

La peste del gambero o afanomicosi



Amedeo Manfrin

Centro Specialistico Ittico - IZSVe Adria (RO)

Centro di referenza nazionale per le malattie dei pesci, molluschi e crostacei

PESTE DEL GAMBERO

Principale patologia dei gamberi d'acqua dolce.

Introdotta dal Nord America ha causato rarefazione delle specie indigene in Europa.

Agente eziologico: *Aphanomyces astaci*

- ❖ Phylum Chromista
- ❖ Classe Oomiceti
- ❖ Ordine Saprolegniales
- ❖ Famiglia Saprolegniaceae
- ❖ Genere *Aphanomyces*

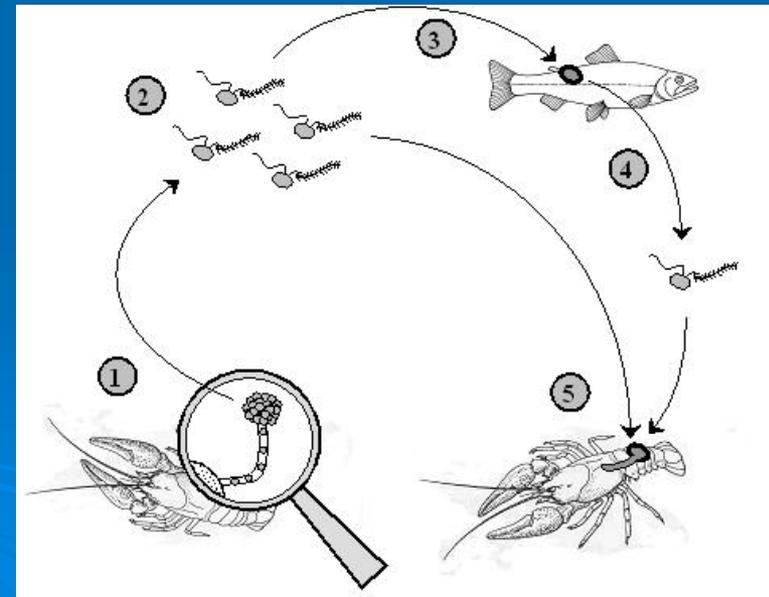
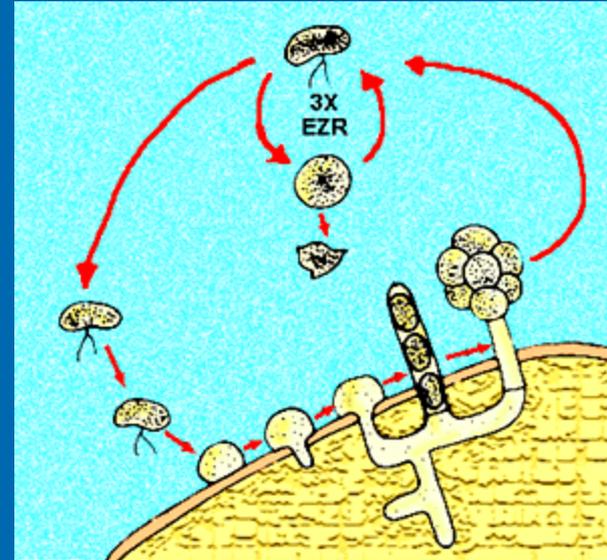
EPIDEMIOLOGIA E PATOGENESI

Sensibilità di specie

- **Astacidi, specie europee** (*Astacus astacus*, *Austropotamobius pallipes*, *A. torrentium* e *Astacus leptodactylus*) **molto sensibili**.
- **Cambaridi, specie americane** (*Pacifastacus leniusculus*, *Procambarus clarkii*, *Orconectes spp.*) più **resistenti**. Il gambero giapponese (*Cambaroides japonicus*) è specie sensibile.
- **Parastacidi, specie australiane** (*Euastacus sp.*, *Cherax sp.*, *Geocherax sp.*, *Astacopsis sp.*) **molto sensibili** a prove di infezione in laboratorio (Unestam, 1975).
- Il granchio quantato cinese (*Eriocheir sinensis*) è stato infettato in condizioni sperimentali (Benisch, 1940).

