immersione continua per 96 ore; le indagini istologiche non hanno evidenziato modificazioni tissutali dei soggetti esaminati. La DL<sub>50</sub> è stata stabilita di 20 ppm/3 ore.

Lo studio condotto evidenzia l'innocuità a bassi dosaggi del prodotto Virkon quando entra in contatto con il pesce allevato, anche in stadi giovanili. Questo risultato associato all'assenza di residui ad impatto ambientale tipica di questo prodotto lo rende ideale anche sotto il profilo ecologico per l'utilizzo nell'ambiente acquatico. Inoltre l'elevata tollerabilità del prodotto in soggetti giovani ne fa un possibile candidato nella terapia antivirale contro patogeni verso i quali ne sia stata comprovata l'efficacia.

**INDAGINI PRELIMINARI SULL'IMPIEGO DI UN TEST RAPIDO PER LA VALUTAZIONE DELLA RISPOSTA ALLO STRESS IN CONDIZIONI DI CAMPO**

Cervellione F. \*, Rogato F. \*, Sarti M. \*, Luzzana U. \* & Zarza Araque C. \*\*

\* *Skretting, Frazione San Zeno, Mozzecane (VR), Italy*; \*\* *Skretting, Cojobar, Burgos, Spain*.

I pesci allevati si trovano spesso a fronteggiare situazioni stressanti, legate a condizioni ambientali o gestionali, le quali possono riflettersi negativamente sul benessere e sullo stato sanitario dell'animale. La valutazione dello stress può essere eseguita monitorando le alterazioni biochimiche a livello ematico (glicemia, lattacidemia, ematocrito, ioni sodio e cloro) e tissutale (indicatori epatici e muscolari) che si instaurano durante la risposta secondaria allo stress. Skretting ha sviluppato, nell'ambito del concetto Active Nutrition, una linea di prodotti specifici (Protec) studiati per fornire ai pesci un pacchetto di macro- e micronutrienti attivi a diversi livelli nella risposta allo stress, dal potenziamento della risposta immunitaria all'azione antiossidante, al sostegno alla struttura e alla funzionalità del digerente. In questo studio sono stati testati dei kit rapidi per la misurazione di livelli ematici di glucosio e acido lattico a livello basale (controllo) e a seguito di uno stress indotto nella sogliola (*Solea senegalensis*) e orata (*Sparus aurata*). Per ciascuna specie due gruppi di 10 soggetti l'uno (sogliole di 100 grammi ed orate di 200 grammi) sono stati alimentati con due differenti diete (controllo e Protec) per 14 giorni nella sogliola (stabulata a 18°C in sistema a ricircolo) e 60 giorni nell'orata (stabulata a 12°C in vasche a terra). I risultati hanno mostrato una diminuzione dei livelli ematici di glucosio e acido lattico nei pesci alimentati con Protec rispetto al gruppo di controllo, pari al 20% nell'orata ( $p < 0,01$  per il glucosio,  $p < 0,05$  per l'acido lattico) e al 23% nella sogliola ( $p < 0,07$  per il glucosio, NS per l'acido lattico).

L'approccio nutrizionale appare quindi un elemento importante all'interno di una strategia di gestione sanitaria più ampia, volta a minimizzare lo stress nel pesce e a ridurre l'impatto delle patologie in allevamento. Ulteriori prove sono in corso su altre specie come la spigola (*Dicentrarchus labrax*), il rombo (*Psetta maxima*), il salmone atlantico (*Salmo salar*) e la trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*), con l'obiettivo di confermare l'importanza dell'utilizzo di una dieta specifica volta a supportare lo stato immunitario dei pesci per fronteggiare situazioni di stress in allevamento.

## STUDIO DELL'ESPRESSIONE IMMUNOISTOCHEMICA DEL RECETTORE TOLL-LIKE 4 E DELLE $\beta$ 2-INTEGRINE NELLA CUTE NORMALE E IN CORSO DI DERMATITI DI ORIGINE BATTERICA IN DIVERSE SPECIE ITTICHE

Magi G.E., Berardi S., Renzoni G. & Rossi G.

*Scuola di Scienze Mediche Veterinarie, Università di Camerino.*

I recettori Toll-like (TLRs) rappresentano un sofisticato sistema di recettori altamente conservati in grado di riconoscere pattern molecolari associati ai patogeni (PAMPs) e in grado di avviare efficacemente la risposta immunitaria innata nei mammiferi. Il TLR4 attiva il sistema immunitario in seguito all'interazione con il lipopolisaccaride (LPS) della parete dei batteri Gram-negativi, mediante il riconoscimento specifico della sua porzione endotossica. Nei pesci la presenza e la funzione dei TLR4 è dibattuta. Oltre al complesso TLR4, l'LPS enterobatterico ha dimostrato di interagire con molte altre proteine di membrana, tra cui eterodimeri CD11/CD18 (noti anche come  $\beta$ 2-integrine). Anche le  $\beta$ 2-integrine, un gruppo di molecole ben conservate, sono considerate al pari dei TLR4 dei recettori di riconoscimento specifici dei patogeni (PRR) e sono altresì molto abbondanti nei macrofagi. Queste ultime sono capaci di trasmettere segnali di attivazione intracellulare mediante chinasi MAP e NF $\kappa$ B.

Lo scopo del presente lavoro è stato quello di valutare l'espressione immunoistochimica del TLR4 e delle  $\beta$ 2-integrine nella cute normale di pesci delle specie: *Carassius auratus*, *Sparus aurata* e *Oncorhynchus mykiss* e nella cute di pesci, appartenenti alle specie: *Sparus aurata*, *Hydrologus collei*, *Chelidonichthys lucerna*, *Mola mola*, *Periophthalmus argentilineatus*, *Seriola dumerili*, affetti da dermatiti batteriche da Gram negativi, al fine di poter mettere in relazione un coinvolgimento del TLR4 con la risposta immunitaria verso batteri patogeni. L'indagine immunoistochimica effettuata con la tecnica ABC-perossidasi ha previsto l'utilizzo di due anticorpi per TLR4: monoclonale di topo anti TLR4 (Imgenex, USA, IMG-5031A) e policlonale di coniglio anti TLR4 (Imgenex, USA, IMG-578A) e di un anticorpo monoclonale di ratto per le  $\beta$ 2-integrine (Santa Cruz Biotechnology, USA, M18/2). Dalla cute dei soggetti sani è stata osservata una forte e specifica immunoreattività delle cellule componenti lo strato epidermico per l'anticorpo monoclonale anti-TLR4. Nei soggetti affetti da forme dermatopatiche, la positività per il medesimo anticorpo era intensa e fortemente diffusa sia a livello dell'epidermide iperplastica che nei mononucleati dell'infiltrato infiammatorio, dimostrando un coinvolgimento dei TLR4 con la risposta immunitaria. I campioni di cute dei soggetti sani e malati sono risultati negativi per l'espressione di  $\beta$ 2-integrine.

La presenza del TLR4 nei pesci e la sua potenziale capacità di attivare efficacemente le cellule dell'immunità innata, suggerisce pertanto l'utilizzo dei ligandi per tale recettore in strategie terapeutiche di immunostimolazione specifica. La positività al TLR4 riscontrata in questo lavoro in diverse specie ittiche, sia in condizioni fisiologiche che patologiche, conferma come questa molecola sia altamente conservata tra le varie specie animali; per questo motivo i pesci potrebbero rappresentare un modello ideale per lo studio della fisiologia, della funzione e della regolazione dei recettori Toll-like.

**VALUTAZIONE DELL'ESPRESSIONE DI CYP1A E HSP70 IN ZOSTERISESSOR OPHIOCEPHALUS NELL'AMBITO DI UN PIANO DI MONITORAGGIO DELLA LAGUNA DI VENEZIA**

Vascellari M.<sup>1</sup>, Pascoli F.<sup>2</sup>, Gioacchin G.<sup>3</sup>, Negrato E.<sup>2</sup>, Melchiotti E.<sup>1</sup>, Carnevali O.<sup>3</sup>, Bertotto D.<sup>2</sup>, Mutinelli F.<sup>1</sup> & Radaelli G.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Laboratorio Istopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD);*  
<sup>2</sup> *Dipartimento di Scienze Sperimentali Veterinarie, Università degli Studi di Padova;*  
<sup>3</sup> *Dipartimento di Scienze del Mare, Università Politecnica delle Marche.*

Lo scopo del presente studio è stato valutare l'espressione di alcuni bioindicatori, comunemente utilizzati in programmi di biomonitoraggio, in diversi siti della Laguna di Venezia che, per la loro collocazione e per le caratteristiche idrologiche, possono essere esposti a diversi livelli di inquinamento. La specie monitorata è stata il pesce bentonico *Zosterisessor ophiocephalus* (Teleostei: Gobiidae), animale particolarmente adatto al biomonitoraggio in quanto stanziale, che vive a stretto contatto con il fondo ed è facilmente reperibile nella Laguna di Venezia. Dieci soggetti (5 maschi e 5 femmine) per sito sono stati pescati in 3 diversi siti (Porto Marghera, Caroman, Val di Brenta) nel periodo tra marzo ed aprile 2008. Parallelamente 5 individui maschi di *Z. ophiocephalus* pescati nel sito di Porto Marghera sono stati stabulati in vasche con acqua di mare per un periodo sufficiente a detossificarsi, al fine di consentire una comparazione non solo tra i diversi siti di campionamento, ma anche rispetto ad un controllo detossificato.

I biomarcatori selezionati e analizzati sono stati: l'espressione della citocromo P4501A (CYP1A) e delle Heat Shock Protein 70 (HSP70). P4501A costituisce una famiglia ubiquitaria di proteine associate al processo di detossificazione dei composti organici quali policlorobifenili (PCB), idrocarburi policiclici aromatici (PAH) e diossine. Nei pesci, come nei mammiferi, le HSP sono proteine normalmente presenti nelle cellule nella forma costitutiva (HSC), con il compito di regolare il metabolismo proteico e l'omeostasi cellulare, mentre l'espressione delle forme inducibili (HSP) è evidenziabile a livello cellulare in conseguenza di uno stress acuto, dove innescano alterazioni strutturali e funzionali delle proteine cellulari.

Il livello di espressione di tali marcatori è stato valutato in campioni di fegato, immediatamente congelati in azoto liquido e conservati a -80°C, con metodiche di Real Time PCR e Western blot. Inoltre, organi quali fegato, ovaio, testicolo, milza e rene sono stati fissati in formaldeide al 4% ed inclusi in paraffina per la valutazione immunoistochimica. I livelli di espressione genica e di espressione proteica sono stati correlati con i diversi siti di pesca e con gli animali di controllo. I dati ottenuti, seppur preliminari, confermano l'utilità del CYP1A come biomarcatore di inquinamento ambientale e vanno a sostegno dei dati riportati in letteratura, secondo cui il sito di Porto Marghera è quello maggiormente impattato della Laguna, poiché influenzato dalla presenza di un'estesa area industriale e della città di Venezia. Inoltre, l'espressione di CYP1A è risultata sesso-specifica, in quanto i livelli più elevati di espressione sono stati evidenziati nei maschi. Tale risultato potrebbe essere spiegato dal fatto che i maschi di questa specie si occupano della costruzione del nido sui fondali e delle cure parentali; di conseguenza potrebbero essere più esposti ai contaminanti presenti nel sedimento.

*Progetto finanziato da: Regione Veneto (Ricerca Finalizzata Sanitaria 2006, 315 Drg. n. 3094, 3 October 2006) e Ministero della Salute (RC IZSVE20/09).*

**CITOCROMO P450: EVIDENZIAMENTO MEDIANTE PCR DELL'ESPRESSIONE GENICA FISIOLÓGICA IN TROTE IRIDEE (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) ALLEVATE**

Canonico C., Anzalone L., Potenziani S., Rocchegiani E., Ghittino C. & Latini M.

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

Gli organismi viventi sono soggetti a diverse pressioni dovute a sostanze inquinanti, sotto queste pressioni essi devono reagire per poter riadattarsi all'ambiente ed eliminare le sostanze nocive che possono accumularsi nel corpo. Uno dei sistemi detossificanti che l'organismo può attivare è quello del citocromo P450. Questo sistema è costituito da una superfamiglia di isoenzimi, composti da proteine di membrana contenenti un gruppo eme. Mediante tecniche di DNA ricombinante si è giunti ad identificare gli enzimi di questa superfamiglia codificati da più di 300 geni diversi. La funzione detossificante di queste proteine è caratterizzata dall'utilizzo dell'O<sub>2</sub> per catalizzare il substrato esogeno o endogeno. Gli enzimi del citocromo hanno un picco di assorbimento a 450 nm quando sono nella forma ridotta e coniugata con Monossido di Carbonio. Tra queste isoforme abbiamo indagato la CYP1A, che viene espressa quando l'animale viene a contatto con diversi xenobiotici, rendendo il citocromo P450 un ottimo biomarker. L'uso dei biomarker nei pesci può essere utile nello studio delle reazioni alle modificazioni ambientali che ad esempio possono causare morie. Fuori dalle condizioni di laboratorio non ci sono studi riguardanti l'espressione degli enzimi nei pesci. Scopo del lavoro è stato quello di individuare i limiti dell'espressione fisiologica del gene, utilizzando una PCR, in trote iridee (*Oncorhynchus mykiss*) allevate. L'allevamento di trote scelto per l'indagine è situato in una zona di montagna nel centro Italia. Non esistono fabbriche intorno all'allevamento che possano inquinare le falde acquifere e il fiume da dove l'acqua viene prelevata. E' quindi ragionevole presumere che nessun inquinamento ambientale o da xenobiotici abbia interessato l'azienda durante l'esperimento. Lo stesso allevamento è sotto controllo veterinario per l'alimentazione attraverso il programma di sorveglianza nazionale sui residui. Gli esami sono stati effettuati su fegati di 41 trote iridee, di cui 20 analizzate in estate (Agosto) e 21 analizzate in inverno (Gennaio). Si è valutato l'RNA messaggero per l'isoforma CYP1A del citocromo P450. I campioni di fegato sono stati prelevati a non più di 24 ore dalla morte per eutanasia, effettuata mediante corrente elettrica e ghiaccio, con successiva conservazione a - 80°C. L'RNA totale è stato estratto dal fegato attraverso l'utilizzo del TRIzol. L'RNA totale è stato utilizzato per la reazione di retrotrascrizione necessaria ad avere del cDNA. La PCR è stata effettuata utilizzando dei primers gene specifici disegnati utilizzando la sequenza di *Oncorhynchus mykiss* (Accesso Genbank AF059711). L'estratto è stato testato alle concentrazioni di 2 µg e successive diluizioni scalari 1/10. L'ultima diluizione positiva è stata ulteriormente diluita 1/2. La diluizione massima riscontrata positiva è stata la diluizione del DNA 1/4000 mentre la minima è stata di 1/40. Visto le diluizioni utilizzate, le analisi statistiche sono state effettuate attraverso i logaritmi dei valori riscontrati. Le differenze tra inverno ed estate, valutate con il t di student, non sono statisticamente significative ciò nonostante si è evidenziata una certa differenza. In estate, la media logaritmica è risultata di 2,4 con una deviazione standard di 0,5 in cui rientrano tutti i campioni che hanno un'espressione del gene del citocromo evidenziabile fino ad una diluizione di 1/800 (18 campioni su 20). In inverno, la media logaritmica è risultata di 2,6 con una deviazione standard di 0,7 nella quale rientrano tutti i campioni che hanno un'espressione del gene evidenziabile fino ad una diluizione di 1/2000 (15 campioni su 20). I risultati ottenuti indicano che il test può essere utilizzato tenendo in considerazione la variabilità stagionale che evidenzia un'espressione del CYP1A superiore in inverno. Solo le diluizioni oltre 1/4000 sembrano non rientrare nell'espressione comune della popolazione e quindi le cause di questa espressione vanno approfondite. Ulteriori studi sono necessari per potere avere un valore soglia della prova più definito.

**EPISODIO DI PESTE DEL GAMBERO IN *CHERAX DESTRUCTOR* ALLEVATI IN ITALIA**

Quaglio F.<sup>1</sup>, Pretto T.<sup>2</sup>, Corrarati B.<sup>2</sup>, Zambon M.<sup>2</sup>, Gustinelli A.<sup>3</sup> & Manfrin A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria – Università di Padova; <sup>2</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie – Sezione Territoriale di Adria (RO); <sup>3</sup> Dip. Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale – Università di Bologna.

La più conosciuta e devastante malattia, in grado di colpire i gamberi d'acqua dolce, è senza dubbio la peste del gambero, infezione di origine americana, causata dall'oomicete *Aphanomyces astaci*, che ha provocato la scomparsa in molte regioni europee delle specie autoctone. Le specie nordamericane (*Procambarus clarkii*, *Pacifastacus leniusculus*, *Orconectes limosus*) mostrano elevata, ma non completa resistenza alla patologia, agendo da vettori. L'Italia vanta il triste primato di essere stata la prima nazione in Europa, nel 1859, colpita da epizoozia di peste del gambero, peraltro non confermata eziologicamente. Nel nostro paese, dopo le prime segnalazioni non sono stati più descritti episodi di afanomicosi fino al 2008, con l'isolamento in *P. clarkii* in Lombardia e Toscana e nel 2009 in *Austropotamobius pallipes* in Molise. L'Australia è un continente indenne dalla malattia e i parastacidi sono risultati sensibili all'infezione sperimentalmente indotta. In Italia vi sono alcuni allevamenti del gambero australiano "yabby" (*Cherax destructor*) ed una popolazione selvatica è stata riscontrata nella riserva naturale dei "Laghi della Ninfa" (Latina).

