

# Decreto Legislativo 148/2008: attività di laboratorio

Ferrara 22 settembre 2010



Silva Rubini I.Z.S.L.E.R. – Sezione di Ferrara  
[silva.rubini@izsler.it](mailto:silva.rubini@izsler.it)

# Le malattie dei molluschi

- ✦ Le malattie dei molluschi sono oggetto d'interesse per l'**Unione Europea** che ha emanato molte norme legislative sull'argomento
- ✦ Il primo atto legislativo comunitario è la **direttiva 91/67/CEE** del Consiglio del 28.01.1991, recepita in Italia con il **D.P.R. 555 del 30.12.1992**: “Regolamento per l'attuazione della direttiva 91/67/CEE, che stabilisce norme di polizia sanitaria per i prodotti dell'acquacoltura”
- ✦ L'**allegato A del D.P.R. 555/92** contiene una serie di malattie con le relative specie animali sensibili, suddivise in elenchi (I°, II° e III°) a seconda di vari fattori (pericolosità, diffusione, impatto socio-economico, ....)

★ Le **malattie dei molluschi** sono inquadrate nell'elenco II° e sono rappresentate da:

Molluschi/Malattia	Specie sensibile
<i>Bonamia ostreae</i>	<i>Ostrea edulis</i>
<i>Marteilia</i> sp.	<i>Ostrea edulis</i>
<i>Haplosporidium</i> sp.	<i>Ostrea edulis</i>
<i>Perkinsus</i> sp.	<i>Ruditapes decussatus</i>

✦ Nel gennaio '97 esce il [D.M. 29.01.1997](#) “Modificazioni al D.P.R. 555/92 recante regolamento di attuazione della dir. 91/67/CEE ....” Questo D.M. applica le [dir. 93/54/CEE](#) e [95/22/CE](#) (che modificano la 91/67). L'elenco II° viene così modificato:

Malattia/Agente patogeno	Specie sensibili
<i>Bonamia ostreae</i>	<i>Ostrea edulis</i>
<i>Marteilia refringens</i>	<i>Ostrea edulis</i>

✦ Poi arriva il **D.P.R. 263 del 3 luglio 1997** “Regolamento di attuazione della direttiva 93/53/CEE recante misure comunitarie minime di lotta contro talune malattie dei pesci”. In questo D.P.R. c’è una “**svista**” in quanto l’allegato A è stato copiato (o stampato) male. Ricompaiono *Haplosporidium* e *Perkinsus*.

✦ Quindi il **24.10.1997** viene pubblicata in G.U. la **rettifica** nella quale si nota che dall’elenco II sono stati eliminati *Haplosporidium* e *Perkinsus*. Rimangono quindi: *Bonamia* sp. e *Marteilia refringens* in *O. edulis*.

- ✦ Una delle norme europee più importanti in materia di misure di lotta contro le malattie delle specie ittiche è la [direttiva del Consiglio 22.12.1995 n° 95/70/CEE](#) “Misure comunitarie minime di lotta contro talune malattie dei molluschi bivalvi”
- ✦ I legislatori dell’UE hanno indicato anche l’elenco e i compiti dei [laboratori di riferimento](#) (comunitario e nazionali) per le malattie dei molluschi. Il laboratorio comunitario è quello di IFREMER, a La Tremblade (F), quello nazionale presso l’[I.Z.S. delle Venezie](#)
- ✦ L’[Allegato D](#) della dir. 95/70/CEE è il seguente:

Malattie	Agente patogeno	Specie sensibili
Haplosporidium	<i>H. nelsoni</i> <i>H. costale</i>	<i>C. virginica</i> <i>C. virginica</i>
Perkinsiosis	<i>Perkinsus marinus</i> <i>P. olseni</i>	<i>C. virginica</i> , <i>Haliotis rubra</i> , <i>H. levigata</i>
Microkitosis	<i>Mikrokytos mackini</i>  <i>Mikrokytos roughleyi</i>	<i>C. gigas</i> , <i>O. edulis</i> , <i>O. puelchana</i> , <i>O. denselomellosa</i> , <i>T. chilensis</i>  <i>Saccostrea commercialis</i>
Iridovirosis	Oyster Velar Virus	<i>C. gigas</i>
Marteiliosi	<i>Marteilia sydneyi</i>	<i>S. commercialis</i>

- ✦ La dir. 95/70/CEE è stata recepita in Italia con il **D.P.R. n° 395 del 20.10.1998**.
- ✦ L'allegato D della dir. 95/70/CEE (e quindi del D.P.R. 395/98) va “**aggiunto**” all'allegato A del D.P.R. 555/92.
- ✦ L'allegato D è stato **sostituito** con il **D.M. 2 aprile 2003**.

Malattia	Agente patogeno	Specie sensibili
Bonamiosi	<i>Bonamia exitiosa</i> <i>Mikrocytos roughley</i>	<i>T. chilensis</i> , <i>O. angasi</i> <i>S. commercialis</i>
Marteiliosi	<i>Marteilia sydneyi</i>	<i>S. commercialis</i>
Microcitosi	<i>Mikrocytos mackini</i>	<i>C. gigas</i> , <i>C. virginica</i> , <i>O. edulis</i> , <i>O. conchaphila</i>
Perkinsiosi	<i>Perkinsus marinus</i> <i>P. olseni/atlanticus</i>	<i>C. virginica</i> , <i>C. gigas</i> <i>R. philippinarum</i> , <i>R. decussatus</i>
Malattia MSX	<i>H. nelsoni</i>	<i>C. virginica</i> , <i>C. gigas</i>
Malattia SSO	<i>H. costale</i>	<i>C. virginica</i>
Sindrome di disseccamento degli abaloni	<i>Candidatus Xenohalotis californiensis</i>	<i>H. cracherodii</i> , <i>H. rufescens</i> , <i>H. corrugata</i> , <i>H. fulgens</i> , <i>H. sorenseni</i>

- ✦ Un'altra norma legislativa è la **Decisione della Commissione del 14.11.2003** “relativa alle condizioni di polizia sanitaria e alla certificazione veterinaria per l'importazione di molluschi, loro uova e gameti, destinati all'accrescimento, all'ingrasso, alla stabulazione o al consumo umano”.
- ✦ L'allegato sostanzialmente non cambia.
- ✦ In più si sottolinea che oltre alle specie ospiti sensibili elencate, occorre tenere presente “**qualsiasi altra specie indicata come sensibile** per il patogeno o la malattia di cui trattasi nell'edizione più recente del Codice sanitario internazionale per gli animali acquatici dell'OIE”.
- ✦ Questa Decisione è entrata in vigore il **1° maggio 2004**.

- ✦ Altri settori legiferati (Dec. Comm. N°2002/878/CE del 6.11.2002 e Dec. Comm. N° 2003/804/CE del 14.11.2003):
- ✦ Modalità di esecuzione dei **piani di campionamento** per individuare la presenza di malattie dei molluschi
- ✦ **Metodi diagnostici** “Manuale di diagnosi delle malattie degli animali acquatici” dell’OIE, ultimo aggiornamento anno 2009  
([http://www.oie.int/eng/normes/en\\_amanual.htm](http://www.oie.int/eng/normes/en_amanual.htm))

## Legislazione in vigore

- ✦ Nel 2006 viene emanata la Direttiva 2006/88/CE che è stata recepita in Italia con il **Decreto Legislativo 4 agosto 2008, n° 148**
- ✦ “Attuazione della direttiva 2006/88/CE relativa alle condizioni di polizia sanitaria applicabili alle specie animali d'acquacoltura e ai relativi prodotti, nonché alla prevenzione di talune malattie degli animali acquatici e alle misure di lotta contro tali malattie”

## Art. 11. ~ Programma di sorveglianza sanitaria

Tutte le aziende e le zone destinate alla molluschicoltura applicano, in funzione del tipo di produzione, un programma di sorveglianza sanitaria basato sulla valutazione del rischio.

