



# Sorveglianza e diagnosi delle malattie notificabili dei molluschi nel territorio nazionale

Giuseppe Arcangeli  
LNR Patologia Molluschi

# Main molluscs producers



FAO, 2006

China	Japan	Tailand	Korea	France	Spain
Italy	EEUU	Chile	New Zealand		

## Mollusc production in Italy (tons) in 2009

Mitylus  
galloprovincialis



120.000 t

Tapes  
philippinarum



50.000 t

Chamelea  
gallina



30.000 t

Donax spp.



Ensis spp.



C. gigas



Clamys spp.



C. chione



## Decreto legislativo 148/2008

Allegato IV, parte II – Elenco malattie  
MALATTIE ESOTICHE

<b>MOLLUSCHI</b>	<i>Bonamia exitiosa</i>	Ostrica piatta australiana ( <i>Ostrea angasi</i> ), ostrica cilena ( <i>O. chilensis</i> ).
	<i>Perkinsus marinus</i>	Ostrica giapponese ( <i>Crassostrea gigas</i> ), ostrica della Virginia ( <i>Crassostrea virginica</i> )
	<i>Microcytos mackini</i>	Ostrica giapponese ( <i>Crassostrea gigas</i> ), ostrica della Virginia ( <i>Crassostrea virginica</i> ), ostrica di Olimpia ( <i>Ostrea conchaphila</i> ) e ostrica piatta ( <i>Ostrea edulis</i> )

## Decreto legislativo 148/2008

Allegato IV, parte II – Elenco malattie  
MALATTIE NON ESOTICHE

<b>MOLLUSCHI</b>	<i>Marteilia refringens</i>	Ostrica piatta australiana ( <i>Ostrea angasi</i> ), ostrica cilena ( <i>O. chilensis</i> ), ostrica piatta europea ( <i>O. edulis</i> ), ostrica argentina ( <i>O. puelchana</i> ), mitilo ( <i>Mytilus edulis</i> ) e mitilo mediterraneo ( <i>M. galloprovincialis</i> ).
	<i>Bonamia ostreae</i>	Ostrica piatta australiana ( <i>Ostrea angasi</i> ), ostrica cilena ( <i>O. chilensis</i> ), ostrica di Olimpia ( <i>O. conchaphila</i> ), ostrica asiatica ( <i>O. denselamellosa</i> ), ostrica piatta europea ( <i>O. edulis</i> ) e ostrica argentina ( <i>O. puelchana</i> ).

## Attualmente in Italia sono presenti le seguenti malattie notificabili:

**Bonamia exitiosa** : ostrica piatta (OIE)

**Bonamia ostreae**: ostrica piatta

**Marteilia refringens** : ostrica piatta e mitilo

...e OsHV-1  $\mu$ var...solo in presenza di mortalità!  
(Reg. 175/2010)

# Network Labs Molluscs disease IIZZSS - Italia



## Diagnostica delle malattie dei bivalvi:

Il sistema immunitario:

Mancano linfociti B e T > assenza anticorpi



DIAGNOSI SIEROLOGICA NON APPLICABILE

## Diagnostica delle malattie dei bivalvi:

Il sistema immunitario: componente cellulare

### EMOCITI

ialinociti 20%: caratteristica di cellula indifferenziata, senza granuli, elevato rapporto nucleo citoplasma,

granulociti 80%: con granuli, piccoli (50%) e grandi granulociti (30%)

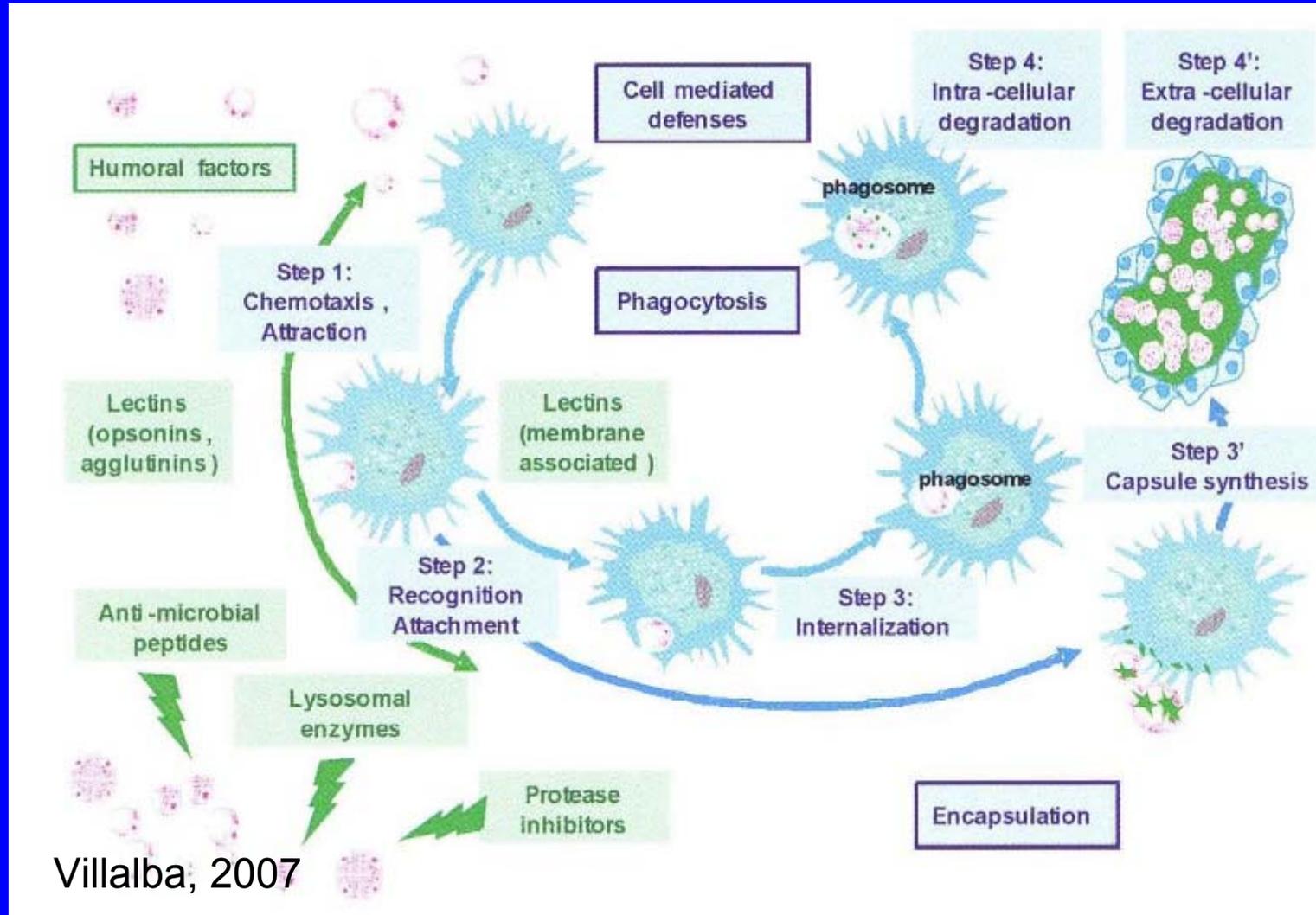
## Diagnostica delle malattie dei bivalvi:

### Il sistema immunitario: componente sierica

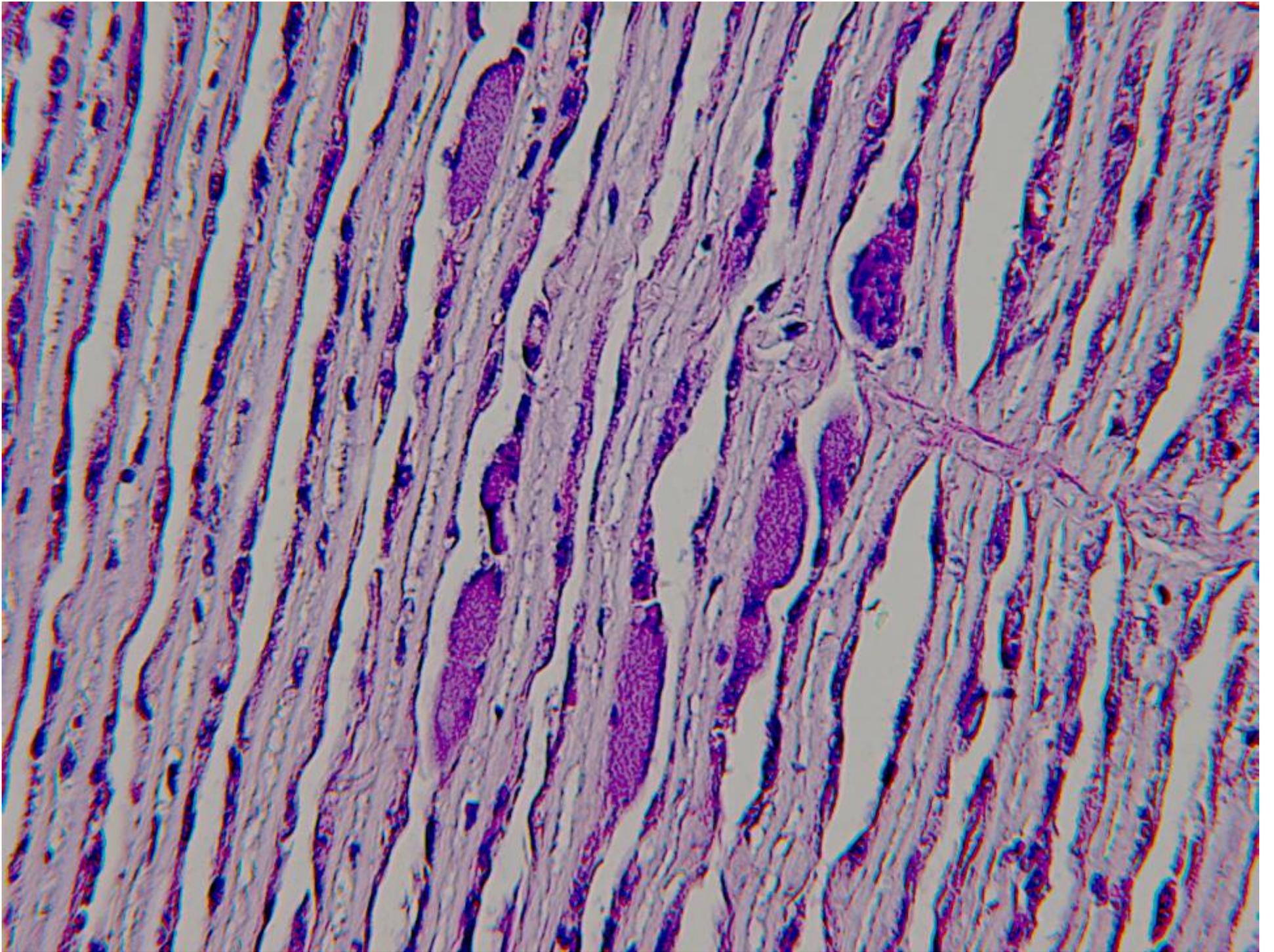
**Enzimi lisosomiali: fosfatasi, lipasi, aminopeptidasi, tirosinasi**

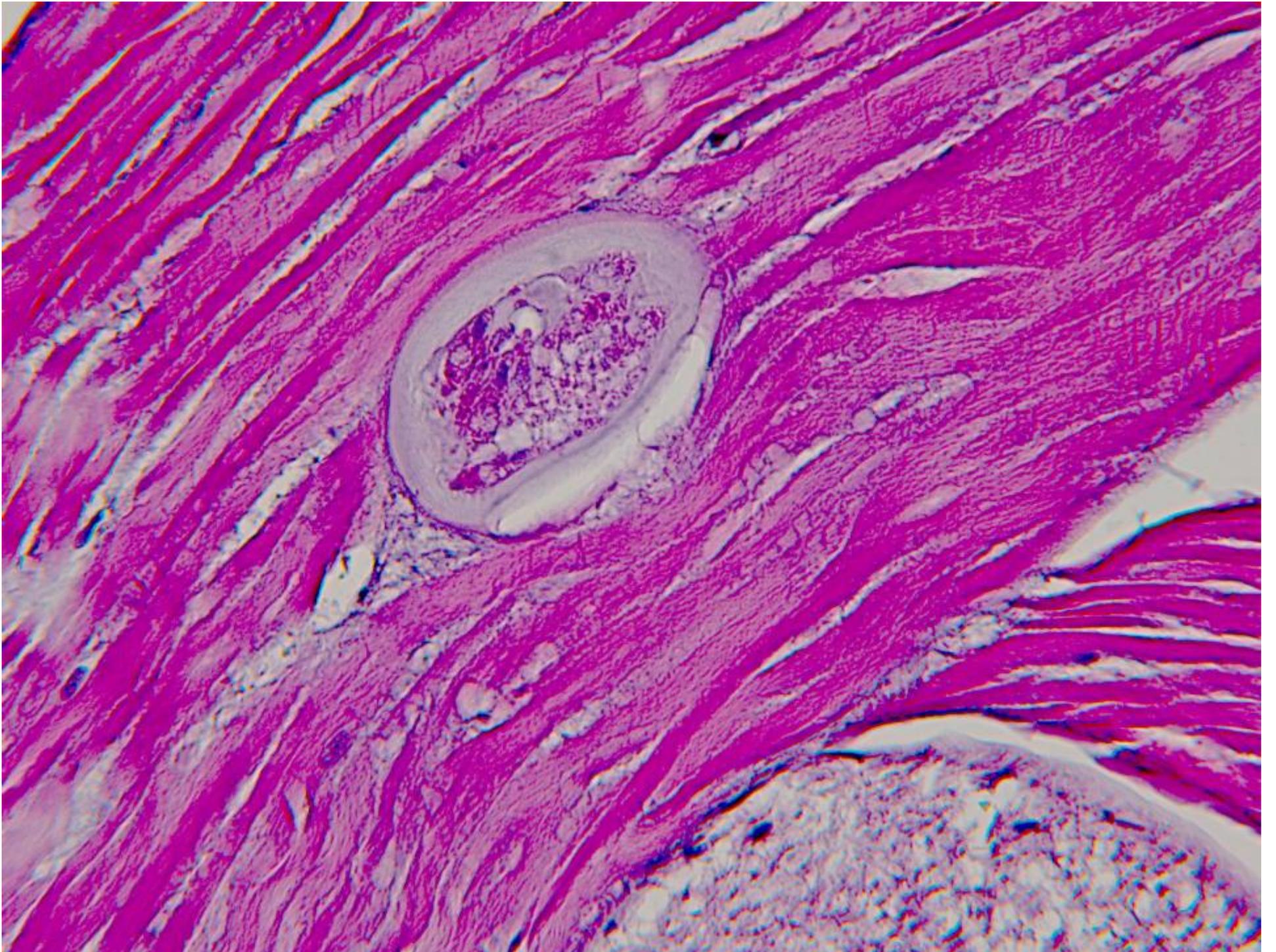
**Peptidi: miticine, mitiline, mitimicine con attività antimicrobica**

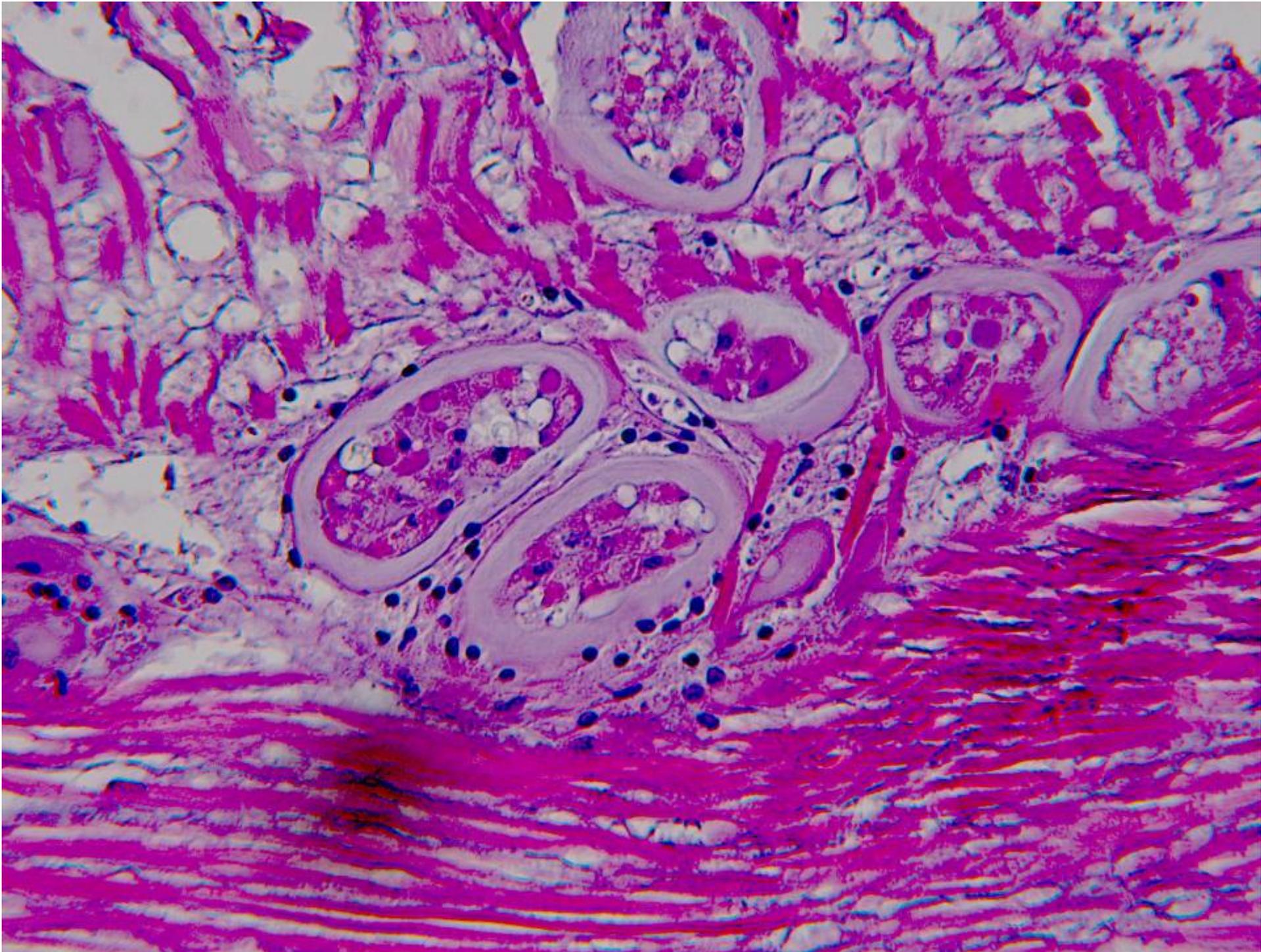
**Agglutinine: opsonine, emoagglutinine**

