

LA SAPROLEGNIOSI IN TROTE DI ALLEVAMENTO:
TRATTAMENTO SPERIMENTALE CON SALI MINERALI
DISCIOLTI IN VASCA DI MEDICAZIONE

EXPERIMENTAL TREATMENT WITH MINERAL SALTS IN BREEDING
TROUT WITH SAPROLEGNIOSIS

PAOLO MANI ⁽¹⁾, SILVIA ZANOBINI ⁽²⁾, ELIO CACCIUTTOLO ⁽²⁾, FABIO
MACCHIONI ⁽¹⁾, PAOLO BERNI ⁽³⁾, GIACOMO ROSSI ⁽⁴⁾

RIASSUNTO

Il Cloruro di sodio (NaCl) a diversi tempi di trattamento ed a concentrazioni variabili è utilizzato nella terapia di infezioni cutanee in genere e di Saprolegniosi in particolare, in pesci di acqua dolce. Nella nostra sperimentazione, nella prima fase sono stati utilizzati NaCl e CASO (NaCl 67% e CaCl₂ 33%) a diverse concentrazioni su trote adulte sane in vasche di stabulario allo scopo di rilevare, comparativamente, tollerabilità, assenza di tossicità e durata dei trattamenti; nella seconda è stato utilizzato CASO alla concentrazione di 1,5%, in apposita vasca di medicazione su riproduttori di trota fario (*Salmo trutta*) ed iridea (*Salmo gairdnerii*) colpite da Saprolegniosi. Le trote, dopo sette giorni di permanenza in vasca di medicazione sono state catturate e sottoposte a controlli clinici, esami micologici e batteriologici. Le lesioni cutanee hanno evidenziato il distacco delle pseudomembrane, la progressiva riduzione delle aree ulcerose e l'inizio del processo di cicatrizzazione. Gli esami micologici e batteriologici hanno evidenziato l'assenza di miceti e batteri sulle ulcere cutanee. I riproduttori, successivamente tenuti in osservazione per tre settimane in vasca post medicazione, hanno mostrato riadattamento all'acqua dolce, assenza di sintomi generali ed ulteriore progresso dei processi riparativi cutanei.

Parole chiave: NaCl, CASO, trota, saprolegniosi.

SUMMARY

In the therapy of skin infection, and in particular in the therapy of Saprolegniosis in the freshwater fish, the Sodium Chloride is utilized at various times of treatment and at variable concentrations. In our study, in a first step, we have used NaCl and CASO (NaCl 67% and CaCl₂ 33%) on healthy mature trout at various concentrations, to estab-

⁽¹⁾Dipartimento Patologia Animale, Profilassi e Igiene degli Alimenti, Direttore Prof. Giovanni Braca.

⁽²⁾Collaboratore esterno.

⁽³⁾Dipartimento di Agronomia e gestione dell'agroecosistema, Direttore Prof. Sergio Miele.

⁽⁴⁾Dipartimento di scienze veterinarie, Università di Camerino.

lish tolerability, toxicity and times of treatment. In a second step we have used in a medicated fish pond, on mature trout with saprolegniosis, CASO at the concentration of 1.5%. Clinical controls were done at six, twelve and twenty-four hours, and at 2, 3, 4, 5, 6 days. After 7 days of treatment some trout were captured for clinical, mycological and bacteriological controls. In the skin lesions, we saw the detaching of the pseudomembranes, the progressive reduction of ulcerous areas and the start of the healing process. Mycological and bacteriological exams have shown the absence of fungus and bacteria on skin ulcer. Then, the trout were transferred in a no medicated fish pond and observed for other tree week. In this period we looked at the readaptation at the freshwater, the absence of general symptoms and the progress of healing process of the skin.

Key words: NaCl, CASO, trout, saprolegniosis.

INTRODUZIONE

Nell'allevamento intensivo della trota, le micosi cutanee da *Saprolegnia spp*, rappresentano un serio problema soprattutto nel periodo invernale, quando col sopraggiungere della stagione riproduttiva, si vengono a creare le condizioni predisponenti per l'instaurarsi della malattia: temperatura dell'acqua e lesioni cutanee da spremitura o da aggressività. Ciò sia perché il verde malachite e la formalina non possono, per legge, più essere utilizzati, sia perché altri disinfettanti o farmaci antimicotici risultano di scarsa efficacia.