Ciclo vitale

Le zoospore, libere in acqua, generalmente sono attive per un periodo variabile da pochi minuti a tre giorni, ma secondo la temperatura ambientale, i tempi possono essere molto più lunghi.



Segni clinici

Il comportamento degli animali colpiti (andatura o attività insolita), fornisce un indizio per una diagnosi di peste, ma i segni clinici non sono sufficienti.

I primi segni di malattia sono di tipo comportamentale, in presenza di un elevato numero di soggetti morti. (Alderman & Polglase, 1986). Si osserva inizialmente un aumento dell'attività motoria, seguito da apatia.



L'animale affetto da peste si mostra, in pieno giorno, con gli arti in estensione, esce dall'acqua e tenta di arrampicarsi sull'argine, si muove in modo incoordinato, è instabile con perdita dell'equilibrio, non tenta di fuggire alla cattura e si manifesta inerte se trattenuto



Al culmine dell'infezione i soggetti si rovesciano sul dorso, muovono convulsamente le appendici e non riescono a raddrizzarsi. Talvolta la morte si manifesta per paralisi, in questa posizione. Frequentemente si può manifestare il distacco degli arti o porzioni di essi.

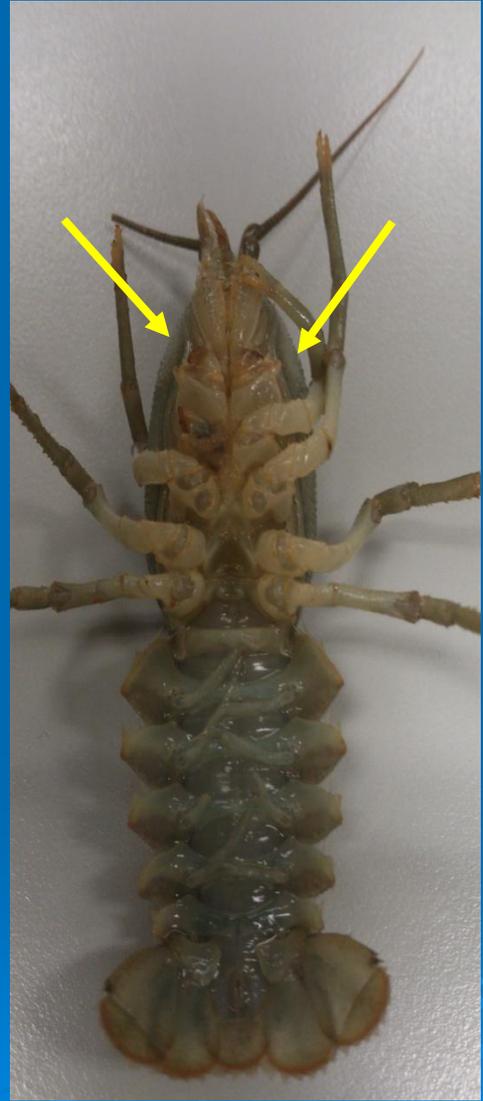
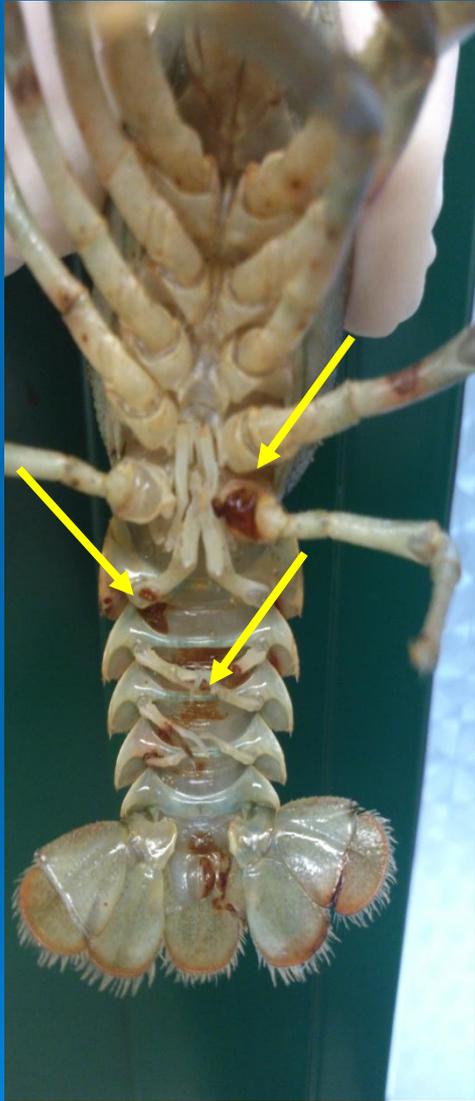


