



Resilrout

Fasi operative della selezione fenotipica: il progetto RESILTROUT

Sara Glorio Patrucco, Annalisa Cotugno, Giorgia Zicarelli

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

WORKSHOP API – IZSPLV

RESILTROUT – SELEZIONE GENOMICA PER UN'ACQUACOLTURA RESILIENTE

03/03/2026

N. identificativo progetto: IZS PLV 23E03
Protocollo Comitato Etico: IZSTO\I/U\0005147
Responsabile scientifico: Paolo Pastorino
Co-Responsabile scientifico: Silvia Colussi

PROGRAMMA

PNRR (Piano Nazionale Ripresa Resilienza)

TIPO DI AZIONE

Intervento sulla filiera dell'acquacoltura di acqua dolce

DURATA

Dicembre 2022 – Giugno 2026

COORDINATORE

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta (IZSPLV)



Cosa sono **Lattococcosi** e **PKD**?



Lattococcosi

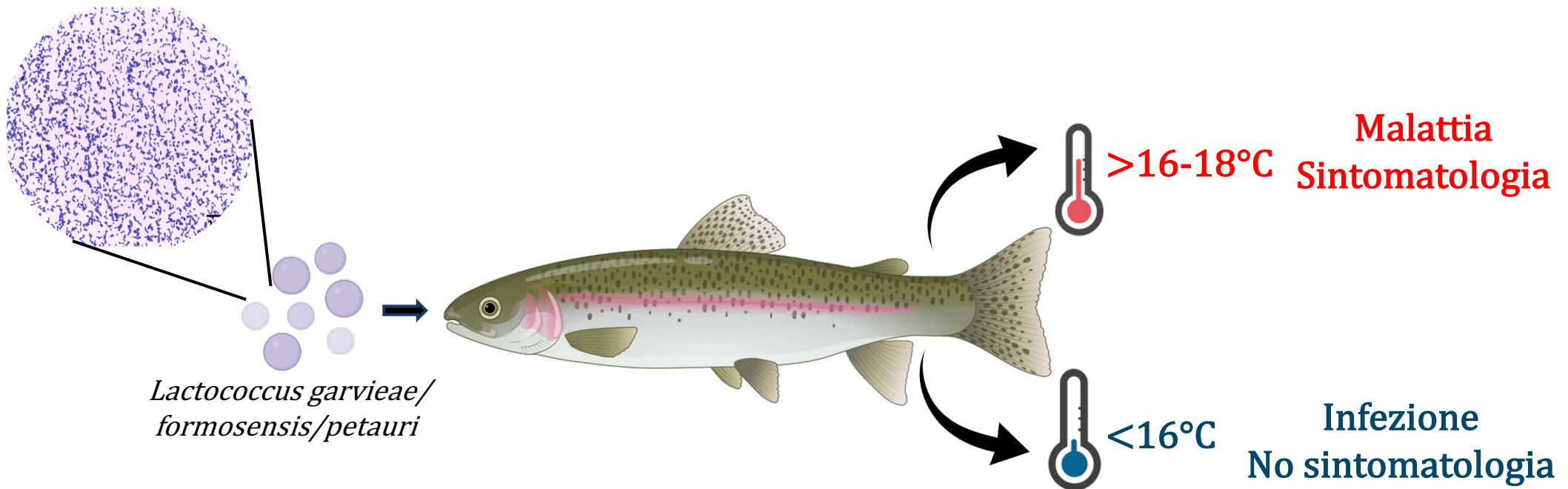


**Malattia Proliferativa
Renale (PKD)**

Lattococcosi

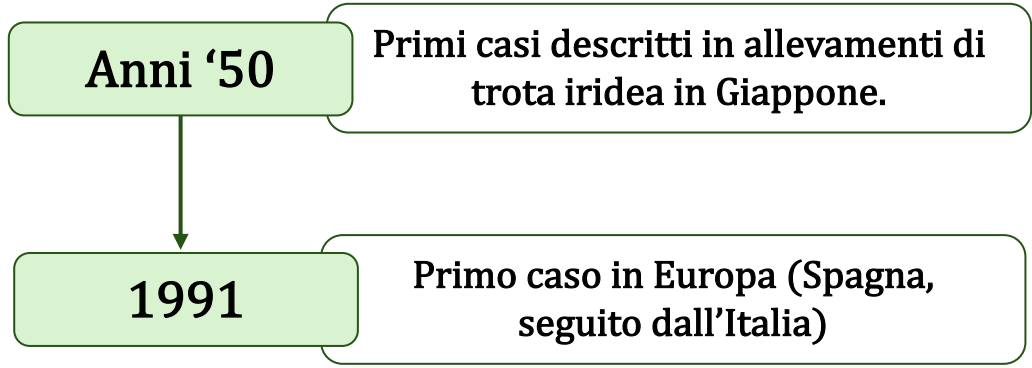
Cos'è e agente eziologico

La lattococcosi è una delle più diffuse malattie batteriche negli allevamenti di trota iridea a livello mondiale. L'agente causale è *Lactococcus garvieae* (*formosensis/petauri*).

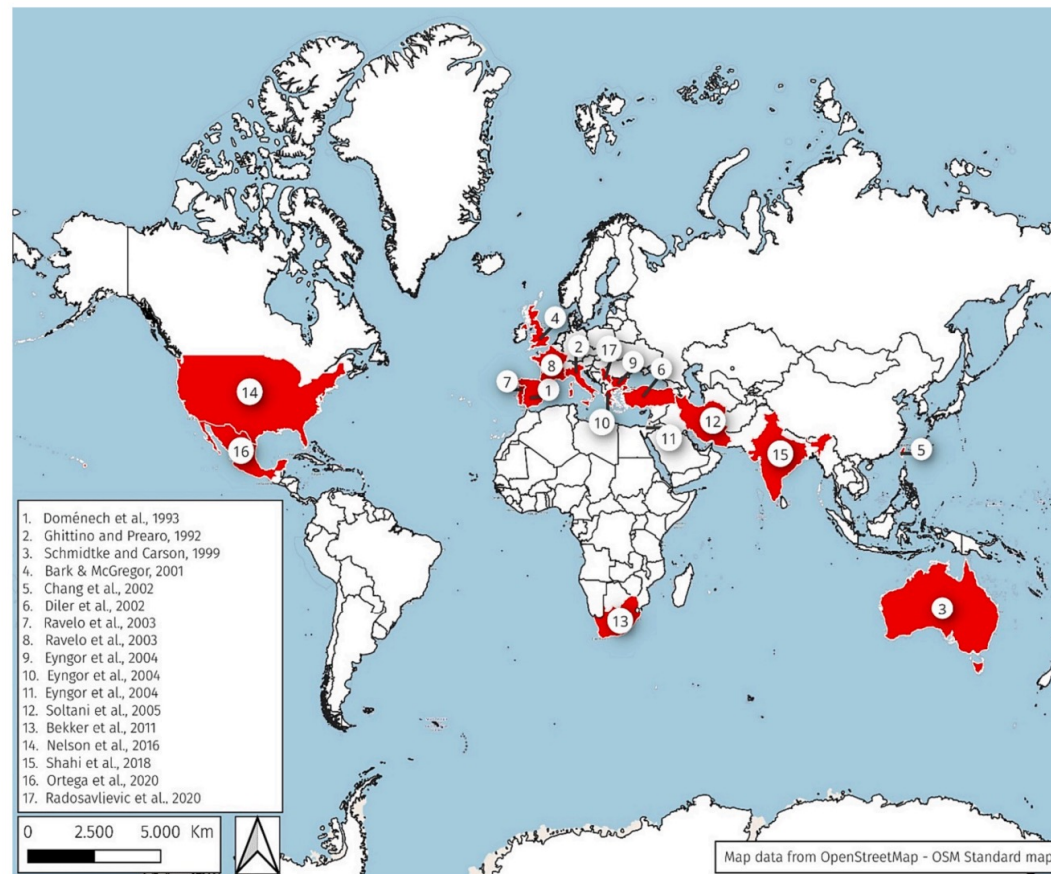


Lattococcosi Origine e diffusione geografica

ORIGINE



DIFFUSIONE GEOGRAFICA



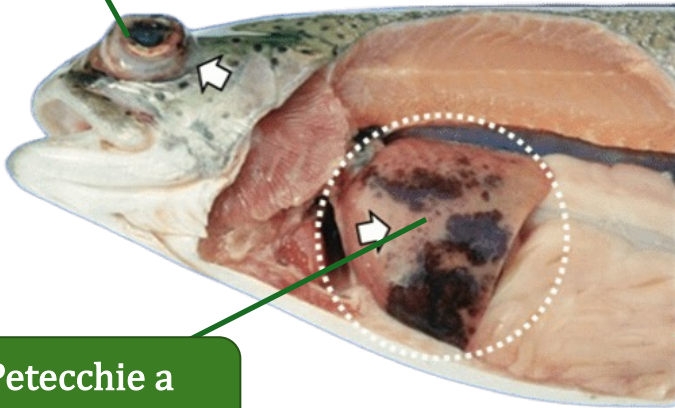
Khalil et al., 2024 (<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740363>)

Lattococcosi Segni clinici

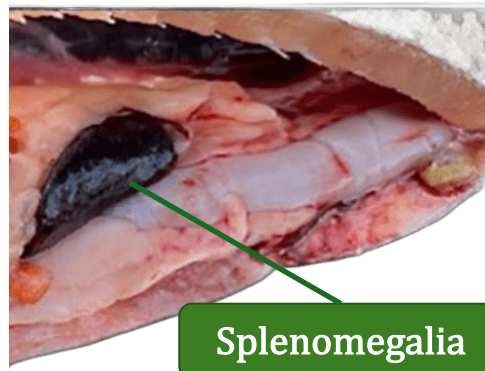
Enucleazione



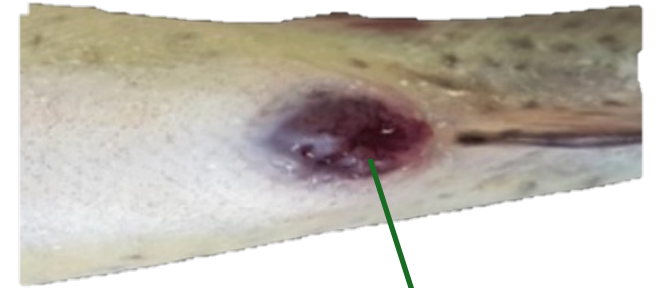
Esoftalmo



Petecchie a livello epatico



Splenomegalia



Congestione anale

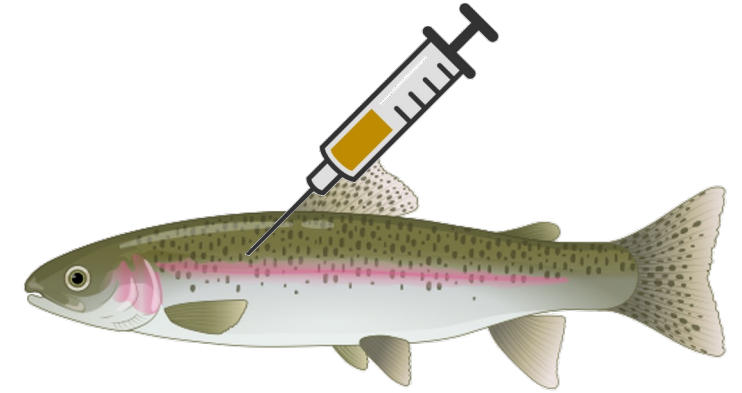
Esposito et al., 2024 (<https://doi.org/10.1111/jfd.13994>), Khalil et al., 2024 (<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.740363>)

Le trote iridee affette da lattococcosi hanno tassi di mortalità tra il 50% e l'80%.

