

**Segnalazione di *Spraguea lophii* in rana pescatrice
(Actinopterygii, Lophiidae)**

*Record of Spraguea lophii in goosefishes
(Actinopterygii, Lophiidae)*

**Maria Teresa Manfredi^{1*}, Gabriele Gandini², Fedora Garzella³,
Gabriele De Santis³**

¹ DIPAV, Dipartimento di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Patologia Generale e Parassitologia, Università degli Studi di Milano

² Ministero della Salute, UVAC Emilia-Romagna, Bologna

³ Ministero della Salute, UVAC Toscana, Posto d'Ispezione Frontaliero Livorno-Pisa

RIASSUNTO – È stato effettuato l'esame parassitologico delle masse muscolari di rane pescatrici (*Lophius vomerinus*; *Lophius piscatorius* e *Lophius litulon*) importate da diversi paesi. *L. vomerinus* proveniva esclusivamente dalla Namibia e Sud Africa e *L. litulon* dalla Cina. È stato condotto un esame macroscopico della muscolatura preparata in sezioni longitudinali sottili, sono stati effettuati inoltre dei preparati istologici colorati con ematossilina-eosina e degli strisci di materiale colorati con May Grünwald Giemsa. Nessuna forma parassitaria è stata riscontrata a livello muscolare mentre sono state osservate lesioni causate da *Spraguea lophii*. Questo protozoo microsporidico infetta le cellule gangliari dei gangli extracraniali del cervello e dei nervi spinali dando luogo alla produzione di xenomi. *S. lophii* è segnalato per la prima volta in *Lophius vomerinus* e *Lophius litulon*.

SUMMARY - Parasitological examinations of the flesh of goosefishes (*Lophius vomerinus*; *Lophius piscatorius* and *Lophius litulon*) imported to Italy were carried out. *L. vomerinus* were from Namibia and South Africa and *L. litulon* from China. Macroscopic exams of the flesh by thin slices, histological section stained by haematoxylin-eosin and smears stained by May Grünwald Giemsa were performed. No parasites were found in the muscular tissues whereas lesions by *Spraguea lophii* were observed. The protozoan microsporidian infected the ganglion cells of the extracranial ganglia of the brain or the spinal nerves forming xenomas. The protozoan were firstly reported in goosefishes belonging to the species *Lophius vomerinus* and *Lophius litulon*.

Key words: Fish, Lophiidae, Goosefish, Protozoa, *Spraguea lophii*

* Corresponding Author: c/o DIPAV, Dip. di Patologia Animale, Igiene e Sanità Pubblica Veterinaria, Sezione di Patologia Generale e Parassitologia, Università degli Studi di Milano, via Celoria 10, 20133 Milano – Italia. Tel. 02-50318098; Fax 02-50318095; E-mail: mariateresa.manfredi@unimi.it

INTRODUZIONE

La rana pescatrice è un pesce marino bati-demersale che può raggiungere dimensioni ragguardevoli (200 cm di lunghezza standard e 57,7 kg di peso massimo). Con questo nome comune sono conosciute diverse specie, in particolare *Lophius piscatorius* è la più nota e la più diffusa. Le aree di pesca sono quelle dell'Atlantico orientale, del Mar Mediterraneo e del Mar Nero. È un pesce di elevato valore commerciale ed è generalmente venduto spellato e senza testa con il nome di "coda di rospo". Tuttavia, il consumo è abbastanza limitato e il prodotto in Italia è totalmente importato (FISH DATABASE). Dal punto di vista biologico, i pesci Lophiidae sono stati ampiamente studiati, mentre scarse sono le conoscenze relative agli agenti patogeni in genere e nello specifico a quelli parassitari (Woo, 1995).

In seguito alla segnalazione di una partita di code di rospo provenienti dal Brasile risultata infestata massivamente da larve di cestodi *Trypanorhyncha*, è stata avviata una indagine al fine di verificare questo riscontro e identificare specificamente il parassita. Tuttavia, i pesci campionati successivamente e oggetto della nostra indagine sono risultati parassitati da un protozoo microsporide che abbiamo ritenuto opportuno segnalare sia per le caratteristiche lesioni macroscopiche riscontrabili all'esame ispettivo sia per un ulteriore apporto di dati epidemiologici sulla diffusione di questo parassita.

