

LORIS ALBORALI\* e PAOLO BONI\*

## DESCRIZIONE DI UN EPISODIO DI FORUNCOLOSI IN UNA POPOLAZIONE NATURALE DI COREGONI (*Coregonus* sp.) DEL LAGO MORO

**RIASSUNTO** - Viene descritto un episodio di foruncolosi che ha interessato una popolazione di coregoni del Lago Moro. La malattia è comparsa nel mese di settembre con temperatura dell'acqua in superficie di 18 °C ed ha colpito solamente coregoni adulti causando elevata mortalità. I soggetti colpiti hanno presentato anemia branchiale, emorragie cutanee ed oculari e all'apertura splenomegalia, degenerazione epatica ed emorragie alla vescica natatoria. Da fegato, rene, milza e cervello sono state isolate colonie batteriche identificate come *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*. L'ipotesi dell'arrivo della patologia con l'introduzione di salmonidi provenienti da allevamenti infetti ripropone il problema sanitario del materiale ittico utilizzato per il ripopolamento delle acque pubbliche.

**ABSTRACT** - We describe an outbreak of furunculosis disease occurred in a population of *Coregonus* sp. fishes living in Moro Lake (Bs). The disease was firstly diagnosed in September when water temperature was around 18° C. Only adult fishes were affected and mortality rate was very high. All affected animals showed: a remarkable gill anemia, skin and ocular haemorrhages. At necropsy, we observed enlargement of the spleen, liver degeneration and swim bladder haemorrhages. We isolated *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* from samples of liver, kidney, spleen and brain. The diffusion of the infectious agent in Moro lake could be related to the introduction of salmonids originating from infected farms. The importance of a strict control of the sanitary health status of fishes used for lakes' repopulation is therefore underlined.

### PREFAZIONE (Gaetano Barbato)

Il Lago Moro – ovvero Lago di Capo di Lago – si trova in provincia di Brescia, lateralmente alla Valle del Dezzo con un bacino imbrifero appartenente al territorio dei comuni Angolo Terme e Darfo Boario Terme: ha un'area di 0.174 Km<sup>2</sup>, una profondità massima di circa 40 m e una altitudine di circa 380 m con modeste variazioni di livello. Lo specchio d'acqua è incassato per circa l'80% del suo perimetro, mentre verso est le acque sono trattene da una barra rocciosa attraverso la quale passa il modesto emissario. Vi è un piccolo immissario palese: l'alimentazione idrica deriva inoltre dall'impiuvio e da verosimili sorgive sublacustri.

Dal punto di vista litologico il lago "si adagia" nel Verrucano Lombardo, roccia clastica rossastra composta prevalentemente di quarzo e minoritariamente di porfido: trattasi comunque di rocce con un notevole grado di permeabilità.

Dal punto di vista delle caratteristiche chimico-fisico delle acque, il lago ha una condizione peculiare essendo interessato da uno stato "meromittico": lo strato profondo, al di sotto

---

\* Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia, Via A. Bianchi, 7, 25100 Brescia.

\*\* Università degli Studi di Brescia.

dei 20 m circa fino alla massima profondità, non circola, cioè le sue acque non si rimescolano con quelle di superficie con conseguente anossia e presenza di gas nocivi tipo acido solfidrico e ammoniacale. Queste cattive condizioni sono causa di una scarsa o nulla biocenosi di fondo (BARBATO, 1986).

La fauna ittica presente nelle acque del lago è costituita dalle seguenti specie prevalenti: persico reale, persico sole, cavedano, scardola, anguilla, tinca, coregone: quest'ultima considerata tipica del lago.

Vale la pena di riportare che nel mese di maggio del 1990 sono stati catturati con reti da fondo poste tra i 30 e 40 m di profondità diversi coregoni che quindi erano presenti nella zona asfittica con presenza di gas nocivi.

Nel settembre del 1994 si è verificata una moria di coregoni: sono stati raccolti circa trenta esemplari morti o morenti. Non essendo a conoscenza della consistenza numerica della specie si è anche temuto che la moria avesse interessato tutti gli individui presenti nelle acque.

Gli esemplari morti o morenti sono stati recapitati all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Brescia per le analisi del caso.