Lattococcosi

Terapie

Attualmente la **prevenzione** contro la **lattococcosi** mediante **vaccinazione** risulta essere l'opzione **più diffusa**.



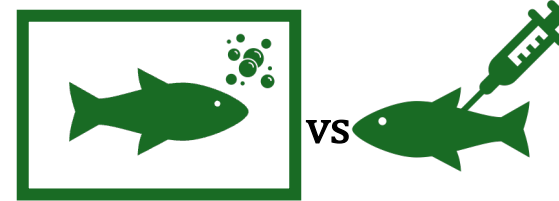
Limiti



Durata immunizzazione



Vaccini locali o regionali

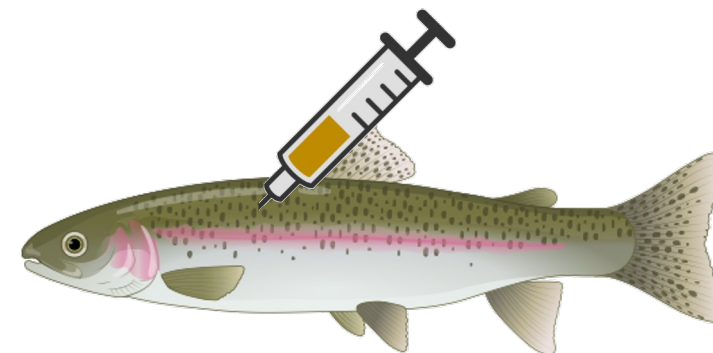


Scarsa efficacia vaccino per immersione vs iniezione

Lattococcosi

Terapie

Attualmente la **prevenzione** contro la **lattococcosi** mediante **vaccinazione** risulta essere l'opzione **più diffusa**.



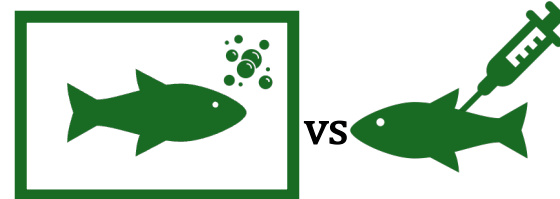
Limiti



Durata immunizzazione



Vaccini locali o regionali



Scarsa efficacia vaccino per immersione vs iniezione

Cosa sono **Lattococcosi** e **PKD**?



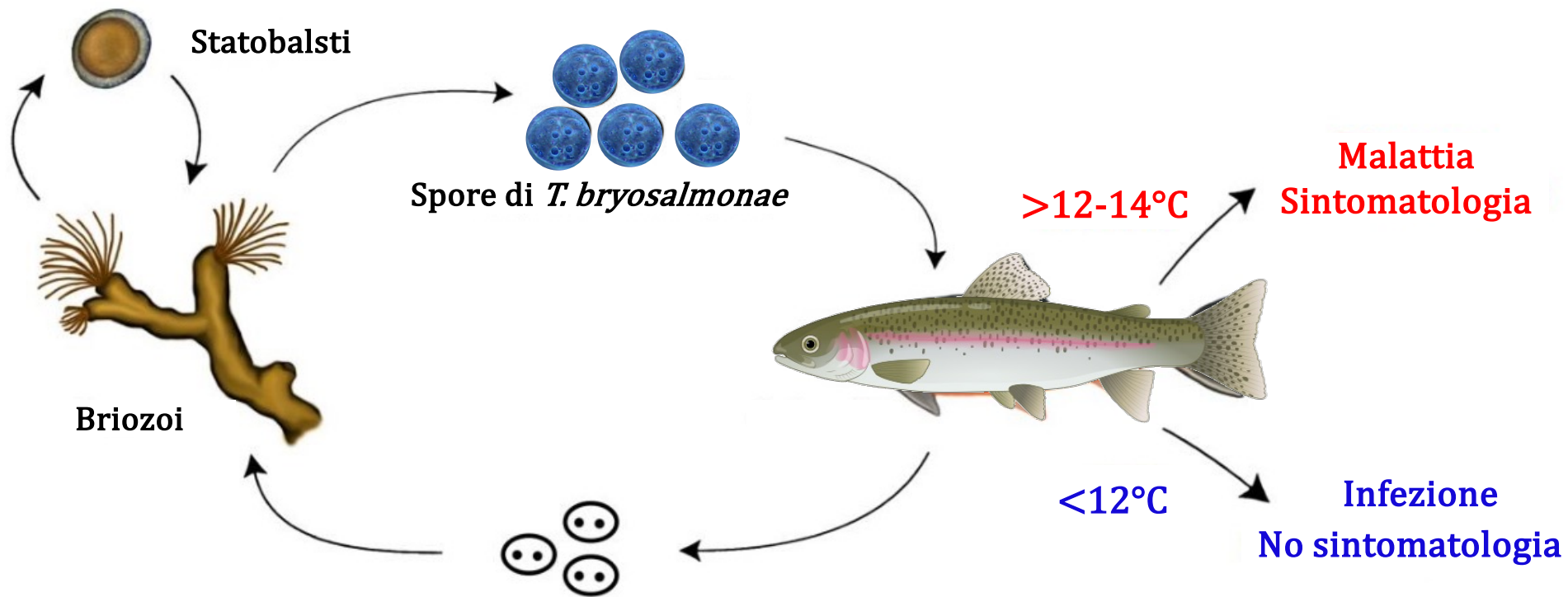
Lattococcosi



**Malattia Proliferativa
Renale (PKD)**

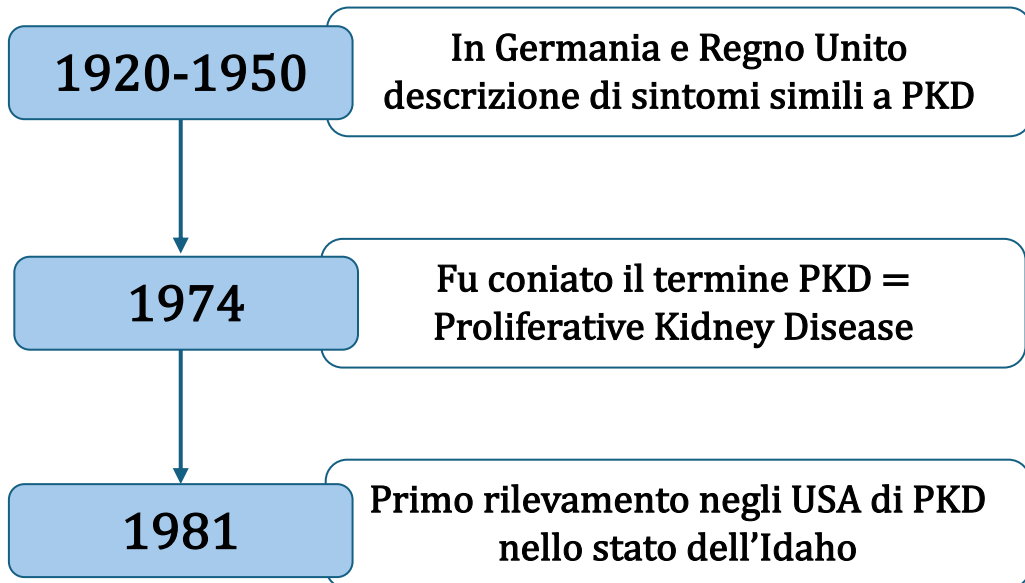
Malattia Proliferativa Renale (PKD) Cos'è e ciclo biologico

La PKD è una delle più gravi malattie parassitarie dei salmonidi.
L'agente causale è *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa).



Malattia Proliferativa Renale (PKD) Origine e diffusione geografica

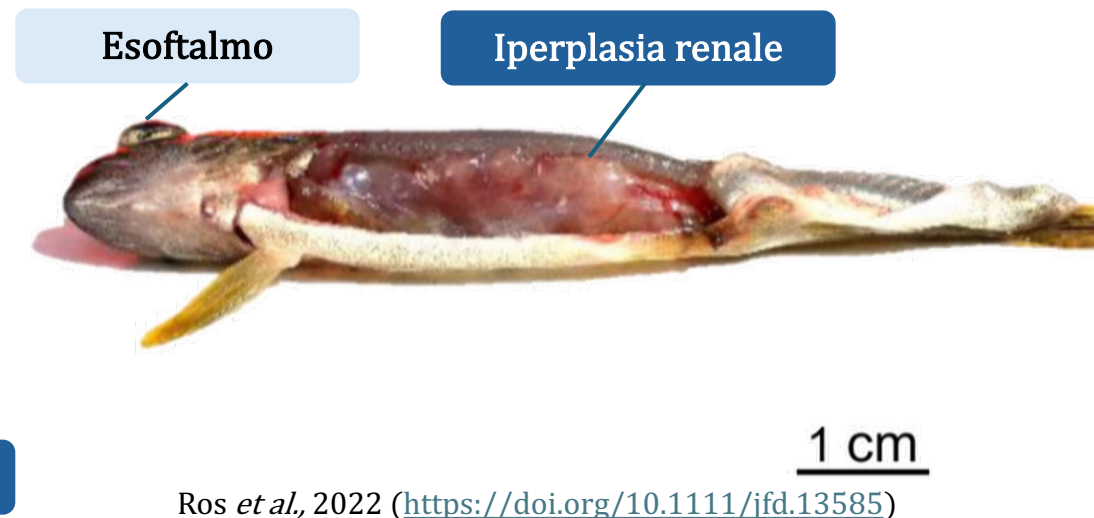
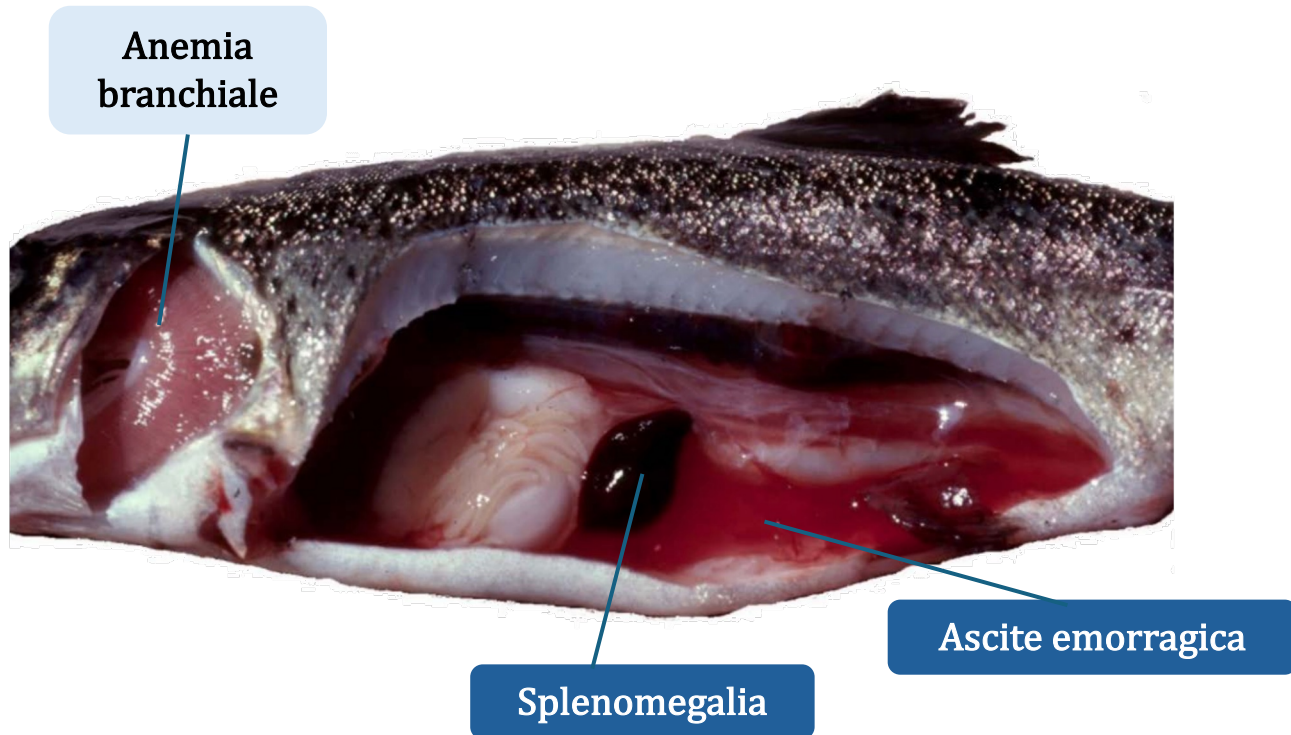
ORIGINE PKD