MATERIALI E METODI

Sono stati sottoposti ad esame parassitologico le masse muscolari di 128 rane pescatrici [*Lophius vomerinus* (Valenciennes, 1837) sin. *Lophius uspiccephalus*; *Lophius piscatorius* (Linnaeus, 1758); *Lophius litulon* (Jordan, 1902)] di varie provenienze (Tab. 1). *L. vomerinus* proveniva solamente dalla Namibia e Sud Africa e *L. litulon* dalla Cina. I pesci sono stati campionati dai Servizi Veterinari di alcune Unità Socio Sanitarie dell'Emilia Romagna e dal Posto d'Ispezione Frontaliero di Livorno. I pesci esaminati si presentavano spellati, eviscerati e privi di estremità cefalica. Il loro peso variava dai 150 g. per quelli di piccola taglia, ai 420-430 g. per quelli di medie dimensioni e fino a circa 2 kg per quelli più grandi. L'esame della muscolatura è stato eseguito per via macroscopica effettuando delle sezioni longitudinali sottili. Dalle lesioni parassitarie sono stati effettuati inoltre dei preparati istologici colorati con ematossilina-eosina e degli strisci di materiale colorati con May Grünwald Giemsa.

Specie ospite	Provenienza	N° pesci esaminati	N° pesci infetti da <i>Spraguea lophii</i>	Frequenza
<i>Lophius vomerinus</i>	Namibia	81	52	64,2%
<i>Lophius litulon</i>	Cina	16	1	6,2%
<i>Lophius vomerinus</i>	Sud Africa	24	20	83,3%
<i>Lophius piscatorius</i>	Danimarca	3	0	---
<i>Lophius piscatorius</i>	Olanda	2	2	100%
<i>Lophius piscatorius</i>	Gran Bretagna	1	0	---
<i>Lophius piscatorius</i>	Brasile	1	0	---

Tabella 1 – Campioni analizzati e risultati infetti dal protozoo *Spraguea lophii*
 Table 1 – Data on fish sampled and infected by the protozoan *Spraguea lophii*

RISULTATI

I pesci sono risultati parassitati unicamente da *Spraguea lophii* (Doflein, 1898) [(Weissenberg, 1976); syn. *Glugea lophii*, (Doflein, 1898)]. Nella Tab. 1 sono riportate le frequenze di infezione differenziate per area di cattura del pesce. Si tratta di un protozoo appartenente al phylum Microspora, ordine Microsporidia, subordine Pansporoblastina, famiglia Glugeidae (Fig. 1). È un parassita frequente in *L. piscatorius* e *L. budegassa* catturati lungo le coste mediterranee, atlantiche e del Mare del Nord, in *L. americanus* dell'Atlantico settentrionale e in *L. gastrophysus* pescato lungo le coste del Brasile. In particolare, *S. lophii* infetta le cellule gangliari dei grandi gangli extracraniali del cervello e dei gangli dei nervi spinali dando luogo alla produzione di xenomi, singoli o associati a formare delle strutture a grappolo (Fig. 4). All'esame macroscopico dei pesci esaminati nel corso della nostra indagine, sono stati riscontrati xenomi ben sviluppati, riconducibili strutturalmente ad uno stadio produttivo costituito da una massa di spore mature e da una parete (Fig. 2-3). Negli xenomi di maggiori dimensioni (1-2 cm circa) erano pure evidenti i segni di una infiammazione proliferativa (Fig. 5).

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

S. lophii è un microsporidio dimorfico che produce 2 tipi di spore, uninucleate e binucleate, queste ultime sono incurvate. Le cellule gangliari infette danno origine a uno xenoma delimitato da una membrana derivante dalla cellula ospite e hanno un singolo nucleo ipertrofico (Loubès *et al.*, 1979). L'infezione ha origine in un processo della cellula gangliare, la formazione può aumentare notevolmente di dimensioni e addirittura separarsi dal resto della cellula che viene funzionalmente eliminata. Il citoplasma residuo forma un involucro intorno alla massa parassitaria. Gli xenomi appena formati sono costituiti da meronti, spore ovali uninucleate (4,2 x 2,5 µm) e dalla membrana derivante dalla cellula ospite. Non si apprezzano reazioni cellulari, il tessuto circostante è interessato da fenomeni di atrofia causati dalla compressione esercitata da queste masse e solo successivamente prenderà l'avvio una proliferazione connettivale che tenta di isolare lo xenoma. Gli xenomi maturi, ripieni di spore binucleate, assottigliate e incurvate (3,7 x 1,4 µm), a seguito del processo infiammatorio proliferativo presentano modificazioni nella parete che appare edematosa ed infiltrata da fibroblasti. Il tessuto di granulazione neoformato progressivamente invade lo xenoma e porta a riduzione della massa di spore fino alla loro totale scomparsa per fenomeni di fagocitosi. A questo punto lo xenoma va incontro ad involuzione, il tessuto di granulazione diminuisce e la lesione si separa gradualmente. Molto spesso si può arrivare alla completa riparazione. La reazione tissutale allo xenoma è diretta soprattutto all'isolamento del parassita e la possibilità di un'auto infezione sembra molto limitata, non sono mai stati trovati xenomi secondari derivati da spore fuoriuscite dai confini di uno xenoma principale (Dykova & Lom, 1980). Le funzioni vitali dell'ospite non sembrano compromesse sebbene molti gangli di uno stesso soggetto possano essere infetti; in alcuni campioni abbiamo infatti osservato che xenomi erano presenti a livello di tutti i gangli (extra-craniali e spinali) di entrambi i lati, sebbene quelli di maggiori dimensioni sono stati riscontrati solo a livello dei gangli extra-craniali (Fig. 2) (Lom & Dykova 1992).