Fortunatamente negli anni seguenti, 1995-1996, i coregoni erano presenti nelle acque lacustri ed è stata accertata la loro frega.

## INTRODUZIONE

La foruncolosi è una malattia batterica sostenuta da *Aeromonas salmonicida* che generalmente si manifesta a temperature superiori a 16°C con emorragie cutanee, muscolari e viscerali diffuse e, nelle forme subacute e croniche, con formazione di aree di necrosi tessutale (HIRST J.D., 1991).

Tutte le specie di salmonidi sono sensibili alla foruncolosi che può colpire pesci di tutte le età appartenenti a popolazioni naturali e d'allevamento sia di acqua dolce che salmastra.

La specie *Aeromonas salmonicida* è stata suddivisa in 4 sottospecie: subsp. *salmonicida*, subsp. *achromogenes*, subsp. *masucida* e subsp. *smithia*. (AUSTIN *et al.*, 1989; *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 1994).

*Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* è considerata il ceppo tipico in quanto presenta precise caratteristiche biochimiche e genotipiche che la differenziano dalle altre sottospecie. Gli altri tre ceppi definiti atipici causano una patologia ulcerativa cutanea in diverse specie ittiche sia marine che d'acqua dolce (AUSTIN and AUSTIN, 1993).

Studi condotti sulle proteasi extracellulari prodotte da *Aeromonas salmonicida* hanno dimostrato che esistono anche differenze di patogenicità e di virulenza tra ceppi tipici e atipici (GUDMUNSDOTTIR B.K., 1996).

Il coregone è sensibile alle infezioni da *Aeromonas salmonicida* sostenute sia da ceppi tipici che atipici. In particolare sono stati descritti isolamenti di *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* da coregoni allevati intensivamente e da popolazioni naturali mentre *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* è stata riscontrata solo in coregoni allevati (KOSKI V.H. *et al.*, 1994).

Il caso riportato riguarda un episodio di foruncolosi che ha interessato esclusivamente una popolazione naturale di coregoni del Lago Moro ed ha causato un'elevata mortalità.

## DESCRIZIONE DEL CASO

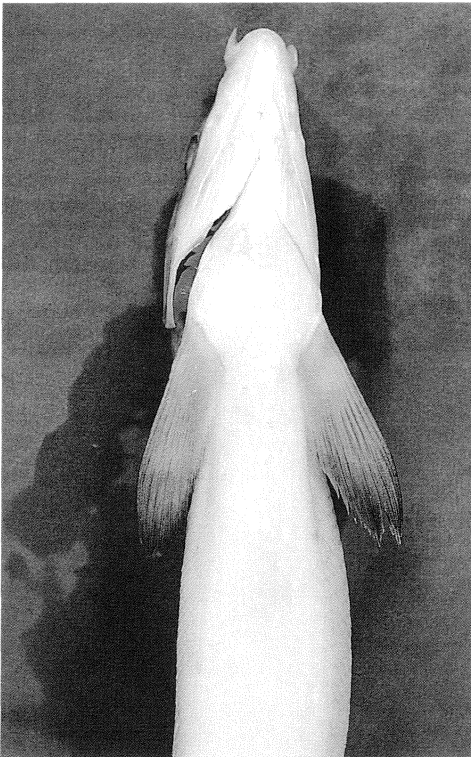
Il Lago Moro è un piccolo lago della Provincia di Brescia, nella media Val Camonica, ed ospita diverse specie ittiche, fra le quali i coregoni.

Il Lago è alimentato con acqua proveniente dal sottosuolo ed ha scarsi ricambi d'acqua giornalieri. Al momento della comparsa della malattia la temperatura dell'acqua in superficie era di 18 C°, l'ossigeno variava entro valori di 6-9 ppm.

La malattia è comparsa nel mese di settembre del 1994 ed ha colpito solamente coregoni adulti. L'infezione si è diffusa rapidamente fino ad interessare circa il 90% dei soggetti.

A 30 giorni dalla comparsa della malattia i coregoni non presentavano lesioni cutanee.

I soggetti colpiti si presentavano in buono stato di nutrizione con anemia branchiale e con emorragie diffuse soprattutto alla base delle pinne, alla porzione ventrale del corpo e all'occhio (Fig. 1). All'apertura della cavità celomatica la milza si presentava aumentata di volume, il fegato degenerato e la vescica natatoria cosparsa di emorragie (Fig. 2). Al taglio le lesioni cutanee erano limitate alla superficie esterna della cute e non interessavano il sottostante tessuto muscolare che appariva integro.