Detto programma di sorveglianza sanitaria intende rilevare:

- a) un eventuale **aumento del tasso di mortalità** nelle aziende, nelle zone e nelle zone destinate a molluschicoltura in funzione del tipo di produzione;
- b) la **presenza delle malattie elencate nell'allegato IV, parte II** in aziende, zone e zone destinate a molluschicoltura in cui siano presenti specie animali sensibili a tali malattie.

Il servizio veterinario dell'Azienda sanitaria locale competente per territorio vigila affinché i suddetti programmi siano rispettati.

## Art. 57. – Abrogazioni

..... sono abrogati:

- a) il D.P.R. 30 dicembre 1992, n. 555;
- b) il D.P.R. 3 luglio 1997, n. 263;
- c) il D.P.R. 20 ottobre 1998, n. 395.

..... Omissis .....

N.B. L'allegato IV del D.L.vo 148/2008 è stato modificato dal Decreto 5.11.2008

## Allegato IV Parte II – Elenco malattie (molluschi)

### MALATTIE ESOTICHE

Malattia	Specie sensibili
Infezione da <i>Bonamia exitiosa</i>	Ostrica piatta australiana ( <i>O. angasi</i> ) e ostrica cilena ( <i>O. chilensis</i> )
Infezione da <i>Perkinsus marinus</i>	Ostrica giapponese ( <i>C. gigas</i> ) e ostrica della Virginia ( <i>C. virginica</i> )
Infezione da <i>Mickrocytos mackini</i>	Ostrica giapponese ( <i>C. gigas</i> ), ostrica della Virginia ( <i>C. virginica</i> ), ostrica di Olimpia ( <i>O. conchaphila</i> ) e ostrica piatta ( <i>O. edulis</i> )

## Allegato IV Parte II – Elenco malattie (molluschi)

### MALATTIE NON ESOTICHE

Infezione da *Marteilia refringens*

Ostrica piatta australiana (*O. angasi*), ostrica cilena (*O. chilensis*), ostrica piatta europea (*O. edulis*), ostrica argentina (*O. puelchana*), mitilo (*Mytilus edulis*) e mitilo mediterraneo (*M. galloprovincialis*)

Infezione da *Bonamia ostreae*

Ostrica piatta australiana (*O. angasi*), ostrica cilena (*O. chilensis*), ostrica di Olimpia (*O. conchaphila*), ostrica asiatica (*O. denselamellosa*), ostrica piatta europea (*O. edulis*) e ostrica argentina (*O. puelchana*).

# MIKROCYTOSI

## SINONIMI

La mikrocitosi è nota anche come “Denman Island disease” o “microcell disease of oysters”.

## DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Costa pacifica del Canada, Australia

## SPETTRO D'OSPITE

*Crassostrea gigas*, *Ostrea lurida* (= *O. conchaphila*), *O. edulis* e, sperimentalmente, *C. virginica*.

# EZIOLOGIA

## *Mikrocytos mackini*

Specie ad affiliazione incerta; alcuni Autori lo classificano nel phylum **Haplosporidia**

Secondo l'O.I.E. il termine “mikrocytosi” si riferisce alla malattia causata da *M. mackini* che colpisce le **ostriche della costa occidentale del Canada**.

In caso di evidenziazione del parassita in aree situate al di fuori di quelle note, è indispensabile ricorrere ad ulteriori accertamenti diagnostici (PCR, microscopia elettronica) al fine di differenziare questo parassita da altre forme di microparassiti come *Bonamia ostreae*, *B. exitiosus*, *B. roughleyi*.

## SINTOMI

Il parassita penetra negli **emociti** e si diffonde ai **tessuti connettivi**.

*M. mackini* colpisce le cellule muscolari e del connettivo vescicolare con conseguente infiltrazione di emociti e necrosi tissutale.

Il parassita può indurre la produzione di **pustole gialle o verdastre**, ascessi e ulcere soprattutto nel mantello.



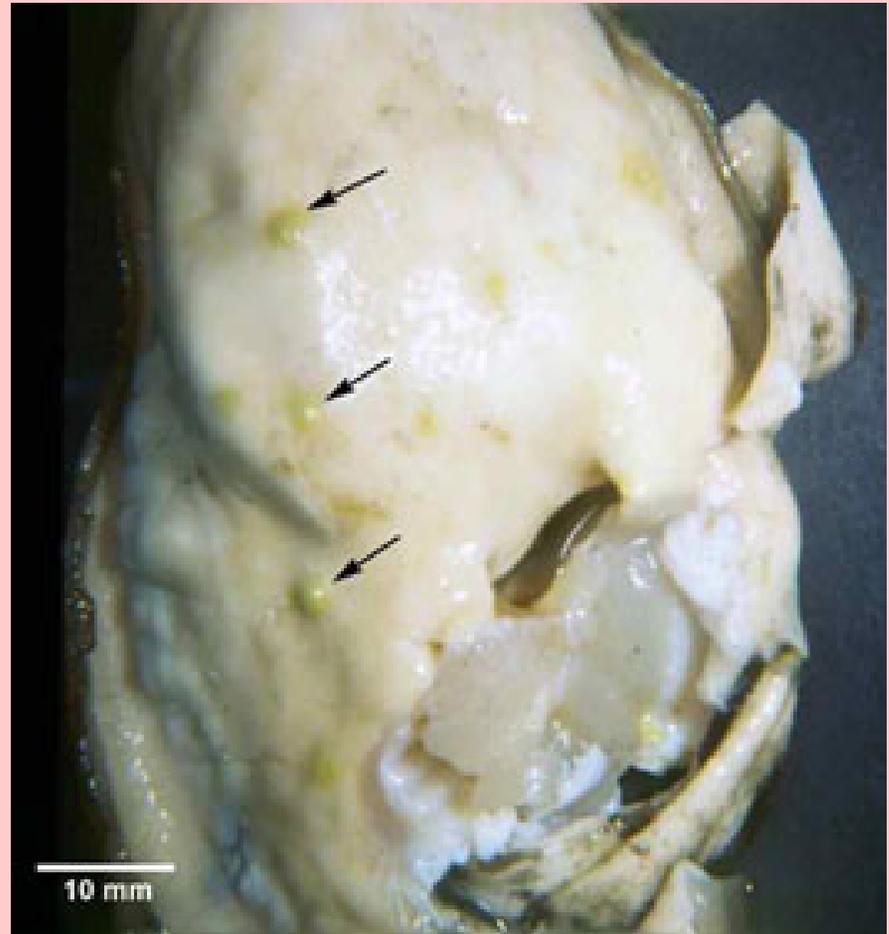
[www.pac.dfo-mpo.gc.ca/](http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/)

Le infezioni più gravi sembrano colpire esclusivamente le ostriche di età superiore a 2 anni, con mortalità attorno al 30-40% che si verifica di solito in aprile-maggio, dopo che la temperatura dell'acqua si è mantenuta sotto i 10°C per parecchi mesi.

*Mikrocytos makini* provoca danni più gravi a valori di salinità elevati.

## DIAGNOSI ~ LESIONI MACROSCOPICHE

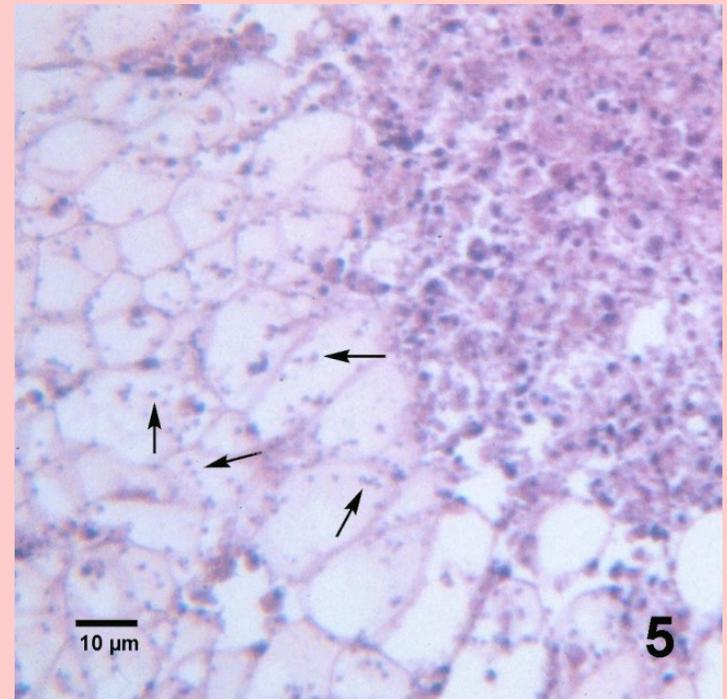
Negli animali colpiti si osservano **pustole** di colore **giallo-verdastro**, di diametro fino a 5 mm, sui palpi labiali e sul mantello.