Durante l'inverno 2009, in un allevamento semi intensivo di yabby del nord Italia, si è manifestato un grave episodio di mortalità, in crostacei di tutte le classi di età, con una perdita finale di circa 35 quintali di prodotto. In alcune vasche non c'è stata sopravvivenza, mentre in altre dove la malattia era sembrata risolversi, gravi mortalità si sono ripresentate nell'inverno 2010. Il primo sintomo osservato era la deambulazione scoordinata, con alcuni soggetti che si presentavano girati sul dorso ed incapaci a raddrizzarsi. Nel giro di pochi giorni numerosi gamberi, spesso privi di uno o più arti, giacevano morti o moribondi sul fondo dei bacini. Dalle due vasche maggiormente colpite, 105 di questi animali sono stati pescati e sottoposti ad esami di laboratorio. Sulla maggior parte dei campioni sono state riscontrate lesioni erosive ed ulcerative brunastre nella cuticola dell'esoscheletro, soprattutto nella parte ventrale dell'addome, nelle giunture dei pereopodi e nel telson. L'esame parassitologico, ad esclusione della presenza di temnocefalidi, organismi ectosimbionti, è risultato negativo. L'esame batteriologico dall'emolinfa ha permesso di isolare, in alcuni campioni, *Aeromonas hydrophila* e *Aeromonas sobria*.

All'esame istologico, in corrispondenza delle ulcere sono state osservate ife asettate ramificate nello spessore della cuticola, associate a blanda melanizzazione ed infiltrato emocitario nell'ipoderma, più frequenti nelle porzioni molli delle giunzioni dell'esoscheletro, nella regione addominale e negli arti. Si sono evidenziati inoltre numerosi granulomi sub epidermici e ulcere batteriche cuticolari con melanizzazione. Nell'epatopancreas di alcuni soggetti si è riscontrato infiltrato emocitario peritubulare. L'esame di alcuni frammenti di cuticola addominale, mediante PCR, è risultato positivo per *Aphanomyces* sp. e con il sequenziamento è stato possibile confermare la positività per *Aphanomyces astaci*. Dalla nostra indagine questo risulta essere il primo episodio naturale di peste del gambero descritto in *Cherax destructor*.



## SEGNALAZIONE DI *KUDOJA THYRSITES* (MYXOSPOREA: MULTIVALVULIDA) IN UN PESCE SPADA CATTURATO NEL MEDITERRANEO

Gaglio G., Marino F., Napoli E., Ruscica D. & Giannetto S.

*Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Università degli Studi di Messina*

Il Pesce spada (*Xiphias gladius*) è un pesce di notevole importanza economica a diffusione cosmopolita. Molti sono i dati inerenti gli artropodi e gli elminti che infestano questo pesce, occasionali quelli riguardanti i protozoi che interessano e danneggiano gravemente la sua pregiata muscolatura. Scopo del presente lavoro è quello di segnalare la presenza di metazoi mixosporidi appartenenti alla specie *Kudoja thyrsites* a livello della muscolatura in un esemplare di pesce spada pescato nel Mediterraneo e il danno da essi indotto.

Durante la routinaria visita ispettiva, in un mercato ittico della provincia di Messina, è stato rinvenuto un esemplare maschio di pesce spada, di 58 kg, catturato nel Mediterraneo in cui si evidenziava del materiale cremoso bianco-giallastro fuoriuscire dalla muscolatura caratterizzata da una generale e grave perdita di consistenza. Dal materiale esito della colliquazione delle fibre muscolari, sono stati allestiti dei vetrini per l'osservazione microscopica a fresco, inoltre tale studio è stato affiancato anche da indagini di natura biomolecolare. Per l'esame istopatologico una porzione di muscolo è stata fissata in formalina al 10% e processata con le tecniche di routine. L'osservazione diretta a fresco a forte ingrandimento del materiale preso in esame permetteva di evidenziare la presenza di spore di mixosporidi multivalvulidi. Le spore si presentavano di forma romboidale. Il diametro maggiore in media era di 14,5 µm quello minore di 13 µm. Le capsule polari avevano misure diverse in media 3,8 µm di lunghezza e 3,2 µm di larghezza. Le peculiarità morfologiche permettevano di ascrivere questi protozoi alla specie *K. thyrsites*, identificazione confermata anche dai risultati dell'indagine biomolecolare. L'esame istopatologico consentiva di caratterizzare la natura delle lesioni osservate. Nelle fibre muscolari si repertavano parassiti riferibili a Myxozoa, dalla caratteristica forma "a rosetta", in numero variabile che tendevano ad accumularsi all'interno di formazioni pseudocistiche nel sarcoplasma, sostituendo gradualmente le fibre muscolari stesse. Le miofibre interessate mostravano quadri degenerativi di grado variabile, ma sempre proporzionali alla numerosità dei parassiti. Si assisteva prevalentemente ad una degenerazione granulare delle miofibre, accompagnata da steatosi e/o metaplasia adiposa. In nessun caso sono stati evidenziati infiltrati infiammatori. La prima segnalazione del genere *Kudoja* nell'ospite pesce spada viene registrata nelle acque giapponesi dell'Oceano Pacifico con la specie *Chloromyxum muscololiquefaciens* (syn. *Kudoja muscololiquefaciens*). In Sicilia la specie *K. muscololiquefaciens* è segnalata in tempi relativamente recenti in pesce spada del commercio congelato e affumicato proveniente dall'Atlantico. Dalla disamina bibliografica, pertanto la nostra risulta la prima segnalazione di infezione da *K. thyrsites* nell'ospite pesce spada. Inoltre, le nostre osservazioni, considerata la gravità delle lesioni muscolari documentate, permettono di sostenere la possibilità di un'azione istolesiva di *K. thyrsites* già *intra vitam*; l'evoluzione *post mortale* del danno indotto conferisce il tipico aspetto colliquo alle carni infette.

## COMPOSIZIONE DELLA PARASSITOFAUNA IN ANGUILLE SELVATICHE E D'ALLEVAMENTO IN ITALIA

Gustinelli A., Leone M., Caffara M. & Fioravanti M.L.

*Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna*

L'anguilla europea (*Anguilla anguilla*) ha sempre rappresentato una delle specie ittiche più importanti per la pesca e per l'acquacoltura a livello nazionale ed internazionale. La progressiva diminuzione degli stock naturali, conseguente agli eccessivi sforzi di pesca ed al progressivo degrado degli habitat naturali, ha spinto la Commissione Europea ad emanare nel 2007 il Regolamento N. 1100/2007 del Consiglio che istituisce misure per la ricostituzione dello stock di anguilla europea. Dal 13 marzo 2009, la specie *A. anguilla* è stata inoltre inclusa nell'appendice II della Convenzione di Washington e nell'Allegato B del Reg. CE n.338/97, inerenti la protezione di specie di flora e fauna selvatiche attraverso il loro controllo commerciale. Alla luce della crescente attenzione verso l'applicazione di misure volte alla protezione/tutela dell'anguilla europea, va tenuto in debita considerazione anche l'impatto che le malattie diffuse possono esercitare sullo stato sanitario e sulla capacità riproduttiva delle anguille. In particolare, le problematiche di natura parassitaria sono già state indicate in passato quale possibile concausa della progressiva diminuzione degli stock naturali di anguilla, come nel caso dell'introduzione e della rapida diffusione del nematode *Anguillicola crassus* nelle popolazioni europee di anguilla a partire dalla seconda metà degli anni '80. Al fine di valutare la composizione della parassitofauna in anguille selvatiche ed allevate in Italia, da ottobre 2010 ad aprile 2011 sono stati sottoposti ad esami parassitologici 86 soggetti, di cui 51 provenienti da un allevamento intensivo sito in provincia di Ferrara e 35 pescati in acque libere. La presenza di parassiti è stata rilevata in 82 (95,3%) delle anguille esaminate, in particolare in 48 (94,1%) dei soggetti allevati ed in 34 (97,1%) di quelli selvatici. La composizione della parassitofauna nelle due categorie prese in considerazione ha mostrato notevoli differenze di ordine qualitativo e quantitativo. Solo nelle anguille selvatiche provenienti da ambienti salmastri è stata individuata la presenza di trematodi digenei riconducibili alle specie *Bucephalus anguillae* (Bucephalidae) (25,7%), *Brachyphallus crenatus* (Hemiuridae) (8,5%) e *Deropristis inflata* (Deropristidae) (5,7%), di larve cistacante di acantocefali (17,4%) e di nematodi allo stadio larvale appartenenti al genere *Contracaecum* (Anisakidae) (11,4%). Diversamente, nel soggetto selvatico pescato nel Lago di Garda e nelle 23 ceche catturate dopo la rimonta in acque interne dalla costa tirrenica, i reperti parassitari erano riferibili solo a crostacei del genere *Ergasilus* ed al mixosporidio *Myxidium giardi* nel primo caso e, nelle ceche, al ciliato *Ichthyophthirius multifiliis*. Va evidenziato come l'origine dell'infezione da *I. multifiliis* possa essere ricondotta alla temporanea stabulazione delle ceche nelle vasche del centro di raccolta prima del conferimento per le analisi. Per quanto concerne *M. giardi*, questo mixosporidio è risultato diffuso in tutte le categorie considerate, seppure con percentuale di positività molto più elevata nelle anguille allevate (76,4% vs. 8,5%), indicando l'estrema diffusione di questo mixosporidio in tutti gli ambienti salmastri e dulciacquicoli dove sono presenti anellidi Tubificidae, ospiti alternati del parassita. Fra i reperti parassitari di maggiore rilievo nelle anguille d'allevamento va senz'altro annoverato il nematode *Anguillicoloides crassus* (74,5%), reperito solo nei soggetti allevati. Sebbene nella maggior parte dei casi siano state evidenziate intensità d'infestazione <10 parassiti/ospite, in alcuni soggetti di piccola taglia si sono osservate intensità maggiori (11-14 parassiti/vescica natatoria), indicando un potenziale impatto della parassitosi sullo stato sanitario delle anguille allevate, con maggiore suscettibilità a stress di varia natura e diminuito rendimento produttivo. Appare poi interessante il reperto del monogeneo *Pseudodactylogyrus* sp. sia in anguille allevate che selvatiche, sebbene con percentuale di positività molto più elevata in quelle d'allevamento (37,2% vs. 5,7%) ma sempre a basse intensità. Solo nelle anguille allevate sono stati poi evidenziati il flagellato *Cryptobia branchialis* (9,8%), anche con infezioni massive, ed il mixosporidio *Myxobolus* sp. (17,6%), mentre sia nelle anguille selvatiche sia in quelle allevate sono stati reperiti il ciliato *Trichodina* sp. (2,8% vs. 15,7%) ed il monogeneo *Gyrodactylus* sp. (5,7% vs. 7,8%).

## METAZOAN PARASITES OF WILD GILTHEAD SEABREAM *SPARUS AURATA* L. FROM THREE SARDINIAN LAGOONS (SOUTH WESTERN MEDITERRANEAN)

Culurgioni J.\*, Cannella S.\*, Sabatini A.\*, Sanna N.\*, Torcivia A.\* & Figus V.\*

\* *Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Sezione di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Via T. Fiorelli, 1 - 09126, Cagliari.*

The metazoan parasites composition and diversity in wild populations of gilthead seabream *Sparus aurata* L. from three shallow lagoons (Porto Pino, St. Gilla and St. Giovanni) of the Southern Sardinian coast (Italy) is described.

Seventy-five fish, measuring 18-26 cm and weighing 81.5-283 g, were sampled by the local fishermen between July and October 2010 with traditional techniques as *lavorieri* and nets. In the laboratory, dissections were performed using standard parasitological techniques. All the parasites found were removed, identified according to morphological criteria, counted and preserved in 70% ethanol. Parasite prevalence (P%) and its 95% confidence intervals, mean intensity (MI), and abundance (A) were calculated. The Shannon-Wiener diversity index ( $H'$ ), the evenness (E), the richness (R) and the mean species richness ( $R_{ms}$ ) were calculated for the three different parasite communities.

Overall, 23 parasite taxa were recorded, eighteen of which identified to the species level. Seventy-three off the seventy-five (total P% = 97.3) examined sea bream were infected by at least 1 to 7 parasite species (total  $R_{ms}$  = 3.16). Five parasite species were shared by the three sea bream populations: the gill diplectanid monogenean *Lamellodiscus echeensis* (syn. *Furnestinia echeensis*), which showed the highest total prevalence (58.7%); the adult intestinal digenean *Macvicaria maillardi* (Opecoelidae) (P% = 16.0); the bucephalid metacercariae of *Bucephalus labracis* (P% = 13.3) and *B. minimus* (P% = 22.7), found encysted in the musculature of the body and in fins tissues; the neascus stages of *Cardiocephalus longicollis* (Strigeidae), infecting the brain with prevalence of 48.0%.

Other two monogenean species, *Sparicotyle chrysophrii* and *Encotyllabe vallei*, were present in *S. aurata* populations of St. Gilla and St. Giovanni lagoons.

All the sea bream from St. Gilla proved negative to Nematoda infections, while *Contracaecum rudolphii* L3 were detected in Porto Pino and St. Giovanni samples with prevalence of 80.0% and 35.3%, respectively. Moreover, in St. Giovanni fish, adults of *Pseudocapillaria* sp. (P% = 11.8) and moulting L3-L4 larvae of *Hysterothylacium* sp. (P% = 5.9) were found.

The highest parasite species richness (14) was recorded in St. Gilla lagoon, followed by that observed in Porto Pino (R = 13) and St. Giovanni lagoon (R = 12); nevertheless, the lowest  $R_{ms}$  (2.0) was recorded in St. Gilla population, according with the low parasitological indices calculated. For example, in this sample the most prevalent species was *C. longicollis* (P% = 46.2), while in St. Giovanni and in Porto Pino the species *C. rudolphii* and *S. chrysophrii* reached P% = 80 and 82.4 respectively.

The evenness values show the medium-low uniformity of the distribution of parasite species in all the three localities, particularly in St. Giovanni (E = 0.28) as suggested also by the Shannon-Wiener diversity index ( $H'$  = 0.70). It's mainly due to the prevalence and abundance of the gill monogeneans *L. echeensis* (70.6%; 5.8) and *S. chrysophrii* (82.4%; 6.0), and of the intestinal digenean *Monorchis monorchis* (47.1%; 110.4), which are very high if compared to the values observed for other parasites found in the same sample, as *E. vallei* (17.6%; 0.9), *Proctoeces maculatus* (5.9%; 0.1), *Hysterothylacium* sp. (5.9%; 0.1).

Particular attention should be given to the occurrence of parasite species belonging to taxa of zoonotic interest, as the metacercariae of *Stictodora lari* (Heterophyidae) observed mainly in the head tissues of the sea bream from Porto Pino (P% = 50.0) and St. Gilla (P% = 11.5), with intensities ranging from 1 to 216. Among nematodes, Anisakidae of the genera *Contracaecum* and *Hysterothylacium* are considered potential agents of fish-borne zoonoses.

*Acknowledgements: study supported by MIUR-PRIN 2008 grant.*

## L'ALLEVAMENTO DEL RICCIO DI MARE (*PARACENTROTUS LIVIDUS*): DALLA RIPRODUZIONE CONTROLLATA ALLA PRODUZIONE COMMERCIALE

Ingle E.\* & Paoloni C.\*\*

\* Scuola di Dottorato in Scienze Biologiche e Mediche, Dipartimento di Biotecnologie e Scienze Molecolari (DBSM), Università dell'Insubria, Varese - ASL RM/F; \*\* CivitaIttica srl, Via Aurelia Nord, snc; Civitavecchia (RM).

Il riccio di mare può essere annoverato tra i cosiddetti “frutti di mare”, e rappresenta un prodotto di notevole interesse economico, con un mercato mondiale che solo in Giappone supera le 50.000 tonnellate.

Anche in Mediterraneo, dove la specie di riferimento è *Paracentrotus lividus*, l'interesse per i ricci è elevato, sebbene sia legato soprattutto a tradizioni locali.

Ad oggi l'approvvigionamento è garantito essenzialmente dalla pesca/raccolta in mare che, almeno nell'ambito CEE, dovrebbe essere consentita solo in aree classificate (Regolamento CE 854/2004).

Considerata la crescente domanda di mercato e la facilità di raccolta, il rischio di sovrasfruttamento della risorsa appare concreto, pertanto in tutta l'area mediterranea sono stati messi in atto provvedimenti quali la limitazione dei periodi di pesca, al fine di tutelare la sopravvivenza della specie. La taglia minima di cattura è di 50 mm esclusi gli aculei.

Con il presente lavoro si vogliono offrire supporti conoscitivi e operativi per il mantenimento e la gestione della risorsa, in un contesto generale di rischio di sovrasfruttamento delle popolazioni naturali; vengono considerate alcune ipotesi operative per ottenere una produzione commerciale sostenibile.

Le esperienze di riproduzione controllate sono state realizzate a partire da uova embrionate ottenute con tecniche di fecondazione artificiale: i gameti maschili e femminili vengono miscelati in un beaker contenente acqua di mare. L'allevamento larvale è avvenuto in vasche di vetroresina di diverso volume.

Dopo la schiusa, le larve sono state alimentate con phytoplankton (*Isocrysis galbana*, *Nannochloropsis salina*, *Chaetoceros calcitrans*). La sopravvivenza fino al raggiungimento dello stadio di larva competente (14-20gg) è risultata del 30%.

Le prove di allevamento in vasca, effettuate con ricci sub-adulti pescati in mare e alimentati con mangimi commerciali per uso zootecnico (principalmente a base di mais), non hanno evidenziato un significativo accrescimento, anche se la mortalità si è mantenuta a livelli molto bassi.

Vengono riportate alcune esperienze, sviluppate in Mediterraneo e non solo, mirate all'allevamento di *Paracentrotus lividus* come produzione integrativa dell'acquacoltura tradizionale: i reflui di allevamenti ittici possono sostenere produzioni di alghe che, a loro volta, potrebbero essere convenientemente utilizzate nell'alimentazione dei ricci.

Viene considerata l'ipotesi di gestione di aree marine costiere, ottenute in concessione esclusiva e classificate per la raccolta dei ricci; in tali aree si può procedere ad interventi di semina (ripopolamento attivo) con giovanili ottenuti da riproduzione controllata, e successivamente gestire la pesca degli individui di taglia commerciale che, per poter essere immessi sul mercato, dovranno transitare attraverso un “centro di spedizione” analogo a quelli (CSM) che operano per la commercializzazione dei molluschi pescati in aree classificate “A”.

Infine vengono considerati alcuni aspetti di carattere sanitario: sebbene siano scarse le informazioni su specifiche patologie dei ricci, è importante considerare il ruolo di questa specie come possibile indicatore ambientale; per esempio sono state riscontrate rilevanti mortalità di *Paracentrotus lividus* in presenza di fioriture algali di *Ostreopsis ovata* (i ricci si alimentano di macroalghe bentoniche sulle quali sono adese cellule di *Ostreopsis*).