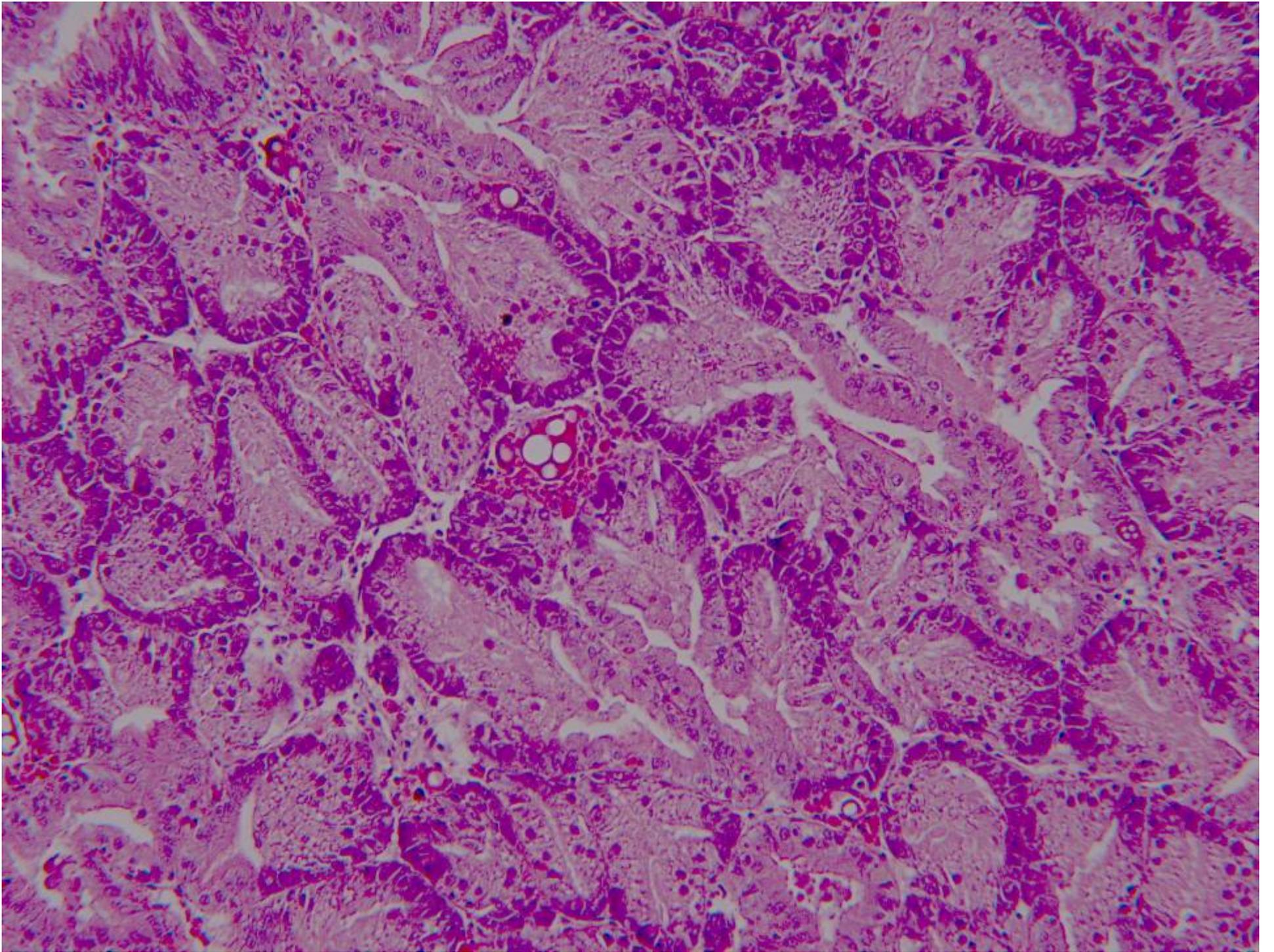


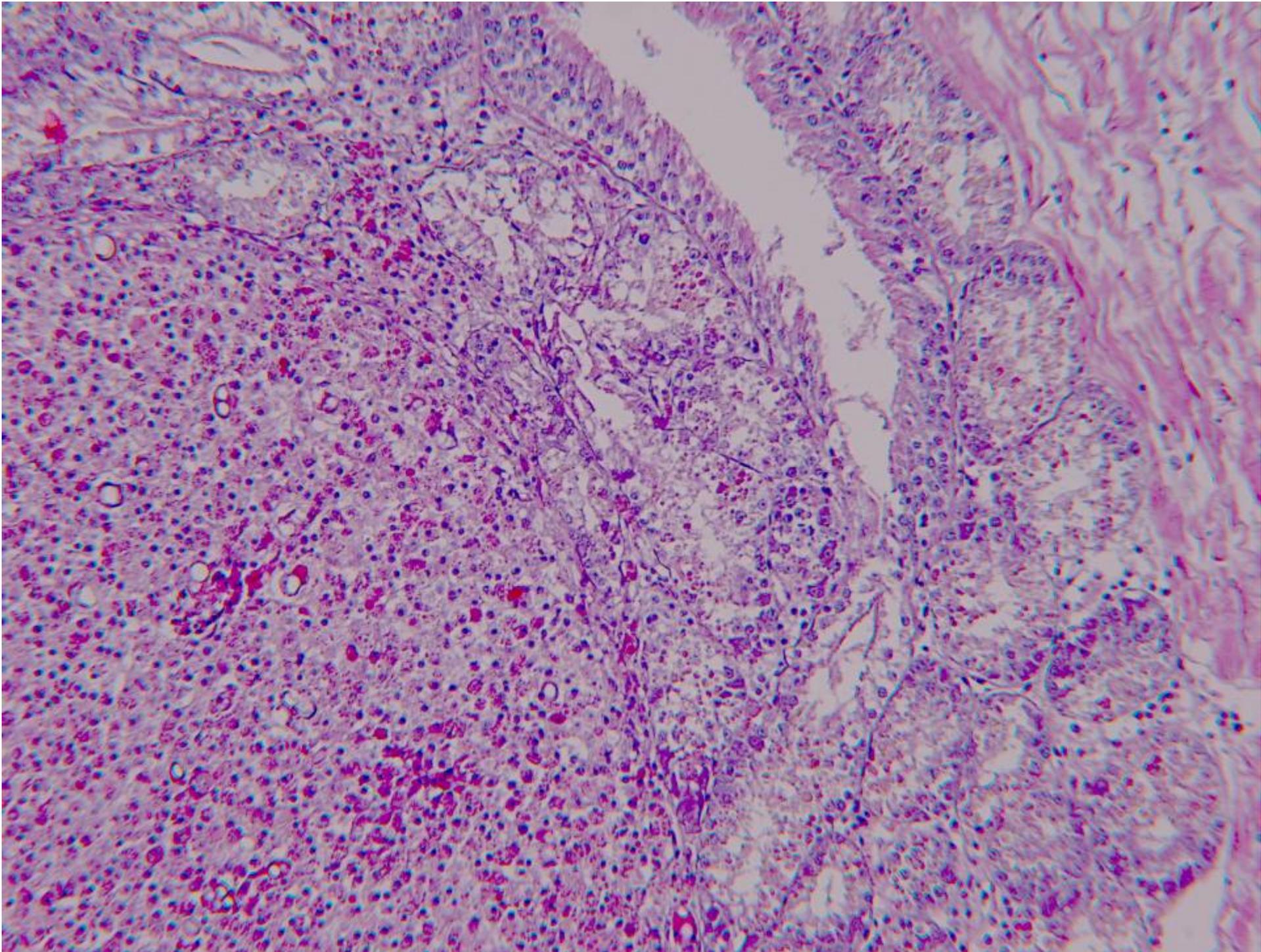
Villalba, 2007

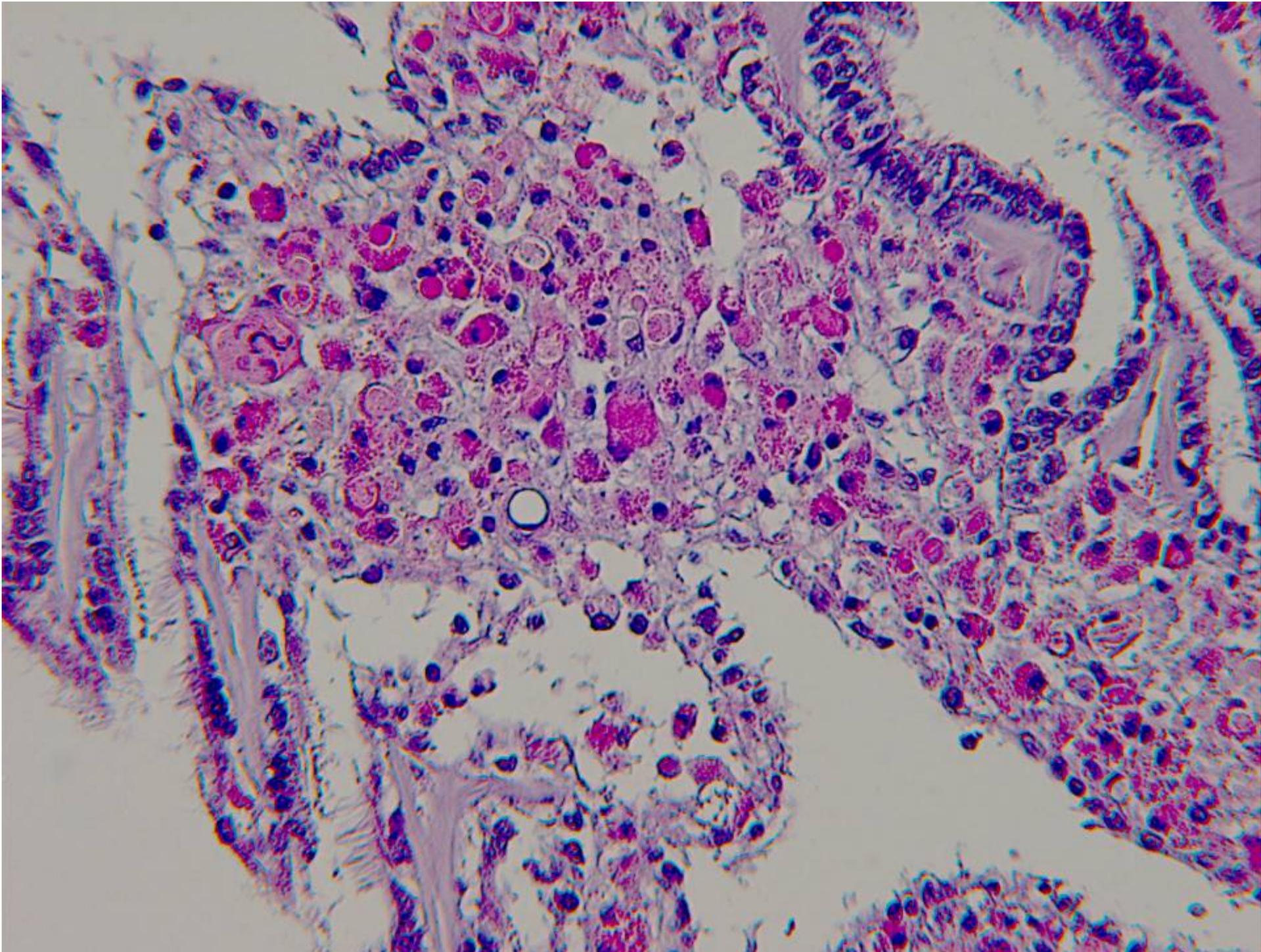


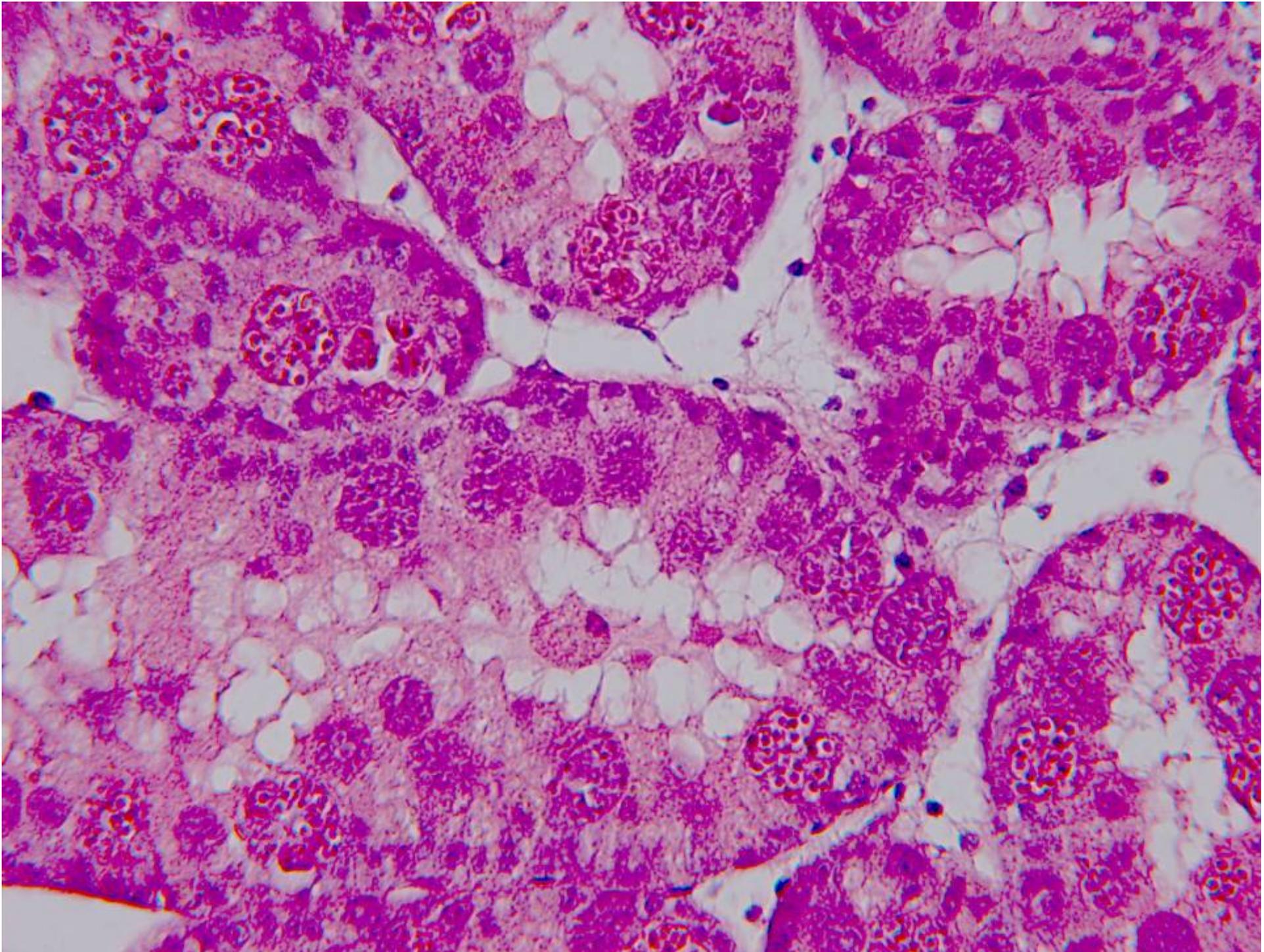


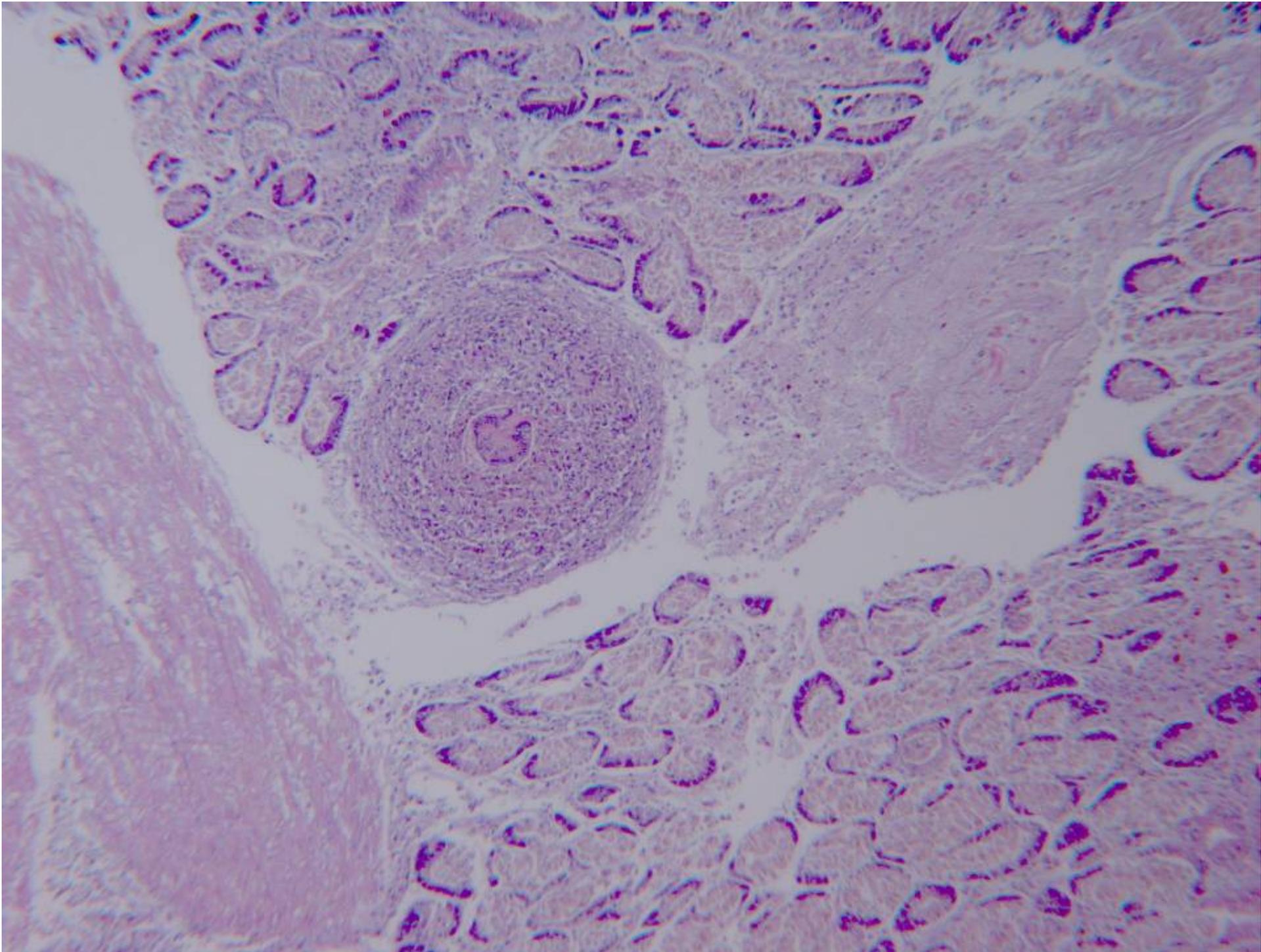


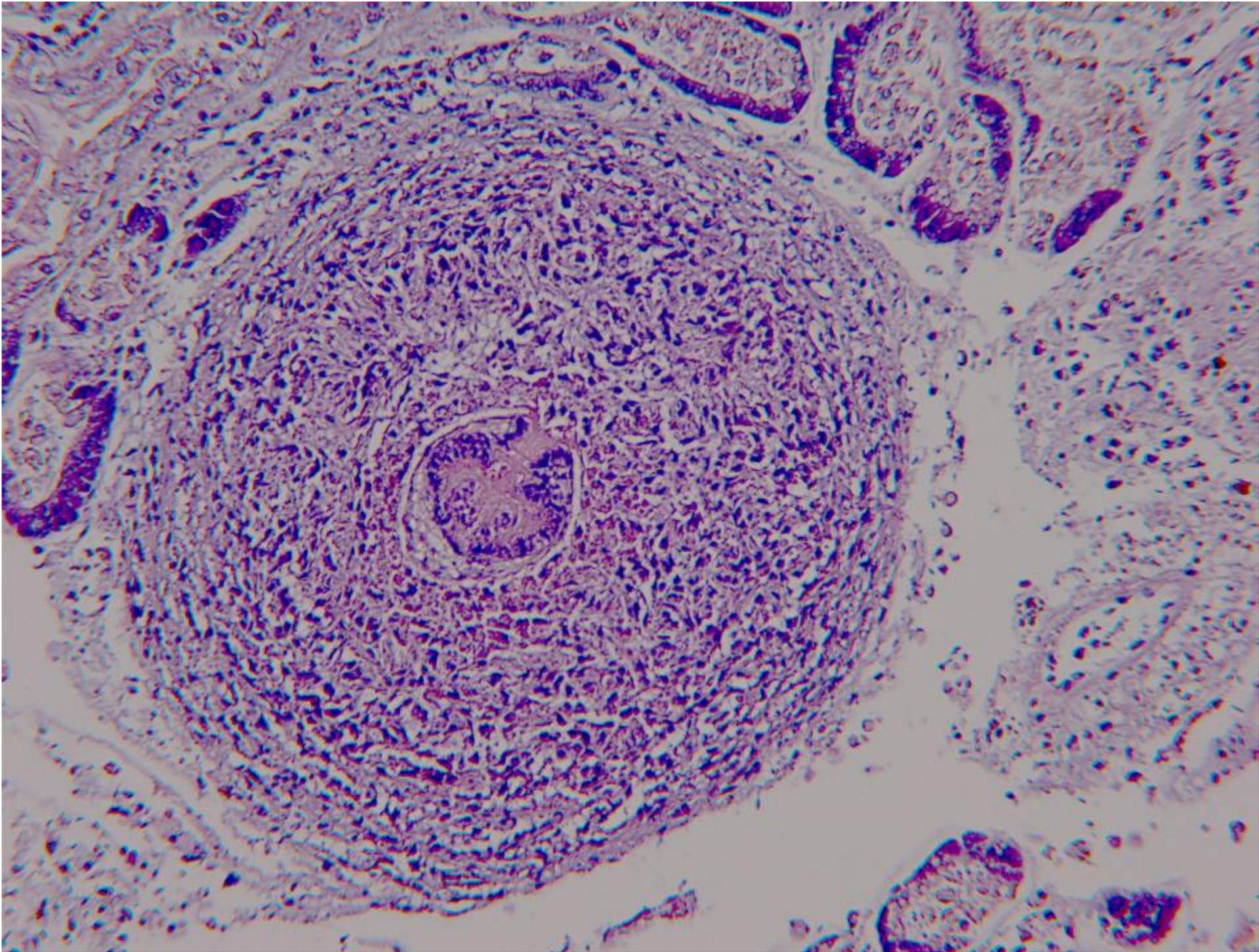


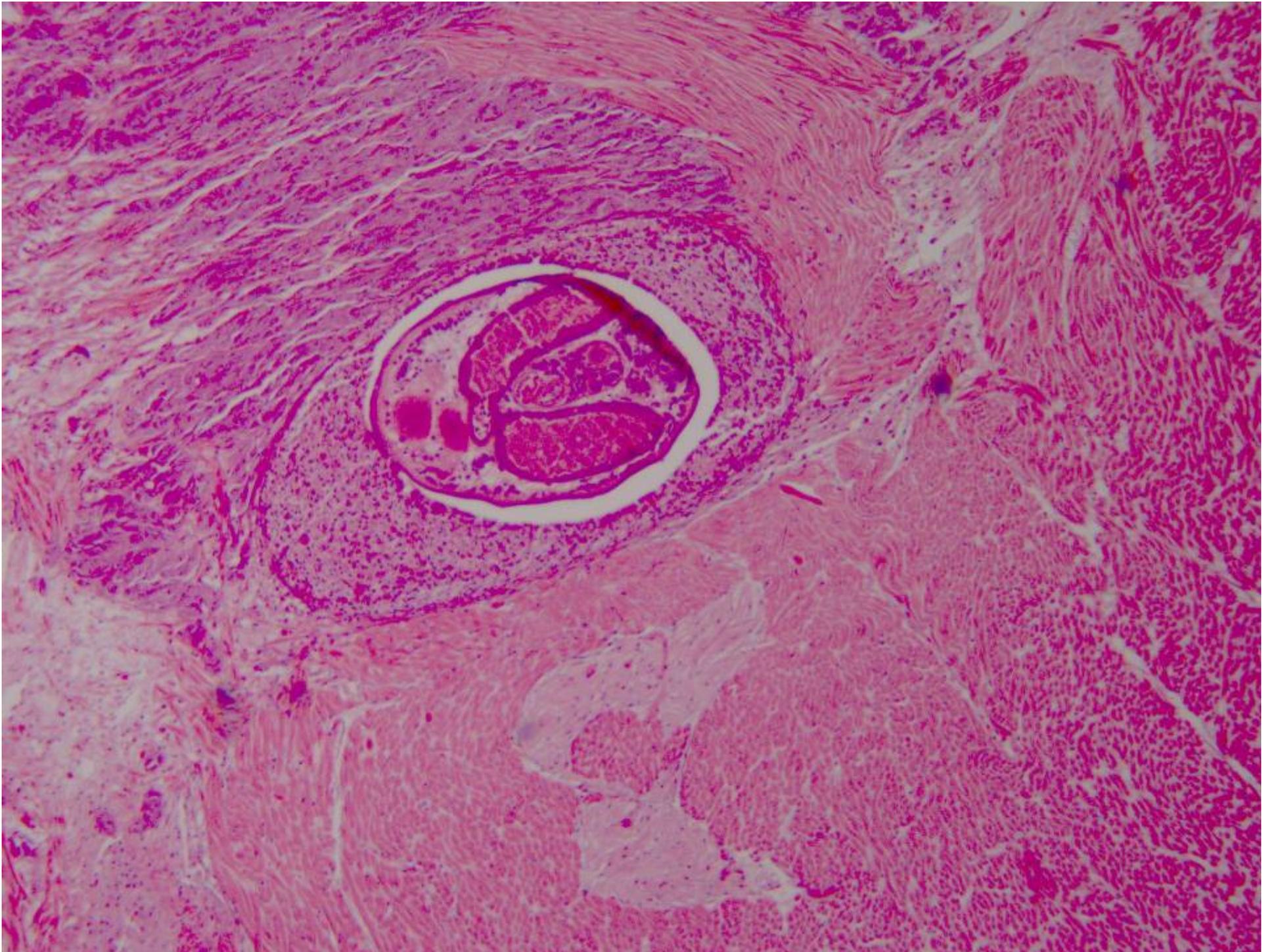


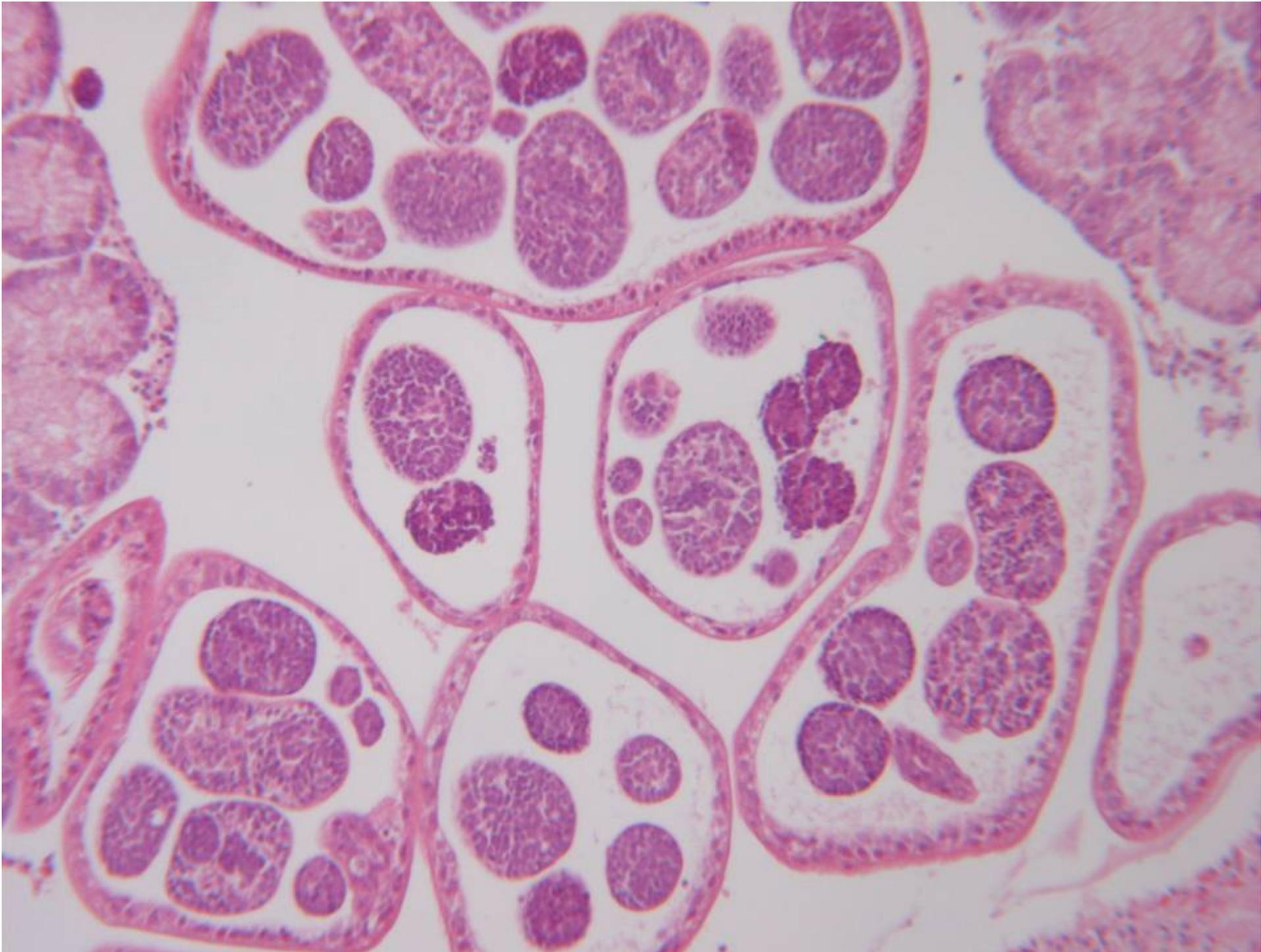












# Available diagnostic procedures

	Non exotic pathogens		Exotic pathogens		
	<i>Bonamia ostreae</i>	<i>Marteilia refringens</i>	<i>Bonamia exitiosa</i>	<i>Perkinsus marinus</i>	<i>Microcytos mackini</i>
Surveillance	Histology Citology PCR	Histology	Histology Citology PCR	RFTM PCR	Histology
Presumptive	Histology Citology PCR	Histology Citology	Histology Citology PCR	Histology RFTM PCR	Histology PCR
Confirmatory	PCR-RFLP TEM	PCR-RFLP TEM ISH	PCR-RFLP TEM ISH	PCR sequencing	Histology TEM sequencing ISH

**96/240/CE: Decisione della Commissione, del 5 febbraio 1996, che modifica la decisione 92/532/CEE che stabilisce i piani di campionamento ed i metodi diagnostici per individuare e confermare alcune malattie dei pesci**

## **METODI DI CAMPIONAMENTO E DI ACCERTAMENTO DELLA VHS E CONTROLLI RELATIVI ALLA IHN**

*Omissis....*

il numero di unità da prelevare è **150**, onde accertare, con un coefficiente di confidenza del 95 %, la presenza di portatori di virus con una prevalenza di portatori del 2 %

**30** esemplari allo scopo di rivelare, con un coefficiente di confidenza del 95 %, la presenza di virus con una prevalenza del 10 %.

.....numeri ripresi anche dalla Dec. 2001/183