## DIAGNOSI ~ ESAME ISTOLOGICO

Eseguire una sezione attraverso il corpo dell'ostrica che comprenda mantello, ghiandola digestiva e, se presenti, pustole, ascessi e ulcere. Fissare il campione in fissativo di Davidson o di Carson. Colorare con ematossilina/eosina.

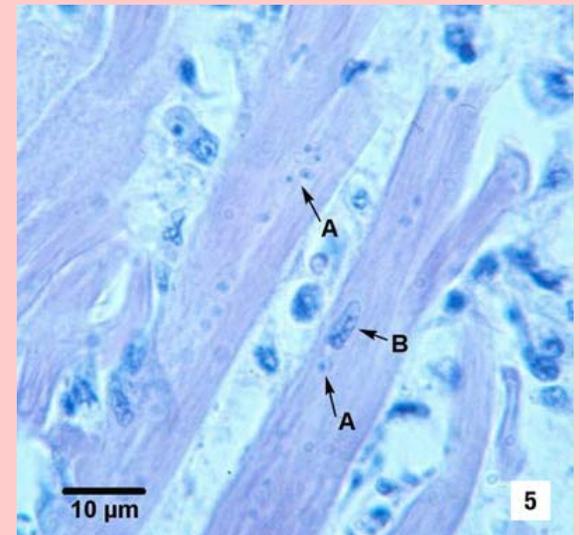
Il tessuto connettivo immediatamente adiacente alle lesioni mostra **parassiti intracellulari** di 2-3  $\mu\text{m}$  di diametro.



## DIAGNOSI ~ ESAME CITOLOGICO

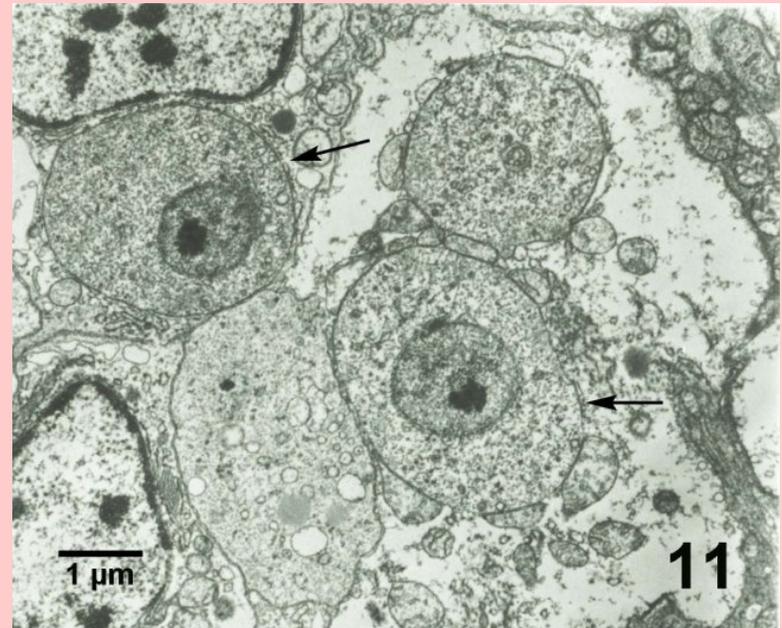
Prelevare sezioni di tessuto, soprattutto ascessi e ulcere (se presenti). Colorare con Hemacolor® o altri sistemi simili ed osservare al M.O. a 100x. In caso di positività si osserveranno le cellule del parassita che **spesso si trovano libere** al di fuori delle cellule ospiti o, più raramente, all'interno degli emociti.

Il citoplasma del parassita (basofilo) appare **blu** mentre il nucleo (acidofilo) appare di colore **rosso**.



## DIAGNOSI ~ MICROSCOPIA ELETTRONICA

Questa tecnica permette di differenziare *M. mackini* da altri microparassiti (microcells) in quanto risulta sprovvisto di **mitocondri** ed **haplosporosomi** e il **nucleolo** è situato verso il centro del nucleo, mentre in *Bonamia* spp. ha una localizzazione eccentrica.

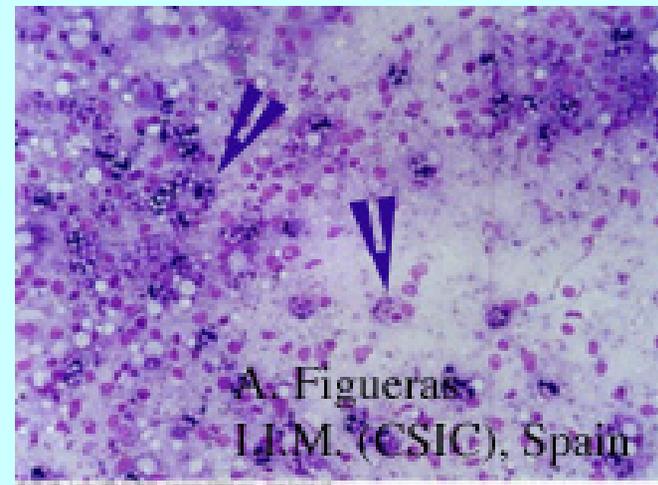


## PROFILASSI

Si consiglia uno **stretto controllo delle importazioni**.

L'impatto della malattia nelle aree endemiche si può ridurre spostando le ostriche più vecchie a maggior profondità (1~2 m) **prima di marzo** ed evitando di seminare soggetti giovani nelle zone superficiali **prima di giugno**.

# MARTEILIOSI



## SINONIMI

Aber disease, Malattia della ghiandola digestiva dell'ostrica piatta europea.

## EZIOLOGIA

*Marteilia refringens*, *M. maurini*, *M. sydneyi*, *Marteilia* sp.  
(Phylum Paramyxea)

## SPETTRO D'OSPITE

*Marteilia refringens* è un parassita letale per l'ostrica piatta europea (*Ostrea edulis*)

*Marteilia sydneyi* infesta *Saccostrea commercialis*, *S. echinata* e *S. glomerata* (Sidney rock oyster)

*Marteilia maurini* colpisce *Mytilus edulis* e *M. galloprovincialis*

*Marteilia sp.* colpisce *Mytilus edulis*, *M. galloprovincialis*, *Cardium edule*, *O. lutaria* (= *Tiostrea chilensis*), *O. angasi*, *C. gigas*, *Tridacna maxima*, *Argopecten gibbosus*,....

Nel 2005 in Giappone *Marteilia sp.* è stata segnalata anche in *Ruditapes philippinarum*, ma il reale ruolo patogeno è ancora da definire.

## DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Costa atlantica dell'Europa, Australia, Nuova Zelanda, Florida (U.S.A.). Segnalata anche in **Italia**.

## SINTOMI

Gli animali mostrano **emaciazione, pallore della ghiandola digestiva, arresto della crescita, necrosi tissutale e morte**.

In alcuni soggetti il parassita è presente, ma non causa malattia.



Soggetto sano a sx,  
soggetto malato a dx –  
Fonte IFREMER



Le prime fasi dell'infestazione si localizzano nell'epitelio dei **dotti digestivi** e, probabilmente, nelle branchie.