La normativa comunitaria (pacchetto igiene) assimila gli echinodermi molluschi bivalvi: è necessario riportare alcune considerazioni sui controlli sanitari previsti, nelle aree marine classificate idonee per la raccolta e l'eventuale allevamento degli echinodermi e sul prodotto destinato al consumo.

**ABSTRACT**

**Poster**

**RED MARK SYNDROME NELLA TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) ALLEVATA NEL NORD ITALIA: DESCRIZIONE ANATOMOPATOLOGICA, ISTOLOGICA ED INDAGINE EZIOLOGICA**

Cervellione F.\*, Salogni C.\*\*\*, Mioso P.M.\*\*\*, Alborali G.L.\*\* & Gelmetti D.\*\*

\* *Skretting, Frazione San Zeno, Mozzecane (VR), Italy*; \*\* *Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna, Brescia*.

La *Strawberry disease* e la *Red Mark Syndrome* sono due patologie cutanee della trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) caratterizzate dalla comparsa di tumefazioni singole o multiple, talvolta ulcerate, di vario grado di estensione e gravità, localizzate sui fianchi dei soggetti colpiti, ad eziologia tutt'ora sconosciuta. Lo scopo di questo lavoro è stato di descrivere attraverso l'esame anatomopatologico ed istologico la patologia cutanea riscontrata in soggetti di trota iridea provenienti da allevamenti del Nord Italia dove si sono verificati episodi clinicamente ascrivibili alla Red Mark Syndrome e di poter definire un'ipotesi eziologica sulla base di approfondimenti diagnostici di laboratorio. Nel 2008 sono stati raccolti soggetti di trota iridea dai 300 ai 500 grammi da quattro allevamenti situati nel nord Italia e sottoposti ad indagini di laboratorio. La morbilità variava dal 5% al 10%, mentre la mortalità era nulla. Tutti gli allevamenti colpiti avevano una temperatura variabile da 10°C ai 12°C. Gli esami parassitologici, batteriologici, micologici e virologici hanno dato esito negativo in tutti i campioni esaminati. Le lesioni cutanee si presentavano singole o multiple, di aspetto ovoidale, solitamente sopraelevate, di colore rossastro con margini sfumati, delle dimensioni variabili sino a 5 cm di diametro, prevalentemente sul fianco e sul ventre dell'animale. Dal punto di vista istologico si osservava una dermatite cronica a carattere ulcerativo con edema a carico delle tasche delle squame e del derma, dilatazione dei capillari del derma, abbondante infiltrato rotondo-cellulare che si spingeva fino al sottocute e degenerazione delle miofibrille. L'esame istologico ha inoltre evidenziato un'enterite cronica, caratterizzata da un'infiltrazione rotondo-cellulare e ialinizzazione della lamina propria, associata in alcuni casi a desquamazione dei villi e degenerazione delle miofibrille della componente muscolare. Non è stato possibile riscontrare alcun agente eziologico e stabilire il grado di correlazione tra le lesioni cutanee e le lesioni intestinali e quanto questo abbia avuto importanza nella patogenesi della malattia. I dati clinici, epidemiologici, anatomopatologici ed istologici confrontati con quelli riportati in letteratura da numerosi autori permettono di inquadrare tali lesioni cutanee come *Red Mark Syndrome*.

## DESCRIZIONE DI UN EPISODIO DI RED MARK SYNDROME IN TROTA IRIDEA (*ONCORHYNCHUS MYKISS*) IN PIEMONTE

Righetti M.<sup>1</sup>, Pezzolato M.<sup>2</sup>, Giorgi I.<sup>1</sup>, Bozzetta E.<sup>2</sup>, Varello K.<sup>2</sup>, Pavoletti E.<sup>1</sup>, Arsieni P.<sup>1</sup> & Prearo M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratorio Specialistico Ittiopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Torino;* <sup>2</sup> *Laboratorio di Immunoistopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta - Torino.*

La Red Mark Syndrome (RMS) o Cold Water Strawberry Disease è una patologia cutanea ad eziologia incerta che colpisce la trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) d'allevamento. Descritta per la prima volta negli anni 2003-2004 in Scozia, si è successivamente diffusa in tutto il territorio inglese ed in seguito anche nel continente Europeo e negli Stati Uniti. E' una patologia che si presenta in Salmonidi allevati in acque fredde e si differenzia dalla Strawberry Disease o Warm Water Strawberry Disease tipica di acque più calde: entrambe le patologie presentano un quadro sintomatologico simile, ma sono ritenute da numerosi autori, due malattie distinte. È stato ipotizzato da più autori il coinvolgimento di un agente infettivo, in quanto la malattia sembra essere trasmissibile; inoltre, l'esperienza condotta su campo suggerisce che tale agente possa essere di natura batterica, in quanto risponde ai trattamenti antibiotici. Alcuni autori hanno isolato da soggetti colpiti da RMS, *Flavobacterium psychrophilum*, confermandone la presenza anche tramite metodiche di biologia molecolare su cute colpita. Tuttavia, allo stato attuale delle conoscenze, la RMS viene considerata una malattia multifattoriale. L'impatto che tale patologia riveste sull'acquacoltura britannica è molto significativo; la malattia si verifica quando la temperatura dell'acqua è inferiore ai 15°C e i pesci colpiti non sembrano manifestare sofferenza, in quanto si alimentano e crescono normalmente. La mortalità è generalmente molto bassa, anche se un gran numero di soggetti può essere colpito. Il problema principale di tale patologia è dato dal declassamento dello stock per la presenza delle lesioni cutanee, con conseguenti perdite economiche anche rilevanti. Negli ultimi due anni sono stati segnalati alcuni casi di RMS anche sul territorio nazionale, ma allo stato attuale delle conoscenze, non è possibile disegnare la sua esatta distribuzione nelle trote italiane e soprattutto quantificare le perdite economiche che causa. Nella tarda primavera 2010 sono giunti al laboratorio di Torino, 27 esemplari di trota iridea con evidenti arrossamenti cutanei, provenienti da una partita costituita da circa 800 soggetti immessa a scopo di pesca sportiva in una riserva privata dell'alto cuneese. Sono state condotte su tutti gli esemplari le indagini routinarie di laboratorio, per evidenziare la possibile causa di tale patologia; il quadro anatomopatologico era caratterizzato da ipermucosità branchiale, presenza di emorragie cutanee più o meno estese, localizzate soprattutto a livello di fianchi e in alcuni esemplari presenza di piccole lesioni ulcerative cutanee con interessamento parziale del tessuto muscolare. All'apertura della cavità addominale alcuni soggetti presentavano splenomegalia, emorragie epatiche, del grasso periviscerale e della vescica natatoria. L'esame colturale ha permesso di isolare solamente da tre soggetti *Aeromonas salmonicida*, mentre sui restanti 24 pesci l'esame colturale è risultato negativo. Alcuni giorni dopo, l'allevatore che aveva fornito la partita di trote analizzate, sollecitato dal cliente, si è messo in contatto con il laboratorio per verificare lo stato di salute dell'intera partita da cui provenivano le trote della fornitura. Nella partita colpita non si evidenziava alcuna mortalità e i pesci interessati dalla sintomatologia erano in numero ridotto e con lesioni poco evidenti; inoltre con l'anamnesi fornita dal proprietario, si è potuto stabilire che la temperatura dell'acqua in quel periodo era di circa 13,5°C. Sono state analizzate ulteriori 30 trote, tutte con risentimenti cutanei sopra descritti. Da tutti gli esemplari, l'esame colturale è risultato negativo. Il quadro istologico evidenziato nelle lesioni cutanee era caratterizzato da erosioni dell'epidermide, associate a imponente e grave infiltrazione di cellule mononucleate e fibrosi in estensione al derma e alle fibre muscolari sottostanti. Il reperto istopatologico era riferibile a grave e diffusa dermatite lichenoidale. Dai risultati istologici, le lesioni sono apparse compatibili con quelle descritte in letteratura della RMS; questo episodio rappresenta perciò la prima segnalazione di Red Mark Syndrome sul territorio piemontese.

## ISOLAMENTO DI SPECIE BATTERICHE DI NON COMUNE RISCONTRO IN CORSO DI EPISODI MORBOSI IN SPIGOLE E ORATE ALLEVATE IN ITALIA

Florio D.<sup>1</sup>, Gustinelli A.<sup>1</sup>, Quaglio F.<sup>2</sup>, Zanoni R.G.<sup>1</sup>, Caffara M.<sup>1</sup> & Fioravanti M.L.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Dip. di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna; <sup>2</sup>Dip. di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Università di Padova.

L'intensificazione delle attività di maricoltura, intese sia come produzioni d'avannotteria sia come produzioni d'ingrasso, comporta il frequente verificarsi di condizioni predisponenti l'emergenza di malattie diffuse, fra cui *in primis* quelle di natura batterica. Per tale motivo nelle specie ittiche allevate nel bacino del Mediterraneo, nonostante le patologie batteriche di maggior impatto economico vengano riferite ad un numero ristretto di agenti eziologici [es. *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, *Listonella (Vibrio) anguillarum* e *Tenacibaculum maritimum*], si sta registrando una crescente attenzione verso quegli agenti batterici patogeni opportunisti o non usuali che possono determinare malattia sotto la spinta di fattori ambientali e gestionali predisponenti.

A tale proposito si segnalano alcuni episodi di malattia osservati nel periodo 2009-2011 in spigole (*Dicentrarchus labrax*) ed orate (*Sparus aurata*) allevati in Italia, nel corso dei quali sono state isolate specie batteriche fino ad oggi ritenute di non comune riscontro nella maricoltura nazionale, quali in particolare *Vibrio splendidus*, *V. harveyi*, *V. mediterranei*, *Shewanella putrefaciens*, *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* e *A. sobria*. Vengono riportate le osservazioni cliniche e anatomopatologiche correlate agli episodi morbosi presi in considerazione.

*Vibrio splendidus* è stato isolato in una decina di casi in corso di episodi di mortalità larvale verificatisi in spigole ed orate in diverse avannotterie italiane e, sempre a livello sistemico, anche da spigole di taglia commerciale che mostravano mortalità a stillo in presenza di grave malattia branchiale, ascite, splenomegalia ed ectasia del tratto gastro-intestinale. Già segnalato quale agente causale di gravi episodi patologici in larve di merluzzo (*Gadus morhua*) e rombo (*Psetta maxima*) allevati rispettivamente in Norvegia ed in Spagna, *V. splendidus* potrebbe quindi avere un ruolo eziologico di rilievo nel determinismo di malattia anche in pesci marini mediterranei. L'isolamento di *Vibrio harveyi* è stato condotto a livello cutaneo e sistemico da due riproduttori di spigola che presentavano al decesso gravi lesioni cutanee quali ulcere profonde ed estese aree necrotiche, similmente a quanto già riportato in recenti segnalazioni condotte nel Mediterraneo su orate e spigole. *Shewanella putrefaciens* è stata isolata a livello sistemico in due casi, sia da avannotti che da soggetti adulti di spigola che presentavano concomitanti infezioni parassitarie (es. parassitosi branchiali da *Ichthyobodo* sp.) o batteriche. Sebbene descritto quale agente patogeno opportunisto soprattutto in pesci dulciacquicoli, questo microrganismo è stato segnalato recentemente quale agente di malattia anche in pesci marini d'allevamento. Di particolare interesse appare l'isolamento di *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* nel corso di un episodio morbo osservato in spigole adulte allevate a terra che presentavano lieve mortalità, splenomegalia e congestione cerebrale. Parallelamente, la stessa specie è stata isolata da giovanili di spigola allevati in gabbia in Croazia che presentavano splenomegalia associata a moderata mortalità. Ben descritto quale agente patogeno in salmonidi allevati sia in acqua dolce sia in mare e nel rombo allevato in areali atlantici, *A. salmonicida* subsp. *salmonicida* potrebbe rappresentare un futuro fattore di rischio sanitario per la maricoltura mediterranea. Sono poi da segnalare alcuni isolamenti di *A. sobria*, *A. veronii* biovar *veronii* e *V. mediterranei* condotti in corso di episodi morbosi registrati in situazioni di elevata densità di biomassa e/o di concomitanti fattori stressanti di natura ambientale che hanno rappresentato senz'altro importanti condizioni predisponenti l'insorgenza della malattia. Obiettivo comune dei laboratori diagnostici e di ricerca operanti nel campo dell'ittiopatologia in Italia dovrebbe essere quello di raccogliere e conservare gli isolati di questi "potenziali patogeni emergenti" al fine di condurre la caratterizzazione geno-fenotipica ai fini epidemiologici, studiarne i fattori di virulenza e patogenicità e monitorarne l'eventuale profilo di antibiotico resistenza.



## AEROMONADI MOBILI PRODUTTORI DI VEROCITOTOSSINE IN FOCOLAI DI MALATTIE ULCERATIVE E SISTEMICHE IN POECILIDI, IN PUGLIA

Greco G.\*, Greco M.F.\*, Donno F.\*\*\*, Moschidou P.\*, Centoducati G.\*, Tarsitano E.\*, Buonavoglia D.\* & Buonavoglia C.\*

\* *Dipartimento di Sanità Pubblica e Zootecnia (DiSPeZ), Facoltà di Medicina Veterinaria -Università degli Studi di Bari*; \*\* *C.d.L. Scienze della Maricoltura, Acquacoltura e Igiene dei prodotti ittici – Sede di Taranto*.

L'allevamento di pesci ornamentali è un'importante branca dell'acquacoltura. Quasi 600 varietà tra specie di acque marine, salmastre o dolci, raggruppate in più di 60 famiglie sono allevate in acquari di appassionati italiani. Tra queste particolarmente apprezzata, sia da allevatori esperti sia da principianti per la sua prolificità e per la semplicità di allevamento, è la famiglia *Poeciliidae*. A fronte della prolificità e della grande popolarità, negli acquari si assiste a gravi perdite per malattie ad elevata morbilità e mortalità, caratterizzate da letargia, anoressia, cachessia, nuoto dondolante, pinne raccolte, coda a spillo, abbondante muco sulla cute, ventre scavato, colonna inarcata, aree cutanee dicromiche ed erosione delle pinne. Il controllo della malattia risulta difficile a causa della difficoltà di mettere in atto misure correttive tempestive ed efficaci. Infatti molteplici sono le possibili cause batteriche e parassitarie alla base di tali patologie e le informazioni epidemiologiche locali sono scarse e frammentarie. Pertanto, nell'ottica di definire i determinanti delle malattie ulcerative e sistemiche dei poecilidi allevati in Puglia è stata intrapresa un'indagine epidemiologica. Nel periodo compreso tra aprile e settembre 2009 sono stati oggetto di studio 9 impianti amatoriali e/o di libero commercio di pesci ornamentali d'acqua dolce, appartenenti alle specie *Xiphophorus variatus*, *Poecilia reticulata* e *Paracheirodon innesi*, colpiti da malattia ad elevata mortalità. Da ciascun impianto per ciascuna vasca o lotto (complessivamente 12), sono stati prelevati pesci vivi con o senza sintomi clinici in numero compreso tra 3 e 5 (complessivamente 43) e un campione d'acqua. Ciascun pesce è stato sottoposto ad esame clinico-anatomopatologico, ad esami parassitologici a fresco della cute e delle branchie. Tamponi cutanei ed omogenati di tessuti sono stati sottoposti ad esami colturali per la ricerca di batteri appartenenti ai generi *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Plesiomonas* e *Flavobacterium* (ex-*Flexibacter columnaris*) potenzialmente responsabili di patologie erosive cutanee e patologie setticemiche dei pesci d'acqua calda. Tutti i ceppi batterici isolati sono stati saggiati per la determinazione della sensibilità agli antibiotici in accordo con le linee guida del *NCCLS*. Per tutti i ceppi di *Aeromonas* isolati è stata valutata l'attitudine a produrre VERO-citotossine sia a 23°C sia a 37°C. Nove ceppi di *A. sobria*, 4 di *A. hydrophila* ed 1 di *Aeromonas* spp. sono stati isolati dalle acque, dai tamponi cutanei e dai tessuti di pesci ammalati supportando l'associazione tra gli episodi di malattia e la presenza di *Aeromonas* in vasca e rivelando un ruolo importante di questi microrganismi nel determinismo delle malattie erosivo-ulcerative e sistemiche dei poecilidi in impianti della Puglia. Il monitoraggio della sensibilità agli antibiotici ha evidenziato, nei ceppi di *Aeromonas*, fenomeni di resistenza verso 13 antimicrobici sui 17 saggiati. In particolare, è stata confermata la nota resistenza del genere *Aeromonas* verso ampicillina, amoxicillina, amoxicillina + ac. clavulanico, carbenicillina e cefalosporine di prima generazione. Purtroppo, però, è stata anche documentata antibiotico-resistenza anche nei confronti delle poche molecole autorizzate quali tetracicline, eritromicina, aminoglicosidici e sulfamidici. In conclusione, i presenti dati sottolineano come per la scelta della terapia più appropriata è fondamentale il ricorso alla valutazione della sensibilità *in vitro*. L'analisi dei fattori di virulenza ha rivelato che 7 dei 9 ceppi di *A. sobria* e 3 dei 4 ceppi di *A. hydrophila* isolati sono risultati produttori di VERO-citotossine sia a 23 che a 37°C. Poiché la virulenza degli stipti di *Aeromonas* nei confronti degli animali e anche dell'uomo è correlata alle tossine prodotte, il dato che ceppi di *Aeromonas* isolati da pesci ornamentali producono citotossine anche alla temperatura fisiologica umana di 37°C pone problemi anche di sanità pubblica.