.....**significatività statistica applicata anche per i bivalvi.**

# ***BONAMIA EXITIOSA***

***Bonamia exitiosa* è un protozoo Haplosporidio che infetta gli emociti di ostriche.**

**E' in grado di provocare disordini fisiologici fino alla morte dell'animale.**

**Non sono descritti ceppi o varianti**

**Fonte: Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2009**

**Ciclo vitale:** possibile la trasmissione diretta tra soggetti infetti

**Specie colpite:**

*O. chilensis*, *O. angasi* e *O. edulis*.

Infettati sia soggetti allevati, sia selvatici

**Età dei soggetti colpiti:**

*O. chilensis* : > 58 mm

*O. edulis* : > 60 mm (caso italiano: 4 cm)

## Organi e tessuti bersaglio:

*B. exitiosa* è un protozoo a localizzazione intraemocitaria ma può essere anche extracellulare.

Colpito soprattutto il tessuto connettivo di branchie e mantello.

In *O. angasi* localizzazione epiteliale, con infiltrazioni emocitarie massive fino a formare foci necrotici.

In *O. edulis* il parassita è associato a imponenti infiltrazioni emocitarie in vari organi.

## Lesioni macroscopiche

La maggior parte delle ostriche appare normale.  
Talvolta le branchie possono subire erosioni.

## Lesioni microscopiche

In *O. chilensis*, si osservano lesioni al tessuto connettivo di branchie e mantello e nei seni vascolari attorno allo stomaco e all'intestino. Lo strato di connettivo sub-epiteliale del mantello, infiltrato di emociti, presenta aspetto di dissociazione tra le cellule.  
In *O. edulis*, il parassita è stato rinvenuto nel tessuto connettivo di diversi organi in associazione a pesante infiltrazione emocitaria.