S. lophii è un protozoo che appare associato a pesci del genere *Lophius* in cui è particolarmente diffuso per lo meno in alcune aree geografiche; nello specifico della nostra indagine, tenendo nella dovuta considerazione i limiti del campionamento, i dati scaturiti confermano la sua diffusione in questi pesci e aggiungono nuove informazioni. Relativamente alle specie risultate infette, *L. vomerinus* e *L. litulon* sono da annoverare tra le

specie sensibili in quanto *S. lophii* non è stata precedentemente segnalata in questi pesci. Per altro, il protozoo appare diffuso anche all'Oceano Pacifico Settentrionale sebbene la frequenza di infezione nei pesci provenienti da quest'area non appare elevata (6,2%). Nel merito, occorre tuttavia sottolineare che i campioni provenienti dalla Cina erano tra i più piccoli e se, come alcuni autori hanno segnalato, l'infezione aumenta con l'età questo può aver influito sulla frequenza osservata (Priebe, 1971).

Relativamente alla sua patogenicità, gli ospiti infetti da *S. lophii* apparentemente non presentano segni di malattia sebbene l'infezione si protrae per lungo tempo e si trasmette da un pesce all'altro solo dopo la morte del pesce infetto. Infatti, le spore di *S. lophii* sono in grado di sopravvivere nell'ambiente esterno (Weidner & Findley, 1999). Questo protozoo non risulta essere patogeno per l'uomo, tuttavia è opportuno sottolineare che le spore dei protozoi microsporidi sono comuni nell'ambiente e nelle acque e numerosi generi di microsporidi sono stati identificati come patogeni opportunisti soprattutto in pazienti affetti da AIDS (Weiss, 2001). Per altro, non è da trascurare l'eventualità che questi protozoi producano degli allergeni che rilasciati nelle carni del pesce siano in grado di scatenare nell'uomo forme di sensibilizzazione. Recentemente, a parte gli allergeni prodotti da *Anisakis* e resistenti alla cottura, è stato dimostrato che altri parassiti dei pesci sono potenzialmente allergenici. In particolare, sperimentalmente è stato osservato che i plerocercoidi di *Gymnorhynchus gigas* e le spore del protozoo Myxosporea *Kudoa* inducono una risposta umorale e la ripetuta esposizione agli allergeni di questi parassiti provoca delle reazioni anafilattiche (Vázquez-López *et al.*, 2001, Martínez de Velasco *et al.*, 2002)

BIBLIOGRAFIA

- Dykova I. & Lom J. (1980). Tissue reactions to microsporidian in fish. *J. Fish Dis.*, 3: 265-283.
- Lom J. & Dyková I. (1992). Protozoan parasites of fishes. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 26 Elsevier: 315 pp.
- Loubès C., Maurand J. & Ormières R. (1979). Étude ultrastructurale de *Spraguea lophii* (Doflein, 1898), microsporidie parasite de la baudroie: essai d'interprétation du dimorphisme sporal. *Protostologica*, 15 : 43-54.
- Martínez de Velasco G., Rodero M., Zapatero L. & Cuéllar C. (2002). Humoral immune responses induced by *Kudoa* sp. (Myxosporea: Multivalvulida) antigens in BALB/c mice. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 97: 1091-1095.
- Priebe K. (1971). Zur Verbreitung des Befalls des Seeteufels (*Lophius piscatorius*) mit *Nosema lophii* auf Fischfangplätzen in östlichen Nordatlantik. *Archiv. für Fischereiwissenschaft*, 22: 98-102.
- Vázquez-López C., De Armas-Serra C., Bernardina W. & Rodríguez-Cabeiro F. (2001). Oral inoculation with *Gymnorhynchus gigas* induces anti-parasite anaphylactic antibody production in both mice and rats and adverse reactions in challenge mice. *Intern. J. Food Microbiol.*, 64: 307-315.
- Weidner E. & Findley A. (1999). Extracellular survival of an intracellular parasite (*Spraguea lophii*, Microsporea). *Biological Bulletin*, 197: 270-271.
- Weiss L. M. (2001). Microsporidia: emerging pathogenic protists. *Acta Tropica*, 78: 89-102.
- Woo P.T. K (1995). Fish Diseases and disorders, Vol. 1. Protozoan and Metazoan Infections. *CAB International*: 808 pp.