**IDENTIFICAZIONE DI *VIBRIO FLUVIALIS* IN IPPOCAMPO (*HIPPOCAMPUS* SP.)**

Cocchi M., Di Giusto T., Sello M., Genero N., Clapiz L., Di Sopra G., Passera A., Bregoli M. & Deotto S.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, sezione di Udine.*

Al genere *Vibrio* appartengono batteri Gram negativi, con morfologia bastoncellare, diffusi in ambienti acquatici. Le diverse specie possono causare patologia sia negli organismi acquatici (es. *Listonella (Vibrio) anguillarum*) sia nell'uomo. In quest'ultimo caso, *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* e *V. vulnificus* sono considerati fra i più importanti agenti di tossinfezione alimentare. Per quanto riguarda il cavalluccio marino, *V. harveij* è stato segnalato in un episodio di mortalità improvvisa, mentre *V. hippocampi* è stato recentemente isolato da feci di soggetti senza sintomatologia. Gli ippocampi appartengono alla famiglia dei Syngnathidae; dal 2002 questi animali sono stati inseriti nell'allegato II della *Convention on International Trade in Endangered* (CITES) che regola la pesca e vendita di tali specie. Essi hanno un areale di distribuzione molto ampio, anche se la maggior parte delle specie si rinviene in acque temperate calde e tropicali. Nel presente lavoro viene riportato l'isolamento di *V. fluvialis* in un episodio di mortalità in un cavalluccio marino (*Hippocampus* sp.), proveniente da un acquario pubblico. Il ceppo identificato è stato sottoposto a test di sensibilità e resistenza a diverse molecole antibiotiche. Il soggetto apparteneva ad un gruppo di cinque cavallucci marini, ricoverati nel medesimo acquario, morti improvvisamente nell'arco di pochi giorni. Al fine di comprendere l'eziologia della sindrome uno dei soggetti è stato sottoposto ad esame autoptico, batteriologico e parassitologico. L'autopsia ha evidenziato inscurimento cutaneo e la presenza di piccole emorragie cutanee diffuse, mentre l'esame parassitologico condotto da raschiato cutaneo, dalle branchie e da preparati degli organi interni ha dato esito negativo. L'esame batteriologico è stato condotto inoculando rene, cervello e fegato su Agar Sangue e TCBS, fornite dal Centro Servizi alla Produzione dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie. Le piastre sono state incubate a temperatura di  $22 \pm 1^\circ\text{C}$  per 24-48 ore. Dopo 24 ore di incubazione su agar sangue le colonie apparivano debolmente emolitiche di circa 3 mm di diametro leggermente convesse a margini regolari, mentre su TCBS le colonie apparivano gialle, circolari di circa 2-3 mm di diametro. Esse sono state sottoposte ad identificazione secondo la chiave dicotomica proposta da Noguerola *et al.* (2008) e a test di sensibilità e resistenza a diverse molecole antibiotiche mediante la tecnica della diffusione in agar (Kirby-Bauer) eseguito secondo quanto riportato dal *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Il risultato delle prove biochimiche allestite ha evidenziato la presenza di *V. fluvialis* in tutti gli organi sottoposti ad esame. Nell'analisi del profilo di antibiotico-resistenza il ceppo batterico risultava sensibile ad enrofloxacin, florfenicolo, ossitetraciclina, sulfamidico potenziato, tetraciclina, flumequina e cefoperazone, intermedio ad eritromicina, cefalexina e streptomina. *V. fluvialis* è un batterio Gram negativo, alofilo, ossidasi positivo, non sporulato, normalmente isolato dall'acqua, dalle feci animali ed umane. Esso è stato descritto in episodi di gastroenterite emorragica (cholerae-like) e come causa di infezioni cutanee (fascite necrotizzante), soprattutto in individui immunocompromessi e in ambienti caratterizzati da cattive condizioni igienico sanitarie. Esso presenta diversi fattori di virulenza fra i quali proteasi, endotossine ed una emolisina, che causa la formazione di pori nella membrana eritrocitaria provocandone lisi osmotica. In letteratura, inoltre, i ceppi di *V. fluvialis* mostrano resistenza a cloramfenicolo, streptomina, sulfamidico potenziato, ampicillina e furazolidone. Secondo gli autori questa è la prima segnalazione di *V. fluvialis* in *Hippocampus* sp. Considerando la diffusione ubiquitaria del microrganismo nell'ambiente acquatico e la descrizione in episodi di tossinfezione alimentare, ulteriori studi sono necessari al fine di comprendere l'esatto ruolo e il meccanismo patogenetico dell'infezione sostenuta da questo vibrione.

Noguerola I. & Blanch A.R. (2008). Identification of *Vibrio* spp. with a set of dichotomous keys. *J. Appl. Microbiol.*, 105: 175-185.

## ISOLAMENTO DI MICOBATTERI ATIPICI IN ITTIOFAUNA SELVATICA

Giorgi I.<sup>1</sup>, Righetti M.<sup>1</sup>, Pavoletti E.<sup>1</sup>, Arsieni P.<sup>1</sup>, Deregibus S.<sup>1,2</sup>, Forneris G.<sup>2</sup> & Prearo M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratorio Specialistico di Ittiopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta – Torino;* <sup>2</sup> *Facoltà di Medicina Veterinaria – Grugliasco (TO).*

Le Micobatteriosi atipiche sono malattie sistemiche, ad andamento cronico e diffusione cosmopolita che possono colpire sia specie ittiche dulciacquicole che marine. I casi, sempre più numerosi, riguardano soprattutto specie ornamentali o da reddito in cui le condizioni ambientali favoriscono l'insorgenza di queste patologie. Per quanto riguarda invece la fauna ittica selvatica, le segnalazioni sul territorio italiano sono scarse e frammentarie, soprattutto per mancanza di dati statisticamente significativi. Infatti è estremamente difficile poter analizzare quantitativi sufficienti di pesci provenienti da un medesimo ecosistema; inoltre, visto il carattere cronico della malattia, che spesso porta ad una sintomatologia evidente e alla comparsa di segni clinici conclamati solo verso l'exitus dell'episodio, e la sporadicità con cui si possono manifestare queste patologie in un ambiente non circoscritto come quello lacustre, fluviale o marino, appare quanto mai difficoltoso intraprendere uno studio di questo tipo. Pertanto il più delle volte si è costretti a segnalare positività non correlate a manifestazioni cliniche, senza poter stabilire con esattezza la genesi e soprattutto l'evoluzione dell'episodio. Scopo del presente lavoro è quello di dare un contributo, grazie all'attivazione di piani di monitoraggio per altre patologie, alla conoscenza sulla diffusione delle micobatteriosi ittiche in ambiente selvatico di alcuni biotopi acquatici del territorio italiano. Nel periodo compreso tra il 2008 e il 2010 sono stati controllati 4 biotopi diversi, tre dulciacquicoli (basso bacino idrografico del Po piemontese, Lago Maggiore, Lago di Como) ed uno salmastro (Bocche di Magra, Mar Ligure orientale). Da tutti i campioni giunti in laboratorio sono stati prelevati porzioni di organi da sottoporre, previa decontaminazione, all'analisi specifica per la ricerca di micobatteri. Analizzando i diversi siti di campionamento, nel basso bacino piemontese del fiume Po, sono stati prelevati 130 soggetti appartenenti a 7 diverse specie ittiche, nei quali sono stati isolati due *Mycobacterium gordonae* in siluri (*Silurus glanis*); la percentuale di positività sul totale dei campioni prelevati è dell'1,5%; rapportando la percentuale al numero dei siluri analizzati (46), tale valore è del 4,3%.

Per il lago Maggiore, sono stati esaminati 87 esemplari di fauna ittica, con un riscontro di tre positivi, di cui due *M. chelonae* in coregone (*Coregonus lavaretus*) e rutilo (*Rutilus rutilus*) e un *M. gordonae* in bottatrice (*Lota lota*). In questo caso la percentuale di positività sul totale dei campioni giunti al laboratorio è pari a 3,4%. Nel lago di Como, invece, sono stati prelevati 127 pesci appartenenti a 9 specie diverse, in cui sono stati isolati quattro positivi, di cui due *M. chelonae* in pesce persico (*Perca fluviatilis*) e in persico sole (*Lepomis gibbosus*), un *M. fortuitum* e un *M. marinum* in due esemplari di bottatrice. La percentuale di positività in questo biotopo è di 3,1%. Infine, alle Bocche di Magra (SP) nel triennio considerato sono stati analizzati 241 cefali (*Mugil cephalus* e *Liza* spp.) con 38 positività così distribuite: 12 *M. fortuitum*, 11 *M. chelonae*, 5 *M. flavescens*, 3 *M. nonchromogenicum*, 1 *M. abscessus* e 6 *Mycobacterium* spp. Rapportando il numero degli isolati al totale dei soggetti esaminati, la percentuale risulta più elevata, pari al 15,8%. Un solo esemplare presentava lesioni macroscopiche riferibili a micobatteriosi a livello di milza e fegato, in cui l'esame colturale ha isolato *M. chelonae*. Questo primo studio permette di inquadrare i quattro habitat nella possibile diffusione delle micobatteriosi ittiche, seppure superficialmente ed in modo ancora insufficiente. Si può osservare come i due biotopi lacustri considerati abbiano una percentuale di positività abbastanza simile, anche se il numero dei pesci esaminati è diverso. L'habitat fluviale, proprio per le caratteristiche intrinseche dell'ambiente, presenta una positività inferiore. Infine, l'ambiente salmastro considerato, essendo maggiormente indagato e presentando caratteristiche ambientali particolari, presenta una positività molto elevata, in cui si è potuto riscontrare anche un soggetto con lesioni macroscopicamente evidenti, riferibili a micobatteriosi. Ulteriori studi permetteranno di avvalorare le percentuali ritrovate o eventualmente di quantificarle meglio.

*Ricerca finanziata dal Ministero della Salute, Ricerca Corrente 2004 e 2008.*

## PROVE DI TRATTAMENTO ORALE IN CARIBE PIRANHA (*PYGOCENTRUS CARIBA* HUMBOLDT, 1821) AFFETTO DA FORUNCOLOSI

Prearo M.<sup>1</sup>, Viola E.<sup>2</sup>, Arsieni P.<sup>1</sup>, Rosso A.<sup>2</sup>, De Vita V.<sup>3</sup>, Mogliotti P.<sup>2</sup> & Pavoletti E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Laboratorio Specialistico di Ittiopatologia, IZSPLVA – Torino;* <sup>2</sup> *Sezione Territoriale di Asti, IZSPLVA – Asti;* <sup>3</sup> *La Casetta in Canada – Settimo Torinese (TO).*

I piranha sono un gruppo di pesci, riuniti in 12 generi diversi, appartenenti alla famiglia Characidae, sottofamiglia Serrasalminae. I piranha sono dei pesci gregari che vivono generalmente in grossi branchi: le abitudini predatorie, spesso descritte dall'immaginario collettivo in modo esagerato, sono rivolte generalmente ad altri pesci o a piccoli animali acquatici, anche se occasionalmente è possibile osservare aggressioni a grossi animali con risultati devastanti; infatti, la pericolosità di questi pesci sta nel loro numero all'interno del branco. Nell'habitat naturale i piranha svolgono l'importante funzione di eliminare le carcasse degli animali morti, evitandone la putrefazione e mantenendo le acque pulite. Vivono in Sudamerica, prevalentemente nelle acque torbide del grande bacino amazzonico e dell'Orinoco. Morfologicamente, la caratteristica più distintiva della specie è senza dubbio la bocca, con mandibola molto pronunciata ed armata da una fila di grandi denti triangolari, i cui margini coincidono con quelli posti sulla mascella, più piccoli; tale struttura, insieme ad una potente muscolatura mascellare rende la bocca dei piranha uno strumento efficace nel tranciare di netto la carne dalla preda. Nonostante la loro potenziale pericolosità, numerose specie sono considerate ospiti ricercati per l'acquariofilia. Il caribe piranha o black spot piranha (*Pygocentrus cariba*) è tra le specie più ricercate anche nel nostro paese, dove generalmente vengono mantenuti in ampi acquari singolarmente o in coppia, data la loro aggressività e le dimensioni notevoli che possono raggiungere. E' originario della porzione venezuelana del bacino dell'Orinoco ed in cattività può vivere anche oltre i 15 anni. Nonostante questa relativa diffusione, le segnalazioni di patologie in questa specie sono scarse. Scopo del presente lavoro è quello di contribuire alle conoscenze sulle possibili malattie che possono colpire questa specie e di evidenziare l'efficacia della terapia intrapresa. Il caribe piranha oggetto di questo studio è un soggetto di 5 anni di età, di circa 1.500 grammi di peso, mantenuto in una vasca di 300 litri, con filtro biologico esterno e in condizioni controllate; da sempre l'alimentazione è costituita esclusivamente da pezzi di filetti freschi di salmone o trota iridea d'allevamento, somministrati in vasca ogni giorno. Nel mese di febbraio 2001, il soggetto ha iniziato ad avere un comportamento stranamente irrequieto con scatti improvvisi e sfregamenti energici contro gli arredi, seguiti successivamente da violenti impatti contro il vetro dell'acquario. Alcuni giorni dopo l'insorgere di questi comportamenti anomali, il proprietario ha notato la comparsa di piccole aree rossastre sul fianco e sul dorso, che nel corso dei giorni successivi sono andate aumentando di dimensione. Contattato il laboratorio ed inviata una documentazione fotografica esauriente, si è deciso di osservare l'andamento del caso, in quanto vista l'anamnesi, non si ravvisavano segni particolari da poter definire una causa precisa per tale comportamento. Nei giorni seguenti, in corrispondenza delle aree rossastre sono comparse delle vere e proprie tumefazioni color rosso mattone, rilevate, del tutto simili a quelle che si riscontrano in casi sub-cronici di foruncolosi dei Salmonidi. Vista l'evoluzione delle lesioni e l'andamento della patologia, viste le abitudini alimentari e le condizioni di isolamento del soggetto, viste le difficoltà oggettive di procedere con un isolamento batterico, si è effettuata una diagnosi presuntiva di foruncolosi, sicuramente dovuta ad alimento contaminato. Si è pertanto optato per una terapia d'urgenza per via orale, utilizzando come antibiotico l'ossitetraciclina (75 mg/kg p.v.), inserito all'interno della carne di pesce utilizzata come alimento: la scelta di tale terapia è stata effettuata verificando gli antibiogrammi ottenuti dagli isolamenti di foruncolosi degli ultimi anni in trote d'allevamento. La terapia si è protratta per 7 giorni con totale regressione dei sintomi e delle lesioni. Non potendo parlare di segnalazione vera e propria di una patologia in questa specie, la descrizione di questo caso è importante in quanto mette in risalto l'importanza della tempestività diagnostica e della scelta di alimenti controllati per evitare possibili introduzioni di patogeni anche per via alimentare.

## SVILUPPO E PRIMA VALIDAZIONE DI SISTEMI VACCINALI ORALI HI-TECH CONTRO *LACTOCOCCUS GARVIEAE* IN *ONCORHYNCHUS MYKISS*

Volpatti D.<sup>1</sup>, Cocchietto M.<sup>2</sup>, Galeotti M.<sup>1</sup>, Bulfon C.<sup>1</sup>, Zorzin L.<sup>2</sup>, Ballestrazzi R.<sup>1</sup>, Bassignana D.<sup>1</sup>, Voinovich D.<sup>3</sup>, Gallo D.<sup>2</sup>, Prearo M.<sup>4</sup>, Tesei E.<sup>1</sup> & Sava G.<sup>2,5</sup>

<sup>1</sup> Sezione di Patologia Veterinaria, Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Facoltà di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Udine; <sup>2</sup> Fondazione Callerio Onlus, Istituti di Ricerche Biologiche, Trieste; <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Università degli Studi di Trieste; <sup>4</sup> Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta; <sup>5</sup> Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Trieste.

La somministrazione orale è il sistema più interessante per somministrare su larga scala, senza stress e a costi contenuti, i vaccini alle specie ittiche d'allevamento. I moderni sistemi orali su micro- e nano-scala offrono prospettive concrete per lo sviluppo di sistemi vaccinali destinati ai pesci, capaci di veicolare, proteggere, rilasciare in modo controllato e nella sede opportuna l'antigene.

In questo progetto sono stati ingegnerizzati due Sistemi Vaccinali Orali (SVO-1 e SVO-2) contenenti cellule inattivate di *Lactococcus garvieae* (bacterin, IZS). SVO-1 è un micro-sistema prodotto mediante tecnologia *airless spray-gun*, partendo dai polimeri naturali alginato, chitosano, dall'enzima lisozima (LZ) e da cellule di *Lactococcus garvieae* separate mediante sonicazione. SVO-2 è una microemulsione doppia del tipo olio/acqua/olio, (olio:miscela di mono-di-trigliceridi e mono-diesteri del PEG 400 con acidi C8 e C10) prodotta con l'ausilio di tensioattivi naturali derivati dall'olio di oliva e con LZ addizionato. La microemulsione (200 nm di diametro) è stata mescolata con *Lactococcus garvieae* e caricata in rapporto 1:1 (p/p) su polvere di polivinilpirrolidone (PVP) reticolato. Le caratteristiche degli SVO sono state adattate alla fisiologia digestiva della trota iridea (*Oncorhynchus mykiss*) mediante tecnologia di Optical Imaging. Gli SVO risultanti si presentano come polvere incolore, inodore, scorrevole, facilmente pellettabile e idonea alla preparazione di mangimi medicati conservabili per mesi. Le tecniche di produzione sviluppate sono adatte al trasferimento tecnologico a livello preindustriale. I mangimi medicati sono risultati altamente appetibili per la trota iridea e sono stati, quindi, utilizzati nell'ambito di una prova sperimentale di vaccinazione su soggetti adulti. Il protocollo vaccinale ha previsto un "priming" con bacterin intraperitoneale (IP) ( $3 \times 10^9$  cellule/sogg.) o orale ( $1 \times 10^9$  cellule/sogg. in 10 giorni) e richiamo orale ( $1 \times 10^9$  cellule/sogg. in 10 giorni). Nel corso della prova sono stati effettuati prelievi di siero da tutti i gruppi sperimentali dopo ciascun trattamento, per determinare il titolo anticorpale specifico mediante E.L.I.S.A. indiretto. Le migliori risposte anticorpali sono state rilevate combinando la vaccinazione IP (*priming*) con il richiamo orale (*booster*) con SVO-1. Tali risposte sono risultate significativamente superiori ( $P < 0,01$ ) rispetto a quelle ottenute con la sola vaccinazione IP. Il lisozima sembra svolgere un ruolo determinante. L'azione potenziante conferita dal richiamo è presente, ma non in maniera significativa, anche utilizzando SVO-2.