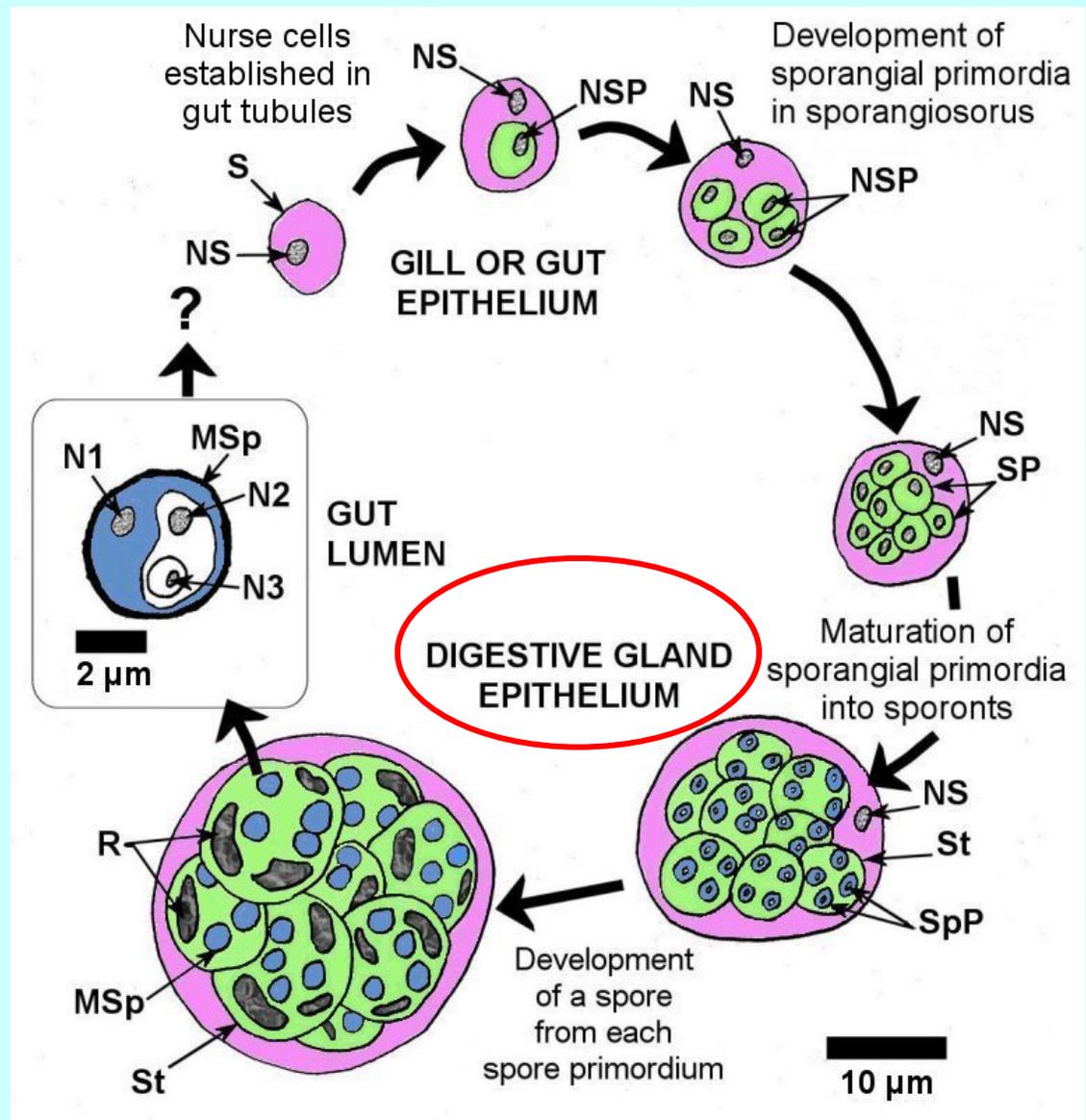
La mortalità, che **può arrivare al 90%** degli effettivi, è correlata alla **sporulazione** del parassita che avviene nelle cellule epiteliali dei tubuli della ghiandola digestiva.

Nel citoplasma dello sporangio possono essere presenti dei **corpi rifrangenti** (Ceschia, 2008)

La malattia si manifesta soprattutto in **tarda primavera** ed in **estate**, quando la temperatura dell'acqua supera i 17°C.

Figure 1. Schematic drawing to scale, of the sporulation process of *Marteilia* spp. with the cytoplasm of each stage colour coded for easy recognition. S = sporangiosorus (or primary cell, pink coloured cytoplasm), NS = nucleus of sporangiosorus, SP = sporangial primordium the matures into a sporont (the secondary cell, green cytoplasm), NSP = nucleus of sporangial primordium, St = sporont, SpP = spore primordium that matures into the spore (the tertiary cell, blue cytoplasm), MSp = mature spore, R = refringent bodies, N1 = nucleus of outer most sporoplasm, N2 = nucleus of middle sporoplasm, N3 = nucleus of inner most sporoplasm.

[www.pac.dfo-mpo.gc.ca](http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca)

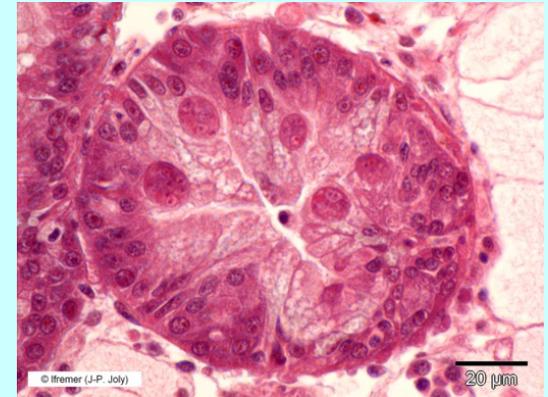


## DIAGNOSI

**ESAME MACROSCOPICO:** la ghiandola digestiva appare di colore **giallo-bruno pallido**. Il corpo appare contratto, emaciato, i tessuti sono traslucidi. Queste lesioni macroscopiche sono praticamente identiche a quelle che si osservano nella Haplosporidiosi.

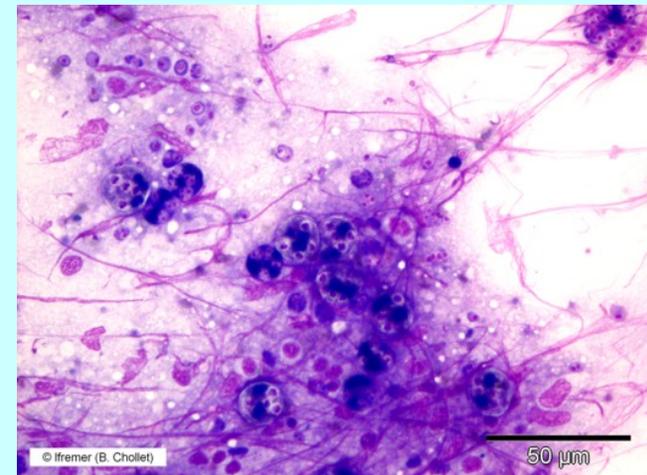
Quindi risulta sempre necessaria la **conferma** con l'esame istologico o citologico.

**ESAME ISTOLOGICO:** le sezioni della ghiandola digestiva mostrano il parassita all'interno delle cellule epiteliali dei dotti digestivi (stadi basofili) ed in quelle dei tubuli digestivi (stadi acidofili).



**ESAME CITOLOGICO:**

le cellule del parassita si evidenziano soprattutto all'esterno delle cellule dell'ospite e mostrano citoplasma basofilo e nucleo eosinofilo.



## PROFILASSI

Controllo delle nuove introduzioni.

Lo spostamento delle ostriche situate in aree endemiche in altre zone con **salinità più alta** (35-37‰) limita lo sviluppo di *M. refringens*.