DIFFUSIONE GEOGRAFICA PKD



Malattia Proliferativa Renale (PKD) Segni clinici



<https://units.fisheries.org/fhs/wp-content/uploads/sites/30/2017/08/3.2.7-PKD-2014.pdf>

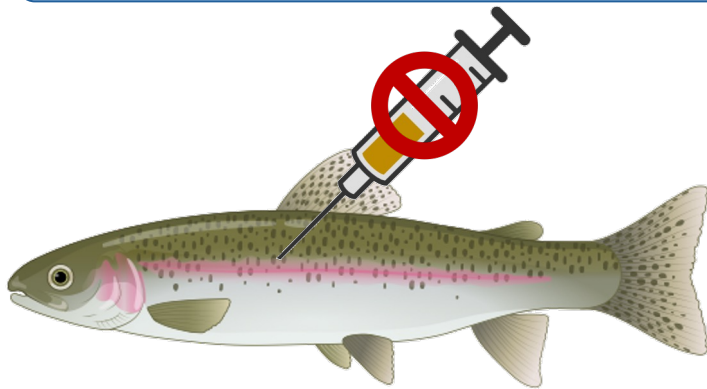


Le **trote iridee** sopravvivono solo occasionalmente a infezioni gravi, con **tassi di mortalità** che possono arrivare fino al **95%** nei pesci allevati.

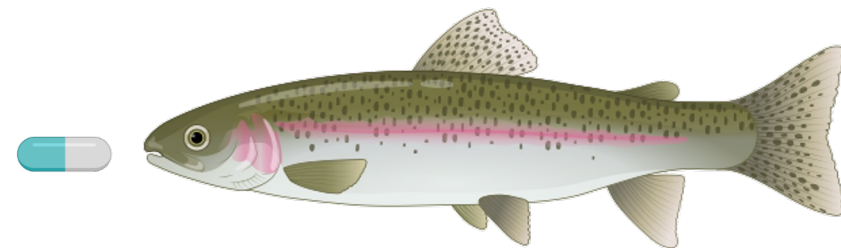
Malattia Proliferativa Renale (PKD)

Terapie

Attualmente non esiste un trattamento farmacologico efficace contro la PKD:



Non esistono vaccini PKD

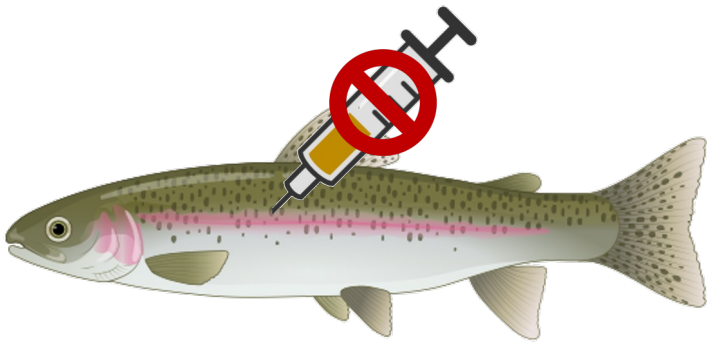


Terapie sperimentali

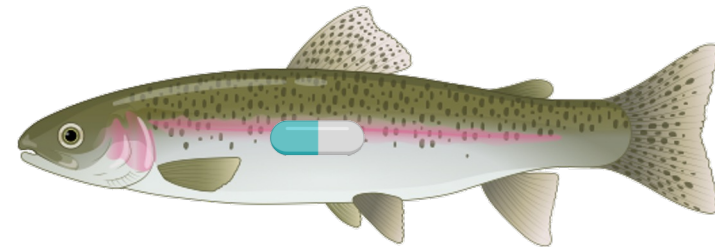
Malattia Proliferativa Renale (PKD)

Terapie

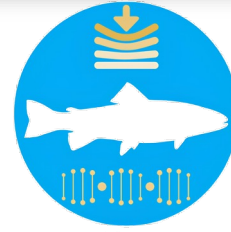
Attualmente non esiste un trattamento farmacologico efficace contro la PKD:



Non esistono vaccini PKD



Terapie sperimentali



Resilrout

La lattococcosi e la PKD sono due malattie di grande interesse in acquacoltura. Entrambe le malattie sono legate alla temperatura e soggette ad aumentare con i cambiamenti climatici.

SCOPO DEL LAVORO
Selezione di trote iridee resistenti alla lattococcosi e alla PKD tramite SELEZIONE FENOTIPICA.