Progetto finanziato da: Regione Friuli Venezia Giulia LR 26/2005, Art. 23 – DPREg. 4 maggio 2007. Titolo del Progetto: "Vettori orali di vaccini per la piscicoltura del Friuli Venezia Giulia".

**DIFFUSIONE DEL PARASSITA MARTEILIA SP. NEGLI ALLEVAMENTI DI MYTILUS GALLOPROVINCIALIS SITI NEL GOLFO DI LA SPEZIA**

Serracca L., Prearo M.\*, Rossini I., Battistini R., Cencetti E., Corsi M., Fabiani B. & Ercolini C.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Laboratorio di Microbiologia Marina sezione di La Spezia, Via degli Stagnoni, 96-19136 La Spezia; \* Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta, Laboratorio Specialistico Ittiopatologia, Via Bologna, 148 – 10154 Torino.*

Il genere *Marteilia*, phylum Paramyxia, raggruppa protisti parassiti che colpiscono diverse specie di bivalvi di interesse economico come *Ostrea edulis* e *Mytilus galloprovincialis*. La malattia causata da *Marteilia refringens* è inclusa nella lista dell'OIE (Office International des Epizooties, 2011) e nella normativa dell'Unione Europea (Direttiva 2006/88/EC) recepita in Italia dal D. Lgs 148/2008. Tale decreto prevede un programma di sorveglianza sanitaria di questo patogeno in tutte le zone dove si effettua la molluschicoltura allo scopo di rilevarne la presenza e di limitarne il più possibile la diffusione.

Nell'ambito del piano di monitoraggio 2010 atto a valutare lo stato di salute della specie *Mytilus galloprovincialis* proveniente dalle mitilocolture spezzine quindi è stata condotta la ricerca di *Marteilia* spp. con metodo citologico secondo quanto riportato nel Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals, per la diagnosi di Marteliosi nei molluschi (O.I.E., 2009) su 860 mitili (*Mytilus galloprovincialis*) provenienti dalle zone di Portovenere, Diga levante interno, Diga centro interno, Diga esterna e Diga ponente interno. L'osservazione al microscopio ottico dei preparati ha permesso di osservare la presenza di cellule protozoarie riferibili a *Marteilia* sp. a diverso stato di maturazione in 78 tra i 860 mitili analizzati con una percentuale complessiva del 9%. Tutte le aree di allevamento indagate sono risultate positive per la presenza del parassita facendo registrare le seguenti percentuali: 4% nella zona di Portovenere, 17,3% nella Diga levante interno, 8,7% nella Diga centro interno, 12,3% nella Diga esterna e 8,5% nella Diga ponente interno.

I valori riscontrati in questi allevamenti risultano essere superiori rispetto a quelli degli allevamenti dell'alto Adriatico e del Lazio dove nel 2009 sono state stimate percentuali d'infestazione minori all'1% e sono invece più simili a quelle riscontrate in Campania e in generale nel Sud Italia (10-20%). Nonostante la presenza di *Marteilia* negli allevamenti spezzini risulti relativamente alta, nel corso del 2010 non si sono verificati casi di mortalità anomala riconducibili a questo parassita, quindi attualmente non si ritiene che *Marteilia* sia una causa limitante l'attività della mitilicoltura locale.

## MICROSPORIDIOSI BRANCHIALE IN *MICROMESISTIUS POUTASSOU* DEL TIRRENO MERIDIONALE

Bonfiglio R.<sup>1</sup>, Gaglio G.<sup>2</sup>, Lanteri G.<sup>2</sup>, De Stefano C.<sup>2</sup>, Marino F.<sup>2</sup> & Macrì B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Biologia ed Ecologia Marina, Facoltà di Scienze M.M., F.F., N.N. - Università degli Studi di Messina; <sup>2</sup> Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria - Università degli Studi di Messina.

I microsporidi sono protozoi endocellulari appartenenti al phylum Microspora. Gli ospiti sono innumerevoli dagli invertebrati ai vertebrati (uomo compreso). In ambiente acquatico, possono infettare sia organismi selvatici che d'allevamento, d'acqua dolce e salata. Le dimensioni ridotte di questi parassiti e l'assenza di caratteri utili per una diagnosi differenziale su base morfologica creano notevoli difficoltà tassonomiche, per cui l'identificazione di specie si basa molto sulla sede bersaglio poiché tali protozoi sono tessuto/organo specifici. In alcuni generi di microsporidi la cellula parassitata diviene ipertrofica con il citoplasma repleto di protozoi (spore mature al centro ed elementi immaturi in periferia) e con la membrana citoplasmatica maggiormente impermeabile. Tale cellula viene definita "xenoma". Lo xenoma può raggiungere dimensioni superiori ai 500 µm, macroscopicamente evidente sottoforma di noduli biancastri e con una struttura che differisce nei vari generi parassitari. Alcuni generi (*Pleistophora*, *Heterosporis*, *Nucleospora* e *Thelohania*) non portano alla formazione di xenomi. Tra i microsporidi che parassitano le branchie ricordiamo il genere *Loma* caratterizzato dalla presenza di una spessa parete dello xenoma. Scopo del presente lavoro è quello di segnalare la presenza e il danno di microsporidi branchiali in esemplari di potassolo (*Micromesistius poutassou*) catturati nel Tirreno meridionale.

Nel corso di campagne di pesca (ottobre e dicembre 2008, giugno e dicembre 2009) sono stati prelevati 58 esemplari (32 maschi, 26 femmine) di potassolo. *M. poutassou* appartiene alla famiglia dei Gadidi ed è un teleosteo pelagico che vive tra i 100 e i 900 metri di profondità. Le carni sono simili a quelle del nasello, ma meno consistenti e saporite. La sua importanza commerciale varia a seconda delle regioni. Su tutti i campioni, è stata effettuato un esame parassitologico macro e microscopico delle branchie. Gli archi branchiali sono stati estratti, fissati in formalina al 10% e processati con le usuali tecniche istologiche per la valutazione del danno eventualmente indotto dai parassiti; oltre alla colorazione di routine con ematossilina-eosina, sono state utilizzate colorazioni basofile (Diff-quick). In 14/58 (24%) dei soggetti è stata rilevata la presenza di noduli biancastri sulle lamelle branchiali primarie. In ogni pesce positivo sono state trovate da 1 a 12 formazioni cistiche su filamenti e lamelle branchiali. L'esame microscopico a fresco metteva in evidenza la presenza di protozoi microsporidi. All'esame istologico gli xenomi apparivano come grosse cellule, di circa 1 mm, con una spessa parete attorno; le lamelle secondarie erano fuse tra loro e si notava una marcata iperplasia dell'epitelio branchiale.

Sulla base delle caratteristiche morfologiche dello xenoma e sulla sede delle lesioni, i microsporidi isolati sono risultati ascrivibili al genere *Loma*. Microsporidi appartenenti a questo genere sono stati segnalati in 7 specie di Gadidi nel Mar del Nord e nel Nord Atlantico con lesioni sovrapponibili a quelle da noi riportate. Va comunque sottolineato che la conferma dell'identificazione di genere e specie potrà avvenire solo mediante studi di microscopia elettronica e/o indagini biomolecolari.

## INDAGINE SUGLI ECTOPARASSITI DI MAGGIOR RILIEVO SANITARIO IN PESCI MARINI ALLEVATI IN GRECIA ED IN ITALIA

Kapota A.<sup>1,2</sup>, Gustinelli A.<sup>2</sup>, Rigos G.<sup>1</sup>, Caffara M.<sup>2</sup>, Quaglio F.<sup>3</sup> & Fioravanti M.L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hellenic Centre for Marine Research, Atene, Grecia; <sup>2</sup>Dip. Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Italia; <sup>3</sup>Dip. di Sanità Pubblica, Patologia Comparata ed Igiene Veterinaria, Università di Padova, Italia.

La maricoltura mediterranea da tempo mostra segni di una difficoltà sempre crescente dovuta ad una concomitanza di fattori sfavorevoli quali il difficile momento di crisi economica globale, la scarsa diversificazione produttiva che vede la spigola (*Dicentrarchus labrax*) e l'orata (*Sparus aurata*) come uniche specie ittiche allevate in quantità elevate e non ultimo l'aspetto sanitario che si è dimostrato in questi ultimi anni uno dei principali fattori limitanti la produzione ittica in ambiente marino. In questo ambito le infestazioni da ectoparassiti possono essere causa di perdite produttive e di episodi di mortalità a volte anche di estrema gravità per la difficile applicazione di misure preventive e per la mancanza di presidi terapeutici efficaci autorizzati. Nell'area mediterranea, Italia e Grecia rappresentano due dei maggiori paesi produttori di spigola ed orata con allevamenti estremamente diversificati nel caso dell'Italia (sistemi estensivi, semi-intensivi o intensivi a terra, gabbie galleggianti e gabbie sommergibili) e riconducibili essenzialmente ai sistemi in gabbia nel caso della Grecia. Nel periodo 2008-2010 l'Università di Bologna, in collaborazione con l'Hellenic Centre for Marine Research di Atene, ha condotto un'indagine parassitologica su spigole e orate d'allevamento allo scopo di confrontare i dati quantitativi e qualitativi relativi alle ectoparassitosi registrate in maricoltura nei rispettivi paesi. Sono stati sottoposti ad esame parassitologico di cute e branchie un totale di 1378 pesci prelevati da settori di pre-ingrasso ed ingrasso (sono state escluse le fasi larvali e post-larvali in avannotteria), di cui 810 spigole e 318 orate in Italia (I) e 106 spigole e 144 orate in Grecia (G). Prendendo in considerazione il sistema d'allevamento, sono state esaminate 444 spigole (I: 364 - G: 80) e 187 orate (I: 91 - G: 96) allevate in gabbie galleggianti, mentre da impianti a terra sono state esaminate 472 spigole (I: 446 - G: 26 provenienti da un impianto sperimentale a ricircolo) e 275 orate (I: 227 - G: 48, di cui 38 provenienti dallo stesso impianto sperimentale). Porzioni di organi parassitati sono state fissate in formalina tamponata al 10% per l'esame istologico. Sono risultati positivi per almeno una specie di ectoparassiti 734 soggetti (53,3%), di cui 523 (57,1%) spigole e 211 (45,7%) orate. Prendendo in considerazione il sistema d'allevamento a terra sono risultate positive 203 (43%) spigole e 70 (25,5%) orate, mentre per quanto riguarda l'allevamento in gabbia 320 (72,1%) spigole e 128 (68,4%) orate sono risultate infestate da ectoparassiti. In *D. labrax* i reperti più frequenti sono stati il monogeneo *Diplectanum aequans* (54,3%) ritrovato sia in Grecia in vasche a terra (46,2%) che in Italia in sistemi in gabbia (84,9%) ed in vasca (39,5%) ed il ciliato *Trichodina* sp./*Trichodinella* sp. (12,6%), che in Italia è stata rinvenuta quasi esclusivamente in spigole allevate a terra (91,6% dei positivi) ed in Grecia in entrambi i sistemi di allevamento (47,4% in gabbia galleggiante e 52,6% in vasche a terra). In *S. aurata*, oltre al rinvenimento di *Trichodina* sp. nei sistemi in gabbia (38,6% in Grecia e 1,1% in Italia), va evidenziato l'isolamento del monogeneo polioipocotileo *Sparicotyle chrysophrii* solo in pesci allevati in gabbia provenienti da entrambi i paesi (8,8% in Italia e 15,6% in Grecia) a volte in coinfezione con *Furnestinia echeneis* e comunque sempre in concomitanza ad episodi di mortalità anche quando presente a basse intensità d'infestazione. In Grecia, a differenza dei pesci esaminati in Italia, si è inoltre evidenziata la presenza di *Cryptocaryon irritans* nelle orate sia in sistemi a terra (70,8%) che in gabbia (70,8%), spesso in associazione ad importanti episodi di mortalità. Il dinoflagellato *Amyloodinium ocellatum* è stato reperito invece solo in Italia in giovanili di spigole ed orate allevate a terra (5,8% e 6,1%) talvolta con elevate intensità d'infezione correlabili al riscontro di gravi lesioni tissutali e mortalità. Vengono riportati anche i dati relativi a reperti parassitari di minore importanza epidemiologica e sanitaria riscontrati nel corso dell'indagine.



## EPISODIO DI MORTALITÀ DA *SPARICOTYLE CHRYSOPHRII* IN ORATE (*SPARUS AURATA*) IN GABBIA

Susini F.\*, Fichi G.\*, Macori G.\*, Cocumelli C.\*, Cardeti G.\*, Alimonti C.\*, Forletta R.\*, Gustinelli A.\*\* & Fioravanti M.L.\*\*

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana; \*\* Dipartimento di Scienze Mediche Veterinarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna.

*Sparicotyle chrysophrii* rappresenta una delle principali minacce parassitarie nell'allevamento in gabbie a mare dell'orate (*Sparus aurata*) ed è stato descritto sia in animali selvatici che in orate allevate nel Mediterraneo. Questo ectoparassita ematofago branchiale è spesso presente in associazione ad altri parassiti o ad infezioni batteriche intercorrenti, inducendo frequenti episodi di mortalità in orate d'allevamento. Nel mese di luglio 2010, in seguito alla segnalazione di elevata mortalità nelle gabbie galleggianti di un allevamento di orate in provincia di Livorno (Italia), in cui la settimana precedente era stata evidenziata presenza di *Sparicotyle chrysophrii* su 10 soggetti, sono stati analizzati i soggetti di tre gabbie: gabbia A con elevata mortalità, gabbia B con mortalità crescente, gabbia C senza problemi apparenti. Gli animali delle tre gabbie analizzate presentavano peso e lunghezza medi di 274 g e 25 cm per la gabbia A, 285,6 g e 25,5 cm per la gabbia B, 263 g e 24,8 cm per la gabbia C.

Dieci soggetti per gabbia sono stati sottoposti ad esame anatomopatologico, parassitologico, batteriologico e isolamento virale per la ricerca di Nodavirus. Sulle branchie e sugli organi che presentavano alterazioni patologiche è stato effettuato l'esame istologico. Le branchie sono state sottoposte inoltre ad esame batteriologico per la ricerca di *Tenacibaculum maritimum* mediante isolamento su terreni specifici. All'esame anatomopatologico i soggetti della gabbia A presentavano branchie anemiche con forti emorragie e presenza di abbondante muco, sono state inoltre evidenziate lesioni congestizie a carico del fegato ed epatomegalia; nei soggetti provenienti dalla gabbia B erano evidenti anemia branchiale, splenomegalia, lesioni epatiche e, in due casi, è stata rilevata presenza di liquido ascitico; in quelli provenienti dalla gabbia C erano evidenti emorragie branchiali e congestione epatica. L'esame parassitologico ha evidenziato la presenza di *S. chrysophrii* nel 50, 60 e 70% dei soggetti esaminati rispettivamente per la gabbia A, B e C. L'analisi batteriologica ha permesso di isolare *Photobacterium damsela* subsp. *damsela* da fegato e milza nei pesci con le lesioni epatiche più gravi, mentre l'esame virologico e gli esami colturali per *T. maritimum* sono risultati sempre negativi.

L'esame istologico ha permesso di evidenziare grave congestione associata ad emorragie a carico del fegato; congestione ed imponenti emorragie branchiali associate ad iperplasia e fusione delle lamelle secondarie, lesione principale nel corso di infestazioni da *S. chrysophrii*. Nella milza, la colorazione con ematossilina-eosina ha evidenziato numerosi granulomi dal centro necrotico disseminati in tutto il parenchima, negativi alla colorazione di Ziehl-Neelsen.

*P. damsela* subsp. *piscicida* è spesso associato ad episodi di mortalità in diverse specie di pesci marini mentre pochi studi riportano l'isolamento di *P. damsela* subsp. *damsela* in casi simili riscontrati in allevamento, ad eccezione di due episodi di mortalità in allevamenti di *Pagrus auriga* nel 2004 e di *Diplodus sargus sargus* nel 2005 in Spagna. Le lesioni anatomopatologiche da noi riscontrate a livello epatico e addominale risultano sovrapponibili a quelle descritte nel corso di tali episodi ed a quelle descritte in corso di infezioni da *P. damsela* subsp. *damsela* in *Latex calcarifer*.

Anche se *S. chrysophrii* è riportato spesso quale causa primaria di mortalità, in questo episodio non è da escludere che una coinfezione batterica possa avere aggravato il quadro, soprattutto in condizioni climatiche caratterizzate da temperatura elevata.

**FIRST REPORT OF ANISAKIS PEGREFFII LARVAE (NEMATODA, ANISAKIDAE) IN WILD EUROPEAN SEA BASS, DICENTRARCHUS LABRAX (L.) FROM MEDITERRANEAN WATERS (SOUTHERN SARDINIA)**

Culurgioni J.<sup>1</sup>, Mattiucci S.<sup>2</sup>, Paoletti M.<sup>2</sup> & Figus V.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dip. di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Sez. di Biologia Animale ed Ecologia, Università di Cagliari, Via T. Fiorelli, 1 - 09126, Cagliari; <sup>2</sup> Dip. di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Sez. di Parassitologia, "Sapienza Università di Roma" P. le Aldo Moro, 5 - 00185, Roma.

During a survey about the parasitic fauna composition of wild European sea bass *Dicentrarchus labrax* (L.) from brackish waters (St. Giovanni, St. Gilla and Porto Pino lagoons), and from coastal water areas of Southern Sardinia, larval stages of *Anisakis* have been recovered from the fish captured along the coast. Specimens of sea bass were examined, all caught by sport techniques (lure or spearfishing) in: Capo Ferrato, Villasimius (South-eastern Sardinia), Poetto (Cagliari) and the Teulada coast (Southern Sardinia).

Parasitological analysis on the fish samples was carried immediately after their capture: the gills, viscera and abdominal muscles were examined in the laboratory, using a dissection stereomicroscope and a plate lamp for the transillumination of fish fillets (muscles). On the basis of morphological characters valid to the genus level, the anisakid larvae collected were indicated as *Anisakis* type I (*sensu* Berland, 1961); they were stored in 95° ethanol for further genetic identification to their species level. Sequences analysis of the mitochondrial gene cytochrome oxidase II (mtDNA *cox 2*) was carried out on several specimens of *Anisakis*, according to the procedure given in: Mattiucci S., Paoletti M., Webb S. C. (2009). *Anisakis nascettii* n. sp (Nematoda: Anisakidae) from beaked whales of the southern hemisphere: morphological description, genetic relationships between congeners and ecological data. *Systematic Parasitology* 74:199-217, allowing to their identification as belonging to the sibling species *Anisakis pegreffii*.