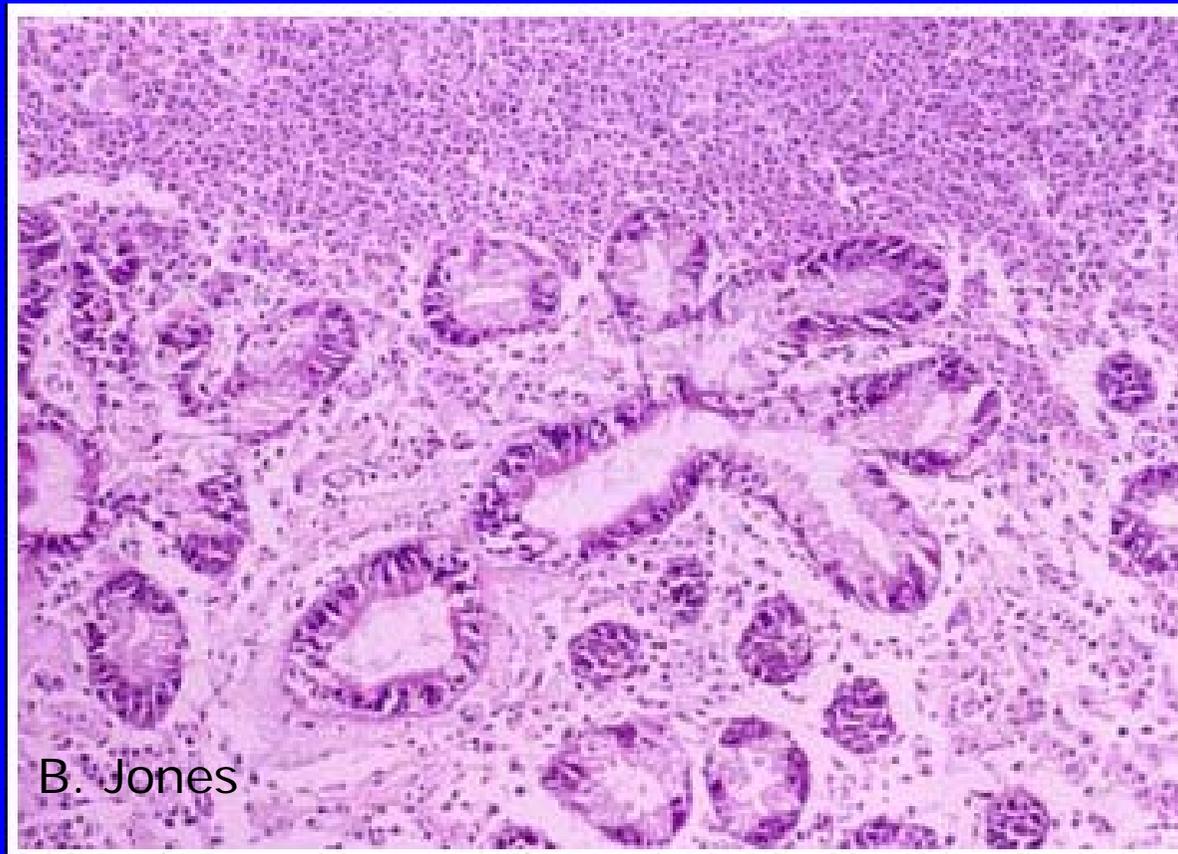
## Distribuzione geografica

*O. chilensis* in Nuova Zelanda

*O. angasi* in Australia

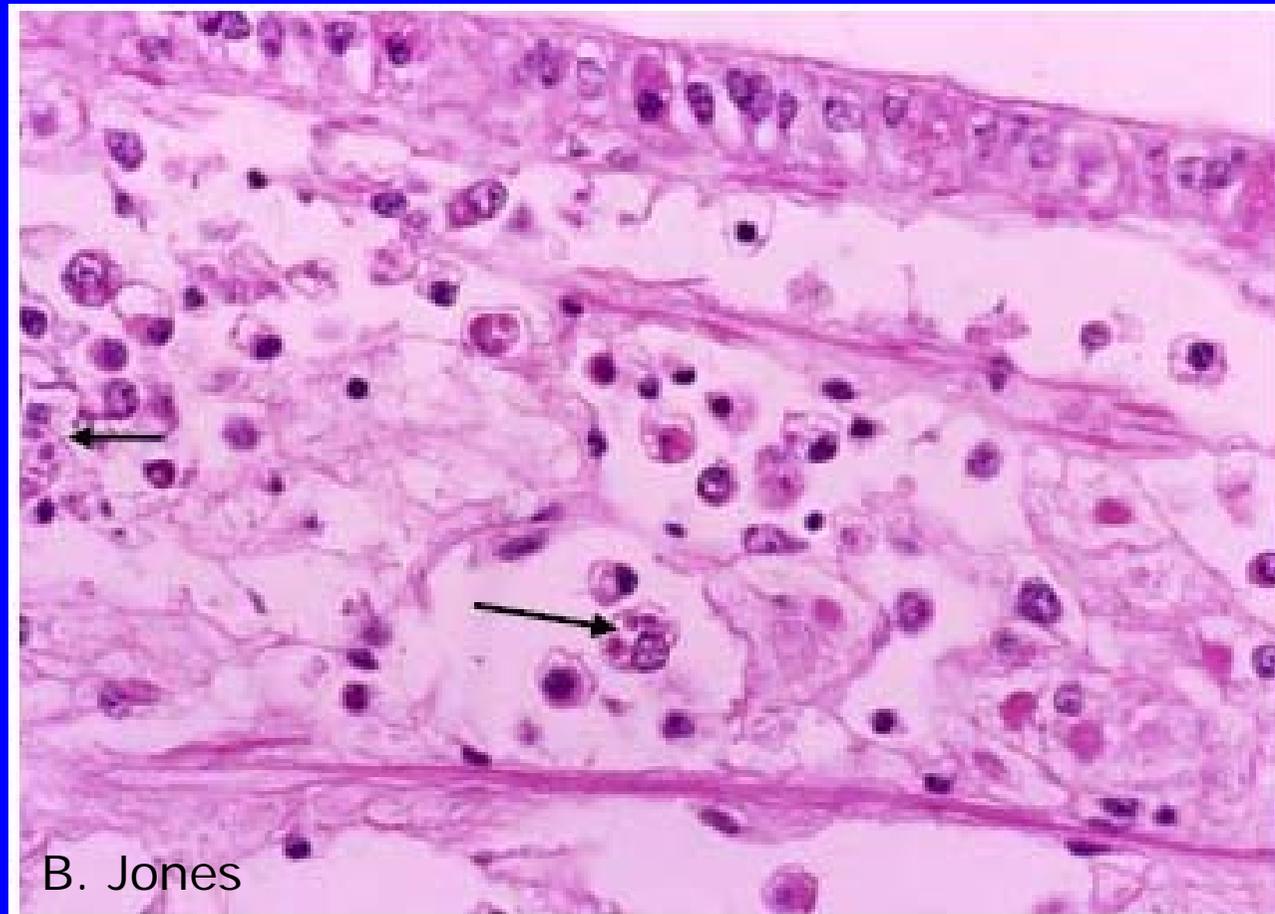
*O. edulis* in Spagna, Italia e Francia.

***Bonamia exitiosa* è in grado di distruggere  
il sistema immunitario**



**Risposta infiammatoria in una sezione di ghiandola digestiva di *O. cilena***

## Emociti infetti in tessuto gonadico



## DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

ES. CITOLOGICO

ES. ISTOLOGICO

**Per conferma:**

PCR – RFLP (*B. exitiosa* e *B. perspora*) > sequenziamento

# Presence of microcells

*Microcytos mackini*

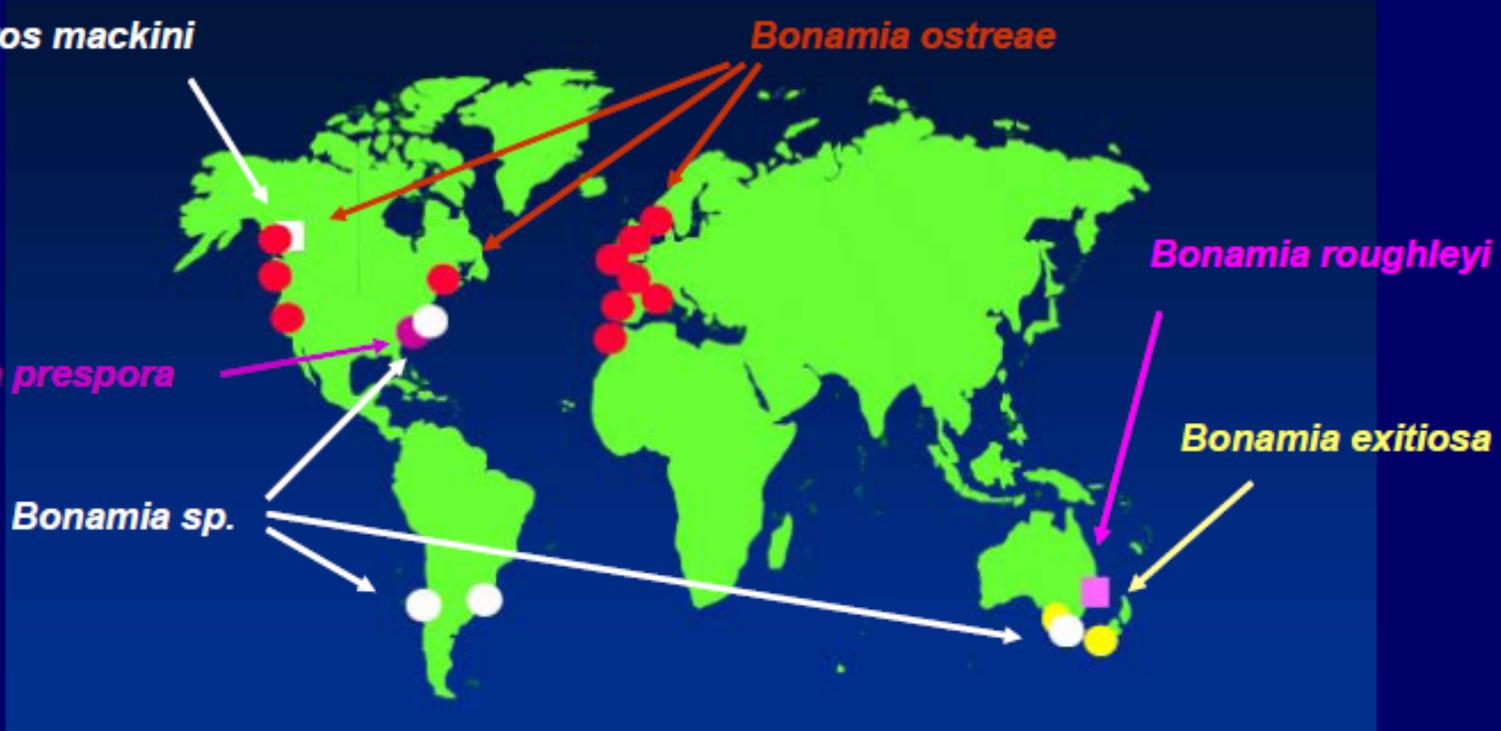
*Bonamia ostreae*

*Bonamia prespora*

*Bonamia roughleyi*

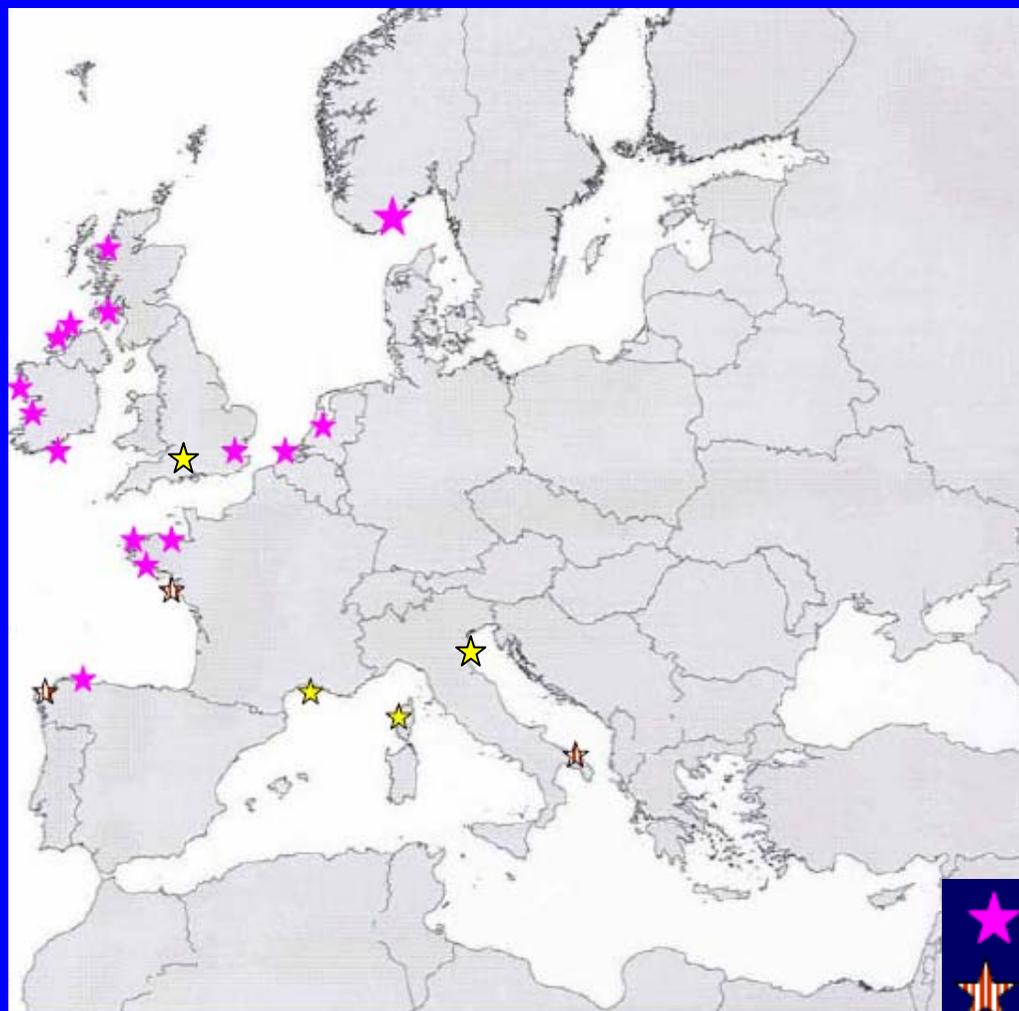
*Bonamia sp.*

*Bonamia exitiosa*



<i>Bonamia ostreae</i>	<i>Ostrea edulis, O. puelchana, O. angasi, O. chilensis</i>
<i>Bonamia exitiosa</i>	<i>O. chilensis, O. angasi</i>
<i>Bonamia perspora</i>	<i>Ostreola equestris</i>
<i>Bonamia roughleyi</i>	<i>Saccostrea commercialis</i>
<i>Bonamia sp.</i>	<i>O. chilensis, O. puelchana, Crassostrea ariakensis, O. angasi</i>

## B. EXITIOSA e B. OSTREAE - SITUAZIONE IN EU



- ★ *Bonamia ostreae*
- ★ *Bonamia ostreae*  
and *B. exitiosa*
- ★ *Bonamia exitiosa*



**L. Grassia**

Febbraio 2010: *O. edulis* catturate assieme ad altri bivalvi



Valori di crescita:

23 aprile: 15 g/soggetto, 4  
cm

10 novembre: 50  
g/soggetto, 7,5 cm

**L. Grassia**

Febbraio 2010: *O. edulis* pronte per l'allevamento

## Reg. 1251 / 2008 : Specie vettrici

Infezione da *Bonamia exitiosa*

Ostrica concava (*C. angulata*), ostrica giapponese (*C. gigas*), ostrica della Virginia (*C. virginica*).

# ***BONAMIA OSTREAE***

***Bonamia exitiosa* è un protozoo Haplosporidio che infetta gli emociti di ostriche.  
E' in grado di provocare disordini fisiologici fino alla morte dell'animale.**

**Non sono descritti ceppi o varianti**

**Fonte: Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2009**

### **Ciclo vitale:**

Il ciclo all'esterno dell'ospite non è noto. Possibile l'infezione tra soggetti infetti, per coabitazione o infezione sperimentale, il che depone per l'assenza di ospiti intermedi.

### **Specie colpite:**

Ospiti naturali: *Ostrea edulis*.

Ostriche suscettibili di infezione se introdotte in aree endemiche: *Ostrea puelchana*, *O. angasi*, *O. chilensis* (= *Tiostrea chilensis*, *T. lutaria*).

L'infezione di altre ostriche: *Ostrea conchaphila* (= *O. lurida*), *Crassostrea angulata* and *C. ariakensis* (= *C. rivularis*) con *B. ostreae* deve essere confermata.

### **Età dei soggetti colpiti:**

Soggetti a infezione anche soggetti giovani con sviluppo di malattia dopo un periodo di 6 mesi. Individui con più di 2 anni sono più sensibili. Seme proveniente da banchi naturali appare più sensibile di seme da schiuditoi.