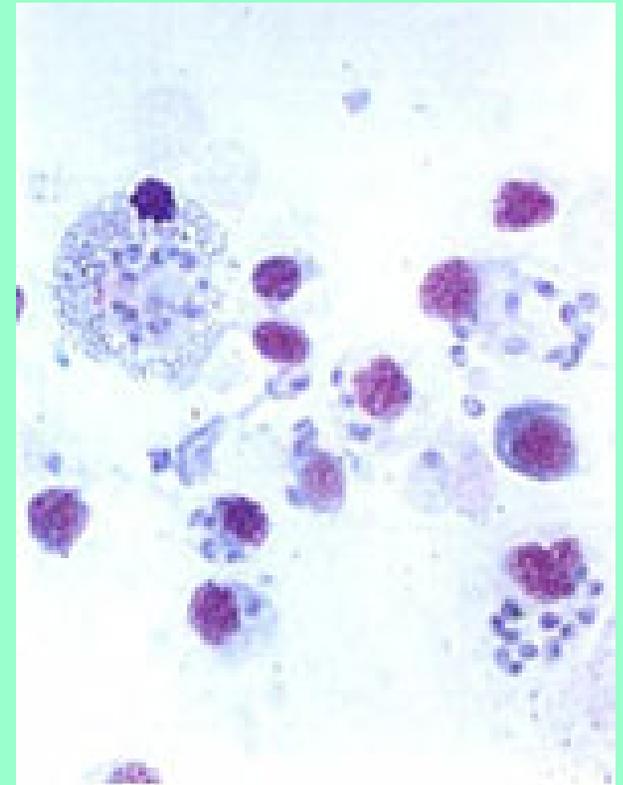
# BONAMIOSI

## SINONIMI

Malattia degli emociti, malattia da microcellule

## EZIOLOGIA

*Bonamia ostreae*, *Bonamia exitiosa*  
Phylum Haplosporidia.



## EZIOLOGIA

Secondo l'O.I.E. con il termine Bonamiosi si intende la malattia delle ostriche causata, nell'emisfero boreale da *B. ostreae* e nell'emisfero australe da *B. exitiosa* (= *B. exitiosus*).

Però va tenuto conto che nel 2008 alcuni ricercatori spagnoli hanno dimostrato la presenza di *B. exitiosa* nelle acque europee (Galizia, Spagna).

Nel 2010 segnalata presenza di *B. exitiosa* nelle coste del Veneto.

## SINTOMI

Periodo di incubazione: 3~4 mesi

*B. ostreae* si moltiplica all'interno degli emociti che hanno fagocitato il parassita.

I soggetti più colpiti sono quelli di 2 anni di età.

La trasmissione è diretta da ostrica a ostrica.

Alcune ostriche appaiono normali, ma altre presentano una colorazione giallastra o scura del mantello e delle branchie e, a volte, si osservano ulcerazioni diffuse.

Questi aspetti sono correlati ad una distruzione degli emociti causata dalla proliferazione di *B. ostreae*.

## SINTOMI

Le ostriche presentano **crescita stentata**, valve semi-aperte, tessuti “acquosi”, margini delle branchie deformati.

La **mortalità** può raggiungere il **100%** e si manifesta in **primavera ed in estate**, quando la temperatura dell’acqua va da 12 a 20°C.

*Bonamia ostreae* of the European flat oyster with increased yellow/blackening of the gills and mantle.

[www.frs-scotland.gov.uk](http://www.frs-scotland.gov.uk)



## DIAGNOSI - ESAME MACROSCOPICO

Si possono osservare **pustole e vescicole** nel mantello, intaccature e/o perforazioni delle branchie circondate da aloni giallo-verdastri.

**Pustole nel mantello**



**Vescicole arancio**

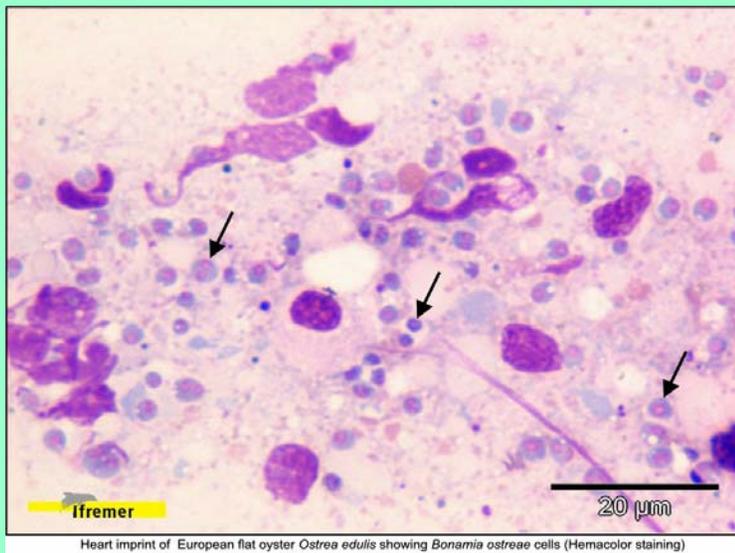


<http://www.disease-watch.com>

## DIAGNOSI ~ ESAME CITOLOGICO

Si fissano in metanolo impronte di tessuto cardiaco e di epatopancreas; si colorano con Wright, Wright-Giemsa, Hemacolor, Diff-Quik,....

All'esame microscopico si osservano organismi sferici o ovoidali di 2-5  $\mu\text{m}$  di diametro con un nucleo centrale (aspetto a “uovo fritto”), situate all'interno o all'esterno degli emociti.

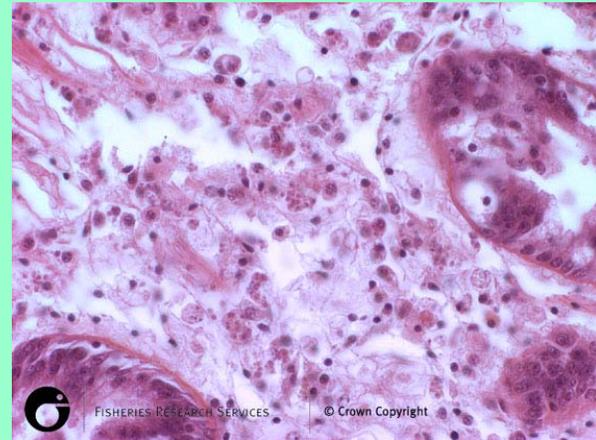


## DIAGNOSI ~ ESAME ISTOLOGICO

Le sezioni si possono colorare con ematossilina-eosina e poi si osservano i parassiti all'interno degli emociti.

Nelle **fasi avanzate** della malattia *B. ostreae* è distribuita uniformemente in tutti i tessuti, mentre nelle **fasi iniziali** si localizza soprattutto a livello nelle branchie, nel mantello e nei seni vascolari situati attorno allo stomaco e all'intestino.

[www.frs-scotland.gov.uk](http://www.frs-scotland.gov.uk)



## SAGGIO IMMUNOLOGICO

In commercio si possono reperire anticorpi monoclonali contro *B. ostreae*.

## PROFILASSI

Controllo degli spostamenti di animali. L'eradicazione è una pratica improponibile. Si consiglia di **ridurre la densità** delle ostriche.

La **zona subtidale** è meno colpita di quella intertidale.

Alcune partite di *O. edulis* si sono dimostrate resistenti alla parassitosi e sono in corso vari studi per definirne i motivi.

# HAPLOSPORIDIOSI

Le Haplosporidiosi sono malattie degli invertebrati causate da protozoi appartenenti al genere *Haplosporidium* (Phylum Haplosporidia).

Le specie di *Haplosporidium*, più importanti per i molluschi bivalvi sono: *Haplosporidium costale* e *H. nelsoni*

# HAPLOSPORIDIOSI da *Haplosporidium costale*

SINONIMI: SSO (Seaside Organism)

## EZIOLOGIA

*Haplosporidium costale* (*Minchinia costalis*) (Phylum Haplosporidia)

## SPETTRO D'OSPITE

*Crassostrea virginica*

## DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Costa atlantica degli U.S.A in acque a **salinità superiore a 25‰**.

## SINTOMI

Il **periodo di incubazione** può superare i **9 mesi**.