Three sea bass (prevalence = 50%) proved infected by nematode third-stage larvae, which were morphologically ascribable to *Anisakis* sp. Type 1. The level of the infection varied from one larva found in one of the sea bass from the rocky bottom of Capo Ferrato, to 10 and 30 worms hosted by both fish from Teulada harbor. *A. pegreffii* larvae were found encysted, and coiled in the mesenteries, adhering to the external layer of the gut. In addition, in a fish heavily infected most of the parasites (twenty-one) occurred also under the gastric serosa, across the muscular layers, encapsulated within reddish-brown envelopes. This finding represents the first report of *A. pegreffii* in sea bass from the Mediterranean basin waters, the main species of *Anisakis* present in this area. Previous report of *Anisakis* larvae from the sea bass is from North-East Atlantic Ocean; these larvae were genetically identified as belonging to the sibling species *A. simplex sensu stricto*, the main species present in fish from the NE Atlantic Ocean (Bernardi C., Fioravanti M.L., Caffara M., Gustinelli A., Mattiucci S., Legnani D., Truzzi C., 2009. Parassiti zoonosici in branzini (*Dicentrarchus labrax*) atlantici (Zona FAO 27). *Atti del Convegno Associazione Italiana Veterinari Igienisti*). According to preliminary parasitic infection estimates by *A. pegreffii* in the present study, the prevalence (P = 50%) and the intensity (range I = 1-30) values so far observed, are lower with respect to those found by the species *A. simplex s.s.* in the sea bass from Atlantic waters (Bernardi *et al.*, 2009).

The infection of sea bass by *A. pegreffii* may be related to the different feeding habit of these sedentary bass, which feed often on the large quantity of small fish (likely infected by the parasites larvae) usually discarded by the fishermen within the harbor.

These new finding provides a contribution to the knowledge of the distribution of *A. pegreffii* in a commercially important fish species, and suggests the useful parasitological survey on *D. labrax* from other localities of the Mediterranean Sea.

*Acknowledgements: the study was carried out by grants of MIUR-PRIN 2008.*

## **OSTREOPSIS OVATA: CARATTERIZZAZIONE DELLE BIOTOSSINE ALGALI ATTRAVERSO UNO STUDIO INTERDISCIPLINARE**

Ferrari A.\*, Bolognesi C.\*\*\*, Marazzotta G.\*, Schiavetti I.\* & Vivaldi B.\*

\* *Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (IZS PLV) – Genova;*

\*\* *Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST), S.S. Cancerogenesi Ambientale – Genova.*

*Ostreopsis ovata* è un dinoflagellato bentonico, tipico di mari caldi e tropicali e pertanto diffuso essenzialmente nell'Oceano Pacifico e nel Mare dei Caraibi. Tuttavia, già da diversi anni, condizioni climatiche e ambientali favorevoli hanno permesso all'alga di espandere il proprio areale in gran parte del mar Tirreno, dove la sua fioritura (bloom), caratterizzata da aggregati superficiali di colore marrone rossastro, è stata osservata a partire dal 1998 nei litorali di Toscana, Liguria, Puglia, Lazio e Sicilia. In particolare, in Liguria, il fenomeno è stato marcato nel biennio 2005-2006, con incidenza maggiore sul levante genovese.

Se dal punto di vista sanitario in concomitanza a tale fenomeno bagnanti e residenti nelle aree litorali hanno segnalato una serie di malesseri, specialmente a carico delle prime vie respiratorie, accompagnate da stati febbrili; dal punto di vista ambientale il bloom è stato associato a estese morie di organismi marini con gravi alterazioni alle biocenosi bentoniche.

Rischi potenziali e non ancora definiti sono legati alla capacità della microalga di rilasciare ostreocina al momento della fioritura, ossia un analogo della palitossina che viene assunto rapidamente da molluschi e altri organismi acquatici, concentrandosi così lungo la catena alimentare.

Dopo una prima caratterizzazione di "siti sensibili" o di tratti di costa maggiormente interessati da fenomeni di fioritura, è stato condotto uno studio interdisciplinare volto a caratterizzare le biotossine algali prodotte da *Ostreopsis ovata*, attraverso analisi chimiche, biotossicologiche, e genotossiche. In collaborazione con ARPAL sono state definite le modalità di prelievo dei campioni d'acqua che, opportunamente refrigerati, sono stati conservati al buio e consegnati quindi ai laboratori di riferimento per le analisi di competenza.

Per 400 campioni di mitili e 40 campioni di echinodermi sono state condotte analisi biotossicologiche su topo (mouse test) in conformità con quanto prescritto dall'allegato del DM 16/05/2002. Il metodo si basa sull'effetto della tossicità acuta provocata in topi adulti dopo l'inoculazione intraperitoneale di un estratto di corpo edibile di molluschi. In particolare, il tempo di morte del topo permette di valutare il grado di tossicità e di riconoscere quale classe di tossine ha determinato il decesso.

Le analisi chimiche, invece, sono state eseguite su ghiandole digestive (target preferenziale per il bioaccumulo di tossine) con spettrometro di massa a triplo quadrupolo. La quantificazione è stata eseguita considerando le transizioni con risposta più intensa e per confronto con i picchi ottenuti da diverse diluizioni di uno standard di palitossina. I risultati delle due analisi, biotossicologiche e chimiche, sono stati sottoposti a prove comparative.

È stata effettuata un'ulteriore comparazione con i risultati ottenuti dalle analisi in vivo lavorando su due diverse linee cellulari (HepG2 e RTG2) agli stessi dosaggi di trattamento.

A completare lo studio sono state eseguite una serie di valutazioni di genotossicità attraverso il test di induzione di danno al DNA e il Comet assay.

I risultati sottolineano una sostanziale corrispondenza tra i tempi di morte dei topi sottoposti ad analisi biotossicologiche e quantificazioni chimiche eseguite con spettrometro di massa, suggerendo la validità di quest'ultimo per rilevare la presenza di tossine prodotte da *Ostreopsis ovata*.

Le analisi in vitro hanno evidenziato l'opportunità di mettere a punto una metodica utile a rilevare la tossicità da estratti di molluschi ed echinodermi. Tuttavia, si richiedono ulteriori esami per garantire una correlazione reale e attendibile con il dato in vivo.

Infine, valutazioni genotossiche indicano le tossine quali potenziali mutageni, ma, anche in questo caso, si rendono necessarie ulteriori analisi.

## GRAVI EPISODI DI MORTALITA' IN GIOVANILI DI STORIONE RUSSO (*ACIPENSER GUELLENSTAEDTII*): DESCRIZIONE DEL QUADRO ANATOMOPATOLOGICO

Pavoletti E.<sup>1</sup>, Giorgi I.<sup>1</sup>, Pedron C.<sup>3</sup>, Varello K.<sup>2</sup>, Pezzolato M.<sup>2</sup>, Di Donfrancesco B.<sup>1</sup>, Righetti M.<sup>1</sup>, Bozzetta E.<sup>2</sup>, Antuofermo E.<sup>4</sup> & Prearo M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Specialistico di Ittiopatologia, <sup>2</sup> Laboratorio di Immunoistopatologia, Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta – Torino; <sup>3</sup> Storione Ticino S.a.s. – Cassolnovo (PV); <sup>4</sup> Dpt. Patologia e Clinica Veterinaria, Facoltà di Medicina Veterinaria – Sassari.

L'allevamento intensivo dello storione in Italia è una pratica zootecnica relativamente recente. Negli ultimi anni si sono susseguite segnalazioni di eventi patologici in storioni di allevamento, dovuto in parte all'aumento delle produzioni di questa specie ittica ed in parte alle condizioni ambientali e di stress in cui tali pesci vengono allevati. Nel solo territorio italiano sono stati segnalati ultimamente episodi, anche con mortalità rilevanti, di Aeromonosi (sostenuti da *Aeromonas hydrophila* e *A. sobria*), Pseudomonosi (*Pseudomonas fluorescens*), Plesiomonosi (*Plesiomonas shigelloides*) e Streptococcosi (*Streptococcus dysgalactiae*): le specie maggiormente colpite sono state lo storione russo (*Acipenser gueldenstaedtii*) e lo storione siberiano (*A. baeri*). Oltre a manifestazioni patologiche in cui si è potuto identificare con certezza la causa morte, risultano innumerevoli le segnalazioni di mortalità anche ingenti, dovute a cause diverse, non riconducibili ad una noxa infettiva. Generalmente vengono colpite le forme giovanili entro il primo anno di età. Scopo del presente lavoro è quello di descrivere un grave episodio di mortalità in una partita di giovani storioni russi, analizzando il quadro sintomatologico in vasca e le lesioni anatomopatologiche riscontrate.

Il caso ha avuto inizio nel mese di luglio 2010 con una lieve sintomatologia associata ad una mortalità a stilloidio che si è protratta per i mesi successivi. I soggetti colpiti, dapprima quelli di taglia maggiore, presentavano anoressia associata a letargia e disturbo del movimento natatorio, caratterizzato da ipercinesia seguita da stazionamento verticale; inoltre nella maggior parte dei pesci colpiti si evidenziava un arrossamento cutaneo esteso sulla parte ventrale del corpo e alla testa. La morte poteva sopraggiungere anche dopo un lungo periodo sintomatico e gli storioni apparivano deperiti. Numerosi campioni, di diversa taglia ed in diverso stato di salute (sani, con sintomatologia in atto e moribondi), sono stati analizzati dal laboratorio. All'apertura della cavità celomatica il quadro più eclatante era quello a carico del fegato, con evidente alterazione cromatica e della consistenza: infatti il colore variava dal giallo ocra al bianco madreperlaceo con gradi di marezza intermedia; i margini epatici erano arrotondati; al taglio i fegati erano friabili e lasciavano una evidente untuosità sulla lama del bisturi. Gli altri organi apparivano normotipici, mentre il grasso periviscerale era scarso o assente. Tutti gli esami condotti (parassitologico, colturale e virologico) hanno dato esito negativo. L'esame istologico dei fegati ha confermato il sospetto di una grave steatosi.

Dalle successive ricerche anamnestiche si è venuti a conoscenza che l'alimento somministrato nel primo periodo di allevamento era stato integrato con dosi elevate di olio di pesce allo scopo di velocizzare la crescita dei soggetti.

La scarsa conoscenza dei fabbisogni nutrizionali delle nuove specie allevate in relazione alle loro abitudini alimentari, spesso porta, purtroppo, ad errori nella composizione dei mangimi somministrati con gravi ripercussioni sulla salute dei soggetti allevati.

## ALIMENTAZIONE SPERIMENTALE CON DIVERSE CONCENTRAZIONI DI MELAMINA CIANURATA IN TROTA IRIDEA: VALUTAZIONE DEL GRADO DI DEPOSIZIONE DEI CRISTALLI A LIVELLO RENALE

Pacini N.<sup>1</sup>, Elia A.C.<sup>1</sup>, Righetti M.<sup>2</sup>, Minardi D.<sup>2</sup>, Giorgi I.<sup>2</sup>, Dörr A.J.M.<sup>1</sup>, Pezzolato M.<sup>3</sup>, Abete M.C.<sup>4</sup>, Gasco L.<sup>5</sup>, Bozzetta E.<sup>3</sup>, Varello K.<sup>3</sup>, Pavoletti E.<sup>2</sup> & Prearo M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpt. di Biologia Cellulare e Ambientale, Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali – Perugia; <sup>2</sup>Laboratorio Specialistico di Ittiopatologia, <sup>3</sup>Laboratorio di Immunoistochimica, <sup>4</sup>C.Re.A.A., Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta – Torino; <sup>5</sup>Dpt. Scienze Zootecniche, Facoltà di Agraria – Grugliasco (TO).

La melamina ed i suoi analoghi recentemente sono stati ritrovati in mangimi destinati ad animali domestici e nel latte in polvere destinati ai neonati, dove sono stati aggiunti allo scopo di aumentare fraudolentemente il contenuto proteico e quindi il valore economico degli alimenti. La melamina in realtà è una falsa proteina in quanto non presenta alcun valore nutrizionale. La melamina cianurata si deposita a livello renale sottoforma di cristalli o sferuliti, causando un grave quadro di nefrite che può portare a morte i soggetti colpiti. L'aggiunta fraudolenta dei mangimi con melamina cianurata si è estesa anche agli alimenti destinati ai pesci. Da ricordare che, per la formazione dei cristalli a livello renale, è necessario che la melamina sia associata con l'acido cianurico, per dar vita a complessi melamino-cianurati. Diverse specie di pesci sono state oggetto di sperimentazione da parte dell'FDA (trote, salmoni, tilapie e pescegatti), con induzione di cristalli a livello renale: i pesci però sopravvivono al danno renale indotto dal complesso della melamina cianurata poiché possono espellere la maggior parte dei rifiuti azotati attraverso le branchie. Scopo del presente studio è stato quello di valutare il grado di deposizione dei cristalli di melamina cianurata a livello renale nei soggetti esposti e gli effetti sulla salute e sull'accrescimento dei pesci trattati. Il disegno sperimentale ha previsto l'utilizzo di diete addizionate con quantità diverse di melamina, acido cianurico e melamina cianurata (250, 500 e 1.000 mg/kg) e somministrate a diversi gruppi di trote iridea (*Oncorhynchus mykiss*) con un razione pari all'1,5% p.v. per 8 settimane. Al termine del periodo di sperimentazione, non si sono osservate variazioni statisticamente significative dell'accrescimento degli esemplari, come non sono state rilevate macroscopicamente delle lesioni patologiche significative in tutti i soggetti esaminati. Sezioni di rene sono state esaminate a fresco al microscopio ottico per la ricerca immediata dei cristalli, mentre una porzione del rene è stata fissata in formalina tamponata al 10% e processata entro le 36 ore, per le successive analisi istopatologiche. Alla visione a fresco, si è potuto osservare, solamente nei soggetti alimentati con melamina cianurata, la presenza di precipitati cristallini di dimensioni variabili in relazione al dosaggio assunto, localizzati nelle strutture intraluminali dei segmenti escretori nefronali. Istologicamente si è rilevato come gli sferuliti siano presenti per la maggior parte in sede intratubulare, più raramente a livello intraduttale. Caratteristica generale è stata quella di osservare sempre una dilatazione dei tubuli contenenti i cristalli, i quali presentano segni regressivi (atrofia e necrosi); in vicinanza dei focolai necrotici, spesso sono presenti delle gemme blastematose iperbasofile costituite da alcune file di elementi epiteliali embrionali. A concentrazioni più elevate sono corrisposte lesioni più gravi a carico tubulare e fenomeni rigenerativi a carico dell'epitelio tubulare. La valutazione della presenza dei cristalli è stata condotta su tutti i soggetti esaminati: i controlli negativi e i pesci alimentati esclusivamente con melamina o acido cianurico, non hanno sviluppato cristalli renali. Nelle trote alimentate con melamina cianurata invece i soggetti osservati hanno evidenziato la presenza degli sferuliti a livello renale in grado diverso a seconda della dose somministrata. Più precisamente, nei pesci alimentati con il dosaggio di 250 mg/kg nessun soggetto ha presentato cristalli a livello renale, in quelli alimentati con 500 mg/kg sono risultati positivi alla presenza di sferuliti renali il 60% dei soggetti esaminati, mentre la positività è salita al 100% in quelli alimentati con 1.000 mg/kg. Risulta evidente la diretta proporzionalità della relazione dose-risposta sia relativamente al numero di pesci colpiti, sia al grado di intensità della presenza dei cristalli.

Progetto finanziato dal Ministero della Salute, fondi di Ricerca Corrente 2007.

## ANATOMIA RADIOLOGICA E INNERVAZIONE AUTONOMA DELLA VESCICA NATATORIA DEI TELEOSTEI CIPRINIDI

Zaccone D., Macrì F., Rapisarda G., Giorgianni P., Previti A. & Marino F.