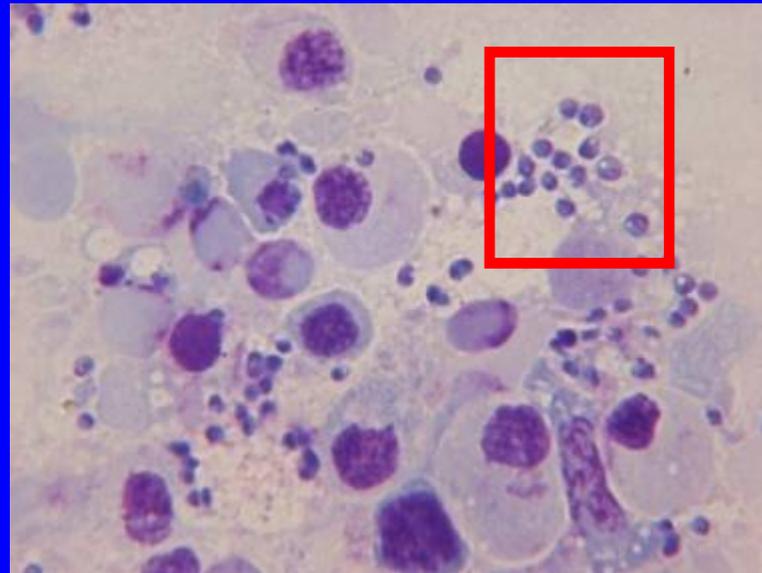
## Organi e tessuti bersaglio

*Bonamia ostreae* è un protozoo intraemocitario con localizzazione anche extracellulare tra le cellule epiteliali o interstiziali delle branchie e dello stomaco.

Presente in aree necrotiche.

La presenza in tessuto ovarico deve essere confermata.

Infezioni in stadio avanzato diventano sistemiche.



Impronta da emolinfa – col. Hemacolor

### **Lesioni macroscopiche**

Occasionale colorazione giallastra della polpa, ulcere alle branchie, mantello e ghiandola digestiva.

Lesioni comunque non patognomoniche per inf. da *Bonamia*.  
Molti soggetti infetti appaiono normali.

### **Lesioni microscopiche**

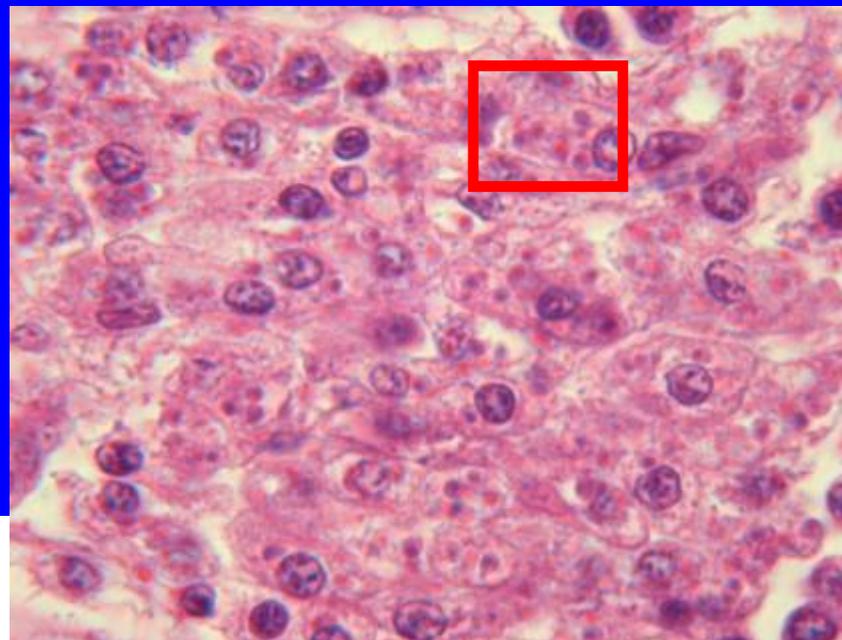
Infiltrazioni emocitarie nel tessuto connettivo di branchie e mantello e seni vascolari attorno a stomaco e intestino.

### **Distribuzione geografica**

Europa (Francia, Irlanda, Italia, Olanda, Portogallo, Spagna e UK),  
Canada (British Columbia) e USA (California, Maine and Washington States)



Impronta emolinfa  
col. Hemacolor



Tessuto connettivo, emociti  
col. EE

## DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

ES. CITOLOGICO

ES. ISTOLOGICO

Per conferma:

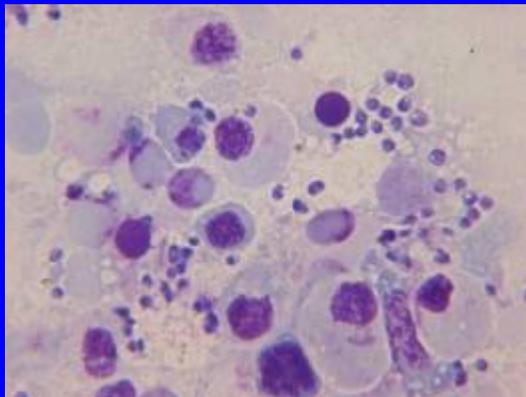
PCR – RFLP (*B. ostreae* e *B. roughleyi*) > sequenziamento

## BONAMIA OSTREAE IN OSTRICA PIATTA

*Ostrea edulis*  
(ultimi 5 anni)

Prevalenza < 1%

Assenza mortalità



## Reg. 1251 / 2008 : Specie vettrici

Infezione da *Bonamia ostreae*

Cuore edule (*Cerastoderma edule*), tellina (*Donax trunculus*), cappa molle (*Mya arenaria*), cappa dura (*Mercenaria mercenaria*), vongola del Pacifico (*Meretrix lusoria*), vongola (*Tapes decussatus*), vongola filippina (*Ruditapes philippinarum*), vongola o longone (*Venerupis aurea*), vongola o longone (*Venerupis pullastra*), tartufo o noce (*Venus verrucosa*).

Cappasanta atlantica (*Pecten maximus*)

# ***MARTEILIA REFRINGENS***

***Marteilia refringens* è un protozoo Phylum Paramyxea che infetta il tratto digerente di varie specie di bivalvi e provoca disordini fisiologici fino alla morte dell'animale.**

***Marteilia refringens: tipo O e tipo M***

Source: Manual of Diagnostic Tests for  
Aquatic Animals 2009

**Ciclo vitale:**

E' di tipo indiretto potendo includere ospiti intermedi come il copepode *Paracartia grani* .

**Specie colpite:**

*Ostrea edulis*, *M. edulis* e *M. galloprovincialis*.

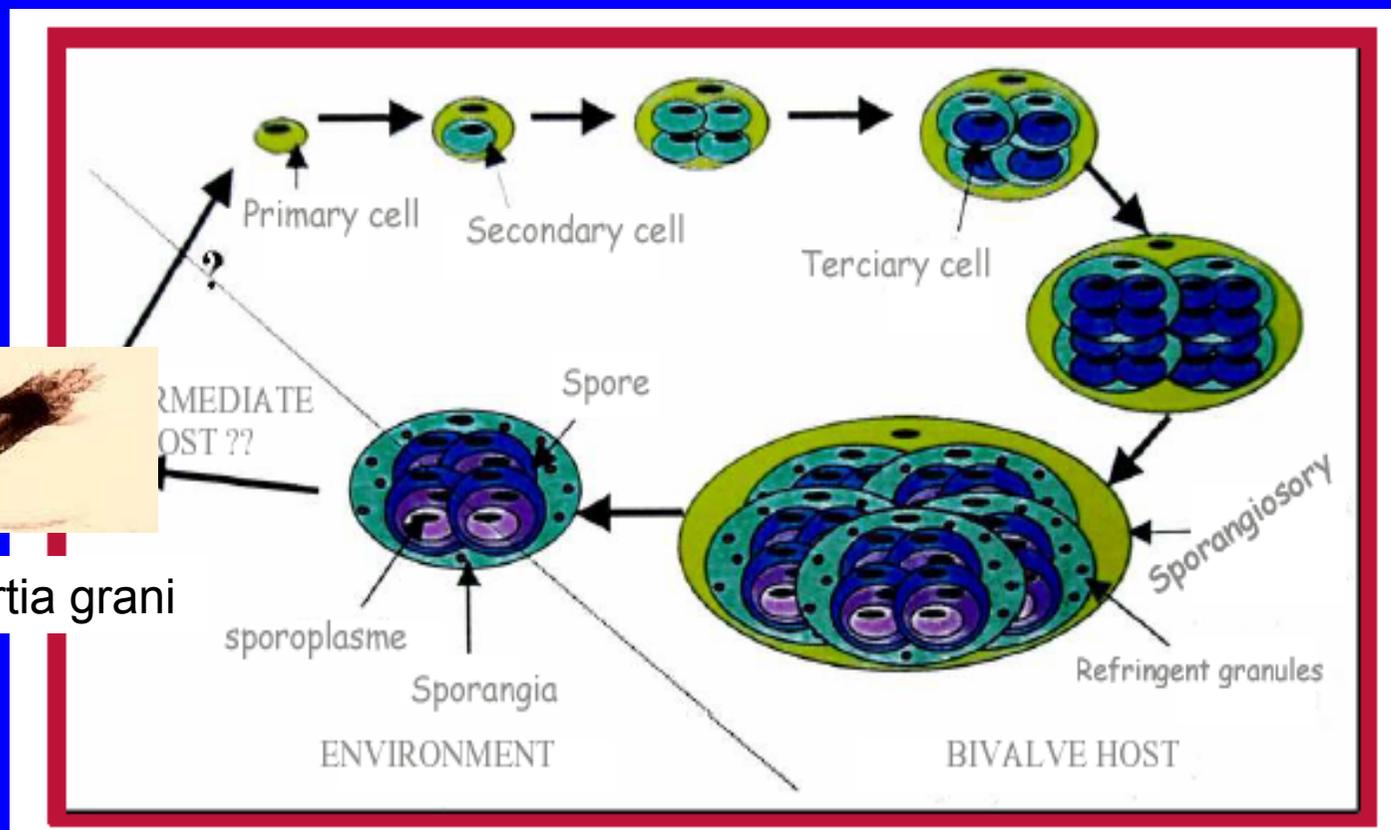
Altre ostriche: *O. chilensis*, *O. puelchana*, *O. angasi*, and *O. denselamellosa* quando immesse in aree già infette.

Infezione riportata anche in *M. refringens*, *Solen marginatus* and *Chamelea gallina*.

Differenti stadi di sviluppo di protozoi simili a *Marteilia* sono stati descritti in *Cerastoderma edule*, *Ruditapes decussatus*, *R. philippinarum*, *Tapes rhomboides*, *T. pullastra*, *Ensis minor* e *Crassostrea virginica*.



Paracartia grani



Source: Carrasco *et al.*, Aquaculture, 2007, 269, 1-4

### **Lesioni macroscopiche**

Ghiandola digestiva di colorazione più chiara, polpa di consistenza acquosa, mantello retratto e crescita ridotta segnalate in ostrica piatta, anche se sono lesioni non patognomoniche.

In mitili: crescita ridotta e inibizione dello sviluppo gonadico.

### **Lesioni microscopiche**

Localizzazione intracellulare nel tratto digestivo che porta ad interferire con la normale assunzione di alimento.

In mitili, lo sviluppo di adipociti nel mantello è compromesso.

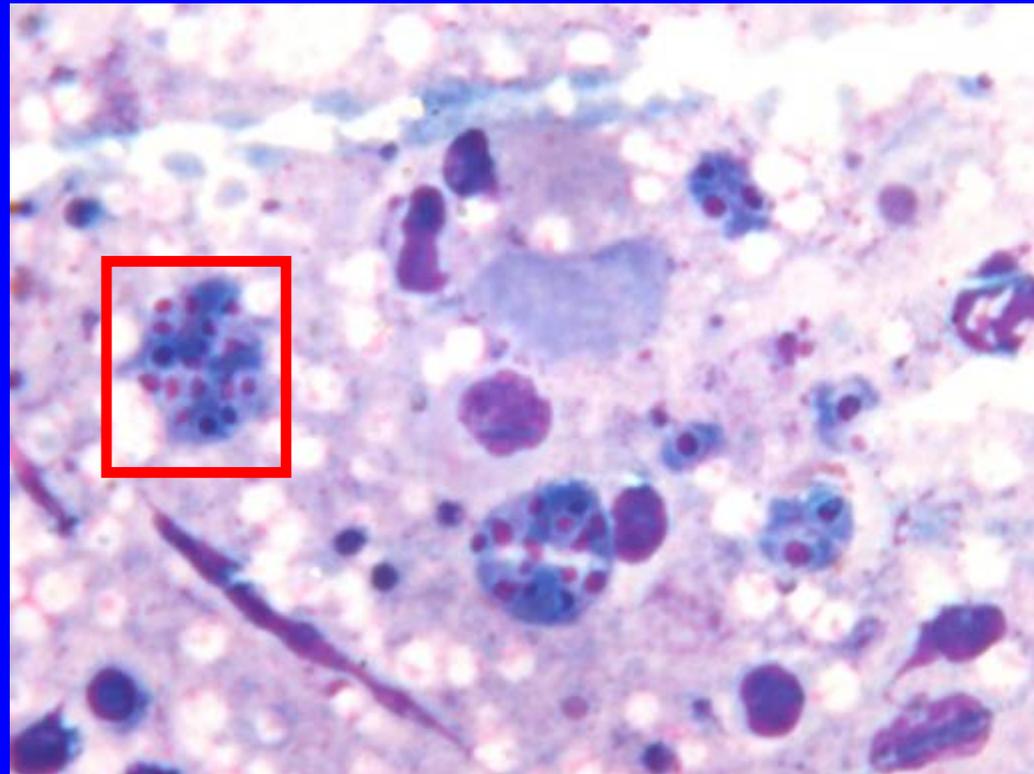
In *O. edulis* c'è un'interferenza con le riserve di glicogeno.

### **Distribuzione geografica**

Albania, Croazia, Francia, Grecia, Italia, Marocco, Portogallo, Spagna e UK.

## Organi e tessuti bersaglio

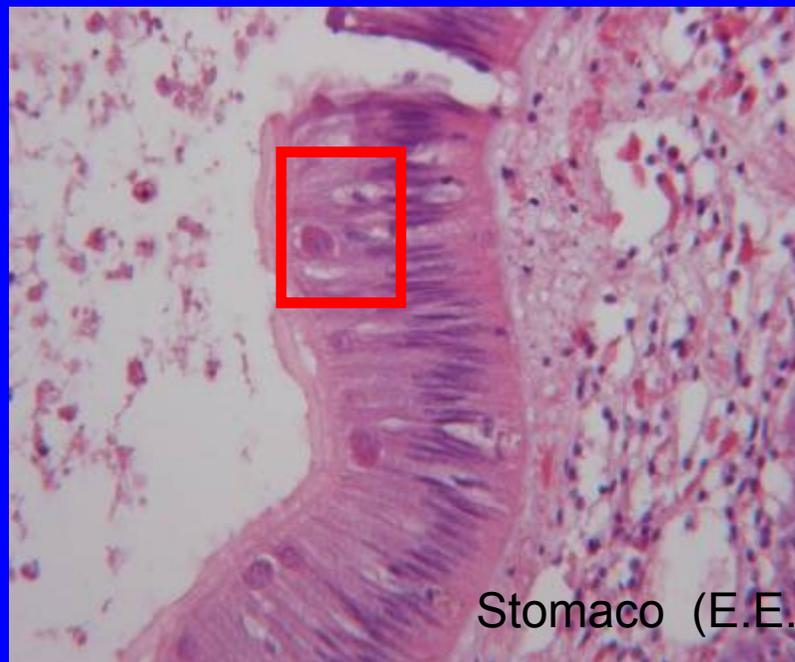
*Marteilia refringens* colpisce il tratto digerente. Plasmodi sono reperibili soprattutto nell'epitelio dei palpi labiali e dello stomaco. La sporulazione avviene nei dotti e tubuli del tratto digerente. Le spore vengono rilasciate all'esterno attraverso le pseudofeci.



Ghiandola digestiva – impronta – Col. Haemacolor stain



Ghiandola digestiva (E.E.)



Stomaco (E.E.)

## DIAGNOSTICA DI LABORATORIO

ES. CITOLOGICO

ES. ISTOLOGICO

**Per conferma:**

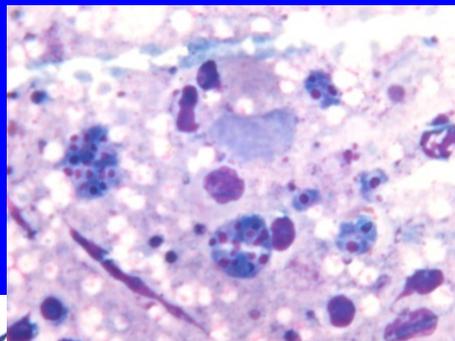
PCR – RFLP : anche per distinguere tipo M da tipo O

## MARTEILIA IN OSTRICA PIATTA

*Ostrea edulis*  
(ultimi 5 anni)

Prevalenza < 1%

Assenza mortalità

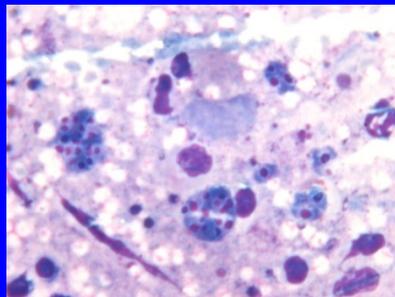


## MARTEILIA IN MITILO

*M. galloprovincialis*  
(ultimi 5 anni)

Prevalenza < 1% Nord Adriatico  
10-20% Tirreno

Assenza mortalità



## Reg. 1251 / 2008 : Specie vettrici

Infezione da *Marteilia refringens*

Cuore edule (*Cerastoderma edule*), tellina (*Donax trunculus*), cappa molle (*Mya arenaria*), cappa dura (*Mercenaria mercenaria*), vongola del Pacifico (*Meretrix lusoria*), vongola (*Tapes decussatus*), vongola filippina (*Ruditapes philippinarum*), vongola o longone (*Venerupis aurea*), vongola o longone (*Venerupis pullastra*), tartufo o noce (*Venus verrucosa*).