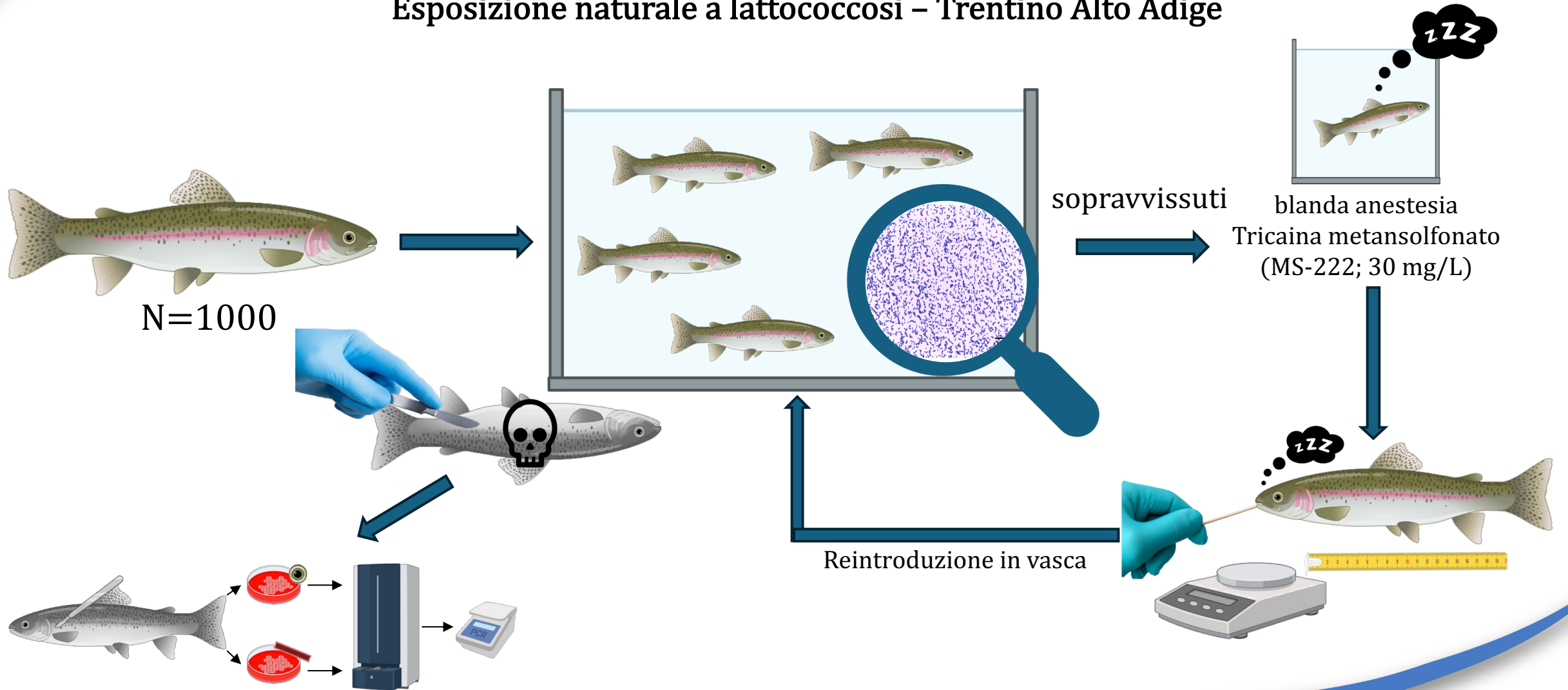
CAMPIONAMENTO

MATERIALI E METODI - RISULTATI
LATTOCOCCOSI

MATERIALI E METODI - RISULTATI
PKD

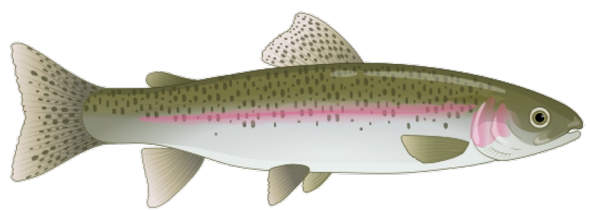
CAMPIONAMENTO - LATTOCOCCOSI

Esposizione naturale a lattococcosi - Trentino Alto Adige

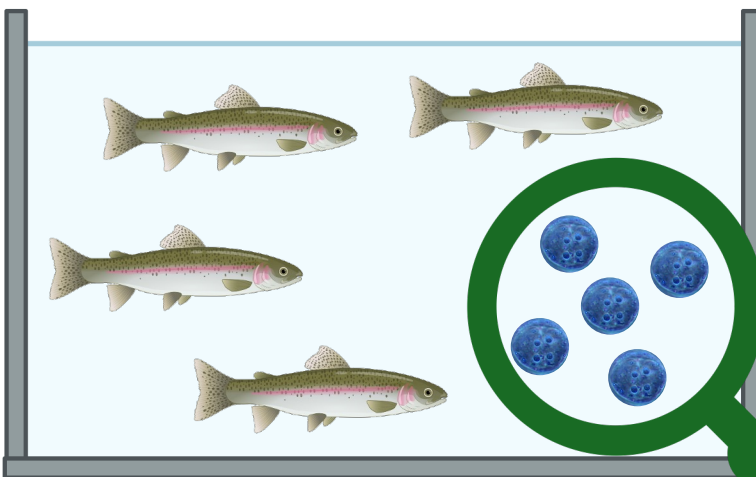


CAMPIONAMENTO - PKD

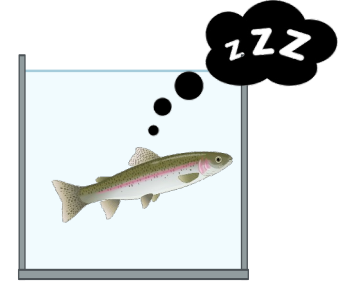
Esposizione naturale a PKD - Piemonte



N=1000

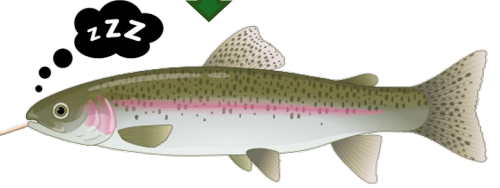


sopravvissuti

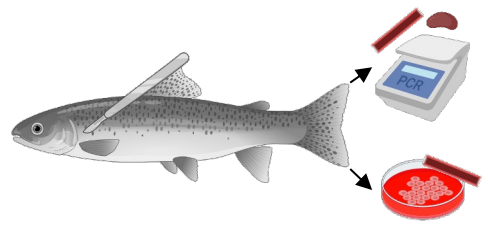
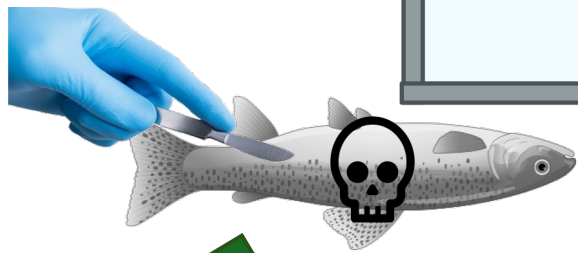


blanda anestesia

Tricaina metansolfonato (MS-222; 30 mg/L)



Reintroduzione in vasca





Lattococcosi

LA SELEZIONE FENOTIPICA NELLA LATTOCOCCOSI: RUOLO E RILEVANZA NEL PROGETTO RESILTROUT

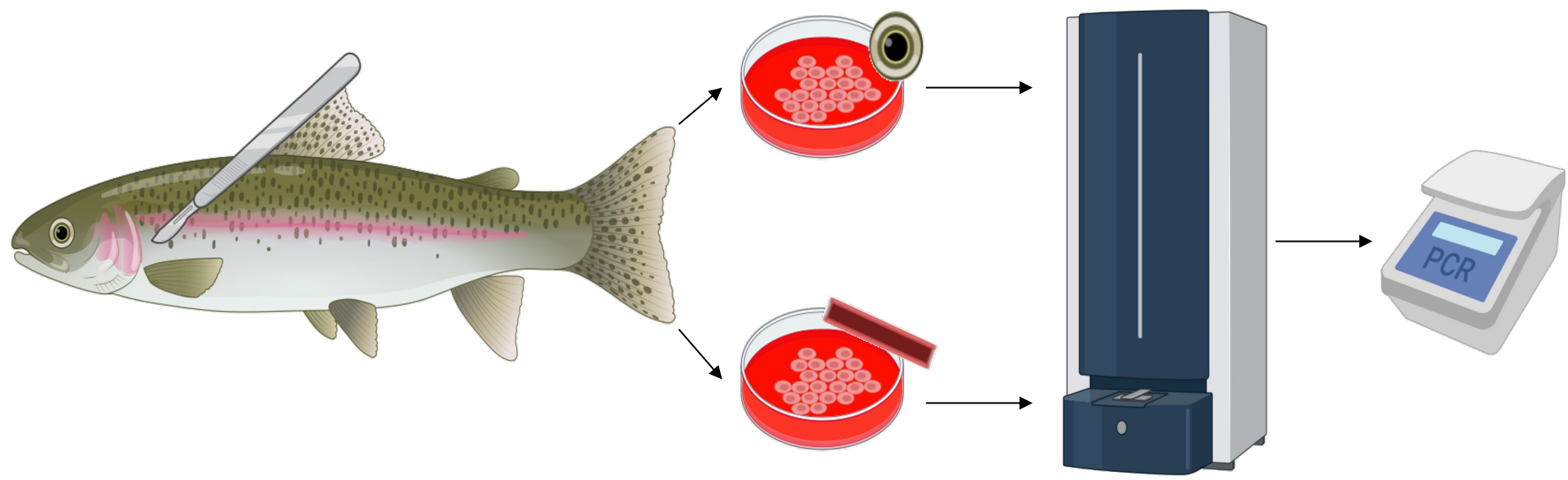
COS' E': valutazione e classificazione dei soggetti su caratteristiche osservabili o rilevabili

CASI

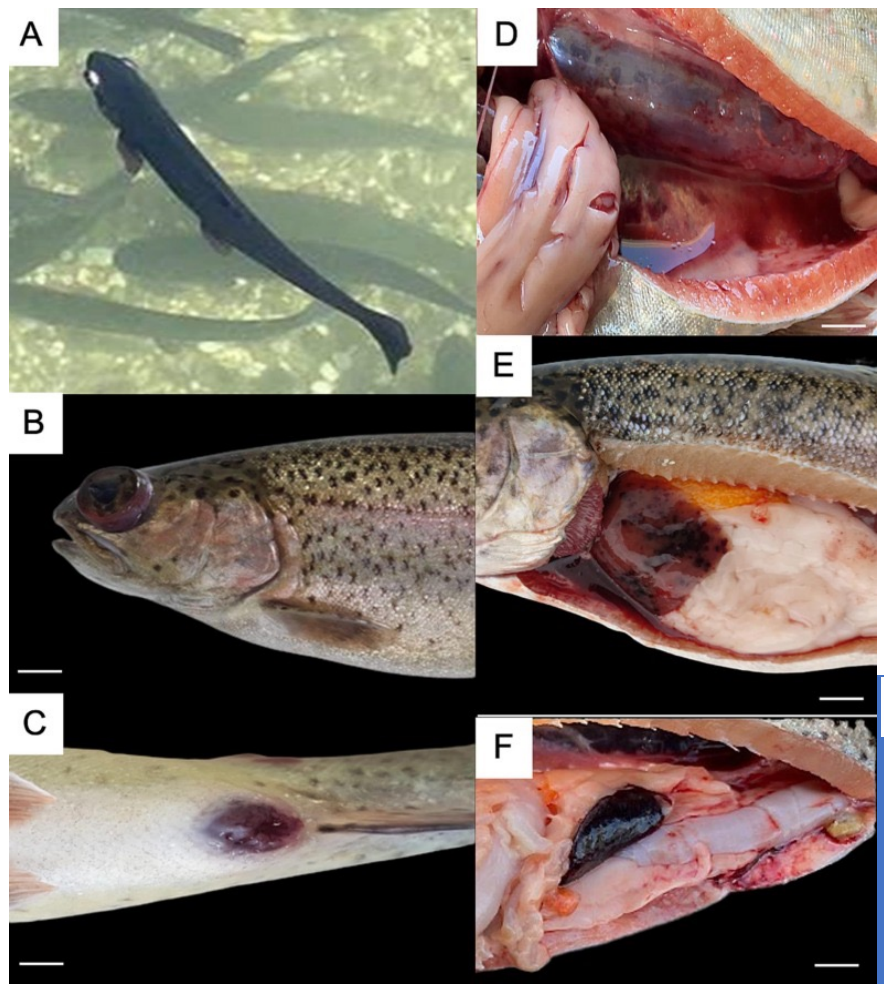
SCOPO: determinare quali soggetti risultano più suscettibili all'infezione e quali, al contrario, evidenziano caratteristiche di resistenza



MATERIALI E METODI



ANATOMOPATOLOGICO

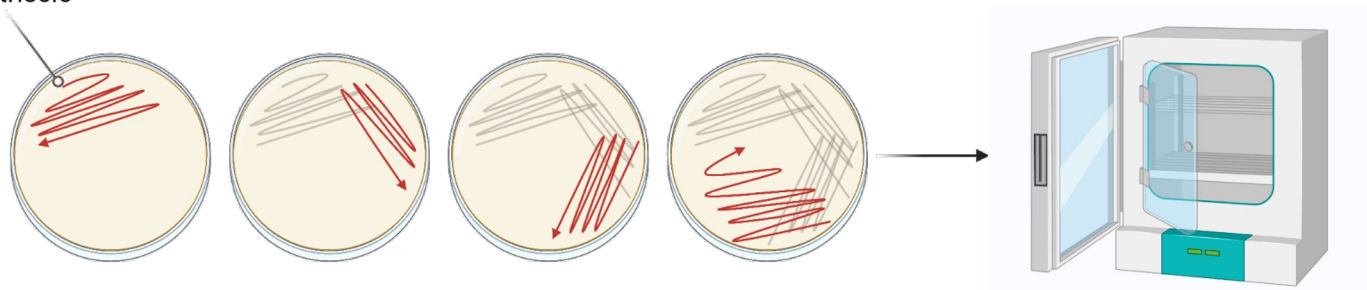


- A. MELANOSI ED ESOFALMO BILATERALE
- B. ESOFATLMO CON EMORRAGIA OCULARE
- C. CONGESTIONE ANALE ED EMORRAGIA DEI TESSUTI PERIANALI E ANALI
- D. EMORRAGIE VISCERALI
- E. PETECCHIE EPATICHE
- F. SPLENOMEGALIA
- G. ENUCLEAZIONE ED EMORRAGIA OCULARE

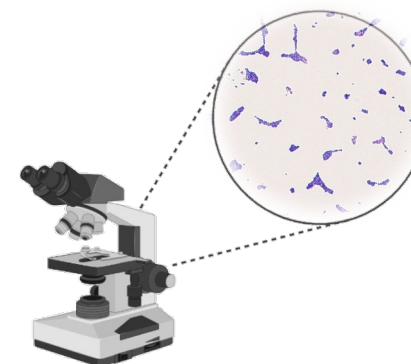
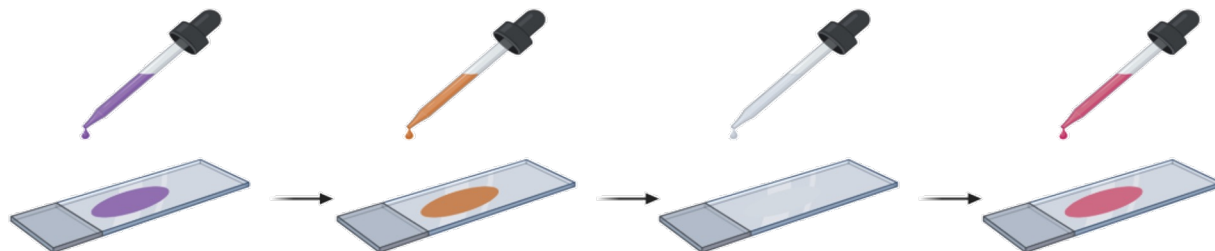


