

L'uso di sostanze naturali come terapeutici in acquacoltura

Donatella Volpatti¹, Valentina Pacorig¹, Chiara Bulfon¹, Claudia Honisch², Paolo Ruzza², Marco Galeotti¹

¹Università degli Studi di Udine – Dipartimento di Scienze Agro-Alimentari, Ambientali e Animali, Udine, Italia – valentina.pacorig@uniud.it

²ICB CNR – Padova, Italia

La profilassi, basata sull'uso di sostanze immunostimolanti e vaccini, rappresenta il metodo d'elezione per il controllo delle malattie infettive in acquacoltura. Tuttavia, negli allevamenti si verificano ancora focolai di malattie infettive, causando perdite massive e rendendo talvolta necessario il ricorso agli antibiotici. L'uso improprio di queste sostanze è ampiamente criticato poiché determina lo sviluppo di fenomeni di antibiotico-resistenza tra i batteri patogeni dei pesci e la potenziale presenza di patogeni resistenti nei prodotti alimentari dell'acquacoltura che possono causare il trasferimento di geni di farmaco-resistenza ai batteri umani. Pertanto, è necessario ricercare nuove sostanze naturali con attività antibatterica e immunomodulante che possano essere applicate in acquacoltura in alternativa ai comuni antibiotici. I peptidi antimicrobici (AMP) rappresentano una classe promettente di composti bioattivi che sta attirando una crescente attenzione negli ultimi anni. Si tratta di oligopeptidi presenti in natura come componenti del sistema immunitario innato di quasi tutti gli organismi viventi. I vantaggi di queste molecole sono la loro attività antimicrobica ad ampio spettro e la scarsa possibilità di provocare fenomeni di resistenza, grazie alla rapida lisi delle membrane cellulari batteriche. Nell'ambito del progetto AdriAquaNet, il gruppo di Patologia Veterinaria dell'Università di Udine ha effettuato un ampio screening sulle proprietà antibatteriche e immunomodulanti di composti naturali, secondo il protocollo descritto in Figura 1, al fine di identificare nuove molecole da utilizzare nell'ambito dell'allevamento di branzino (*Dicentrarchus labrax*) e orata (*Sparus aurata*). In questo contesto, è stata indagata l'attività antibatterica di 14 peptidi antimicrobici forniti dall'ICB-CNR di Padova nei confronti di *Vibrio anguillarum* sierotipo O1 e *Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*. A tale scopo, sono state testate in micropiastre diluizioni seriali degli AMP e sono state determinate la minima concentrazione inibitoria (MIC) e la minima concentrazione battericida (MBC). Tra gli AMP testati, solo l'ibrido tra i peptidi Cecropin A (*Hyalophora cecropiae* Fig. 2) e Melittin (*Apis mellifera* Fig. 3), a due livelli di purificazione, ha mostrato un'evidente azione contro almeno uno dei due patogeni. I valori di MIC rilevati contro *P. damsela* subsp. *piscicida* sono risultati inferiori a quelli dell'ossitetra ciclina usata come antibiotico di riferimento. Successivamente, è stata testata la citotossicità di questi peptidi ibridi *in vitro* sulla linea cellulare SAF-1 (cellule di orata *fibroblast-like*), in vista di una loro possibile applicazione *in vivo*, dopo l'inclusione in un mangime medicato e la somministrazione ai pesci durante un *challenge* batterico. Il peptide ibrido purificato ha mostrato una moderata tossicità a concentrazioni paragonabili alla sua MIC contro *P. damsela* subsp. *piscicida*. Al contrario, il peptide grezzo non ha mostrato tossicità nei confronti di SAF-1 a concentrazioni paragonabili alla MIC e il suo valore IC50 è risultato essere superiore a quello del peptide purificato. L'analisi di questi risultati ha portato alla scelta del peptide grezzo come candidato per un test *in vivo* su piccola scala che sarà condotto prima della fine del progetto.

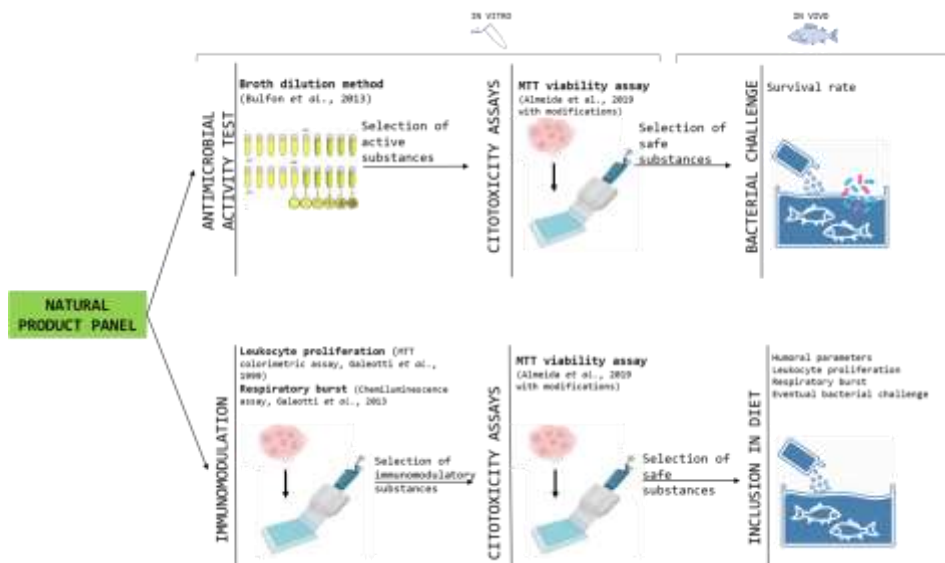


Figura 1. Protocollo utilizzato per lo screening delle proprietà antimicrobiche e immunomodulanti di un panel di composti di origine naturale nell'ambito del progetto AdriAquaNet. I prodotti sono stati testati adottando il metodo della diluizione in brodo per determinarne la loro attività antibatterica oppure sono stati testati su leucociti purificati da rene anteriore di branzino per valutarne le proprietà immunomodulanti (effetti sulla proliferazione cellulare e attività di burst respiratorio); successivamente, sono stati sottoposti al MTT viability assay, che consente di valutarne la citotossicità in vitro. Quindi, le sostanze che non hanno mostrato effetti citotossici sono state selezionate e indirizzate a una sperimentazione in vivo su piccola scala, al fine di determinare la loro efficacia come terapeutici quando incluse in un mangime medicato e somministrate ai pesci dopo un challenge batterico o come immunostimolanti dietetici per potenziare risposta immunitaria dei pesci e prevenire le infezioni.



Figura 2. *Hyalophora cecropiae*. www.nwf.org



Figura 3. *Apis mellifera*. wikipedia.org