# ***PERKINSUS OLSENI***

*Perkinsus olsenii* è un protozoo, dinoflagellato, che infetta tessuto connettivo ed emociti di vari bivalvi.

**Non sono descritti ceppi o varianti**

Fonte: Manual of Diagnostic Tests for  
Aquatic Animals 2009

## PERKINSUS IN SPECIE EUROPEE

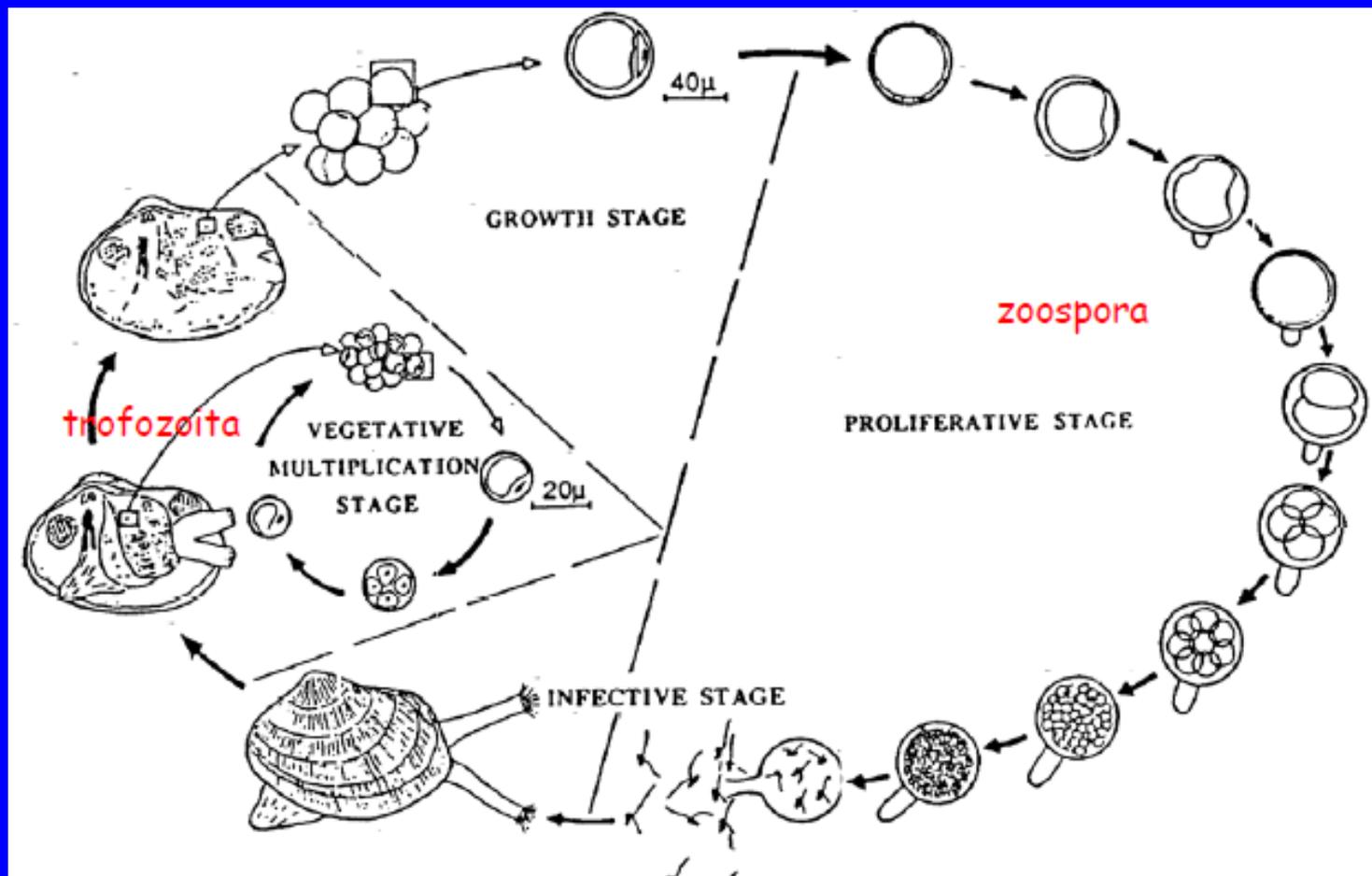
ITALIA	<i>R. decussatus</i> <i>R. philippinarum</i> <i>V. areus</i> <i>C. edule</i> <i>C. glaucum</i> <i>O. edulis</i> <i>V. verrucosa</i> <i>C. gallina</i> <i>C. chione</i> <i>P. aurea</i>	<b>Da Ros et al., 1985 (1978)</b> Ceschia et al., 1991 Da Ros et al., 1986 Da Ros et al., 1986 Figus et al., 2003 Da Ros et al., 1986 Da Ros et al., 1986 Rubini et al.m, 1996 Canestri Trotti et al. 2000 Figus et al., 2002
PORTOGALLO	<i>R. decussatus</i>	Ruano et al., 1986
SPAGNA	<i>R. decussatus</i> <i>R. philippinarum</i> <i>O. edulis</i> <i>C. gigas</i> <i>V. pullastra</i> <i>V. aureus</i> <i>V. rhomboides</i> <i>P. aurea</i> <i>D. trunculus</i>	Azevedo, 1989 Villalba et al., 1988 Sanmarti et al., 1995 Sanmarti et al., 1995 Navas et al., 1992 Navas et al., 1992 Conchas et al., 2001 Conchas et al., 2001 Conchas et al., 2001
FRANCIA	<i>R. decussatus</i> <i>R. philippinarum</i> <i>R. aureus</i>	Goggin, 1992

**Ciclo vitale:** dimostrata la trasmissione diretta tra soggetti infetti.  
Tutte le fasi del ciclo vitale sono infettanti

**Età dei soggetti colpiti:** tutte le età sono suscettibili all'infezione

**Organi e tessuti bersaglio:** tessuto connettivo ed emociti

# CICLO VITALE DI PERKINSUS



Auzoux-Bordenave, 1995

## Lesioni macroscopiche

I soggetti appaiono più magri, con pallore della ghiandola digestiva, presenza di noduli in mantello e branchie.  
Segni comunque non patognomonici

## Lesioni microscopiche

Presenza di lesioni di tipo multifocale nel connettivo. Infiltrazione di emociti  
In vongole: tipiche aree eosinofile contenenti il parassita, che derivano da degranolazione degli emociti.

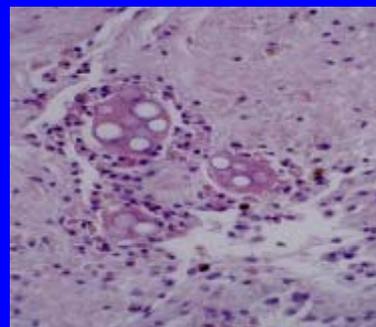
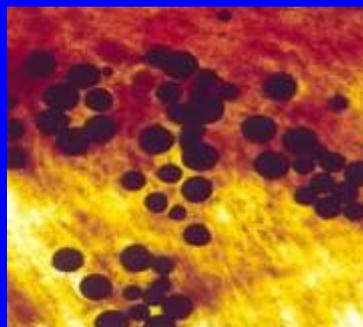
## Distribuzione geografica

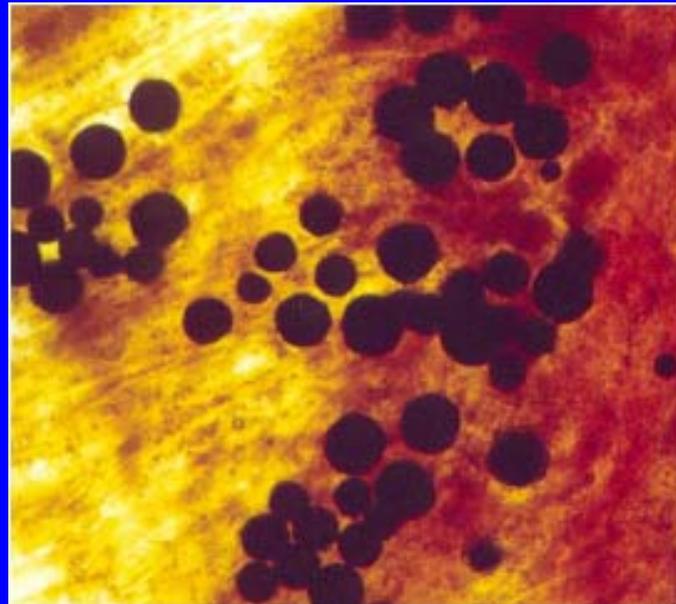
Fascia tropicale dell'Oceano Pacifico, Australia, Nuova Zelanda, Vietnam, Korea, Giappone, Cina, Portogallo, Spagna, Francia, Italia e Uruguay.  
*Perkinsus olseni* non è presente in Nord America.

## PERKINSUS IN VONGOLA VERACE

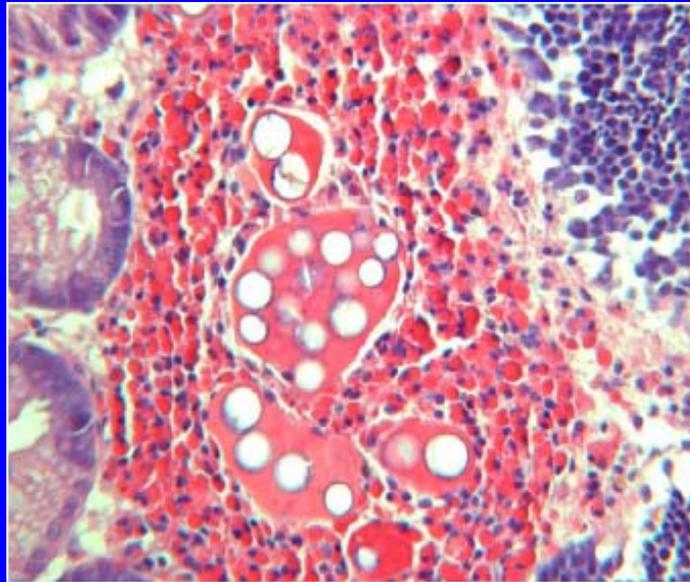
*R. philippinarum*  
(ultimi 5 anni)

Prevalenza: 30-60%





**Esame colturale da branchia**



**Esame istologico**

# Ostreid Herpes Virus -1 $\mu$ var

**Definizione: Reg. CE 175/2010**

**OsHV-1  $\mu$ var indica un genotipo del virus dell'herpes Ostreid -1 (OsHV-1), definito sulla base di dati di sequenza parziali dai quali risulta la cancellazione sistematica di 12 coppie di base nell'ORF 4 del genoma rispetto all'OsHV-1 (GenBank # AY509253)**

# OsHV-1 $\mu$ var

2008 e 2009: segnalata in Francia mortalità ostriche (*C. gigas*),

	Maggio 1	Maggio 2	Giugno 1	Giugno 2
Thau				
Arcachon				
Marennes Oleron				
Re Loix				
Bretagne Sud				
Bretagne Nord				
Normandie				

**La mortalità è stata segnalata in Irlanda e nel 2009 anche nel Jersey (UK)**

**Colpiti soggetti giovani fino a 18 mesi età**

**Mortalità con valori dal 40 a 80-90%**

**La temperatura fattore scatenante: oltre 16-17 °C**

**Presenza di due patogeni : OsHV-1  $\mu$ var. e *Vibrio splendidus***

**Rilevata presenza di : *V. estuarianus* e *V. harveyi***

*Vibrio harveyi* e *Vibrio tapetis* sono stati rilevati soltanto in piccolo numero di campioni, il batterio *Vibrio tubiashii* che gli Stati Uniti è associato a mortalità giovanile in ostriche, non è stata rilevato.

Nessun organismo della lista malattie esotiche è stato rilevato (*Perkinsus marinus* e *Mikrocytos makini*).

Nel 2008, le ricerche svolte nel laboratorio Ifremer hanno dimostrato la capacità degli individui infetti da HIV-1 OsHV e batteri appartenenti al genere *Vibrio* di trasmettere questi agenti infettivi a individui sani collocati nelle vicinanze.

Nel 2009, la natura infettiva e contagiosa del fenomeno è stata dimostrata attraverso osservazioni sul campo.

## Altre ipotesi

**Forte piovosità nei mesi primaverili in Francia**

**Elevata concentrazione animali dopo primi eventi mortalità**

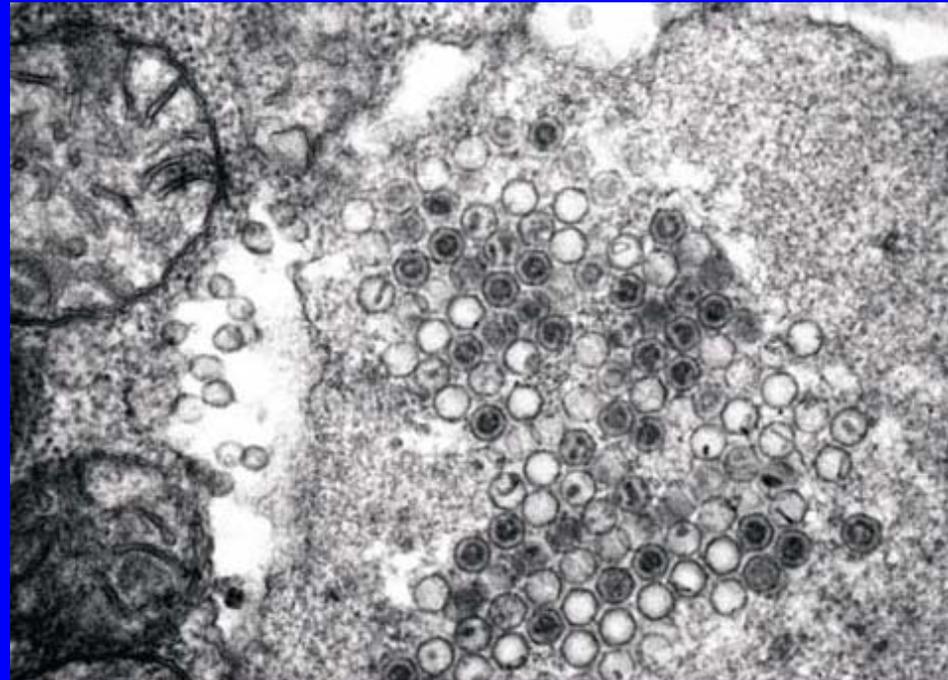
**Spostamento animali in zone ancora indenni**

**lo stato fisiologico, immunologico e genetico degli animali è una variabile importante da considerare per l'instaurarsi della mortalità.**



**Patologia/sindrome a carattere multifattoriale**

## Herpes virus .....il maggior responsabile



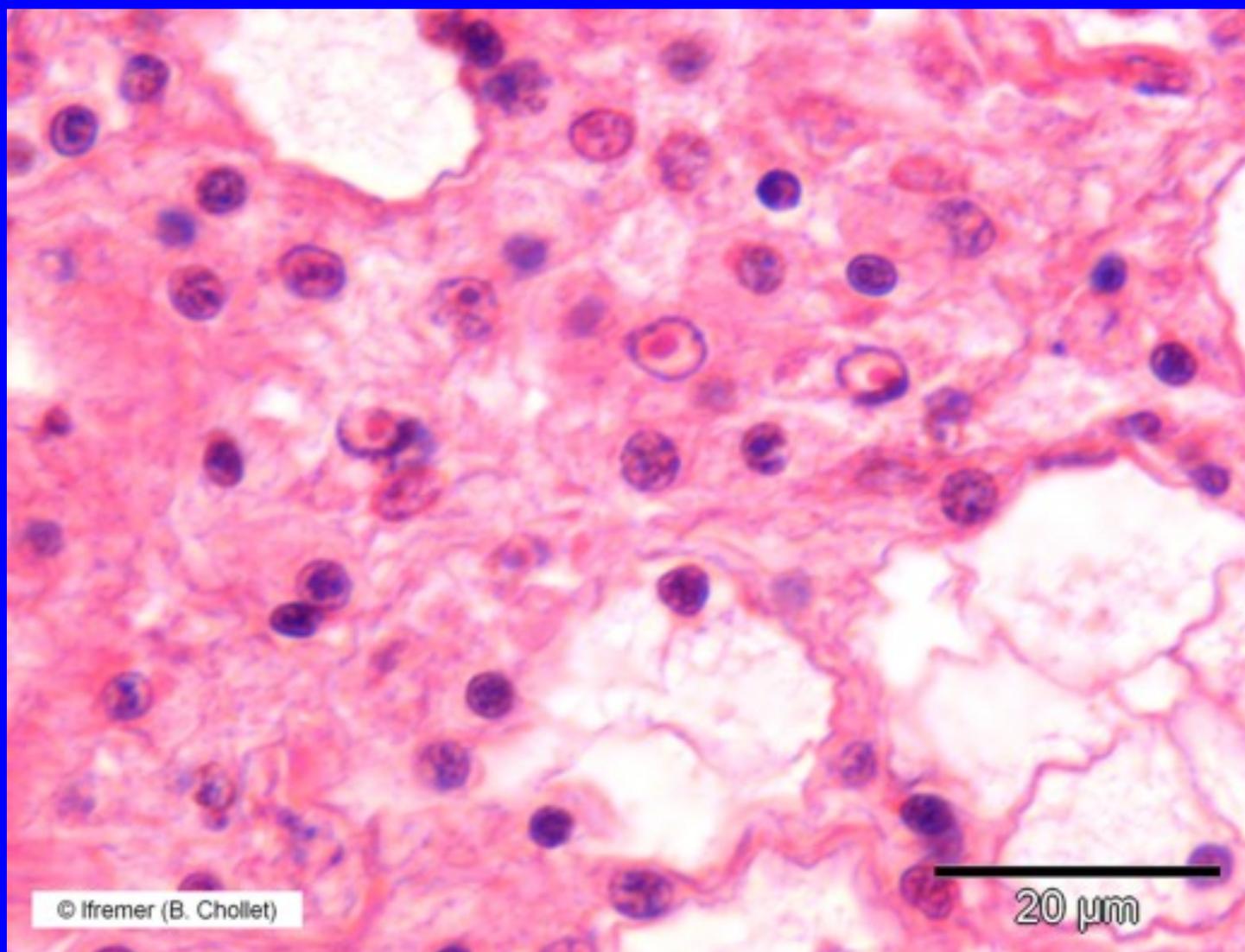
**OsHV-1  $\mu$ var indica un genotipo del virus dell'herpes Ostreid -1, definito sulla base di dati di sequenza parziali dai quali risulta la cancellazione sistematica di 12 coppie di basi nell'ORF 4 del genoma rispetto all'OsHV-1 (GenBank # AY509253).**

## Herpes nei bivalvi...un po' di storia

Prima segnalazione di herpes-like virus : Farley et al., 1972, mediante microscopia elettronica, in esemplari di *Crassostrea virginica* adulti, Maine, USA.