Mortalità stagionale da maggio a giugno. A volte comparsa di una **colorazione bruna o grigiastra** del corpo dell'animale.

Gli stadi plasmodiali di *H. costale* si osservano tra le cellule del **tessuto connettivo della ghiandola digestiva**, del **mantello** e della **gonade**.

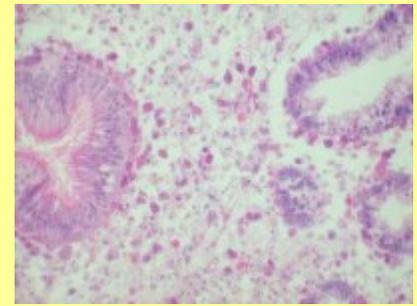
*H. costale* e *H. nelsoni* non sono distinguibili istologicamente.

La **differenziazione** tra le due specie si può fare durante la fase di sporulazione. *H. costale* sporula nel **tessuto connettivo** della maggior parte degli organi, mentre *H. nelsoni* sporula solo negli **epiteli dei tubuli digestivi**.

La **sporulazione** distrugge i tessuti e porta alla morte dell'ospite.

Il **ciclo biologico** non è noto ma si sospetta l'intervento di **uno o più ospiti intermedi**, infatti la trasmissione sperimentale, in laboratorio, di *H. costale* non è mai andata a buon fine.





## DIAGNOSI

**LESIONI MACROSCOPICHE:** colore scuro assunto dai tessuti dei soggetti colpiti.

**ESAME ISTOLOGICO:** i plasmodi (multinucleati) e le spore (uninucleate) contengono uno sporoplasma rosso brillante quando colorate con la tecnica di Ziehl-Neelsen modificata.

## PROFILASSI

L'infezione si blocca se si trasferiscono i molluschi in aree a salinità inferiore a 25 ‰.

# HAPLOSPORIDIOSI DA *Haplosporidium nelsoni*

## SINONIMI

MSX ~ Multinucleate Sphere Unknown

## EZIOLOGIA

*Haplosporidium nelsoni* (*Minchinia nelsoni*)  
(Phylum Haplosporidia)

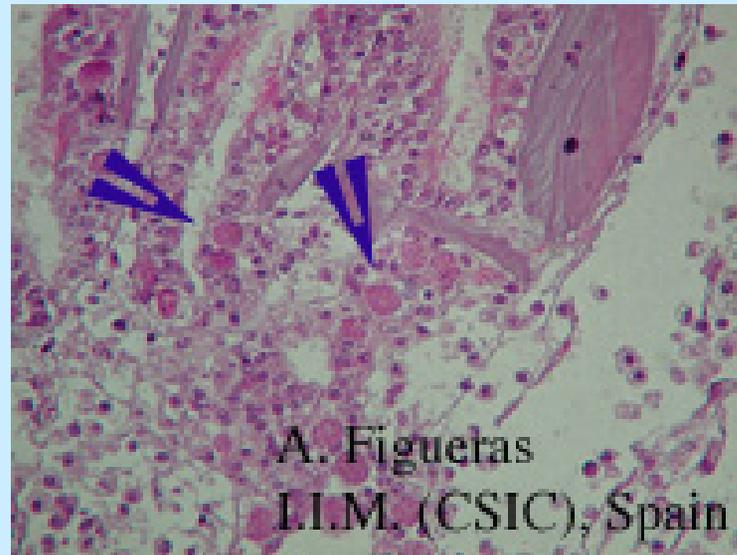
## SPETTRO D'OSPITE

*Crassostrea virginica* ed altri bivalvi marini



## DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Costa atlantica degli U.S.A., Corea, Giappone, Francia, Italia,  
in acque con salinità attorno al 15‰.



## SINTOMI

Il mollusco appare **emaciato**, la ghiandola digestiva si decolora, nei sopravvissuti si possono notare **depositi giallo-bruni** sulla superficie della valva inferiore.

La sporulazione di *H. nelsoni* è sporadica negli animali adulti, mentre prevale nei giovani; si verifica soprattutto in **estate** e causa una graduale distruzione degli epitelii dei tubuli digestivi.

La mortalità avviene in primavera e a fine estate. Il ciclo biologico non è ben noto, si sospetta l'intervento di un **secondo ospite** (probabilmente un crostaceo).

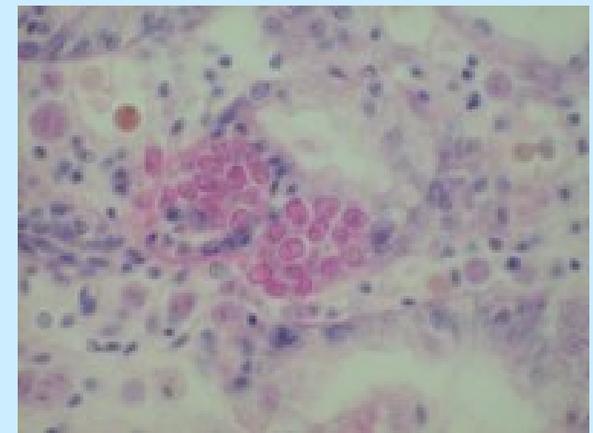
## DIAGNOSI

**ESAME CITOLOGICO:** esame di strisci di cellule ematiche colorati con le metodiche “rapide” (Hemacolor)

**ESAME ISTOLOGICO:** i plasmodi multinucleati, le sporocisti e le spore opercolate si trovano nella ghiandola digestiva e, nei casi gravi, in tutti i tessuti.



Ostrica  
sana



## PROFILASSI

Non introdurre molluschi provenienti da aree infette in aree indenni. L'infestazione diminuisce se si spostano i molluschi in aree con salinità inferiore a 10‰ o superiore a 30‰ ed a temperature sotto i 20°C.

La stabulazione delle ostriche per 1 settimana in acque con salinità 10‰ e temperatura di 20°C uccide il parassita ma non l'ospite.

# PERKINSIOSI

## EZIOLOGIA

*P. atlanticus/olseni*, *P. marinus* (= *Dermocystidium marinum*, *Labyrinthomyxa marina*)

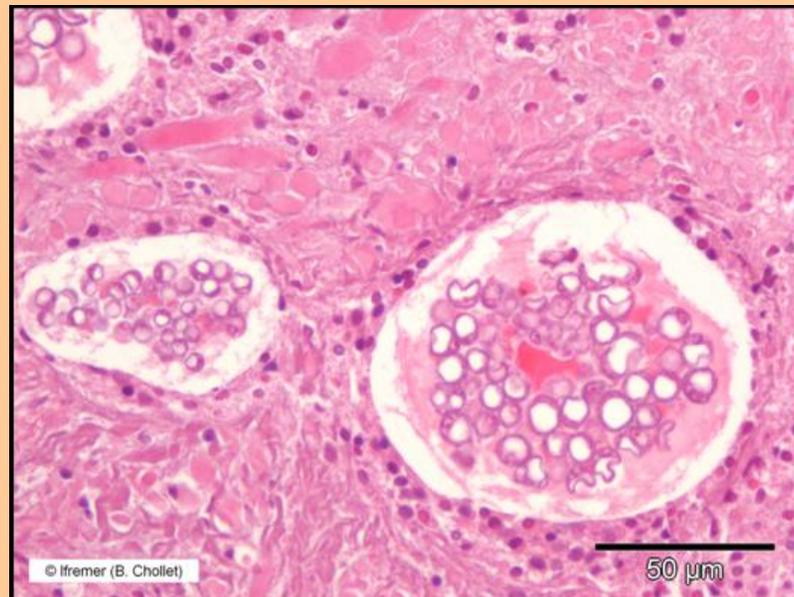
Phylum **Apicomplexa**.... da ridefinire. *Perkinsus* sp. è strettamente correlato alle **Dinoflagellida**. Alcuni Autori lo classificano nel phylum **Perkinsozoa**, altri nel phylum **Dinozoa**, subphylum Protalveolata. Sono necessari ulteriori studi per classificare definitivamente questo parassita.