Figg 1-2 - Foruncolosi nel coregone (*Coregonus* sp.). Emorragie cutanee della superficie ventrale del corpo e alla base delle pinne e emorragie viscerali e alla vescica natatoria.

## MATERIALI E METODI

Dopo l'osservazione dei primi soggetti con sintomatologia conclamata sono stati prelevati 10 coregoni in due fasi diverse dell'infezione, esaminati singolarmente per valutare la presenza e la localizzazione delle lesioni. Inoltre i pesci sono stati sottoposti ad indagini parassitologiche, batteriologiche e virologiche. Le ricerche parassitologiche hanno previsto un esame microscopico diretto su branchie, cute e intestino. L'esame batteriologico è stato condotto seminando rene, fegato, cervello e lesioni cutanee su due terreni colturali quali agar sangue e TSA agar incubati a 20°C ed osservati per 48 h.

Dalle colonie batteriche tipiche sono state ottenute colture in purezza su BHI agar e sottoposte successivamente ad identificazione mediante prove biochimiche in accordo con altri Autori (AUSTIN, 1987) e test sierologici di agglutinazione con antisieri specifici (BERNETH and BOHM, 1988).

Le indagini virologiche sono state condotte inoculando colture di tre differenti linee cellulari: RTG-2 (WOLF *et al.*, 1966), BF-2 (ZWILLENBERG & WOLF, 1968; ROBIN *et al.*, 1984; Berthiaume *et al.*, 1984) ed EPC (FIJAN *et al.*, 1983). L'infezione è stata effettuata con omogenati antibiotati, in parte sonicati, ottenuti da pool di organi quali rene, fegato, milza e cervello e da tessuto cutaneo con lesioni precedentemente descritte. Le colture sono state incubate a 15°C e a 20°C e mantenute per tre passaggi seriali.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Gli esami parassitologici hanno evidenziato la presenza di *Trichodina* sp. dal raschiato cutaneo e branchiale. Le indagini virologiche hanno avuto costantemente esito negativo.

Dopo 48-72 ore di incubazione dalle colture di agar sangue di 7 pesci esaminati sono state osservate colonie batteriche tipiche convesse, regolari, lucide, di colore bianco-grigio e del diametro di 1-2 mm. Al microscopio sono stati osservati piccoli bacilli Gram negativi immobili produttori in agar un pigmento bruno. La produzione di pigmento bruno è una delle nove caratteristiche che consente di distinguere *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* da ceppi atipici anche se recentemente sono stati descritte varianti non in grado di produrre il pigmento (WIKLUND *et al.*, 1993).

In base alle indagini sierologiche e alle caratteristiche biochimiche riportate nella Tabella n. 1 sono stati identificati come *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida*.

Si può ipotizzare che la comparsa di questo episodio di foruncolosi nella popolazione di coregoni sia da imputare all'introduzione nel Lago Moro di salmonidi provenienti da allevamenti intensivi in cui è presente *Aeromonas salmonicida*. Recentemente sono state introdotte norme comunitarie e nazionali che hanno affrontato il problema sanitario del materiale ittico utilizzato per il ripopolamento di acque pubbliche in riferimento soprattutto alle patologie virali dei salmonidi. L'Ordinanza del Ministero della Sanità del 02-09-96 prevede infatti che i pesci utilizzati per le immissioni nelle acque pubbliche debbano provenire da allevamenti controllati e risultati indenni per la Setticiemia Emorragica e per la Necrosi Ematopoietica Infettiva. Anche la Foruncolosi è considerata una malattia importante dal punto di vista economico e commerciale; infatti la Legislazione Nazionale prevede che ogni Stato possa adottare dei piani di risanamento che coinvolgano specie ittiche sia allevate sia presenti nei corpi d'acqua superficiale.

Vere e proprie tecniche gestionali della pesca sportiva non sono applicate nelle acque del Lago Moro.

Tab. 1 - Caratteristiche biochimiche e morfologiche di *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* isolato da coregone.