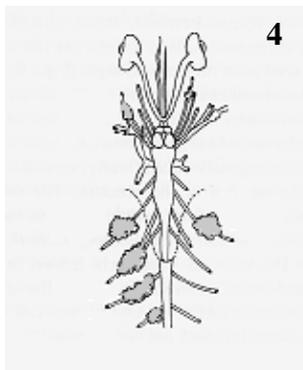
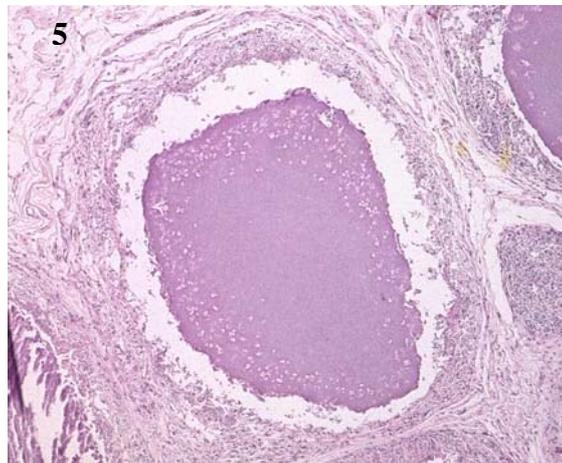
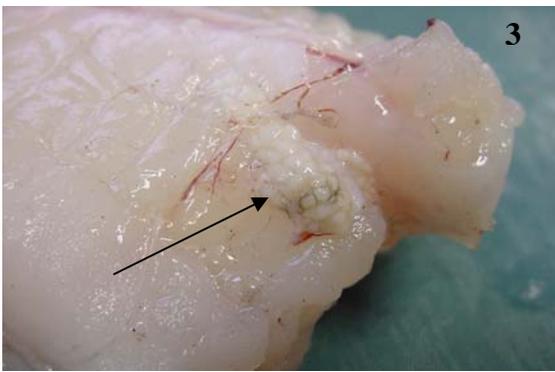
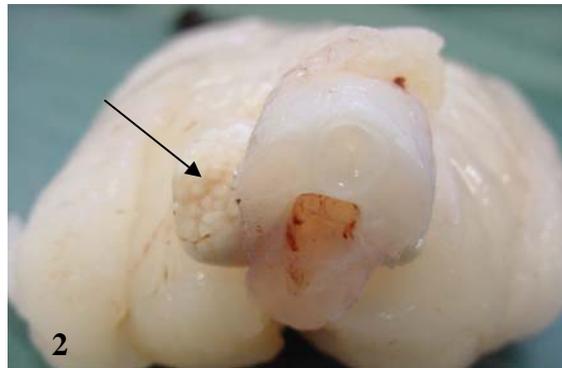
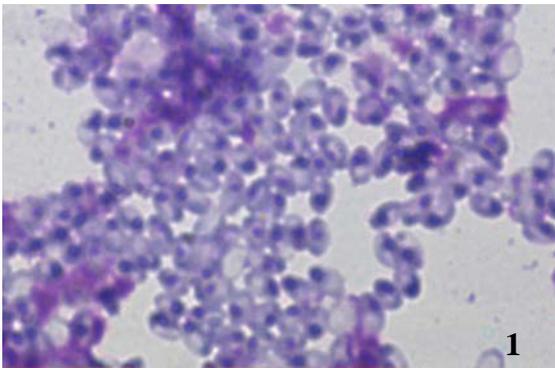


Figura 1 – Spore di *Spraguea lophii* (1.000 x)
Figura 2 – Xenoma causato da *Spraguea lophii*
Figura 3 – Xenoma causato da *Spraguea lophii* con il tipico aspetto lobulato
Figura 4 – Schema raffigurante la localizzazione degli xenomi (masse grigie) a livello dei gangli del sistema nervoso (modificato da Lom & Dykova, 1992)
Figura 5 – Sezione istologica di uno xenoma di *S. lophii*
Figure 1 – *Spraguea lophii* spores (1000 x)
Figure 2 – *Spraguea lophii* xenoma
Figure 3 – *Spraguea lophii* xenoma which resemble a bunch of grapes
Figure 4 – Drawing of xenomas (in grey) in ganglia cells of the nerves (Lom & Dykova. 1992, modified)
Figure 5 – Histological section of *S. lophii* xenoma