La morte dell'ospite è la conseguenza di una neurotossina. Mortalità elevata nelle specie sensibili.

Aree ulcerate brunastre sono più frequenti in gamberi alloctoni resistenti e portatori o in gamberi indigeni con infezione subacuta.

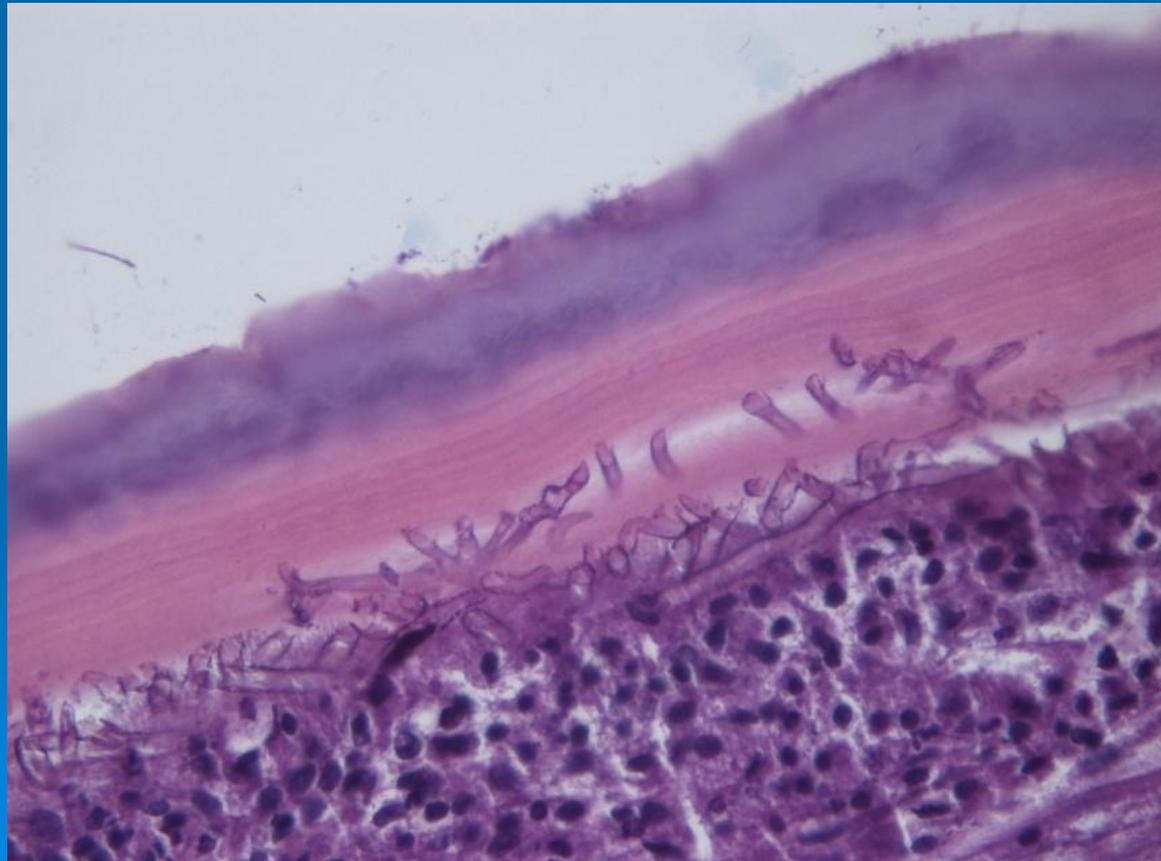


A temperature inferiori a 10° C, i gamberi infetti richiedono tempi più lunghi per morire, e i segni clinici sono più apparenti, come la perdita di un arto e la presenza di ulcere melanotiche (Alderman *et al.*, 1987).