Produzione di:		Crescita a/su	
arginina diidrolasi	-	30° C	+
pigmento bruno	+	37° C	-
catalasi	+	Mac Conkey agar	+
B galattosidasi	+	0-2% NaCl	+
H <sub>2</sub> S	-		
indolo	-	Produzione di acido da:	
lysina decarbossilasi	-	adonitolo	-
ornitina decarbossilasi	-	arabinosio	+
ossidasi	+	cellobiosio	-
		dulcitolio	-
Test del rosso metile	-	galattosio	+
Mobilità	-	glucosio	+
Riduzione dei nitrati	+	lattosio	-
Voges - Proskauer	-	maltosio	+
Degradazione di:		mannitolo	+
esculina	+	raffiniosio	-
sangue (emolisi)	+	ramnosio	-
caseina	+	sorbitolo	-
DNA	+	saccarosio	-
gelatina	+	trealosio	+
tween	+	xilosio	-
urea	-		
xantina	-	Utilizzazione del:	
		citrato di sodio	-

Negli ultimi anni nella trota iridea si è manifestata una certa resistenza alla malattia attribuita ad una selezione naturale sviluppatasi nel tempo nella specie ritenuta ospite primitivo (AUSTIN, 1987).

Il controllo della foruncolosi fino a pochi anni fa consisteva esclusivamente nell'utilizzo di specifici antibiotici somministrati mediante il mangime.

Nella situazione descritta in cui non sono impiegati alimenti artificiali la terapia antibiotica è di difficile realizzazione e può comportare gravi alterazioni dell'ambiente naturale (INGLIS *et al.*, 1996).

Lo sviluppo dell'allevamento di specie ittiche selvatiche a scopo di ripopolamento e l'aumento dell'importanza economica delle infezioni da *Aeromonas salmonicida* impone di applicare altre misure di profilassi diretta ed indiretta in particolare di saggiare l'efficacia di vaccini specifici anche in specie diverse dalla trota iridea.

## B I B L I O G R A F I A

- BARBATO G., 1986 - Il lago Moro. Monografia di "Natura Bresciana", 10, 84 pp.
- HIRST J.D., HASTINGS T.S., ELLIS A.F., 1991 - Siderophore production by *Aeromonas salmonicida*. Journal of General Microbiology, 137: 1185-1192.
- AUSTIN D.A. MCINTOSH D., AUSTIN B., 1989 - Taxonomy of fish associated *Aeromonas* spp., with the description of *Aeromonas salmonicida* subsp. smithia subsp. nova. Systematic and Applied Microbiology, 11: 277-290.
- AUSTIN B. AND AUSTIN D.A., 1993 - Aeromonadaceae representatives (*Aeromonas salmonicida*) In Bacterial Fish Pathogens: Diseases in Farmed and Wild Fish. Ed. Laird, L.M. 2nd edn. pp. 86-170 London: Ellis Horwood.
- KOSKI V.M., KOSKI P., NIIRANEN H., 1994 - Biochemical properties and drug resistance of *Aeromonas salmonicida* in Finland. Disease of Aquatic Organisms, 20: 191-196.
- GUDHUNSDOTTIR B.K., 1996 - Comparison of extracellular proteases produced by *Aeromonas salmonicida* strains, isolated from various fish species. Journal of Applied Bacteriology, 80: 105-113.
- AUSTIN B. AND AUSTIN D.A., 1987 - Bacterial fish pathogens: disease in farmed and wild fish. Ellis Harwood Limited, Chichester.
- BENOTH E.M. and BOHM K.M., 1988 - Serological comparison between isolated strain of *Aeromonas salmonicida* by Agglutination and Enzyme - Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Journal of Veterinary Medicine, 35: 637-647.
- INGLIS V., ROBERTSON D., MILLER K., THOMPSON K.D., RICHARDS R.H., 1996 - Antibiotic protection against recrudescence of latent *Aeromonas salmonicida* during furunculosis vaccination. Journal of Fish Disease, 19: 341-348.
- WIKLUND T., LONNSTRÖM L., NIIRANEN H., 1993 - *Aeromonas salmonicida* ssp. salmonicida lacking pigment production, isolated from farmed salmonids in Finland. Diseases of Aquatic Organisms, 15: 219-223.