BATTERIOLOGICO

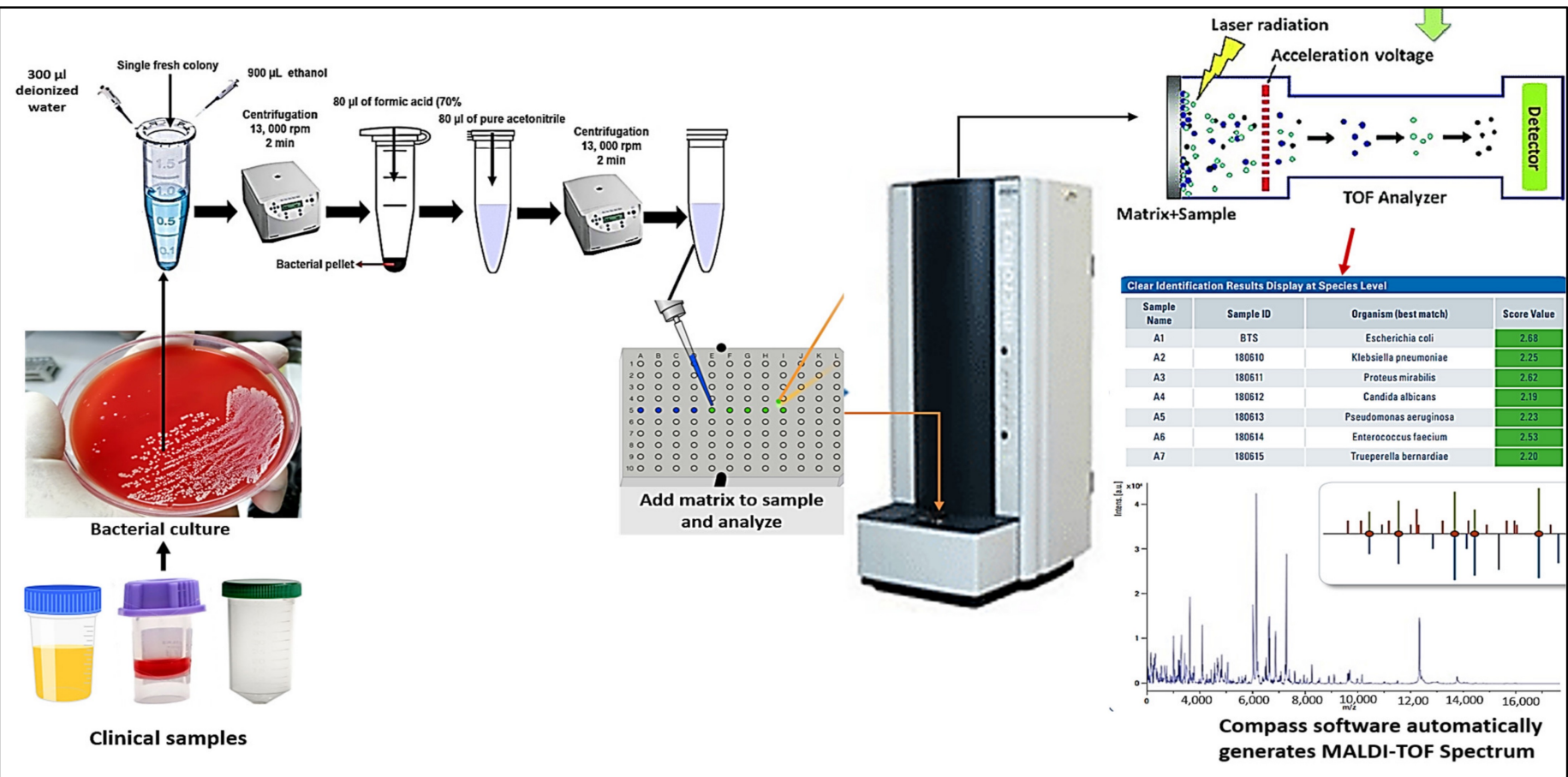
①
Semina per striscio



②
Colorazione di Gram

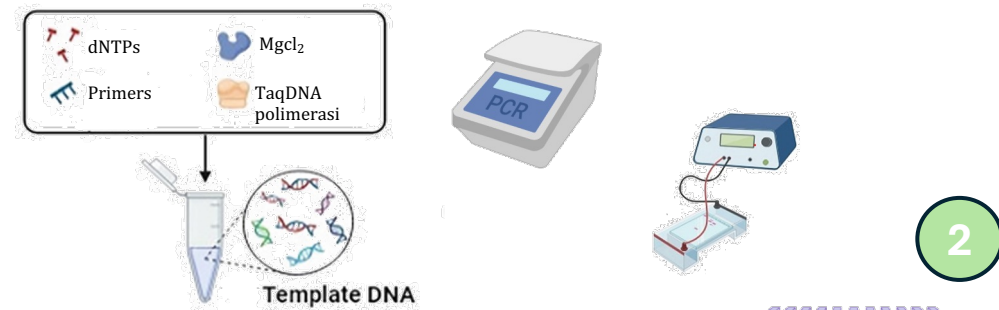
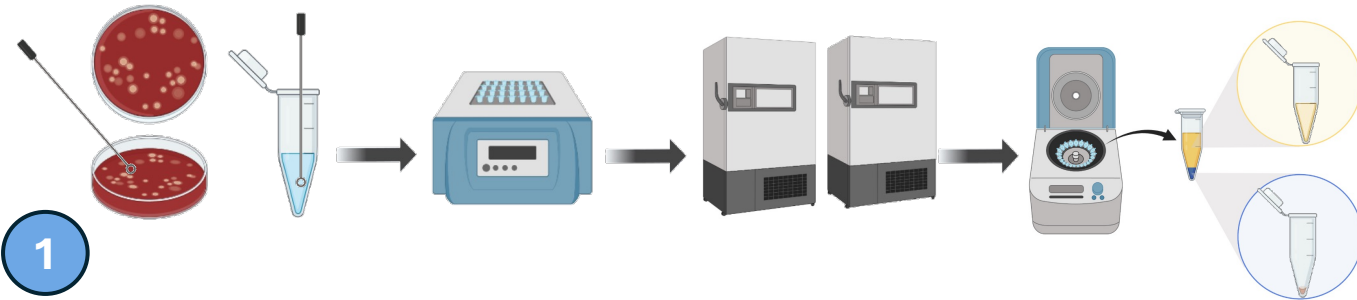


MALDI-TOF

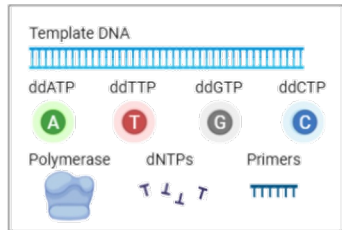


Tecnica avanzata di spettrometria di massa che analizza il profilo proteico per l'identificazione di specie

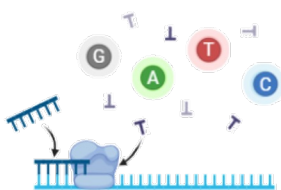
ESTRAZIONE E PCR



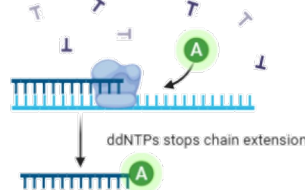
Reagenti



1 Annealing dei primers ed allungamento della catena



2 Legame dei ddNTP binding e terminazione della catena

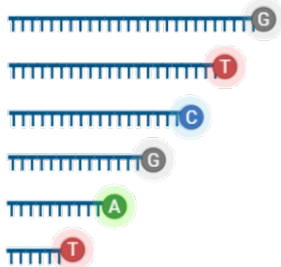


ESTRAZIONE

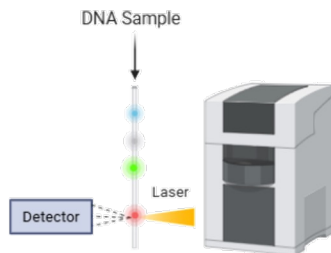
MULTIPLEX PCR

SEQUENZIAMENTO

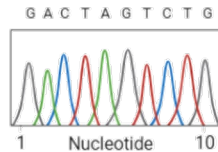
3 Campione di DNA marcato con sonde fluorescenti



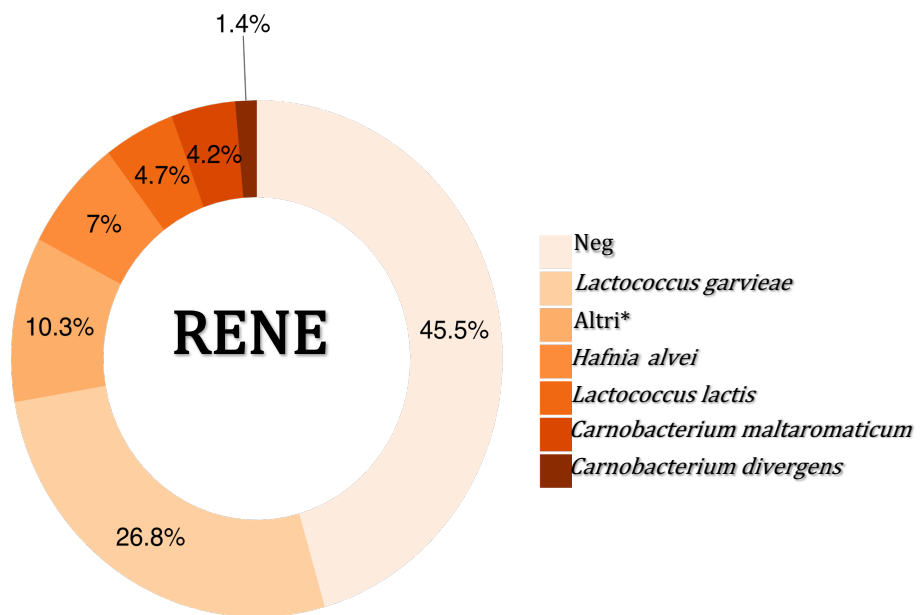
4 Elettroforesi capillare su gel e rilevamento della fluorescenza



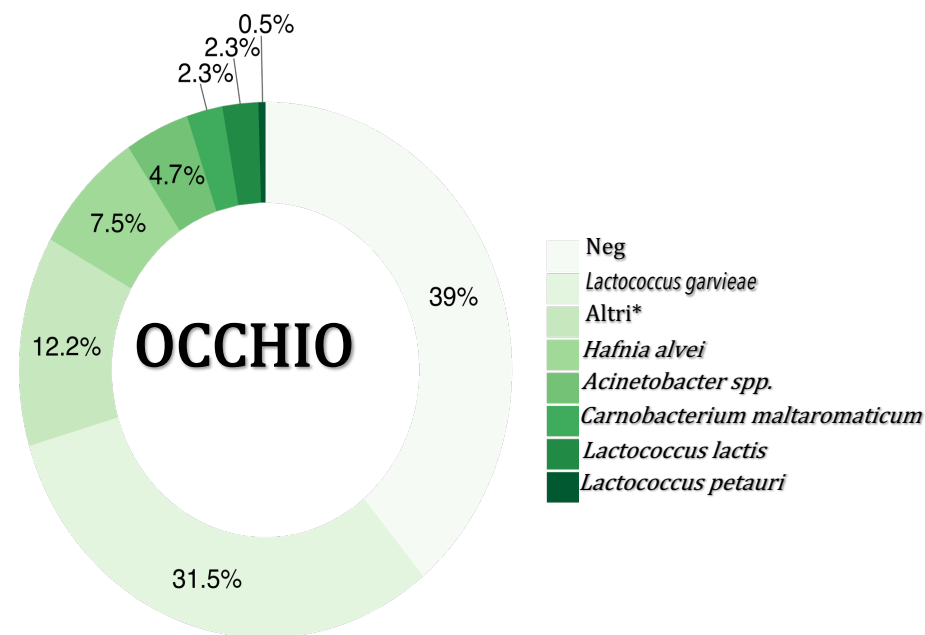
5 Analisi delle sequenze e ricostruzione