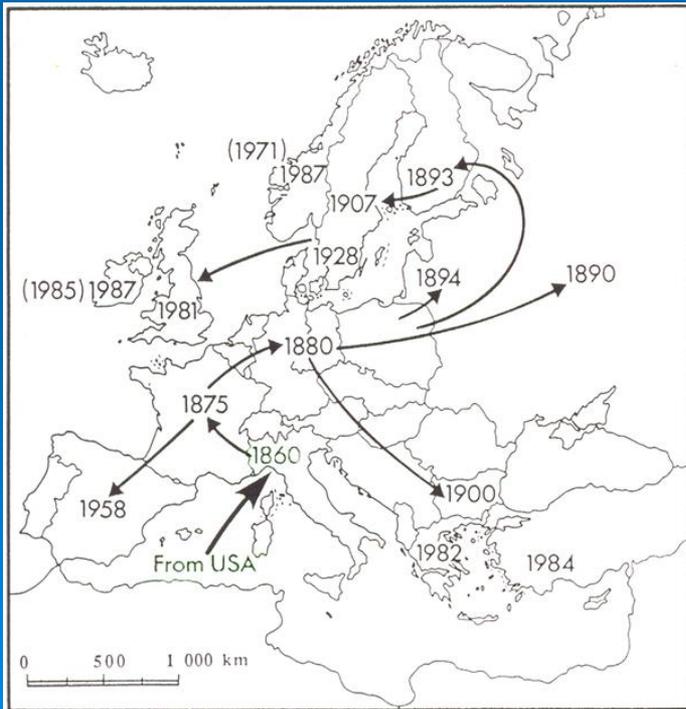
Lesioni istologiche

All'osservazione istologica l'esoscheletro, l'ipoderma, più raramente il muscolo scheletrico sottostante e le branchie si presentano invasi da ife a settate e ramificate



DIFFUSIONE DELLA PESTE IN ITALIA E IN EUROPA

La malattia è stata descritta per la prima volta in Italia nel 1859 (Cornalia 1860).
Non fu mai isolato l'agente eziologico.



Ben presto la peste, ritenuta al tempo essere provocata da parassiti o batteri, si propagò in tutta l'Europa centrale e successivamente a tutto il continente.

Nuovi focolai in Italia

In Italia, dopo le segnalazioni della metà del 1800 episodi di afanomicosi sono riportati:

- 1999, *A. repetans* in *Procambarus clarkii*, valle di Marmorta (BO) (Galuppi *et al.*, 2002; Royo *et al.*, 2004).
- 2008 *A. astaci* in *P. clarkii*, Lombardia e Toscana (Gherardi comunicazione personale).
- 2009 *A. astaci* in *Austropotamobius pallipes*, in Molise (IS) (Cammà *et al.*, 2010)
- 2010 *A. astaci* in *A. pallipes*, Valdobbiadene (TV)
- 2011 *A. astaci* in *A. pallipes*, Trentino, fiume Chiese, Ponte S. Lucia



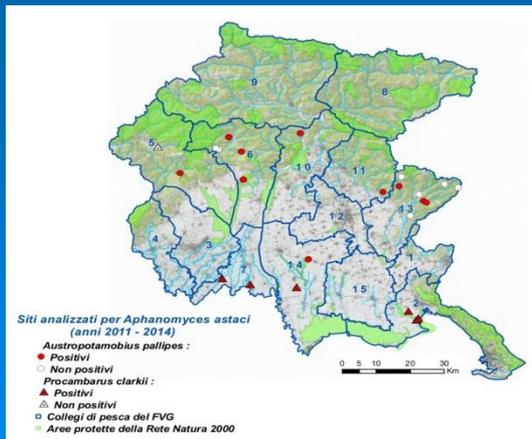
Nuovi focolai in Italia

- 2011 *A. astaci* in *A. pallipes*, Lombardia, Montevicchia (LC)
- 2011 *A. astaci* in *A. pallipes*, Abruzzo, Cragnoletto (TE)
- 2011 *A. astaci* in *Cherax destructor*, in Veneto, Mogliano Veneto (TV)