Diversi autori (Tampieri et al., 1999, Vivar et al., 1998, Kitanchoen et al., 1997, Amadei et al., 1996, Schreier et al., 1996, Marking et al., 1994) riferiscono che i sali minerali ed in particolare il NaCl sono utilizzati nella terapia delle patologie della cute ed in particolare della Saprolegniosi.

Da nostri controlli è emerso che, in alcuni allevamenti di trote dell'alta Garfagnana, il sale marino è utilizzato disciolto direttamente nelle vasche dei riproduttori; tale trattamento ha trovato il favore degli allevatori per la sua innocuità, il modesto impatto ambientale, il basso costo e l'assenza di residui nelle carni, anche se i risultati non sono stati sempre soddisfacenti. Al fine di valutare l'efficacia di tale trattamento è stata condotta una sperimentazione su NaCl ed in particolare su CASO (Solvay) perché contenente, oltre al 67% di NaCl, il 33% di CaCl₂.

La ricerca ha previsto due fasi: la prima in vasche in stabulario, su animali sani, allo scopo di valutare, con una sperimentazione compa-

rativa, l'assenza di tossicità dei prodotti a diverse concentrazioni ed a differenti tempi di trattamento; la seconda, in allevamento, in apposita vasca di medicazione, con controlli pre- e post- trattamento, su trote colpite da Saprolegniosi.

MATERIALI E METODI

Per i trattamenti con NaCl, è stato utilizzato il comune sale grosso da cucina (sale marino per uso alimentare) in confezioni da 1 Kg.

I trattamenti effettuati con CASO (NaCl 67% e CaCl₂ 33%), hanno previsto l'utilizzo di questo residuo di lavorazione della Soda Solvay, fornito dal produttore in sacchi da 15 Kg.

I trattamenti di solubilizzazione del CaCl₂ nelle acque trattate con CASO sono stati effettuati con aggiunta di HCl 1N in confezioni da 1000 ml (Carlo Erba, Milano).

Per la prova in stabulario sono state utilizzate n. 30 trote (*Salmo gairdnerii*) d'allevamento del peso oscillante fra 800 e 900 grammi, soggetti adulti e sani.

Per il test in vasca di medicazione in allevamento, sono stati utilizzati n. 60 riproduttori di trota fario (*Salmo trutta*) e iridea (*Salmo gairdnerii*) con lesioni da *Saprolegnia spp.*

Per il test comparativo NaCl – CASO, a diverse concentrazioni su trote sane, sono state utilizzate sei vasche di cemento, di forma cilindrica, della capacità di circa 400 litri, riempite con 350 L di acqua (potabile, di pozzo di falda profonda) ed all'interno di ciascuna sono stati predisposti gli ossigenatori. In due vasche è stato disciolto NaCl alla concentrazione, rispettivamente, del 1% e del 1,5%. In tre vasche, è stato aggiunto il CASO alle concentrazioni di 0,5, 1 e 1,5%, e HCl 1N alla dose di 2,5 ml/litro. Una vasca con acqua non trattata è stata utilizzata come controllo. In ognuna delle sei vasche sono state immerse cinque trote adulte sane. Controlli clinici sono stati predisposti a 6, 12 e 24 ore ed al 2°, 3°, 4°, 5° e 6° giorno dall'inizio della sperimentazione. Al 7° giorno è stata reintrodotta nelle vasche acqua dolce, per un controllo, post trattamento, di due settimane.

Per la fase sperimentale in allevamento è stata progettata una vasca in PVC, detta di seguito vasca di medicazione (V.M.), di forma rettangolare, delle dimensioni di 2 x 3 m per 1 m di profondità e della



Fig. 1. Visione schematica d'insieme della vasca in cemento utilizzata per ricavare i settori V.C. a monte e V.P.M. a valle, con al suo interno la vasca di medicazione in PVC. *Schematic view of the cement fish-pond divided into the 3 section.*

capacità massima di poco superiore ai 6 m³. Questa, posizionata all'interno di una vasca in cemento delle dimensioni di 25 x 2,60 x 1,5 m, è sostenuta da pali che poggiano sul bordo (Fig. 2).

Le due vasche sono riempite di acqua contemporaneamente e quando in V.M. si raggiunge il 50% della capienza, il riempimento viene sospeso per permettere di aggiungere i reagenti: CASO alla concentrazione dell'1,5%, e HCl 1N alla dose di 2,5 ml/Litro.

Si procede quindi al riempimento, fino all'80% della capienza massima, avendo cura di mantenere il livello interno in equilibrio con



Fig. 2. Vasca di medicazione in fase di riempimento. *Medicated fish-pond during the filling step.*

quello esterno; vengono quindi posizionati gli ossigenatori e predisposto il pompaggio dell'acqua a circuito chiuso per circa due ore, in maniera da ottenere un rimescolamento uniforme dei reagenti e favorire la solubilizzazione.