RISULTATI LATTOCOCCOSI

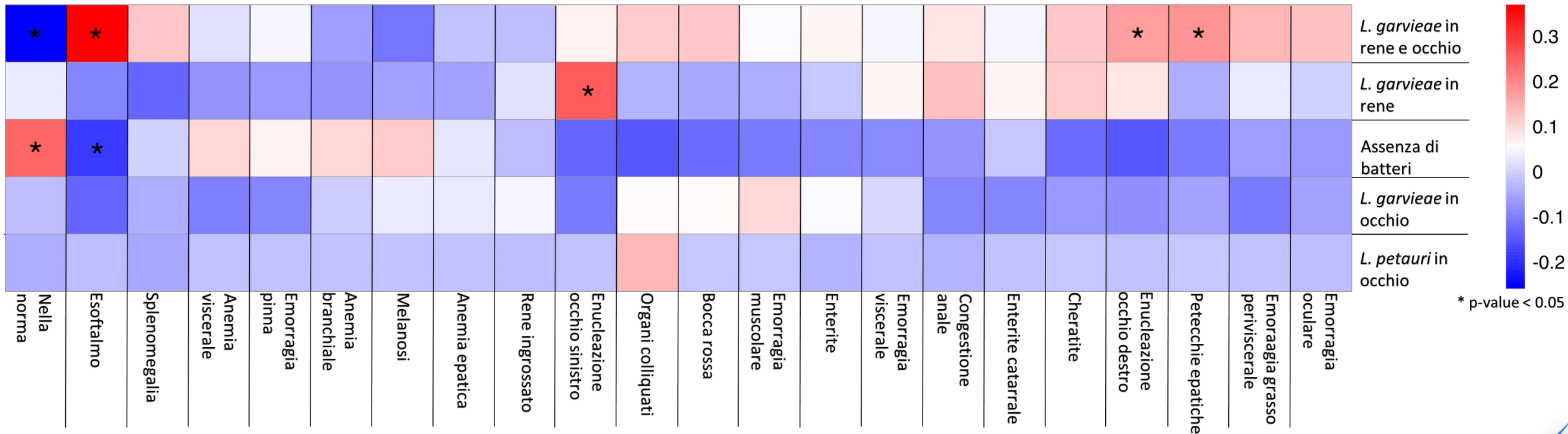


* GNS (Non-Significant Germs) and bacteria present less than 1% (*Acinetobacter spp.*, *Aeromonas spp.* and *Pseudomonas spp.*)



* GNS (Non-Significant Germs) and bacteria present less than 1% (*Citrobacter gillenii* and *Yersinia ruckeri*)

CORRELAZIONE DI SPEARMAN



CONCLUSIONI

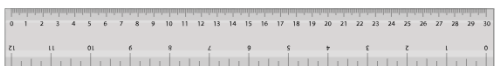
- L'integrazione dei diversi livelli diagnostici ha garantito una classificazione fenotipica valida, permettendo di individuare in modo affidabile i casi.
- Identificare i casi fornisce una base solida per collegare i dati diagnostici alle future analisi genomiche, migliorando l'affidabilità del GWAS e permettendo di identificare marcatori genetici di resistenza e sviluppare linee di trota più resilienti.
- I benefici per gli allevatori si concretizzano in una riduzione della mortalità e dell'uso di antibiotici, maggiore stabilità produttiva e sostenibilità aziendale.



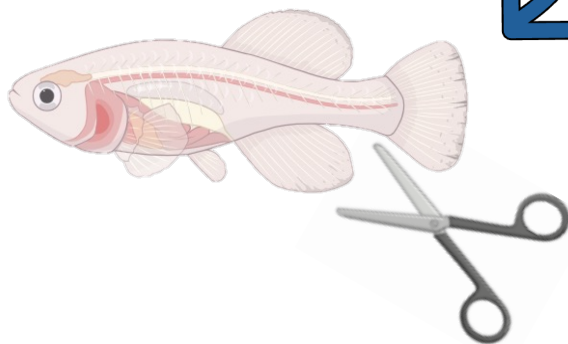


Malattia Proliferative Renale (PKD)

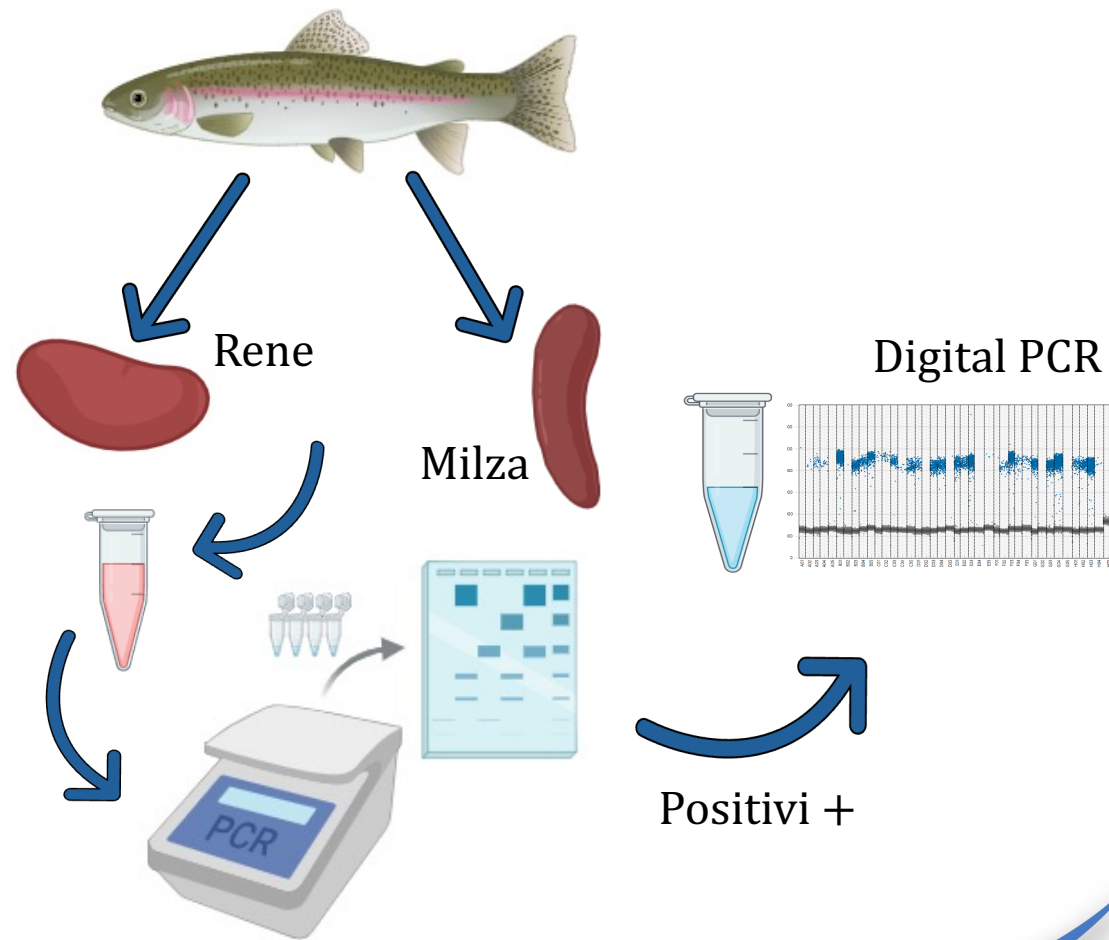
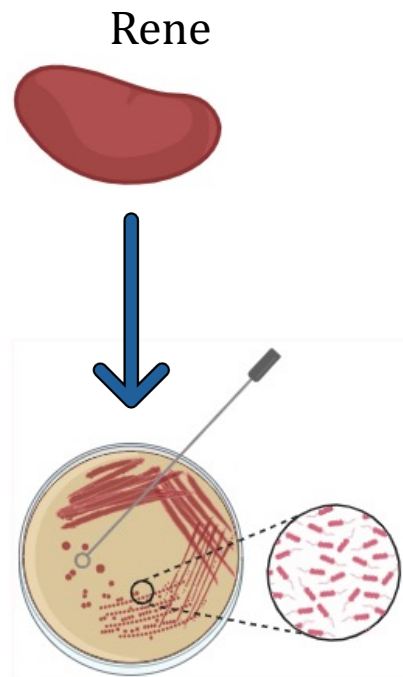
MATERIALI & METODI – PKD