Nuovi focolai in Italia

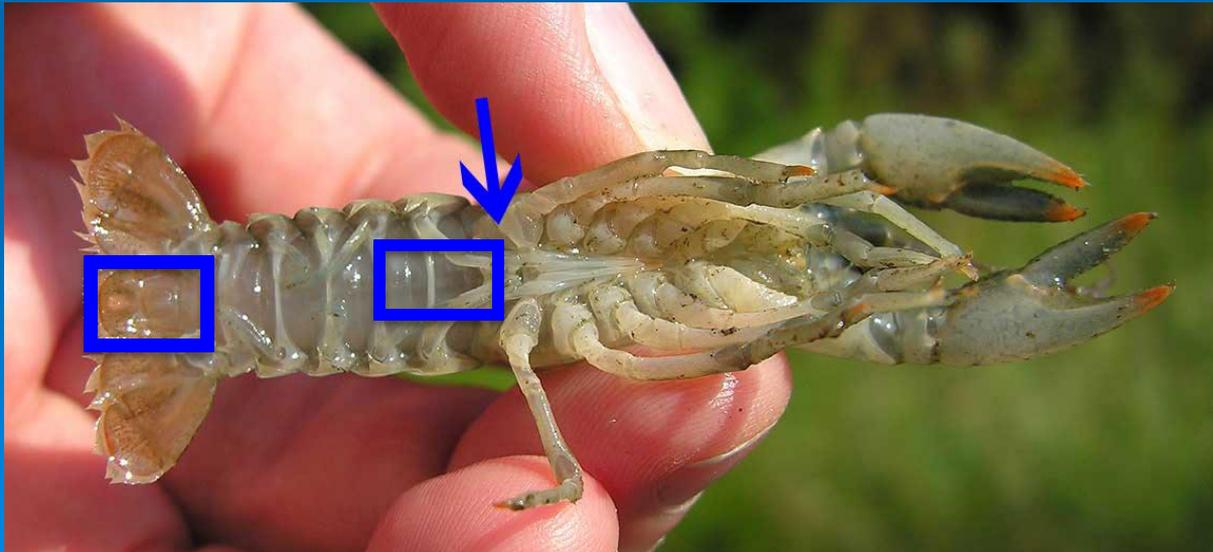
- 2012/13 *A. astaci* in *A. pallipes*,
provincia di Teramo.
- 2013 *A. astaci* in *A. pallipes*,
provincia di Perugia.
- 2014 *A. astaci* in *A. pallipes* in Friuli
(Amaro – UD).
- 2016 *A. astaci* in *A. pallipes* – Gola
del Tinazzo (BG).
- 2017 *A. astaci* in *A. pallipes*
Isernia.