*Dip. di Sanità Pubblica Veterinaria, Polo Universitario dell'Annunziata - 98168 Messina.*

La vescica natatoria dei Teleostei è un organo idrostatico che si presenta come un sacco membranoso situato tra il tubo digerente e la colonna vertebrale. Assai scarsi sono gli studi che si riferiscono alla caratterizzazione morfologica, radiologica, strutturale e al controllo nervoso della vescica natatoria dei Ciprinidi. Per il nostro studio i soggetti sono stati anestetizzati tramite l'immersione in vasca contenente MS-222 alla concentrazione di 0,3 mg/l per 5 minuti, la temperatura dell'acqua era di 24° C. Prima di effettuare l'analisi con il mezzo di contrasto è stata effettuata una radiografia, per definire il punto esatto in cui iniettare il mezzo di contrasto ionico (iopamidolo). Una volta riconosciuto il sito è stata effettuata un'iniezione sotto la linea laterale del pesce: 1 ml di mezzo iodato è stato iniettato nella porzione anteriore della vescica natatoria. Al momento dell'inoculazione veniva effettuata una prova di aspirazione, per essere sicuri del corretto sito di inoculo. Le radiografie sono state effettuate utilizzando un apparecchio radiografico Univet LX 160. Poiché gli esemplari avevano uno spessore inferiore ai 10 cm non sono state utilizzate griglie antidiffusione. Per ottimizzare il dettaglio radiografico sono state utilizzate pellicole ad alta definizione. I soggetti sono stati radiografati in due proiezioni: dorsoventrale e laterale destro; il fascio di raggi X è stato centrato sull'addome. Dopo l'esame, i pesci sono stati collocati in vasche per il risveglio. L'esame a doppio contrasto ha mostrato la parete interna della vescica natatoria sottolineando la via di comunicazione tra i due lobi e la presenza di un avvallamento ventrale nella porzione craniale del lobo caudale riconducibile al punto di origine del dotto pneumatico; quest'ultimo si evidenzia come una linea radiopaca tra la vescica natatoria e l'esofago. L'anatomia radiologica condotta su due specie (*Carassius auratus* e *Tinca tinca*), è stata affiancata dall'uso di diversi anticorpi diretti contro una serie di neurotrasmettitori adoperati quali markers del sistema nervoso autonomo del polmone dei Tetrapodi, data l'origine comune delle due strutture dalla parete dorsale dell'intestino. Nei Ciprinidi la vescica natatoria è divisa in due camere (anteriore e posteriore) divise da una strozzatura chiamata diaframma. Un dotto pneumatico si inserisce nella parte anteriore della camera posteriore, e comunica col tubo digerente. La parete della vescica è costituita da un epitelio, da uno strato connettivale e da un tessuto muscolare formato da fibre muscolari lisce raggruppate in fasci anulari, o in corrispondenza di sfinteri nella camera posteriore. Nella parete interna della camera anteriore sono generalmente presenti le ghiandole del gas. L'epitelio è pluristratificato ed associato a zone ricche di reti mirabili. Accanto alle cellule del gas, sono presenti cellule gangliari che presentano una immunoreattività per ChAT e TH. Sulla parete dorsale della vescica appaiono localizzate fibre colinergiche e adrenergiche immunoreattive con gli anticorpi contro ChAT e TH. Nella parete del dotto pneumatico si notano dei gangli intramurali con numerose cellule nervose VIP immunopositive, e in mezzo ai fasci della muscolatura liscia, numerose fibre nervose con immunoreattività per TH e SP. I dati preliminari da noi ottenuti sottolineano che l'utilizzo di un mezzo di contrasto positivo nella vescica natatoria dei pesci è un ottimo strumento per l'osservazione della parete interna e per studiare il decorso del dotto pneumatico fino all'esofago, in modo tale da osservare i normali rapporti topografici di queste strutture. Inoltre i risultati immunoistochimici evidenziano che l'innervazione autonoma è costituita in massima parte da fibre colinergiche e adrenergiche, da una componente inibitoria espressa da neuropeptidi. Le fibre parasimpatiche colinergiche probabilmente stimolano la secrezione del gas, e quelle adrenergiche, che arrivano attraversando il tronco vago simpatico, promuovono il riassorbimento del gas attraverso una serie di risposte mediate dai vasi e dalla muscularis mucosae.

**ABSTRACT**

**WORKSHOP  
S.I.P.I.**

**“Aggiornamento  
sugli aspetti  
igienico-sanitari  
dei molluschi bivalvi”**

## ANATOMIA, FISILOGIA E ASPETTI IMMUNITARI DEI MOLLUSCHI BIVALVI

Tiscar P.G. & Mosca F.

*Dipartimento di Scienze Biomediche Comparete, Università degli Studi di Teramo; P.zza A. Moro 45, 64100 Teramo, ITALY; e-mail: pgtiscar@unite.it.*

I Molluschi (*Mollusca*, Linneo 1758) costituiscono il secondo phylum, in ordine di grandezza, del regno animale, con oltre 110.000 specie note. Il notevole pleomorfismo del phylum ha rappresentato la chiave di volta del successo evolutivo ed ecologico, come testimoniato dalla presenza ubiquitaria in tutti gli ecosistemi, raggiungendo l'apice della diversità biologica negli ambienti marini.

La classe dei Bivalvi (*Bivalvia*, Linneo 1758) o Lamellibranchi, risulta costituita da organismi la cui comunanza morfologica deriva dalla presenza esterna di due valve. A fronte di una notevole varietà di nicchie ecologiche colonizzate e di una differente ripartizione geografica delle specie su scala mondiale, i Molluschi Bivalvi Marini (MBM) hanno proprietà comuni che non riguardano solamente specifici caratteri morfologici e funzionali ma che possono essere più generalmente riassunte nel loro carattere stanziale e nella loro attitudine filtratoria. Tali caratteristiche, associate al consumo alimentare ed alle problematiche sanitarie ad esso connesse, hanno rappresentato e costituiscono attualmente su scala globale un forte incentivo nello studio di alcune specie.

La conchiglia dei bivalvi svolge una funzione prettamente protettiva nei confronti degli organi interni e risulta composta da due valve generalmente simmetriche e costituite da una matrice organica (proteine e mucopolisaccaridi) ed inorganica (carbonato di calcio). I muscoli adduttori, costituiti da fibre muscolari lisce e striate, risultano inseriti perpendicolarmente alle valve e si oppongono in tal modo all'azione meccanica del legamento, permettendo la chiusura della conchiglia.

Il mantello è formato da un tessuto a struttura molle che avvolge i visceri del mollusco e presenta un'ampia apertura inalante attraverso cui entra l'acqua, e un orifizio esalante dal quale l'acqua viene espulsa dopo che l'ossigeno disciolto e le particelle alimentari sono state captate dall'organismo. In talune specie tali aperture si prolungano oltre il bordo mantellare a formare i c.d. sifoni.

L'alimentazione dei molluschi bivalvi è microfaga, basata su fitoplancton (microalghe), batteri e materiale organico disciolto. La corrente alimentare inalante viene generata dal movimento delle ciglia laterali delle branchie, mentre le ciglia frontali svolgono il ruolo di setaccio delle particelle trasportate dalla corrente. Il materiale trattenuto dalle branchie viene mescolato con il muco secreto dalle cellule ghiandolari e trasportato verso i solchi alimentari e da qui in un breve esofago cigliato che sbocca nello stomaco. Lo stomaco ha due regioni chiaramente differenziate, di cui la dorsale, sede di apertura dell'esofago e dei condotti della ghiandola digerente, e la ventrale, a forma di sacca, nella quale si trova lo stilo cristallino secernente una serie di enzimi, quali amilasi, cellulasi e lipasi. Le pareti del tratto superiore della sacca sono rivestite di ciglia che imprimono allo stilo un movimento rotatorio; in tal modo, lo stilo si consuma per sfregamento sullo scudo gastrico, liberando nello stomaco il proprio contenuto enzimatico. L'intestino è relativamente lungo, più o meno ripiegato su se stesso, e si apre al di sotto del muscolo adduttore posteriore, attraversando nel suo percorso il ventricolo cardiaco fino al retto, terminando quindi nell'ano.

Le branchie svolgono importanti funzioni non solo nella captazione delle particelle alimentari ma anche nella respirazione, costituendo il sito di interscambio gassoso. Sono situate a sinistra e a destra del corpo, localizzate tra la massa viscerale ed il mantello. Il livello di organizzazione delle branchie risulta variabile, passando da elementi semplici (filibranchie nei mitili), a sistemi più complessi (pseudolamellibranchie nelle ostriche), fino a strutture altamente specializzate (eulamellibranchie nei canalicchi). Da un punto di vista strutturale, le branchie sono formate da filamenti di lunghezza variabile che si diramano da un asse longitudinale.

Per quanto riguarda gli aspetti riproduttivi, nella maggior parte delle specie, i sessi sono separati, sebbene esistano alcuni organismi (ostriche) in cui si evidenzia una sessualità ritmica. Le gonadi si localizzano a vario livello nelle differenti specie e in individui sessualmente maturi avviene il rilascio dei gameti maschili e femminili nell'ambiente esterno, sede della fecondazione.



Il sistema circolatorio è di tipo aperto e costituito dal cuore, da un sistema di vasi e di lacune che permettono da un lato il trasporto dell'ossigeno e dei nutrienti ai tessuti, dall'altro la rimozione dei cataboliti che vengono espulsi dall'organismo attraverso sistemi di escrezione simil-renali.

Tali funzioni di trasporto vengono messe in atto dall'emolinfa, costituita da una componente sierica e da elementi cellulari, noti come emociti.

Nei MBM, l'immunità innata costituisce il solo ed esclusivo meccanismo di difesa nei confronti degli agenti patogeni, mediato da fattori umorali (peptidi antimicrobici, lectine ed opsonine) e processi cellulari come la fagocitosi emocitaria. In tal senso, gli emociti sono cellule caratterizzate da spiccate proprietà ameboidi e chemiotattiche, in grado quindi di raggiungere il sito di infezione, inglobare materiale extracellulare e degradarlo attraverso l'azione congiunta di enzimi lisosomiali e radicali liberi dell'ossigeno (ROS).

Considerando il sistema immunitario come un'interfaccia dinamica tra organismo ed ambiente, la valutazione del sistema fagocitario nei MBM ha costituito negli anni un approccio di notevole interesse scientifico, sia in un'ottica di tipo comparato, considerando gli invertebrati come modello di studio, sia nell'applicazione di specifici parametri immunitari quali markers di stress nel monitoraggio ambientale e nella filiera commerciale.

## LE MALATTIE NOTIFICABILI DEI MOLLUSCHI BIVALVI: NORMATIVA, DIAGNOSTICA E MONITORAGGIO

Arcangeli G.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie.*

Nel panorama della produzione dell'acquacoltura italiana, la molluschicoltura, con una produzione annua che sfiora le 200.000 tonnellate, contro le 70.000 tonnellate del pesce allevato, è un settore certamente di rilievo e che è ancora oggetto di investimento da parte delle imprese del settore.

A tutela della produzione molluschicola, il legislatore europeo ha emanato nell'ultimo decennio una serie di normative che sono state recepite ed applicate dagli stati membri. Queste prevedono varie azioni sia di prevenzione che di eradicazione da eventuali malattie trasmissibili. Tra queste ci sono malattie esotiche (es. *Bonamia exitiosa* e *Perkinsus marinus* nell'ostrica concava) e malattie non esotiche (*Marteilia refringens* in ostrica piatta e mitilo, *Bonamia ostreae* nell'ostrica piatta), tutte malattie sostenute da protozoi che sono state descritte come causa primaria di malattia, ed in alcuni casi con elevate mortalità.

Parallelamente l'OIE (ufficio internazionale delle epizootie, oggi denominato World Organization for Animal Health) mantiene aggiornate la procedure di prova da applicare nella diagnostica, attraverso il Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2010. E metodiche utilizzate in diagnostica sono: citologia, istologia, esami colturali per alcuni protozoi, prove biomolecolari. Non sono disponibili l'indagine sierologica (i bivalvi non producono anticorpi circolanti), non sono disponibili linee cellulari specifiche e mancano studi di citotossicità in vitro.

Accanto alle malattie protozoarie, recentemente è stata oggetto di attenzione una virosi che ha colpito soprattutto le ostricoltura francesi ed irlandesi, causata da Herpes virus-1 microvar., anche se ancora è in dubbio se trattasi invece di una sindrome ad eziologia multifattoriale (*Vibrio*, herpes classico, ambiente, tipologia allevamento, ecc.). Interessante e degno di approfondimento il fatto che giovanili di *C. gigas* di origine francese importati ed allevati in Adriatico, anche se risultati positivi al virus non hanno sviluppato malattia (vedi lavoro di Dundon WG, Arzul, I., Omnes E., Robert M., Magnabosco, C., Zambon, M. Gennari, L., Toffan, A., Terregino, C., Capua I. and Arcangeli, G., 2011, Detection of Type 1 streid Herpes variant (OsHV-1  $\mu$ var) with no associated mortality in French-origin Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* farmed in Italy, *Aquaculture*, 314, 49-52).

Anche in vari casi di mortalità cosiddette "anomale" (si ricorda ad es. la ricorrente moria di lupini (*Chamelea gallina*) e di fasolari (*Challista chione*) in Veneto), la causa scatenante rimane sconosciuta.

Lo studio dell'interazione tra ospite e parassita è tutt'ora oggetto di studio e c'è ancora molto da esplorare e senza dubbio è doveroso che Enti preposti allo studio dell'ecosistema lagunare e marino (ARPA, IZZSS, ISPRA, CNR e Università) collaborino per una più efficace risposta al settore molluschi colto nazionale.

## PROTOZOI ZONOSICI IN MOLLUSCHI BIVALVI

Gianguaspero A.

*Dipartimento di Scienze delle Produzioni e dell'Innovazione nei Sistemi Agro-alimentari Mediterranei (PrIME), Facoltà di Agraria, Università degli Studi di Foggia.*

I molluschi bivalvi costituiscono in tutto il mondo, Italia compresa, una delle principali risorse alimentari. Per la loro capacità di filtrare elevati volumi di acqua tali organismi sono ritenuti degli ottimi indicatori ambientali poiché in grado di accumulare microrganismi e/o sostanze inorganiche anche potenzialmente patogeni per l'uomo.

L'attuale normativa prevede azioni di sorveglianza ufficiale dirette al controllo delle acque e della qualità e salubrità delle specie di molluschi. Gli studi sullo stato igienico delle acque e la ricerca di microrganismi nei molluschi è focalizzata in Italia essenzialmente sulla ricerca di tossine algali, coliformi, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., metalli pesanti (Reg. 1881/2006 e successive modifiche). Tuttavia, oltre a batteri patogeni, alghe tossiche, biotossine e sostanze di natura inorganica, un'enorme (anche se poco visibile) quantità di feci provenienti dall'uomo, dagli animali da compagnia, da animali domestici e selvatici, contenente anche protozoi parassiti di interesse zoonosico, viene riversata, attraverso reflui zootecnici e urbani o dalle acque di dilavamento, nei fiumi; questi, confluendo verso le acque costiere possono contaminare il mare soprattutto quando gli impianti di depurazioni non sono efficienti o, come accade in alcune aree costiere italiane, non sono disponibili. In questo contesto, i microrganismi, filtrati e concentrati dai molluschi bivalvi e ingeriti dall'uomo, possono essere responsabili di infezioni anche gravi, soprattutto quando i molluschi sono ingeriti crudi o poco cotti.

Tra le diverse specie di microrganismi parassitari, *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Toxoplasma* assumono oggi notevole interesse in considerazione del loro possibile ruolo zoonosico. Sulla base delle più recenti acquisizioni è stato dimostrato che:

- 1 - le infezioni alimentari causate da questi agenti patogeni sono molto diffuse e frequentemente diagnosticate in diverse parti del mondo;
- 2 - alcune specie/genotipi delle tre specie possono essere condivisi dagli animali e dall'uomo;
- 3 - se presenti nei molluschi, il processo e i tempi di depurazione attualmente previsti dalla legge non garantiscono l'eliminazione di tali agenti patogeni.

In altre zone costiere del mondo, isolati di *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Toxoplasma*, anche zoonosici, sono stati isolati in diverse specie di molluschi, edibili e non edibili.

Tali segnalazioni hanno rappresentato il punto di partenza per l'avvio di indagini finalizzate a monitorare in maniera approfondita la diffusione di *Giardia*, *Cryptosporidium* e *Toxoplasma* in diverse specie di molluschi bivalvi autoctoni marini e lagunari anche nel nostro Paese, nel quale nessun dato era disponibile fino al 2005.

Nell'arco di sette anni, dal 2003 al 2009, mediante tecniche di immunofluorescenza diretta (IF) e/o molecolari (PCR), sono state condotte indagini in diversi areali del nostro paese. Le prime indagini hanno riguardato la costa abruzzese, le aree lagunari del Veneto (laguna di Venezia) e del Friuli Venezia Giulia (laguna di Marano) e il lago Faro (Sicilia).

Nel periodo 2003-2005, *Giardia* è stata ritrovata in esemplari di *Chamelea gallina* allevati lungo la costa adriatica dell'Abruzzo, a 500 metri di distanza dalla foce di alcuni fiumi, mentre *C. parvum* e *C. hominis* sono stati identificati in vongole della specie *Ruditapes philippinarum* allevate nella Laguna di Venezia. Infine, *Giardia duodenalis* e *Cryptosporidium* spp. sono stati isolati in esemplari di *Mytilus galloprovincialis* allevati in Veneto (Sacca di Scardovari), e in Sicilia (Lago Faro). Successivamente, dal 2006 al 2009, un'ampia indagine ha interessato sia le coste dell'Adriatico (Emilia Romagna, Abruzzo e Puglia) sia quelle del Tirreno (Toscana e Lazio). Nel corso di questa indagine sono stati raccolti circa novemila esemplari appartenenti alle seguenti specie: *Chamelea gallina*, *Donax trunculus*, *Ruditapes philippinarum*, *Mytilus galloprovincialis*, *Ruditapes decussatus* e *Ostrea gigas*.

I molluschi provenienti dalla costa tirrenica e dalla Puglia sono risultati tutti negativi a *Giardia* e *Cryptosporidium*, mentre in quest'ultima regione è stato rilevato DNA di *Toxoplasma* nelle branchie

di *O. gigas* e nell'emolinfa di *R. decussatus*. Infine, il test molecolare ha confermato la presenza di *Cryptosporidium* in *R. philippinarum* allevate lungo la costa romagnola.

L'isolamento in tutto il mondo di protozoi di origine fecale conferma l'importante ruolo dell'acqua come fonte di contaminazione: i corsi di acqua durante il loro percorso raccolgono acque contaminate da reflui di origine umana o animale e grazie anche all'azione di dilavamento delle piogge, il materiale fecale arriva fino al mare.

Le cisti di *Giardia* spp. e le oocisti di *Cryptosporidium* spp. sono molto resistenti nell'ambiente acquatico, basti pensare che le forme infettanti di *Giardia* rimangono vitali in acqua marina per circa 2 mesi mentre le oocisti di *Cryptosporidium* circa 1 anno; anche la velocità con cui si depositano sui fondali - ridotta per *Cryptosporidium*, più elevata per *Giardia* - fanno aumentare le possibilità che tali protozoi si mantengano in ambiente acquatico. Nel caso di *Toxoplasma* le oocisti sporulate riescono a sopravvivere in ambiente marino per 6 mesi e rimangono infettanti.

La ricerche condotte lungo la costa italiana dimostrano che i molluschi, allevati o presenti in banchi naturali, sono certamente contaminati da protozoi di interesse zoonosico quali *G. duodenalis*, *C. parvum* e *C. hominis* e *Toxoplasma gondii*.

Il riscontro, anche nel nostro Paese, di questi organismi, assume un interesse sanitario notevole, se si considera che in molte parti d'Italia, i molluschi bivalvi crudi rappresentano una specialità gastronomica assai diffusa e, che il numero di forme protozoarie in grado di infettare un uomo adulto immunocompetente è assai ridotto. Inoltre, il tempo destinato al regolare trattamento di depurazione può abbattere la carica microbica da coliformi ed *Escherichia coli*, ma essere non sufficiente per eliminare il rischio di possibili infezioni dovute ai protozoi "intrappolati" nelle branchie dei molluschi, come documentato per *C. parvum*.