La V.M. è sistemata in prossimità della griglia di deflusso della vasca in cemento che è separata in due settori da una rete fissa posta alcuni metri a monte della vasca di medicazione stessa. Si vengono a creare così due settori distinti: a monte abbiamo la vasca di controllo (V.C.) destinata a pesci non trattati, a valle la vasca post medicazione (V.P.M.), destinata ai pesci trattati ed all'interno di questa ultima è presente, ma indipendente da questa, la V.M. (Fig. 1).

Dal settore riproduttori vengono catturati 60 soggetti con lesioni (più o meno estese) da *Saprolegnia spp* e trasferiti nel settore sperimentale. 10 trote con lesioni di differente gravità sono immerse in V.M. e, contemporaneamente, 50 trote vengono immerse in V.C.

Controlli periodici hanno permesso di rilevare lo stato sanitario, la reattività ed il comportamento dei pesci nei due settori. Le trote sono state tenute sotto osservazione continuamente per le prime quattro ore, allo scopo di rilevare la reazione degli animali al nuovo ambiente, le modificazioni macroscopiche delle lesioni, segni di sofferenza e/o decessi.

La V.M. è stata utilizzata, in successione, per due prove su due gruppi di 10 soggetti ciascuno. Controlli micologici e batteriologici negli animali vivi sono stati effettuati con prelievi mediante tamponi dalle lesioni cutanee, prima (al momento del trasferimento dei pesci nella vasca di medicazione), durante il trattamento (a 24 ore e a 7 giorni di permanenza in vasca di medicazione) e post trattamento (dopo 7, 14 e 21 giorni di permanenza in V.P.M).

Gli animali rinvenuti morti nelle tre vasche, nel corso della sperimentazione, sono stati sottoposti a necropsopia e controlli micologici e batteriologici (da lesioni cutanee, da branchie, fegato, milza e rene).

I tamponi ed il materiale patologico prelevato è stato seminato su piastre contenenti terreni adatti alla crescita dei miceti quali "Corn Meal Agar" e "GY Pox agar" e su terreni per l'isolamento di batteri: "Agar sangue" e "Agar SS" ed infine su terreni liquidi di arricchimento per l'isolamento di *Enterobacteriacee*. Prima di seminare le piastre per i controlli micologici, il materiale in esame è stato trattato con Gentamicina per inibire la crescita batterica.

RISULTATI E DISCUSSIONE

L'aggiunta di HCl si è dimostrata indispensabile per rendere solubile il CaCl_2 contenuto nel CASO.

Nel test comparativo in stabulario i due prodotti utilizzati sono risultati facilmente tollerati dalle trote a tutti i tempi di esposizione ed alle diverse concentrazioni, con sopravvivenza di tutti i pesci ed assenza di sintomi generali e/o specifici quali esoftalmo e iperpigmentazione della cute che indicano uno stato di stress.

Nella fase sperimentale in allevamento, i controlli clinici hanno evidenziato, sia in V.M. che in V.C., che le trote rimanevano preferibilmente ferme sul fondo, apparivano poco reattive alla somministrazione di mangime ed a stimoli esterni quali l'improvvisa comparsa di persone a bordo vasca. Si è osservato, già dalle prime ore di permanenza in V.M., in ambedue i gruppi di 10 soggetti trattati, il distacco del pannicolo superficiale dal tessuto muscolare sottostante, che caratterizza le lesioni da Saprolegnia. (Fig. 3 e 4).

Dopo 7 giorni di permanenza in V.M., al momento della cattura e del trasferimento nella V.P.M. le trote apparivano reattive e, mediamente, in buone condizioni generali, in relazione alla gravità ed alla estensione delle lesioni, che risultavano prive di patina micotica e bat-



Fig. 3. Lesioni da Saprolegnia dopo immissione in vasca V.M. in soggetto con estese lesioni ed in soggetto con modeste lesioni. *Saprolegnia lesions on trout, after introduction in medicated fish-pond, with great and small lesions.*



Fig. 4. Lesioni da Saprolegnia dopo 4h in vasca V.M. inizio della fase di distacco delle pseudomembrane. *Saprolegnia lesions after 4 hours of treatment. Beginning of the pseudomembrane's detaching.*

terica e con evidenti segni di cicatrizzazione confluyente dai margini (dove era presente materiale necrotico residuo) verso il centro (Fig. 5). In V.M. è stata riscontrata la morte di due trote per gruppo, ed in V.C. una mortalità del 25% mentre in V.P.M. non è stata riscontrata mortalità per tutto il tempo della sperimentazione.