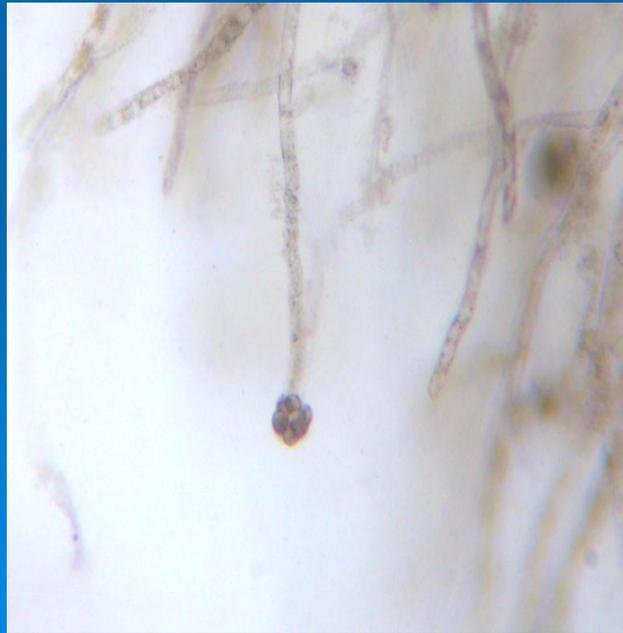
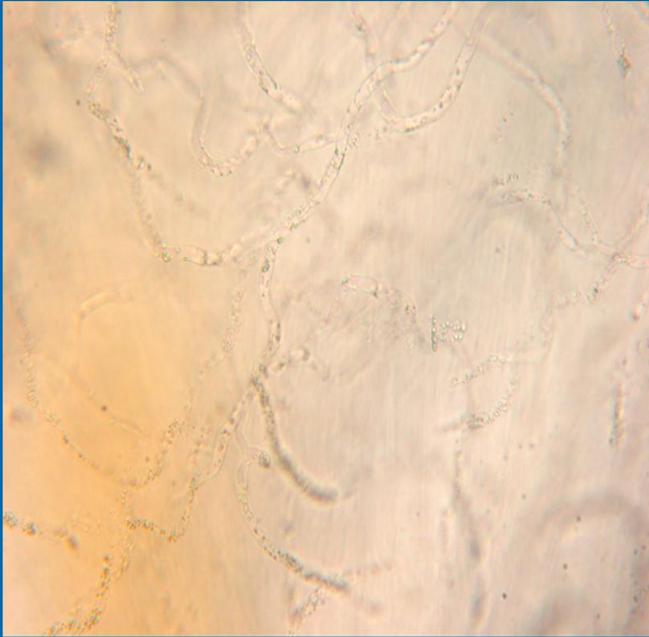


DIAGNOSI di LABORATORIO

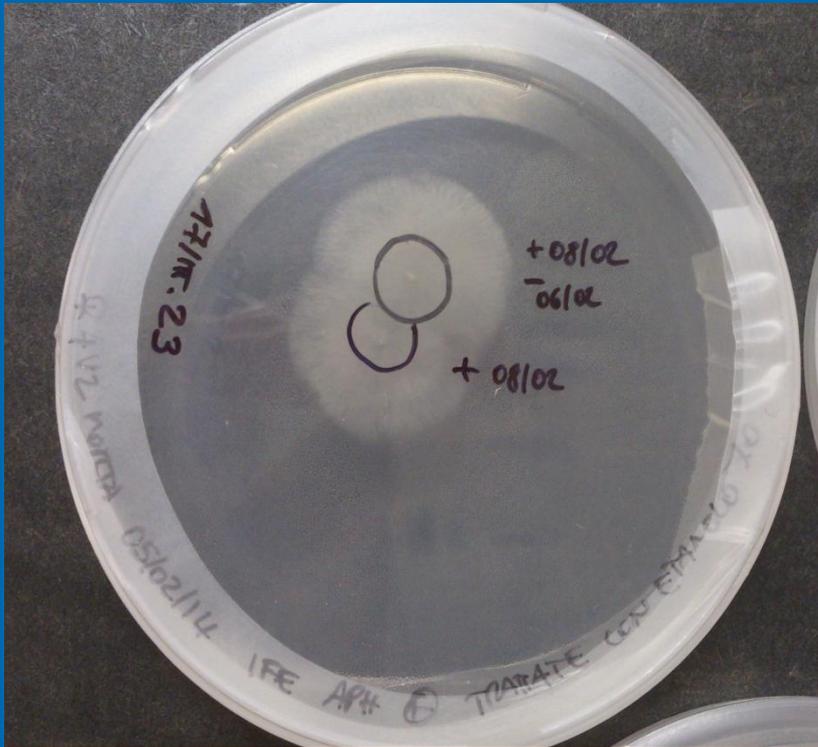
Tessuti target per identificazione o isolamento di *A. astaci*:

- nelle specie sensibili (*Astacus astacus*, *Austropotamobius pallipes*, *A. torrentium*) prelievo da **cuticola addominale**.
- nelle specie resistenti Nord Americane prelievo di **cuticola addominale, telson** e **aree melanizzate** di arti e cuticola.