- Morfometrie
- Anatomopatologico
- Divisione per settori

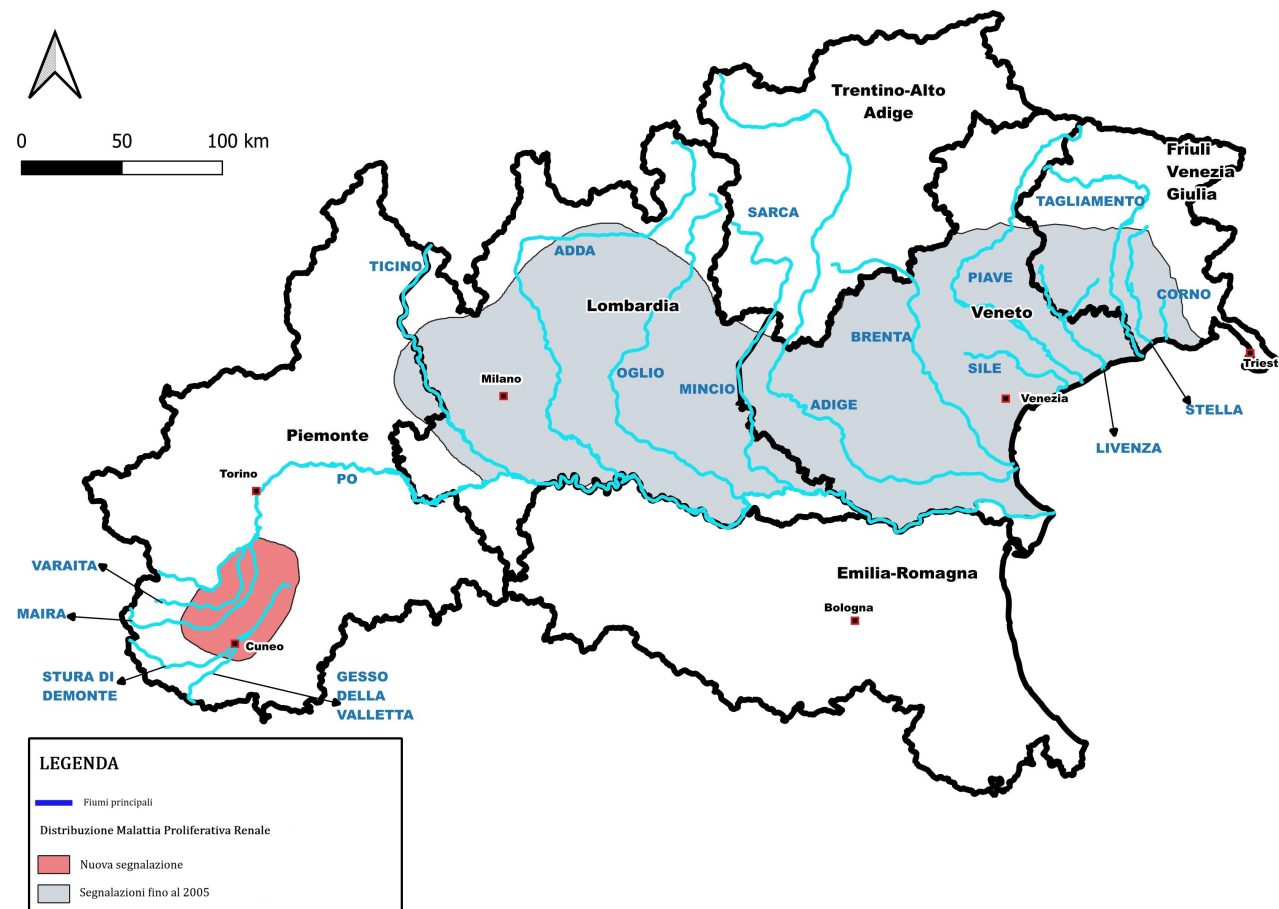


- Peso medio: 97,41 g
- Lunghezza media: 17,37 cm
- Batteriologico



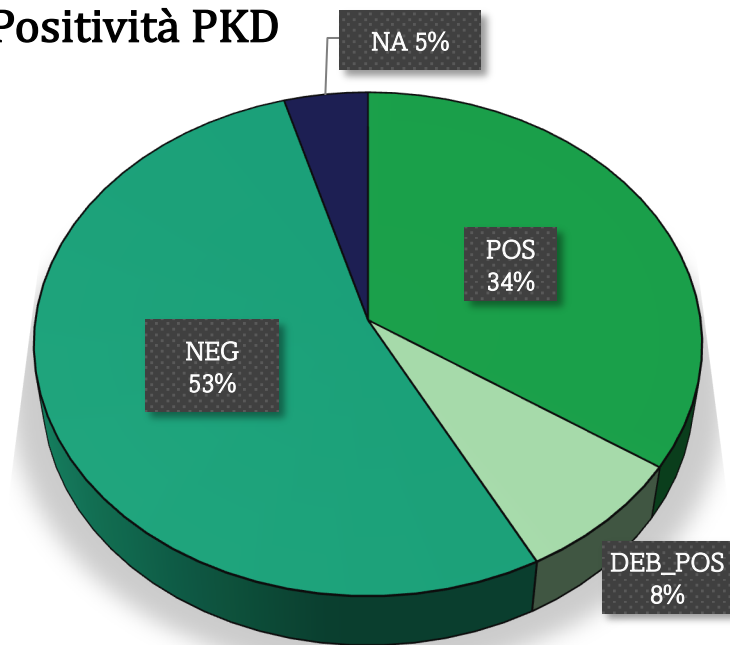
RISULTATI – PKD

- Fino al 2005 la malattia, per la regione Piemonte, era stata segnalata solo in alcune aree del bacino idrogeografico del Ticino
- Con i dati derivati dalla prova si è osservata un'espansione della malattia verso sud-ovest

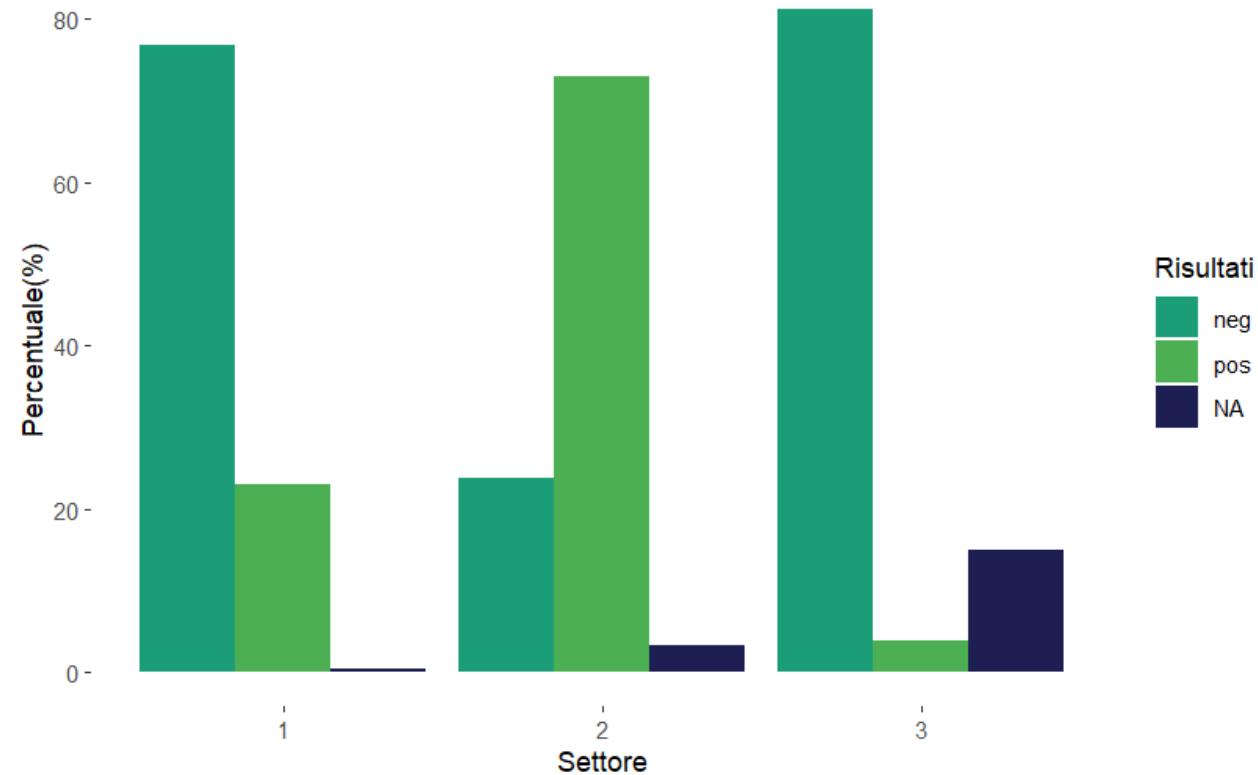


RISULTATI - PKD

Positività PKD



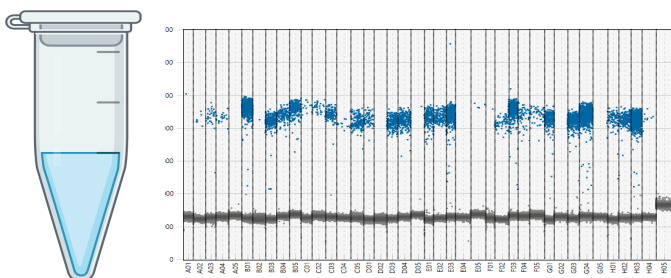
- Positività sul totale degli individui campionati



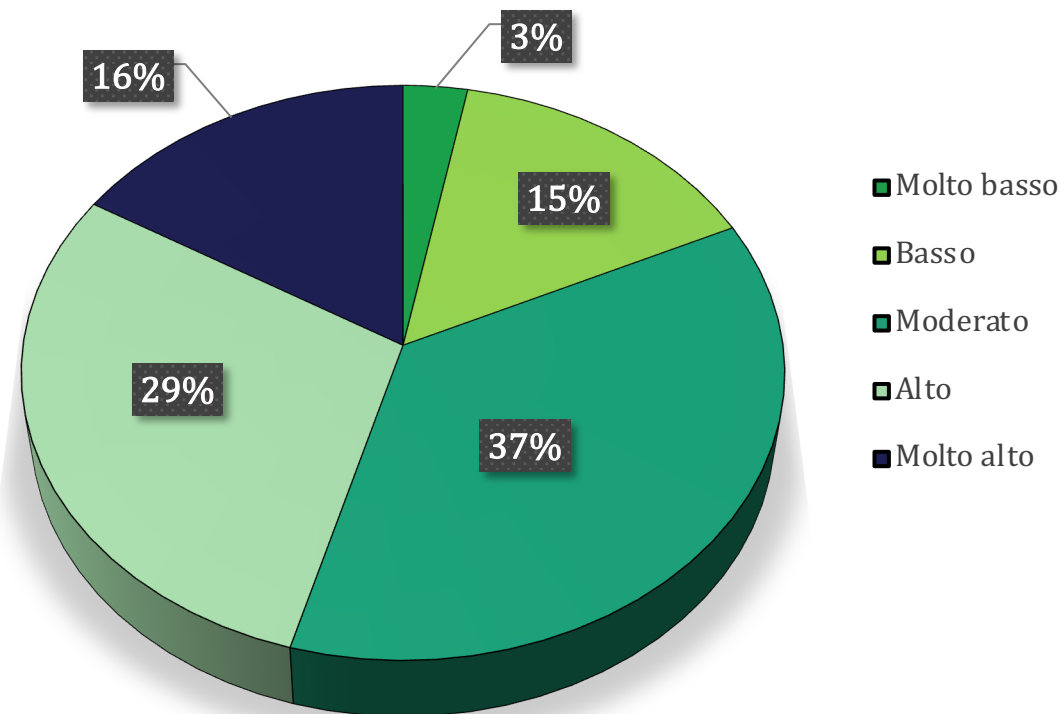
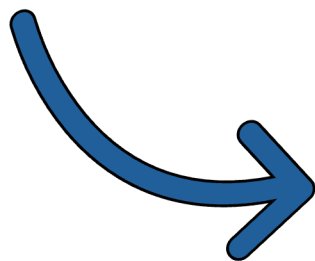
- Positività divisa per settore