## SPETTRO D'OSPITE

Riportato in più di 50 specie di bivalvi del Pacifico, dell'Atlantico e del Mediterraneo.

In alcune aree del mare **Adriatico** l'infezione ha assunto carattere endemico nelle vongole (*Ruditapes* sp.)

[www.ifremer.fr](http://www.ifremer.fr)



# DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA



CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

## Distribution of *Perkinsus* species

### *P. marinus* (USA)

•Host: The American oyster, *Crassostrea virginica*

### *P. andrewsi* (USA)

•Host: Baltic clam, *Macoma baltica*

### •*P. chesapeaki*

•Host: *Mya arenaria*

### *P. atlanticus*

(PORTUGAL, SPAIN, FRANCE, ITALY)

•Host: clams (*Ruditapes decussatus*, *R. philippinarum*)

*Perkinsus* sp. (KOREA, JAPAN, CHINA)

•Host: Manila clam (*R. philippinarum*)

### *P. qugwadi* (CANADA)

•Host: Japanese scallop, (*Patinopecten yessoensis*)

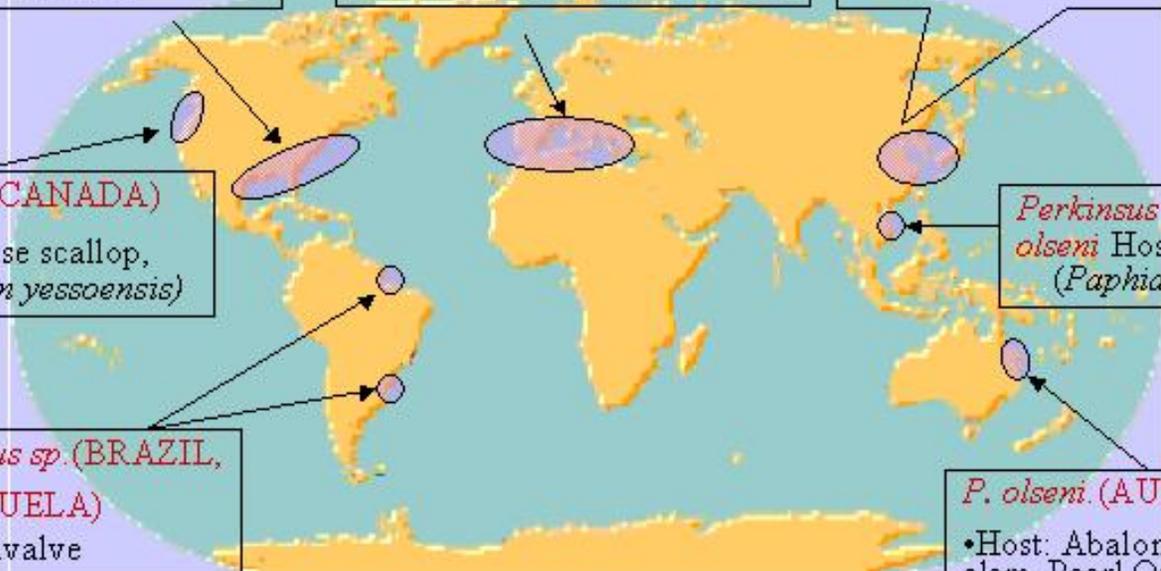
*Perkinsus* sp. (BRAZIL, VENEZUELA)

•Host: Bivalve

*Perkinsus* sp. (possibly *P. olseni*) Host: clam (*Paphia undulata*)

*P. olseni*. (AUSTRALIA)

•Host: Abalone, Giant clam, Pearl Oyster



## SINTOMI

L'organo più colpito è la **branchia**. L'evolversi della malattia porta ad una infezione sistemica. Si possono formare **cisti biancastre o noduli** su branchie, piede, intestino, epatopancreas, reni, gonadi e mantello.

Queste cisti sono formate da aggregati di cellule del parassita ed emociti.

## SINTOMI

Grave **emaciazione**, valve beanti, retrazione del mantello, pallore della ghiandola digestiva, inibizione dello sviluppo gonadico. La proliferazione del parassita causa distruzione dei tessuti connettivi e delle cellule epiteliali.

La perkinsiosi è una malattia che richiede temperature piuttosto alte per manifestarsi.

La mortalità, che si osserva in estate (da giugno ad ottobre) aumenta quando la temperatura dell'acqua **supera i 20°C** e può arrivare al 95% degli effettivi.

Anche la **salinità** è un fattore importante, infatti al di sotto di 10~12‰ la mortalità è assente.

*Crassostrea virginica* colpita da perkinsiosi.

A sx soggetto sano.

[library.enaca.org](http://library.enaca.org)



In *Haliotis rubra* e *H. laevigata* il parassita può produrre **pustole sferiche** di oltre 8 mm di diametro, di colore giallo-brunastro, nel piede e nel mantello.

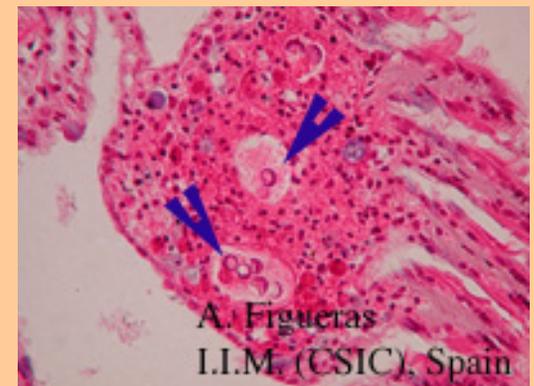


[library.enaca.org](http://library.enaca.org)

## DIAGNOSI

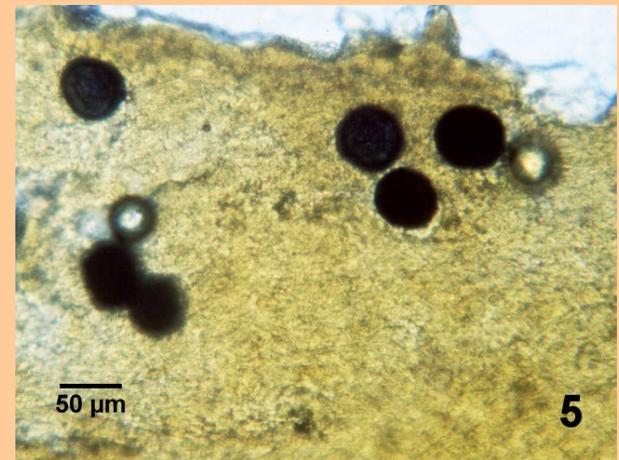
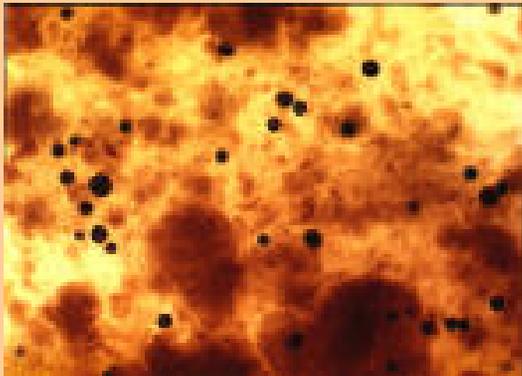
**ESAME MICROSCOPICO A FRESCO:** presenza di corpi sferici con un vacuolo eccentrico nei tessuti dei molluschi moribondi.

**ESAME ISTOLOGICO:** le sezioni di tessuto mostrano infiltrazioni di emociti, alcune contengono meronti (trofozoiti o aplanospore 3~10  $\mu$ m), altre “rosette” (sporangi o schizonti) e stadi con meronti maturi contenenti larghi vacuoli eccentrici di 10~20  $\mu$ m di diametro.



**SAGGIO IMMUNOLOGICO:** sono in commercio anticorpi monoclonali che evidenziano molti stadi vitali, ma non tutti.

**ESAME COLTURALE:** si coltiva il parassita in Thioglicollato fluido per 4-7 giorni e si osservano i diversi stadi del parassita (alcuni del diametro di oltre 250  $\mu$ m) al microscopio, previa colorazione con liquido di Lugol.