Crescita in RGY agar (River water Glucose Yeast extract Agar)



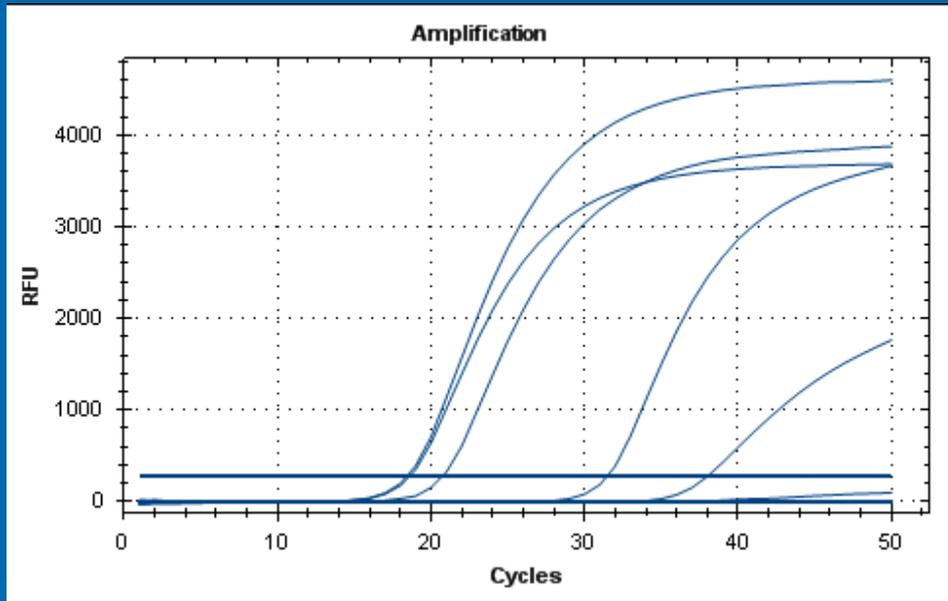
ESAME ISTOLOGICO:

- eseguito su esemplari vivi o fissati in campo (fissativo di Davidson o formalina)
- evidenzia la presenza di ife fungine (colorazione di Grocott)
- non discrimina tra *A. astaci* e infezioni micotiche secondarie

ANALISI MOLECOLARE (PCR E REAL TIME PCR):

- eseguibile su vivo, morto, congelato o fissato in etanolo
 - efficace anche nelle specie resistenti (*Procambarus clarkii*)
 - metodica più sensibile e specifica
- 
- A decorative graphic consisting of several sets of concentric circles in a lighter blue shade, scattered across the bottom half of the slide. The circles vary in size and are positioned in the lower right and bottom center areas.

real-time PCR (screening)



Primer forward: AphAstITS-39F: 5'AAGGCTTGTGCTGGGATGTT3'
Primer reverse: AphAstITS-97R: 5'CTTCTTGCGAAACCTTCTGCTA3'
Probe: AphAstITS-60T
5'-6-FAM-TTCGGGACGACCCMG-BNF-Q-3'

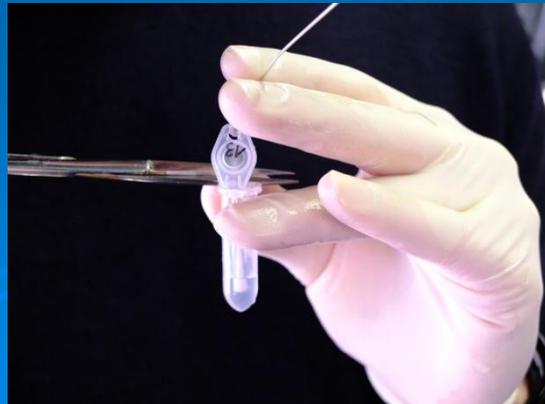
PCR end-point (confirmation)



Reference: Manual of Diagnostic Test for Aquatic Animals – OIE World Organization for Animal Health; ed. 2016, chapter 2.2.1; pp: 101-118.

Working in progress

- Arrivare alla tipizzazione genetica anche dei precedenti campioni positivi (monitoraggio 2011-16).
- Validazione di una tecnica di screening non invasiva (tamponi cuticolari) per identificare i portatori prima di introdurli in impianto per la riproduzione o di spostarli da un corso d'acqua all'altro.
- Testare i giovanili per essere sicuri che siano negativi prima del rilascio.



Grazie per l'attenzione