RISULTATI - PKD

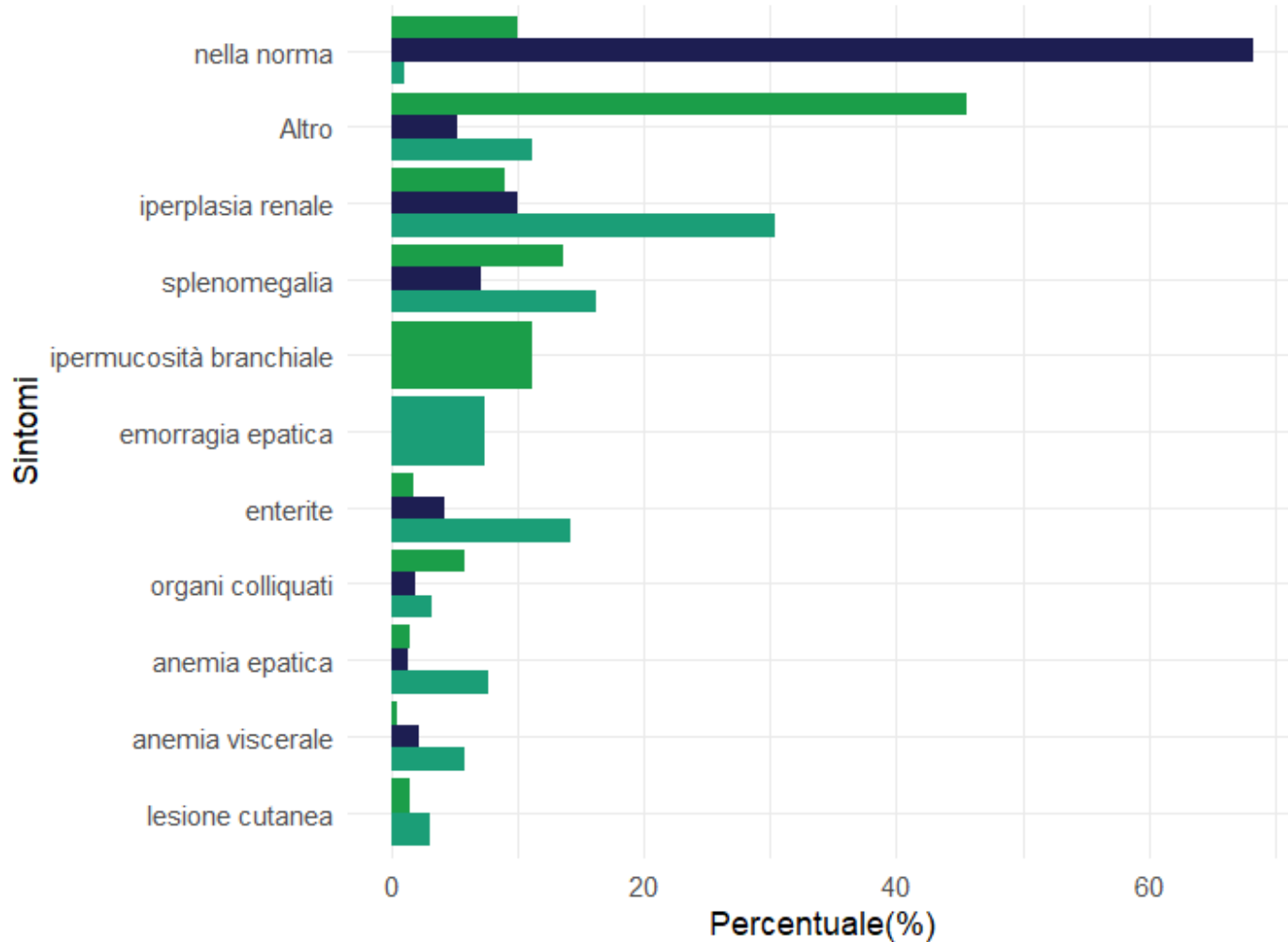
Frequenza positivi analizzati con la Digital



Digital PCR



RISULTATI - PKD



▪ Splenomegalia



▪ Lesione cutanea



Settore



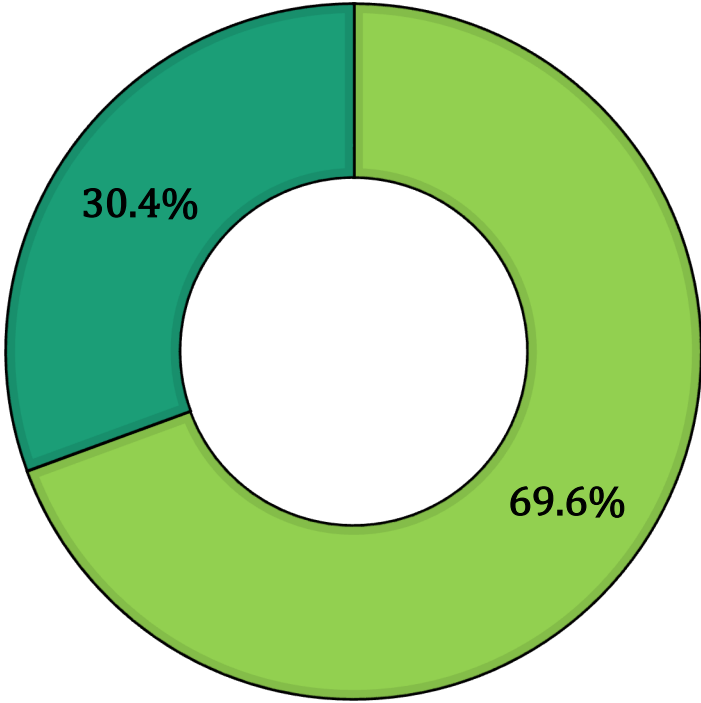
▪ Iperplasia renale

RISULTATI - PKD

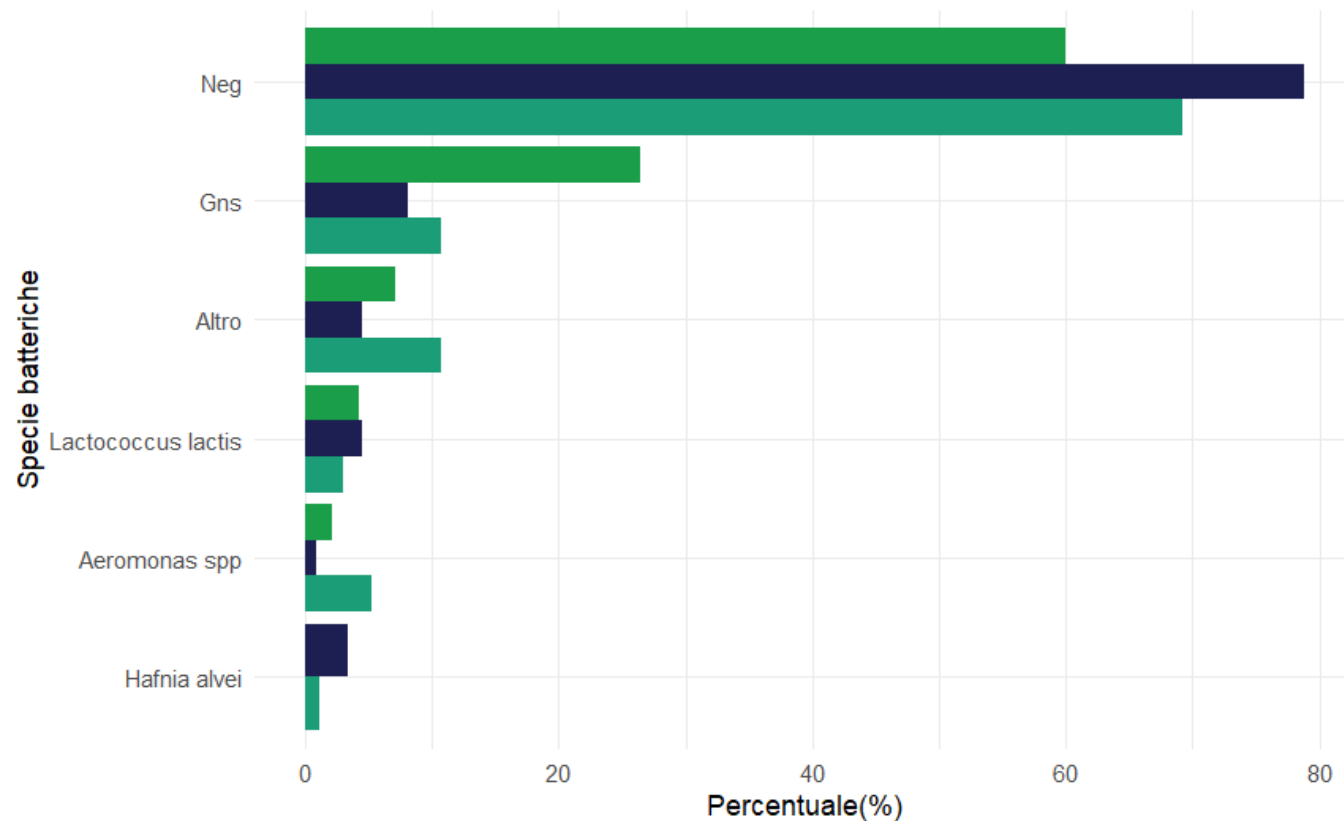
CONDIZIONI CLINCHE



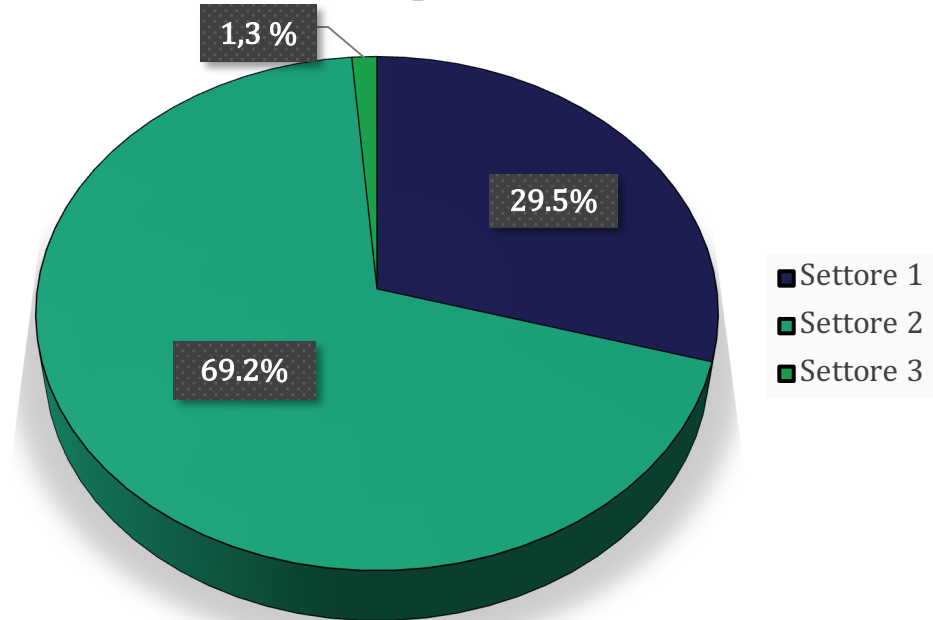
- Subclinico/Recupero
- Con alterazioni macroscopiche



RISULTATI - PKD



Distribuzione PKD positivi con batteri



CONCLUSIONI - PKD

- Espansione della malattia verso sud-ovest in nuovi territori geografici;
- Il settore due è stato il più positivo e il tre quello meno positivo;
- In generale, gli individui negativi alla PKD sono stati superiori rispetto ai positivi;
- Le lesioni maggiormente riscontrate sono state quelle tipiche della malattia quali: splenomegalia ed iperplasia renale;
- Gli individui appartenenti al settore due presentavano il più alto tasso di co-infezioni batteriche rispetto agli individui degli altri settori.