Il rilievo di *C. parvum*, specie che colpisce sia il bovino che l'uomo, è attribuibile sia all'inquinamento dei fiumi con reflui urbani e zootecnici - dovute anche alla presenza di scarichi abusivi - sia all'inefficienza degli impianti di depurazione.

A tale proposito sarebbe auspicabile un maggior controllo degli impianti zootecnici per evitare possibili contaminazioni dei corsi d'acqua, oltre che intervenire per un potenziamento dei depuratori di reflui urbani il cui malfunzionamento giustificherebbe il riscontro anche di *C. hominis*.

Alla luce delle suddette considerazioni, è assai raccomandabile promuovere azioni di monitoraggio sulla qualità igienico-sanitaria dei molluschi allevati lungo la costa italiana. In particolar modo, va tenuta sotto osservazione, costante e ripetuta, la zona del Centro-Nord Adriatico, a forte vocazione alla molluschicoltura e rilevatasi, alla luce delle ricerche condotte, sicuramente "a rischio".

\* Le ricerche oggetto della presente relazione sono state possibili grazie ai seguenti finanziamenti: PRIN 2005-2007, MIUR Italia; Progetto Esplorativo PE\_100 (CIP PE\_087) (2006-2008) Regione Puglia, Italy; Ricerca Corrente RC 200702P002153, Ospedale Bambino, Roma.

## TOSSINFEZIONI DA MOLLUSCHI: *VIBRIO* TOSSIGENI

Ottaviani D.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche, Laboratorio Nazionale di Riferimento Contaminazioni Batteriologiche dei Molluschi - Ancona, Italy.*

I molluschi bivalvi sono animali scavatori sessili o sedentari che si nutrono filtrando grandi quantità di acqua, a seconda delle dimensioni e della specie (es. mitilo a 14°C filtra circa 1,5 litri di acqua/ora). Durante questa ininterrotta attività di filtrazione concentrano nel loro organismo non solo il plancton necessario al loro metabolismo, ma anche batteri e virus eventualmente presenti nell'ambiente e quindi rappresentano un importante veicolo di infezione per l'uomo. In questa relazione verrà focalizzata l'attenzione sul ruolo svolto dai molluschi nella trasmissione di patologie gastroenteriche dovute a microrganismi autoctoni dell'ambiente marino appartenenti al genere *Vibrio*. Le specie che verranno trattate sono quelle maggiormente coinvolte negli episodi tossinfettivi e cioè *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* con particolare riferimento ai sierotipi minori, *V. vulnificus*.

*V. parahaemolyticus* appartenente ai sierotipi O3:K6, O4:K68, O1:K25, O1: KUT (K non tipizzabile) dal 1996 è responsabile di pandemie in Asia, Africa ed America. In Europa, nei passati decenni, infezioni gastroenteriche da *V. parahaemolyticus* sono state segnalate raramente. Tuttavia, negli ultimi anni, il clone pandemico di *V. parahaemolyticus* O3:K6 ha provocato episodi in Russia (2001), Francia (2004), Spagna (2005) ed Italia (2007). Nell'estate 2008 nel centro Italia avvenivano 2 casi di gastroenterite acuta e dalle feci dei pazienti il laboratorio ospedaliero isolava batteri identificati come *V. parahaemolyticus*, che venivano inviati al LNR per la definitiva caratterizzazione. Nel periodo 2008-2009 da molluschi bivalvi provenienti da zone di raccolta distribuite sull'intero territorio nazionale venivano isolati ceppi tossigeni di *V. parahaemolyticus*. Qui riportiamo i risultati della caratterizzazione biochimica, molecolare, tossicologica degli isolati clinici ed ambientali effettuata presso il nostro LNR da cui si possono trarre interessanti considerazioni di natura epidemiologica.

*V. cholerae* appartenente ai sierotipi non O1, non O139 (NAG) provoca gastroenteriti legate al consumo di acqua ed alimenti ittici contaminati, in particolare molluschi bivalvi, nonché infezioni extraintestinali legate al contatto diretto con acqua di mare. Le infezioni gastroenteriche ed extraintestinali spesso degenerano in complicazioni sistemiche in individui con patologie pregresse al fegato e negli immunodepressi, con esito quasi sempre fatale. Fino allo scorso decennio in Italia erano raramente riportati casi clinici dovuti a *V. cholerae* NAG. A partire dal 2006 nel nostro paese questi microrganismi vengono di frequente isolati a livello ambientale e contemporaneamente si registrano infezioni gastroenteriche ed extraintestinali. Qui riportiamo i dati di prevalenza di *V. cholerae* NAG da molluschi bivalvi ottenuti nel corso di un monitoraggio effettuato nel 2007 dal nostro LNR nonché la prevalenza ottenuta a livello clinico durante una campagna di sorveglianza passiva in cui è stato coinvolto il Policlinico Santa Maria Goretti di Latina. Dalla caratterizzazione biochimica, sierologica, molecolare e tossicologica degli isolati vengono tratte interessanti considerazioni sulla epidemiologia e patogenesi di questi microrganismi.

*V. vulnificus* provoca infezioni gastroenteriche associate con il consumo di molluschi crudi, in particolare ostriche. Nelle persone con patologie predisponenti (immunodepressi, patologie epatiche) dall'intestino in germe invade il circolo provocando setticemia con tasso di mortalità del 50%. Negli Stati Uniti *V. vulnificus* è il principale agente di morte per setticemia a seguito di ingestione di molluschi contaminati. Fortunatamente, in Italia i livelli di salinità dei nostri mari sono elevati per favorirne la proliferazione. Tuttavia, sporadici isolamenti si sono avuti in Puglia da molluschi bivalvi provenienti dal Lago di Varano. Questo specifico ecosistema, che in realtà è una laguna comunicante con il mare Adriatico, presenta livelli di salinità più bassi del mare aperto ed è quindi idoneo allo sviluppo di *V. vulnificus*. Anche se attualmente tossinfezioni da *V. vulnificus* non sono mai state segnalate in Italia, va comunque ribadito che il progressivo incremento della globalizzazione dei mercati impone di non abbassare l'attenzione su questo microrganismo, non autoctono nei nostri mari, ma che potrebbe comunque rivestire anche in Italia in un futuro non lontano un ruolo nel determinismo di infezioni gastroenteriche e sistemiche, legate al consumo di prodotti di importazione.

## CONTAMINAZIONE DA PCB E “DIOSSINE” NEI MOLLUSCHI

Piersanti A.

*Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell’ Umbria e delle Marche, Centro di Referenza per il Controllo Chimico e Microbiologico dei Molluschi Bivalvi - Ancona, Italy.*

Le policloro-dibenzodiossine (PCDD), i policloro-dibenzofurani (PCDF) e i policlobifenili (PCB) sono composti aromatici alogenati caratterizzati da elevata persistenza e scarsa degradabilità. Queste tre classi di composti vengono spesso accomunate sia a causa del comune destino ambientale che a causa delle loro caratteristiche tossicologiche. PCDD, PCDF e PCB sono stati inseriti dalla convenzione di Stoccolma del 2001 nell’elenco dei contaminati organici persistenti da tenere sotto controllo e di cui diminuire l’immissione nell’ambiente.

Le fonti di esposizione per l’uomo possono essere svariate, ma sicuramente la principale è l’alimentazione che tiene conto del 90% dell’esposizione totale

Tra gli alimenti tutti quelli di origine animale contribuiscono maggiormente all’esposizione dell’uomo e tra questi ai prodotti ittici deve essere riservato un ruolo privilegiato per i livelli significativamente più elevati di PCDD, PCDF e PCB che li caratterizza

In particolare il consumo di mitili, soprattutto se provenienti da zone di costa particolarmente contaminate da “diossine” e PCB, può diventare una fonte preoccupante di esposizione. Questi organismi infatti sono stati ampiamente studiati e utilizzati come “sentinella” nell’ambito dei monitoraggi ambientali proprio in seguito alle loro caratteristiche di organismi sessili e filtratori, in grado di concentrare le sostanze chimiche contenute nella colonna d’acqua in cui vivono fino a più di cento volte.

I livelli di contaminazione sono strettamente correlabili al grado di antropizzazione dell’area d’interesse con livelli più elevati nelle zone in cui le possibili fonti d’immissione nell’ambiente sono maggiori.

Recentemente si stanno riscontrando dei trend di contaminazione discendenti probabilmente legati al maggiore controllo delle fonti di emissione di “diossina” ed ad una interruzione ormai trentennale della produzione di PCB.

Come è noto le “diossine” sono una classe costituita da 210 composti differenti (75 PCDD e 135 PCDF) mentre i PCB da 209. Quando si parla di analisi di “diossine” ci si riferisce alla determinazione dei 17 congeneri più tossici: i 2,3,7,8-cloro-sostituiti. I PCB invece sono suddivisibili in due grandi classi in funzione delle loro proprietà tossicologiche: i non-orto o mono-orto cloro-sostituiti, anche definiti diossina-simili che sono 12 e gli orto-cloro-sostituiti che sono tutti gli altri. Di questi ultimi in genere si prendeva un gruppo che poteva essere rappresentativo ai fini della stima della concentrazione di PCB totali, ma il numero e il tipo di congeneri presi in considerazione non era ben definito e variava notevolmente da nazione a nazione e da laboratorio a laboratorio. Solo recentemente nell’ambito della commissione SANCO preposta alla definizione di limiti massimi di residuo anche per i PCB non-diossina-simili (PCB-NDL) e con l’attività del laboratorio Europeo di Riferimento di Friburgo per diossine e PCB negli alimenti di origine animale, si sono identificati i sei congeneri che debbono essere determinati da tutti i laboratori ufficiali Europei per misurare la contaminazione da PCB non-diossina-simili negli alimenti di origine animale: PCB 28, PCB52, PCB 101, PCB138, PCB 153, PCB180.

Nei mitili, così come in tutti gli organismi viventi, è possibile osservare sia per i 17 congeneri di PCDD e PCDF ma anche per i sei PCB-NDL dei pattern di contaminazione abbastanza riproducibili in quanto non direttamente correlabili alle fonti poiché tali contaminanti, negli organismi biologici subiscono dei processi di trasformazione metabolica. Per quanto riguarda le “diossine” il pattern di contaminazione sembra generalmente essere dominato dalla presenza di 2,3,7,8-TCDF e OCDD che tengono conto di circa il 70 % della contaminazione, mentre per quanto riguarda i sei PCB indicatori, i congeneri più abbondanti sono il PCB 153 e PCB 138.

# **INDICE**

# **AUTORI**

<b>Abete M.C.</b>	61	<b>Caffara M.</b>	42, 48, 56
<b>Agnetti F.</b>	28	<b>Campana M.</b>	17
<b>Alborali G.L.</b>	29, 46	<b>Cannella S.</b>	43
<b>Alimonti C.</b>	57	<b>Canonico C.</b>	39
<b>Amato G.</b>	27	<b>Caracappa S.</b>	32
<b>Amiti S.</b>	30	<b>Cardeti G.</b>	30, 57
<b>Antuofermo E.</b>	60	<b>Cardinaletti G.</b>	16
<b>Anzalone L.</b>	28, 39	<b>Carnevali O.</b>	38
<b>Arcangeli G.</b>	66	<b>Cencetti E.</b>	54
<b>Arsieni P.</b>	27, 47, 51, 52	<b>Centoducati G.</b>	49
<b>Assante D.</b>	31, 34	<b>Cervellone F.</b>	36, 46
<b>Audino V.</b>	33	<b>Ciulli S.</b>	35
<b>Ballestrazzi R.</b>	53	<b>Clapiz L.</b>	50
<b>Bassignana D.</b>	53	<b>Cocchi M.</b>	50
<b>Battistini R.</b>	54	<b>Cocchietto M.</b>	53
<b>Bennati L.</b>	19	<b>Cocumelli C.</b>	57
<b>Beraldo P.</b>	26	<b>Corrarati B.</b>	40
<b>Berardi S.</b>	37	<b>Corsi M.</b>	54
<b>Bertotto D.</b>	38	<b>Culurgioni J.</b>	43, 58
<b>Bolognesi C.</b>	59	<b>Currò V.</b>	32
<b>Bonfiglio R.</b>	55	<b>Dante G.</b>	30
<b>Bossù T.</b>	30	<b>Deotto S.</b>	50
<b>Bozzetta E.</b>	33, 47, 60, 61	<b>Deregibus S.</b>	51
<b>Bregoli M.</b>	50	<b>De Stefano C.</b>	55
<b>Bronchini S.</b>	19	<b>De Vita V.</b>	27, 52
<b>Bulfon C.</b>	31, 34, 53	<b>Di Donfrancesco B.</b>	27, 60
<b>Buonavoglia C.</b>	49	<b>Di Giamberardino F.</b>	30
<b>Buonavoglia D.</b>	49	<b>Di Giusto T.</b>	50



<b>Di Sopra G.</b>	50	<b>Giavenni R.</b>	26
<b>Donno F.</b>	49	<b>Gioacchin G.</b>	38
<b>Dörr A.J.M.</b>	61	<b>Giorgi I.</b>	27, 33, 47, 51, 60, 61
<b>Eldar A.</b>	22, 28	<b>Giorgianni P.</b>	62
<b>Elia A.C.</b>	61	<b>Gradassi M.</b>	29
<b>Ercolini C.</b>	33, 54	<b>Grassi A.</b>	29
<b>Fabbri S.</b>	35	<b>Greco G.</b>	49
<b>Fabiani B.</b>	54	<b>Greco M.F.</b>	49
<b>Feist S.W.</b>	26	<b>Gustinelli A.</b>	40, 42, 48, 56, 57
<b>Ferrari A.</b>	59	<b>Ingle E.</b>	30, 44
<b>Fichi G.</b>	57	<b>Kapota A.</b>	56
<b>Figus V.</b>	43, 58	<b>Lanteri G.</b>	55
<b>Fioravanti M.L.</b>	42, 48, 56, 57	<b>Latini M.</b>	28, 39
<b>Florio D.</b>	48	<b>Leone M.</b>	42
<b>Forletta R.</b>	57	<b>Luzzana U.</b>	36
<b>Forneris G.</b>	51	<b>Macori G.</b>	57
<b>Fronte B.</b>	19	<b>Macri B.</b>	55
<b>Fusari A.</b>	19	<b>Macri F.</b>	62
<b>Gaglio G.</b>	41, 55	<b>Magi G.E.</b>	37
<b>Galeotti M.</b>	26, 31, 34, 53	<b>Mandrioli L.</b>	35
<b>Gallo D.</b>	53	<b>Manfrin A.</b>	25, 40
<b>Gasco L.</b>	61	<b>Marazzotta G.</b>	59
<b>Gelmetti D.</b>	46	<b>Marineo S.</b>	32
<b>Genero N.</b>	50	<b>Marino F.</b>	41, 55, 62
<b>Gennari L.</b>	19	<b>Martorana C.</b>	32
<b>Ghittino C.</b>	28, 39	<b>Mattiucci S.</b>	58
<b>Giangaspero A.</b>	67	<b>Melchiotti E.</b>	38
<b>Giannetto S.</b>	41	<b>Menegatti R.</b>	35

<b>Minardi D.</b>	61	<b>Randazzo V.</b>	32
<b>Mioso P.M.</b>	29, 46	<b>Rapisarda G.</b>	62
<b>Mogliotti P.</b>	52	<b>Renzoni G.</b>	37
<b>Mosca F.</b>	64	<b>Righetti M.</b>	27, 33, 47, 51, 60, 61
<b>Moscato M.</b>	17	<b>Rigos G.</b>	56
<b>Moschidou P.</b>	49	<b>Rocchegiani E.</b>	39
<b>Mutinelli F.</b>	38	<b>Rogato F.</b>	36
<b>Napoli E.</b>	41	<b>Romalde J.L.</b>	23
<b>Negrato E.</b>	38	<b>Rossi G.</b>	37
<b>Ottaviani D.</b>	28, 69	<b>Rossini I.</b>	54
<b>Pacini N.</b>	61	<b>Rosso A.</b>	52
<b>Palumbo P.</b>	32	<b>Ruscica D.</b>	41
<b>Paoletti M.</b>	58	<b>Sabatini A.</b>	43
<b>Paoloni C.</b>	44	<b>Salogni C.</b>	29, 46
<b>Pascoli F.</b>	38	<b>Sanna N.</b>	43
<b>Passera A.</b>	50	<b>Saragaglia C.</b>	27
<b>Pavoletti E.</b>	27, 47, 51, 52, 60, 61	<b>Sarti M.</b>	36
<b>Pedron C.</b>	60	<b>Sava G.</b>	53
<b>Pezzolato M.</b>	33, 47, 60, 61	<b>Schiavetti I.</b>	59
<b>Piersanti A.</b>	70	<b>Sello M.</b>	50
<b>Potenziani S.</b>	39	<b>Serracca L.</b>	33, 54
<b>Prearo M.</b>	27, 28, 33, 47, 51, 52, 53, 54, 60, 61	<b>Sirri R.</b>	35
<b>Pretti C.</b>	19	<b>Susini F.</b>	57
<b>Pretto T.</b>	25, 40	<b>Tarsitano E.</b>	49
<b>Previti A.</b>	62	<b>Terregino C.</b>	25
<b>Quaglio F.</b>	25, 40, 48, 56	<b>Tesei E.</b>	53
<b>Radaelli G.</b>	38	<b>Tibaldi E.</b>	16
<b>Rampazzo E.</b>	25	<b>Tiscar P.G.</b>	64

<b>Torcivia A.</b>	43
<b>Tulli F.</b>	31
<b>Varello K.</b>	33, 47, 60, 61
<b>Vascellari M.</b>	38
<b>Vendramin N.</b>	25
<b>Viola E.</b>	52
<b>Vivaldi B.</b>	59
<b>Voinovich D.</b>	53
<b>Volpatti D.</b>	26, 31, 34, 53
<b>Volpe E.</b>	35
<b>Zaccone D.</b>	62
<b>Zambon M.</b>	25, 40
<b>Zanoni R.G.</b>	48
<b>Zarza Araque C.</b>	36
<b>Zorzin L.</b>	53