Fig. 5. Aspetto delle lesioni in fase di cicatrizzazione dopo 7 giorni di permanenza in vasca di medicazione. *Lesions in phase of healing after 7 days of treatment.*

Tab. I. Risultati dei controlli clinici micologici e microbiologici. *Results of the clinical, mycological and bacteriological controls.*

	Sintomi Generali <i>General symptoms</i>	Lesioni. <i>Lesions</i>	Controllo Micologico <i>Mycological Controls</i>	Controllo Batterologico <i>Bacteriological Controls</i>
V.C. Pre Trattamento. <i>Before Treatment</i>	+	+++	+	+
V.M a 7 gg. <i>After 7 days of treatment</i>	+	++	-	-
V.P.M a 14 gg. <i>Follow up at 14 days</i>	+	+	-	-
V.P.M. a 21 gg. <i>Follow up at 21 days</i>	+-	+-	-	-
V.P.M. a 30 gg. <i>Follow up at 30 days</i>	+-	+-	-	-

Dai controlli micologici e microbiologici delle lesioni cutanee pre-trattamento è stato possibile isolare *Saprolegnia ferax* e batteri appartenenti ai generi *Aeromonas*, *Citrobacter* e *Proteus*.

Dalla Tabella I, nella quale sono stati riportati i risultati delle analisi batteriologiche e micologiche e dei controlli clinici, si evince che dopo 7, 14, 21 e 30 giorni dall'inizio del trattamento, i prelievi da cute sono risultati negativi per miceti e batteri e che, contemporaneamente, mentre le condizioni generali delle trote rimanevano stazionarie, le lesioni cutanee tendevano gradualmente, anche se lentamente, a cicatrizzare. Nelle trote non trattate in V.C. le lesioni cutanee rimanevano, infatti, dell'aspetto cotonoso caratteristico della Saprolegniosi tendendo ad infiltrarsi nelle branchie come evidenziato all'esame necroscopico delle trote rinvenute morte in tale vasca di controllo durante la sperimentazione.

L'efficacia del trattamento ed il basso costo del CASO Solvay (residuo di lavorazione della Soda), rispetto al sale industriale in commercio, suggeriscono l'applicazione del metodo messo a punto con la vasca di medicazione, sia a scopo terapeutico che profilattico. Utilizzare il trattamento nei riproduttori prima della spremitura può infatti limitare i danni conseguenti all'insediamento di *Saprolegnia spp.* sulle lesioni cutanee e nel contempo abbassare la carica batterica e dei miceti nelle uova e nello sperma riducendo il livello di contaminazione nel settore di incubazione e schiusa e di conseguenza nell'allevamento degli avannotti. Proseguire il trattamento dei riproduttori

dopo la spremitura potrebbe inoltre contribuire a limitare le perdite da Saprolegniosi in questo settore dell'allevamento.

BIBLIOGRAFIA

- AMADEI A., GIORGETTI G., MALVISI J. (1996). Possibili alternative al verde Malachite nella terapia di Saprolegniosi, Ictioftiriasi e Malattia proliferativa renale (M.P.R.). Riv. It. Acq., 31: 119-126.
- KITANCHAROEN N., ONO A., YAMAMOTO A., HATAI K. (1997). The fungistatic effect of NaCl on rainbow trout egg saprolegniasis. Fish Pat., 32 (3): 159-162.
- MARKING L.L., RACH J.J., SCHREIER T.M. (1994). Evaluation of antifungal agents for fish culture. Prog. Fish Cul., 56: 224-231.
- SCHREIER T.M., RACH J.J., HOWE G.E. (1996). Efficacy of formalin, hydrogen peroxide, and sodium chloride on fungal-infected rainbow trout eggs. Acq., 140: 323-331.
- TAMPIERI M.P., GALUPPI R., CAFFARA M., MALVISI J. (1999). Studio dell'attività antimicotica di alcuni prodotti nei confronti di *Saproegnia spp.* Prove preliminari "in vitro". 5° Convegno S.I.P.I., Roma.
- VIVAR V., BERNALI M.F. (1998). Saprolegniales control by acetic acid, sodium chloride and malaquite green in eggs of rainbow trout. Bul. Mic. Vol., 13 (1-2): 29-34.