Le Deuff and Renault (1999) identificano con PCR e denominano “ ostreid herpesvirus 1” (OsHV-1) in larve di *Crassostrea gigas* , Francia.

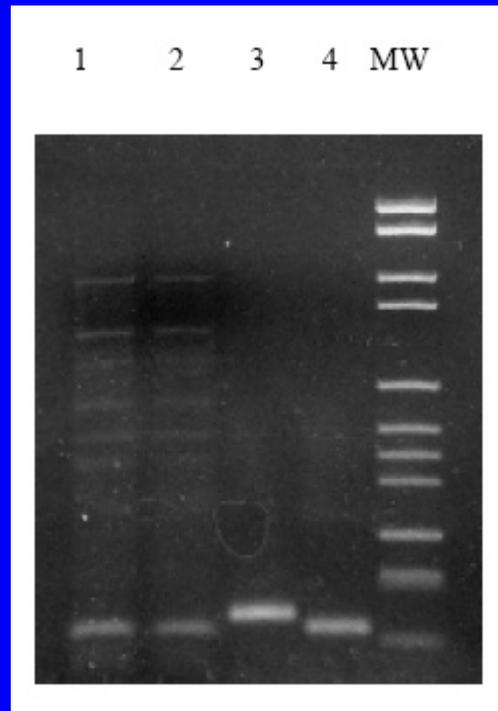
In seguito sempre in Francia, , in larve di *Crassostrea rivularis* (Arzul et al.,2001), *O. edulis* (Renault and Arzul, 2001), *Crassostrea angulata* (Arzul et al., 2001), *R. decussatus* (Renault and Arzul, 2001) e *R. philippinarum* (Renault et al., 2001).



© Ifremer (B. Chollet)

20 µm

## Risultati PCR



- 1; cp 9 (□15μl)
- 2; cp 9 (□15μl)
- 3; OsHV-1 173 bp
- 4; OsHV-1 μvar 157 bp
- MW: Peso molecolare (Roche VI)

La sequenza corrisponde a OsHV-1 (NCBI BLAST)

**REGOLAMENTO (UE) N. 175/2010 DELLA COMMISSIONE  
del 2 marzo 2010**

**che attua la direttiva 2006/88/CE del Consiglio per quanto riguarda le  
misure di lotta all'aumento della mortalità delle ostriche della specie *Crassostrea  
gigas* in relazione al rilevamento dell'*Ostreid herpesvirus 1*  $\mu$ var (*OsHV-1*  $\mu$ var)**

Si applica solo a *Crassostrea gigas*

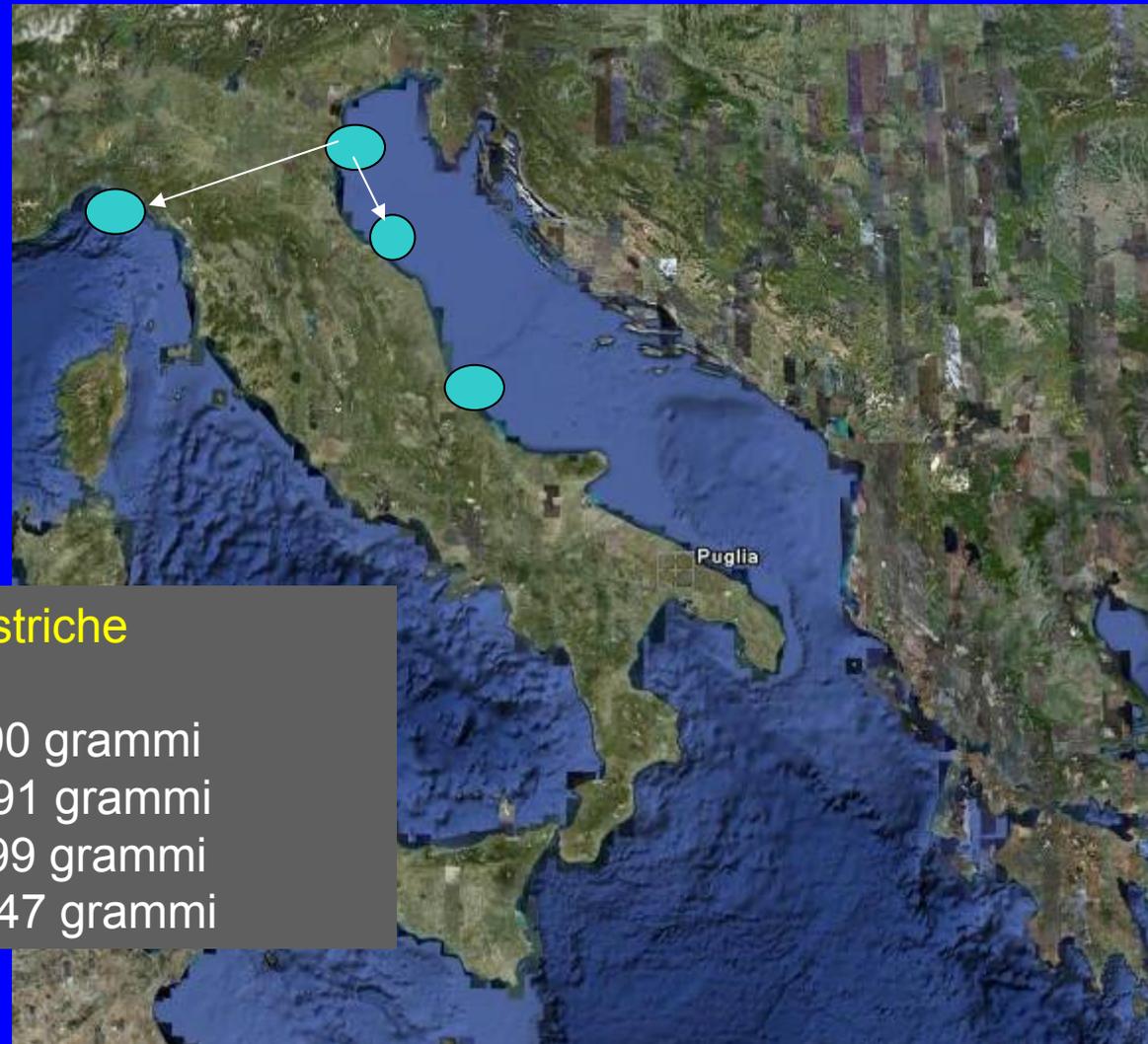
Validità : 31-12 - 2010

In caso di aumentata mortalità l'autorità competente deve eseguire test per presenza di OSHV-1  $\mu$ var. In caso di positività deve essere stabilita un'area di contenimento.

Le misure di restrizione decadono a seguito di due visite eseguite a distanza di 15 gg per la verifica di cessata mortalità.

Le ostriche originarie di aree con precedenti episodi di mortalità, possono essere spostate in altre aree accompagnate da certificazione attestante la negatività a OSHV-1

## OsHv: segnalazioni nel 2010



### Crescita delle ostriche

16 marzo: 8,90 grammi  
5 maggio: 16,91 grammi  
9 luglio: 34,99 grammi  
12 ottobre: 61,47 grammi

Aquaculture 314 (2011) 49–52



Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/aqua-online](http://www.elsevier.com/locate/aqua-online)



Detection of Type 1 Ostreid Herpes variant (OsHV-1  $\mu$ var) with no associated mortality in French-origin Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* farmed in Italy

William G. Dundon<sup>a,\*</sup>, Isabelle Arzul<sup>b</sup>, Emmanuelle Omnes<sup>b</sup>, Maeva Robert<sup>b</sup>, Cristian Magnabosco<sup>c</sup>,  
Michela Zambon<sup>c</sup>, Lorenzo Gennari<sup>d</sup>, Anna Toffan<sup>a</sup>, Calogero Terregino<sup>a</sup>,  
Ilaria Capua<sup>a</sup>, Giuseppe Arcangeli<sup>c</sup>

# Perché il monitoraggio dei molluschi bivalvi in Italia?

**Art. 13.**  
**Norme generali relative all'immissione sul mercato di animali di Acquacoltura**

1. L'immissione sul mercato degli animali d'acquacoltura e dei relativi prodotti non deve compromettere lo stato sanitario degli animali acquatici del luogo di destinazione per quanto riguarda le malattie elencate nell'allegato IV, parte II.

## Art. 26 Denuncia della malattia

1. Allo scopo di permettere al Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali di ottemperare agli obblighi comunitari in tempo debito, il servizio veterinario dell'Azienda sanitaria locale competente per territorio provvede a informare immediatamente il Ministero medesimo e la regione qualora vi siano motivi di sospettare la presenza di una delle malattie elencate nell'allegato IV, parte II, o sia confermata la presenza di tale malattia negli animali acquatici.
2. In caso di aumento del tasso di mortalita' tra gli animali d'acquacoltura, i casi di decesso devono essere immediatamente denunciati al servizio veterinario dell'Azienda sanitaria locale competente per territorio.

**Art. 39.**  
**Malattie emergenti**

1. Il Centro nazionale, d'intesa con il Centro nazionale di referenza per l'ittiopatologia, adotta misure appropriate per contrastare una malattia emergente ed evitarne la diffusione, laddove la malattia in questione possa compromettere lo stato sanitario degli animali acquatici.

2. In caso di malattia emergente, il Ministero del lavoro, della salute e delle politiche sociali informa la Commissione, gli altri Stati membri e gli Stati membri dell'EFTA, qualora i risultati rivestano interesse dal punto di vista epidemiologico per un altro Stato membro.

**Perkinsus marinus**  
**Ryan Carnegie –**  
**Virginia Inst. Marine Science - USA**

1940: Golfo del Messico

Specie colpite: *C. virginica* (*C. gigas* è sensibile ma non sviluppa malattia)

Ciclo diretto

Salinità > 12 ppt

Mortalità sett.-ott.

Wasting disease > morte dopo 1-2 anni dall'inizio infezione

Infezione: epitelio intestinale > tessuto connettivo

> fibrosi. Poca infiltr. emocitaria



### Glycan-related enzymes and lectins

N-acetylglucosaminyltransferase  
Mannosyltransferase  
Alpha glucosidase  
ERGIC-53- like protein  
Mannose-binding protein

Mitochondrion

Cell wall

Vacuoplast

### Transporters for

Sugars  
Peptides  
Amino acids  
Other small molecules

### Proteases

Subtilisin-like serine protease  
Cathepsin-like cystein protease  
Papain cysteine protease  
Rhomboid-like protease 1  
Cysteine protease  
Serine protease  
Metacaspase 1 precursor, putative  
Putative LON protease

Relict/ cryptic plastid ?

### Plastid-related enzymes

#### *MEP pathway*

DXP synthase  
IspD transferase  
ME-CPP synthase  
HMBPP synthase

#### *Plant-type redox system*

Ferredoxin  
Ferredoxin-NADP reductase

#### *FAS II pathway*

Acetyl-CoA carboxylase

Golgi Apparatus

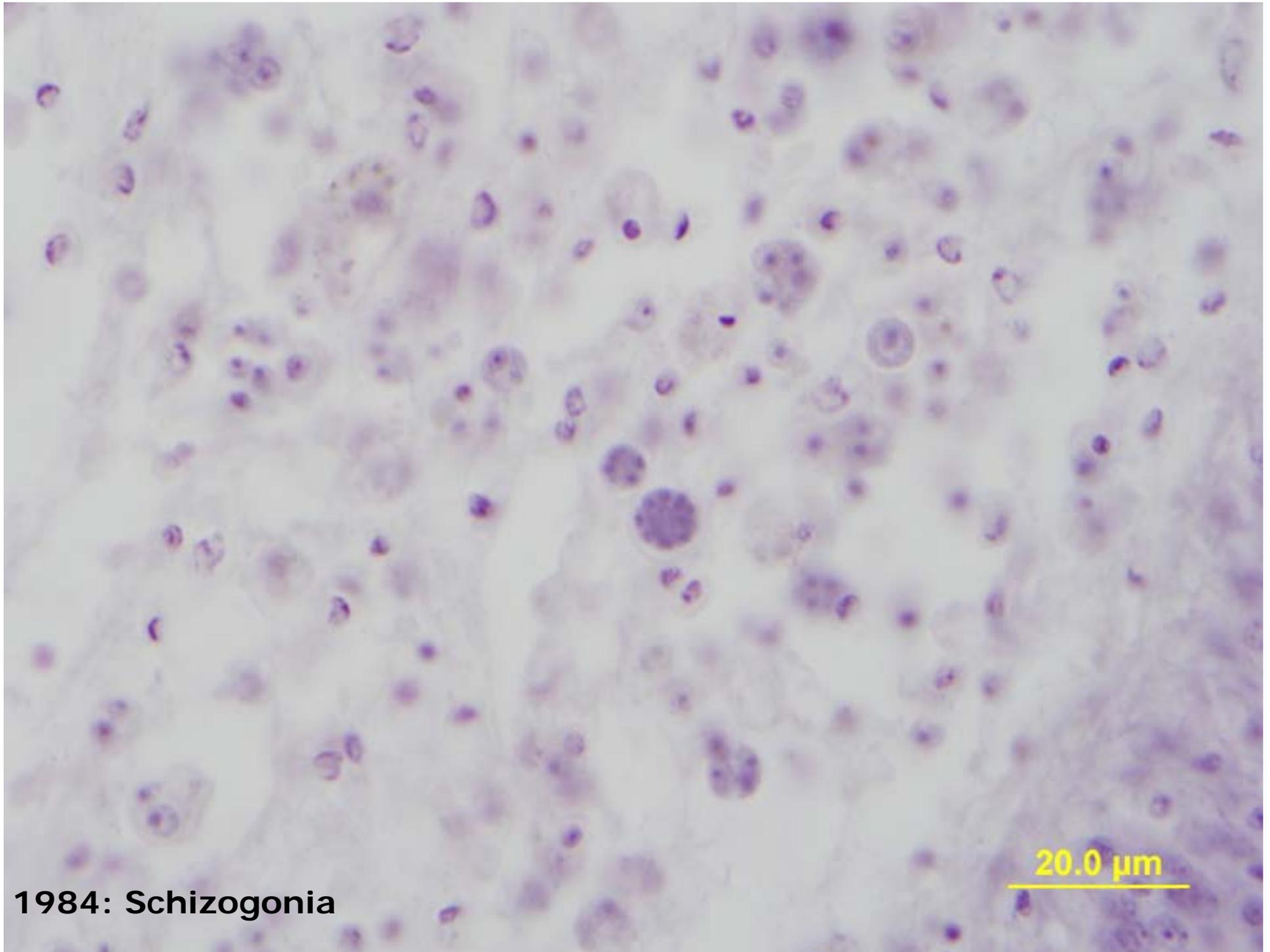
Vacuole

*Perkinsus trophozoite*

### Oxidative enzymes

SOD1, SOD2  
Thioredoxin  
Peroxiredoxin 6, V  
Glutaredoxin  
Glutathione reductase  
Thioredoxin reductase