[www.pac.dfo-mpo.gc.ca](http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca)

L'intensità dell'infestazione viene classificata su una scala da 0 a 5:

- ☆ **Valore 0:** assenza di infezione
- ☆ **Valore 0,5 (very light):** meno di 10 parassiti in tutto il preparato.
- ☆ **Valore 1 (light):** da 11 a 110 cellule in tutto il preparato. I parassiti possono essere sparsi o raccolti in clusters di 10-15 cellule.
- ☆ **Valore 2 (light moderate):** alcune aree del preparato appaiono libere da parassiti mentre in altre si evidenziano concentrazioni di 24-50 cellule, oppure piccoli gruppi di 2-3 cellule in ogni campo di osservazione a x100.

- ☆ **Valore 3** (moderate): presenza di 3 o più cellule in ogni campo a x100, masse di 50 cellule più o meno localizzate, il tessuto non appare macroscopicamente di colore blu-nero.
- ☆ **Valore 4** (moderate heavy): parassita presente in alto numero in tutti i tessuti ma meno della metà dei tessuti appare blu-nero macroscopicamente.
- ☆ **Valore 5** (heavy): enorme numero di parassiti; la maggior parte dei tessuti presenta colore blu-nero macroscopicamente.

## PROFILASSI

Controllo dei movimenti di molluschi.

Quando si allestiscono nuovi impianti di allevamento scegliere aree a **bassa salinità** ( $< 9 \text{ ‰}$ ) e con **temperature non superiori a 15~20°C**.

# SINDROME DI DISSECCAMENTO DEGLI ABALONI

(Withering syndrome of abalone, Abalone rickettsiosis)

Segnalata per la prima volta nel 1986 nelle Channel Islands, Santa Barbara (U.S.A.)

## EZIOLOGIA

*Candidatus Xenohalictis californiensis*, fam. Rickettsiaceae

## SPETTRO D'OSPITE

*Haliotis* sp. sia di allevamento che selvatici.

*Haliotis cracherodii* (Abalone nero)

*Haliotis rufescens* (Abalone rosso)

*Haliotis corrugata* (Abalone rosa)

*Haliotis sorenseni* (Abalone bianco)

L'Abalone nero risulta essere la specie più sensibile con picchi di mortalità fino al 99%. Nell'Abalone rosso la mortalità di solito arriva al 30%.



*Haliotis cracherodii* (Abalone nero)



*Haliotis rufescens* (Abalone rosso)



*Haliotis corrugata* (Abalone rosa)



*Haliotis sorenseni* (Abalone bianco)

## DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA

Costa sudoccidentale del **Nord America** (California e Messico).

Molluschi infetti sono stati esportati in **Cile, Giappone, Israele** e altre regioni.

## SINTOMI

Trasmissione diretta da animale malato ad animale sano senza l'intervento di vettori.

Periodo di incubazione da **3 a 7 mesi**.

Temperatura dell'acqua da **18°C** in su.

Tutti gli stadi vitali dei molluschi sono sensibili all'agente eziologico.

## SINTOMI

*Candidatus Xenohaliotis californiensis* infetta le cellule dell'epitelio gastro-intestinale dell'ospite e la ghiandola digestiva ostacolando la produzione di enzimi digestivi.

L'animale smette di alimentarsi, consuma le proprie riserve di glicogeno e, in seguito, utilizza il muscolo del piede come fonte di energia.

L'atrofia del muscolo del piede fa diminuire la loro capacità di aderire alle rocce e li rende vulnerabili all'attacco dei predatori.

## DIAGNOSI ~ ESAME ISTOLOGICO

Colorazione con Em-Eos. L'aspetto di *Candidatus Xenohaliotis californiensis* è molto simile a quello di altre **rickettsiae marine**; può assumere forma sferica o ovoidale, con dimensioni medie di 332 x 1550 nm.



## PROFILASSI

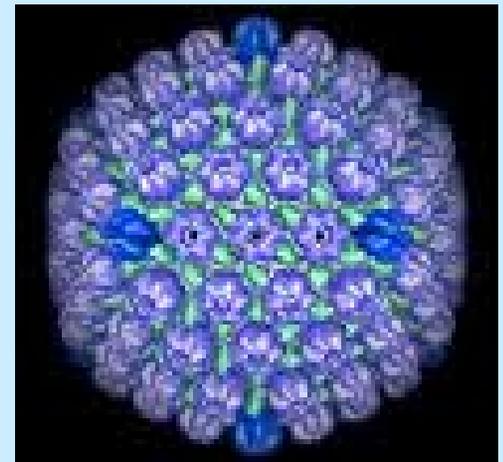
La riduzione della densità degli individui e l'applicazione di una dieta medicata con ossitetracicline possono ridurre le perdite.

Controllo delle importazioni.

La malattia non è mai stata segnalata in Europa.

# Herpesviridae

- Famiglia Herpesviridae: comprende oltre 120 virus che colpiscono vertebrati ed invertebrati
- Gli Herpesvirus che colpiscono gli invertebrati sono stati isolati, per la prima volta, nel 1972 in:
  - USA in *Crassostrea virginica* (Farley *et al.*)
  - UK in *Ostrea edulis* (D.J. Alderman)



# Herpesvirus dei molluschi bivalvi

- Infezioni da Herpesvirus sono state segnalate in:
  - *Crassostrea virginica*
  - *Crassostrea gigas*
  - *Ostrea edulis*
  - *Ostrea angasi*
  - *Tiostrea chilensis*
  - *Ruditapes decussatus*
  - *Ruditapes philippinarum*
  - *Pecten maximus*

# Herpesvirus dei molluschi bivalvi

## ➤ SINTOMATOLOGIA

- Spesso grave nelle larve e nelle forme giovanili che giungono a morte senza lesioni macroscopicamente evidenti

## ➤ DIAGNOSI

- PCR
- TEM

# Herpesvirus dei molluschi bivalvi

- **SITUAZIONE ATTUALE IN ITALIA (presentata alla Commissione europea dal LNR dell'IZSVE):**
  - **INFEZIONE SEGNALATA IN EMILIA ROMAGNA (Ferrara e Rimini)**
  - **LIGURIA**
  - **MARCHE**
  
- **ATTESO PER FINE OTTOBRE 2010 parere EFSA**

# FATTORI DI RISCHIO DA VALUTARE NELLE IMPORTAZIONI DI MOLLUSCHI

1. Rischio patologico: introduzione di patogeni sconosciuti
2. Rischio patologico: aumento della prevalenza di una malattia già endemica (o comunque presente) nella zona di introduzione
3. Rischio ecologico: introduzione di microfauna e microflora (es. alghe produttrici di biotossine)
4. Rischio ecologico: introduzione di inquinanti (fouling organisms)
5. Problemi di adattamento (salinità, capacità di crescita)
6. Rischi genetici: mescolanza di ceppi geneticamente diversi
7. Rischi commerciali: ripopolamento in caso di mortalità

**ATTIVITA' DI CONTROLLO DELLE  
MALATTIE DEI MOLLUSCHI –  
SORVEGLIANZA DEGLI ALLEVAMENTI**

# Risultati del Piano di campionamento della Regione Emilia Romagna 2006 - 2009

- × Esaminati 24 campioni di MITILI: tutti negativi per *Marteilia* spp.
- × Esaminati 2 campioni di OSTRICHE: negativi per *Bonamia* spp. e *Marteilia* spp.
- × Esaminati 15 campioni di LUPINI: tutti negativi per *Perkinsus* spp.
- × Esaminati 15 campioni di VONGOLE VERACI: un positivo *Perkinsus* spp.

# Ringraziamenti

- ✘ Operatori del Servizio Veterinario e del Servizio di Igiene Pubblica
- ✘ Personale tecnico della Sezione di Ferrara
- ✘ LNR dell'IZS delle Venezie
- ✘ Regione Emilia Romagna



... e Grazie a Voi per l'attenzione