20.0  $\mu\text{m}$



1984: Schizogonia

20.0  $\mu\text{m}$

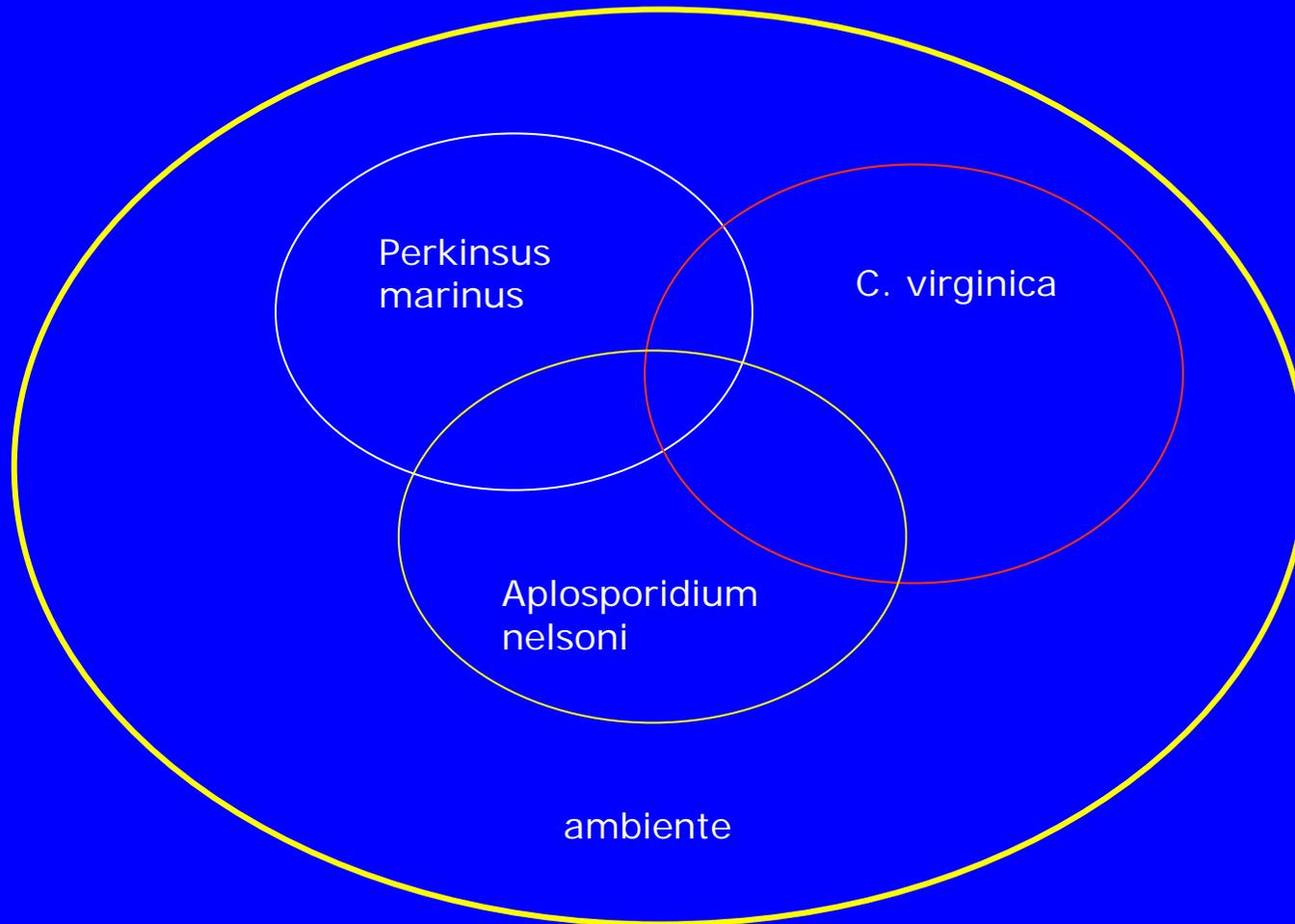
A light micrograph showing numerous spores of Haplosporidium nelsoni. The spores are small, oval-shaped, and have a distinct double-layered structure. They are scattered throughout a pinkish, fibrous tissue matrix. A white text box is overlaid in the center, and a yellow scale bar is in the bottom right.

**Dal 1986: aumento prevalenza di Haplosporidium nelsoni  
> virulenza e patogenicità di P. marinus**

20.0  $\mu\text{m}$

**Dal 1986: divisione binaria**

# Interazione tra due parassiti > aumento virulenza



## Allegato III, parte A

[www.izsve.it](http://www.izsve.it)

<b>CATEGORIA</b>	<b>STATO SANITARIO</b>	<b>PUO' INTRODURRE ANIMALI DA</b>	<b>PUO' ESPORTARE ANIMALI VERSO</b>
<b>I</b>	Indenne da malattia	Solo cat I	Tutte le categorie
<b>II</b>	Programma di sorveglianza	Solo cat I	Solo cat. III e IV
<b>III</b>	Indeterminato (Non notoriamente infetto ma non soggetto a un programma per l'ottenimento dello stato di indenne da malattia)	Categorie I, II, III	Solo cat. III e IV
<b>IV</b>	Programma di eradicazione	Solo cat. I	Solo cat. V
<b>V</b>	Infetto	Tutte le categorie	Solo cat. V

## EPIDEMIOLOGIA MALATTIE NOTIFICABILI EU 2010

NAZIONE	Bonamia ostreae	Marteilia refirngens	OsHV	altro
Francia	+	+	+	B. exitiosa
Spagna (FAO 2007)	+	+		B. exitiosa
Italia	+	+	+	B. exitiosa
Olanda	+	-	-	-
Danimarca	-	-	-	-
Irlanda	+	-	+	-
UK	+	-	+	B. exitiosa
Norvegia	+	-	-	-
Portogallo	-	+	-	-
Svezia	-	+	-	-

# Mollusc movements - transfers

## Import

### Mussels from Spain:

In Winter season and only for consumption purposes: in case the origin is from area classified B, the mussels are purified and the resulting water is eliminated in lagoon/sea without any specific treatment (only clarification of the water by sedimentation, according to environmental law)

### Pacific oysters from France:

Iuveniles to be farmed (very small amount)  
Adults, only for consumption purposes

## Export: small amounts

**Manila clams and Flat oysters to Spain:** juveniles to be farmed

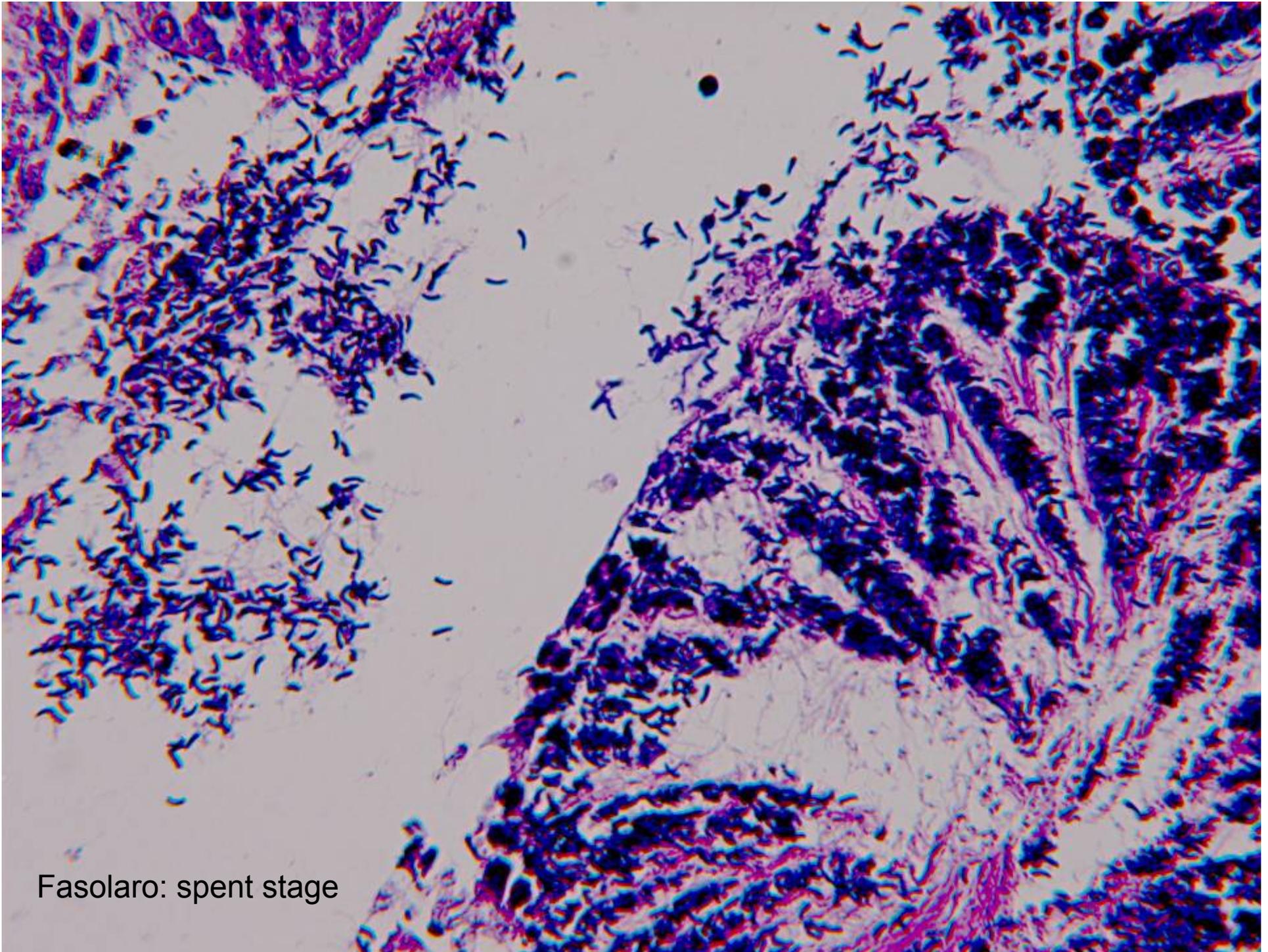
**Manila clams to Portugal:** juveniles to be farmed

**Mussels to France** (Corsica and mediterranean lagoons)

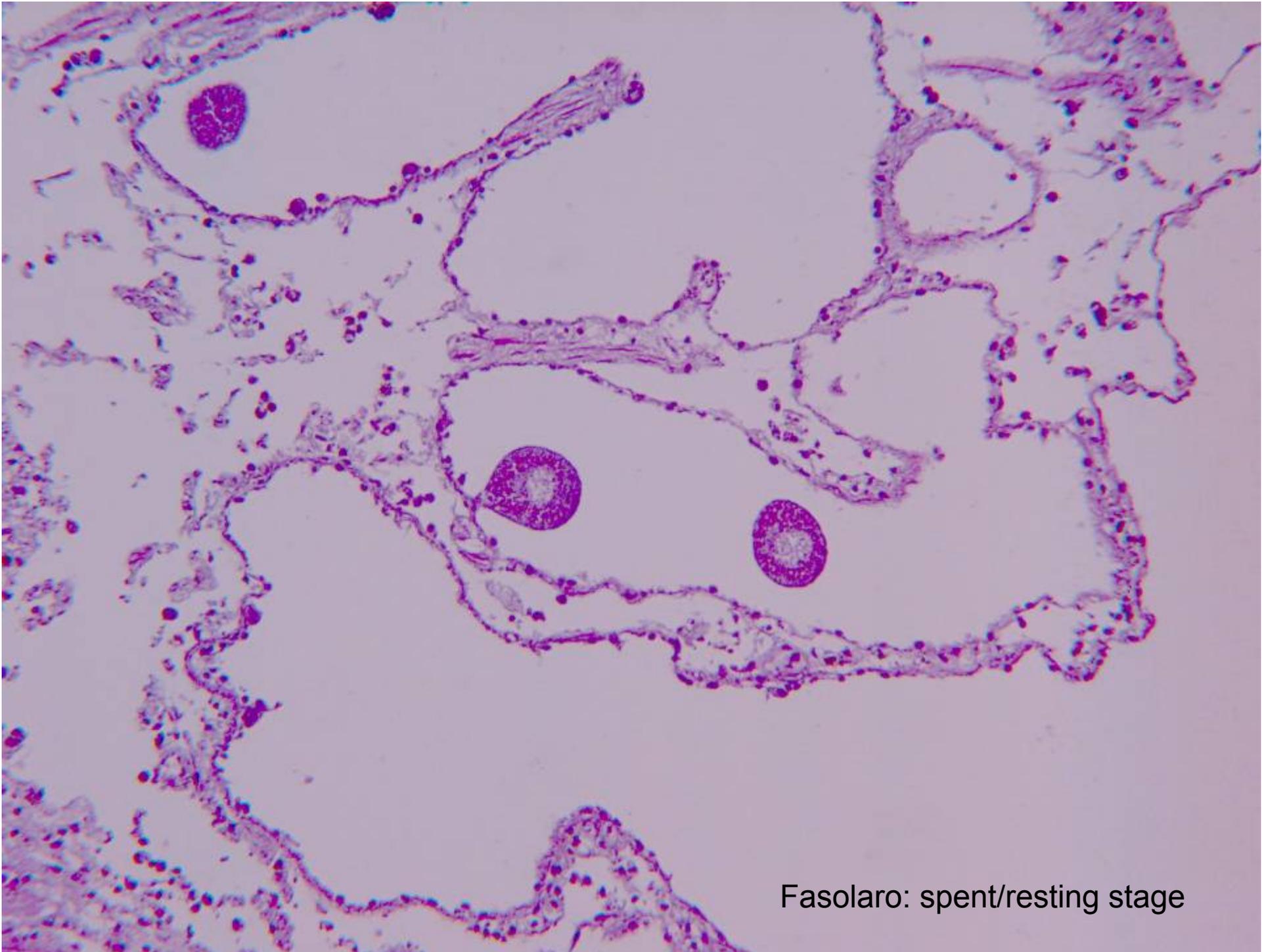
## **Art. 16 (D.Lgs 148/2008)**

**Norme generali relative all'immissione sul mercato di animali d'acquacoltura da allevamento e ripopolamento**

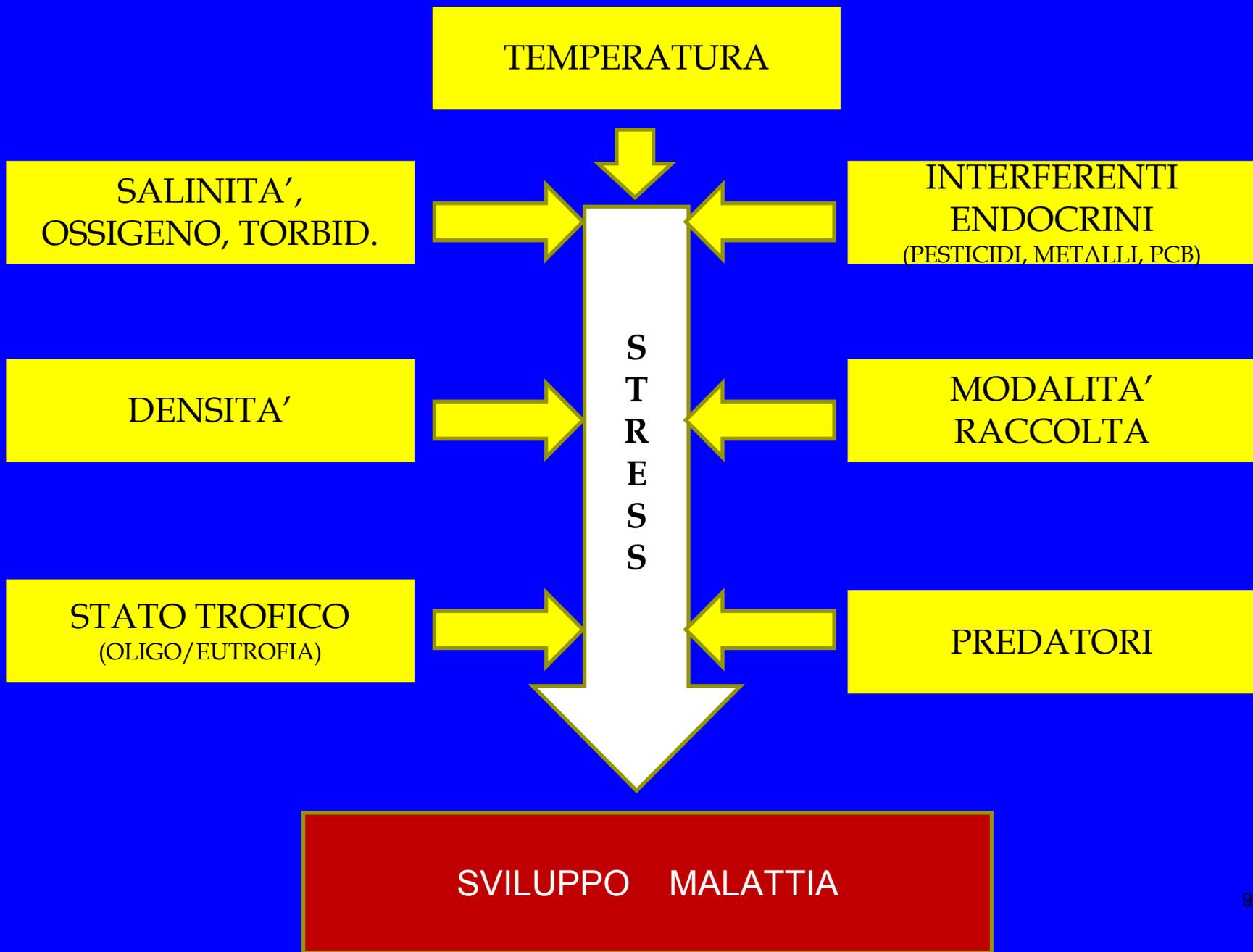
- 1. Fatte salve le disposizioni del capo V (paesi terzi), gli animali d'acquacoltura immessi sul mercato a scopo di allevamento devono:**
  - a) essere clinicamente sani;**
  - b) provenire da un'azienda, zona o una zona destinata a molluschicoltura in cui non si registri un aumento inspiegabile del tasso di mortalita'.**



Fasolaro: spent stage



Fasolaro: spent/resting stage



# grazie per l'attenzione!

[garcangeli@izsvenezie.it](mailto:garcangeli@izsvenezie.it)