

# VIRAL ENCEPHALOPATHY AND RETINOPATHY: THE MAJOR VIRAL THREAT FOR MEDITERRANEAN FISH

**Anna Toffan**

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie  
Laboratorio Nazionale di Riferimento per le malattie dei pesci  
Centro di Referenza OIE per l'encefalo-retinopatia virale dei pesci marini,  
Viale dell'Università n. 10 Legnaro, Padova  
[atoffan@izsvenezie.it](mailto:atoffan@izsvenezie.it)

# Agente Eziologico

Famiglia: *Nodaviridae*

Genere: *Betanodavirus*

Simmetria icosaedrica (25-28 nm)

Privo di envelope

Genoma bisegmentato +ssRNA

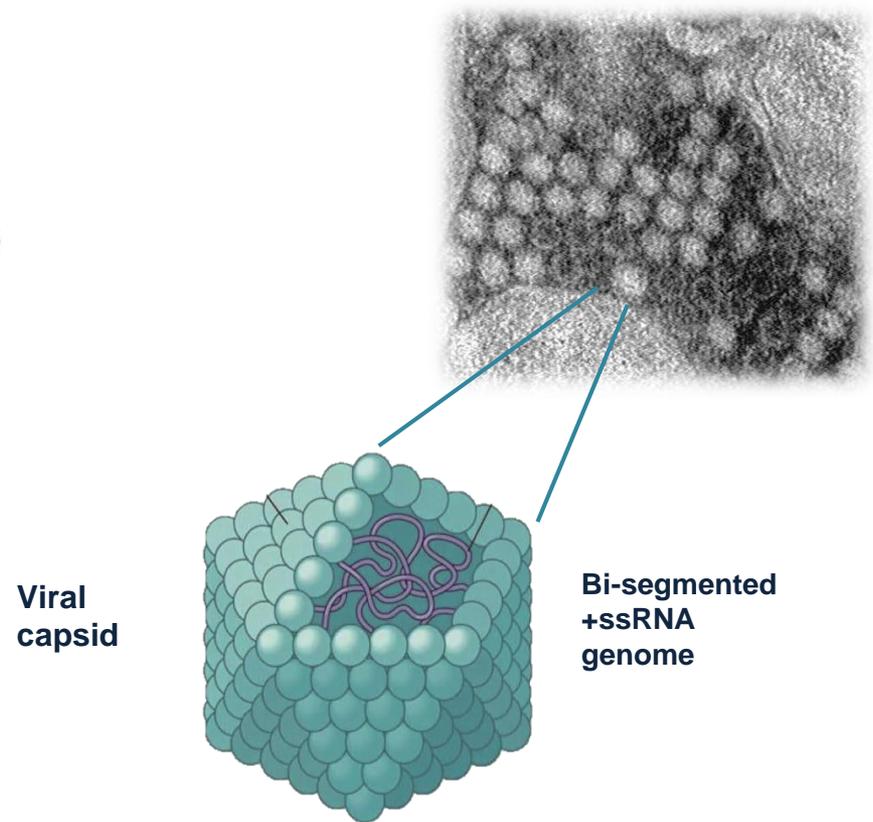
RNA1 (3.1 Kb) → RdRp

RNA2 (1.4 Kb) → Capside

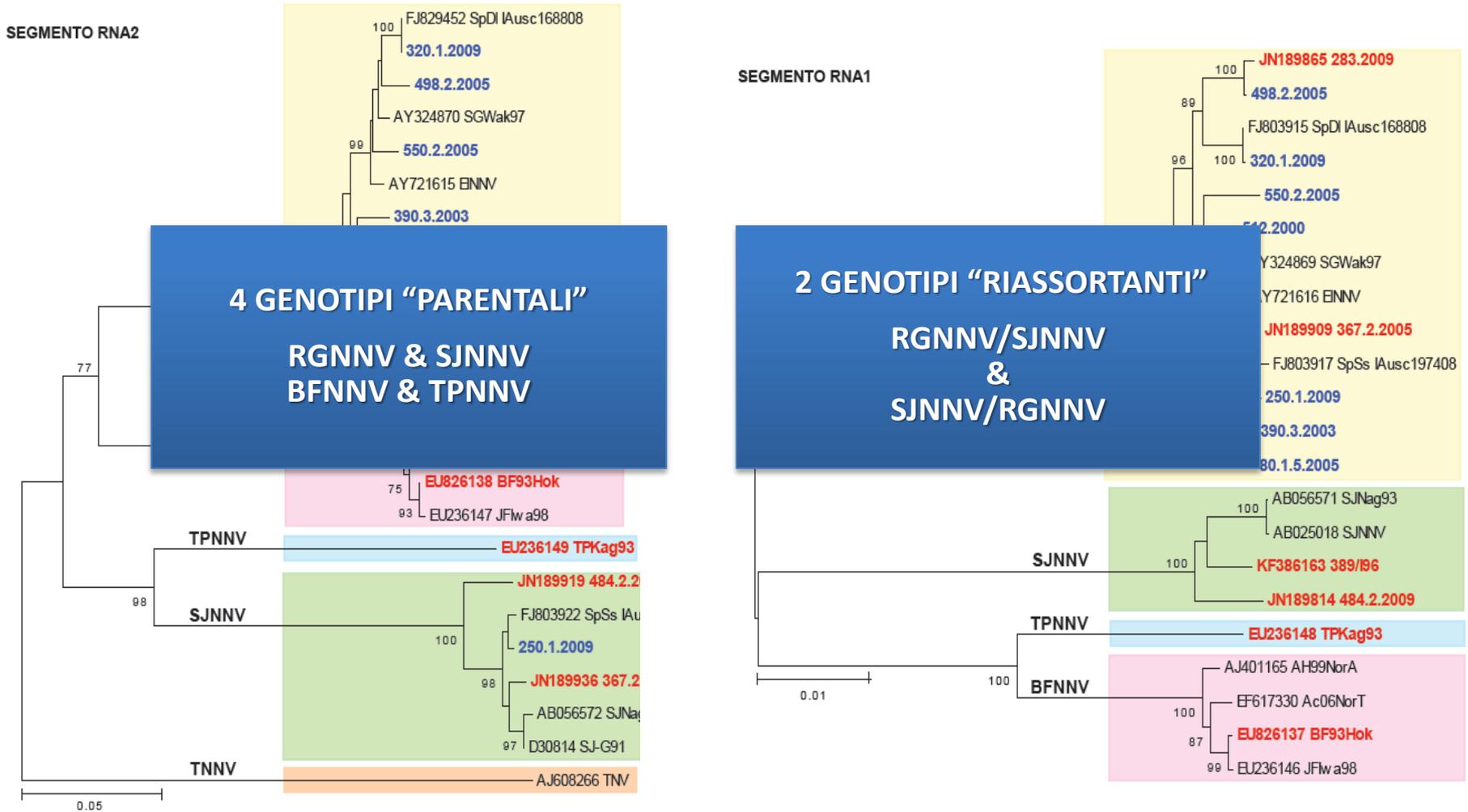
RNA3 → subgenomic RNA

5 genotipi

3 sierotipi (A, B e C)



# Classificazione genetica

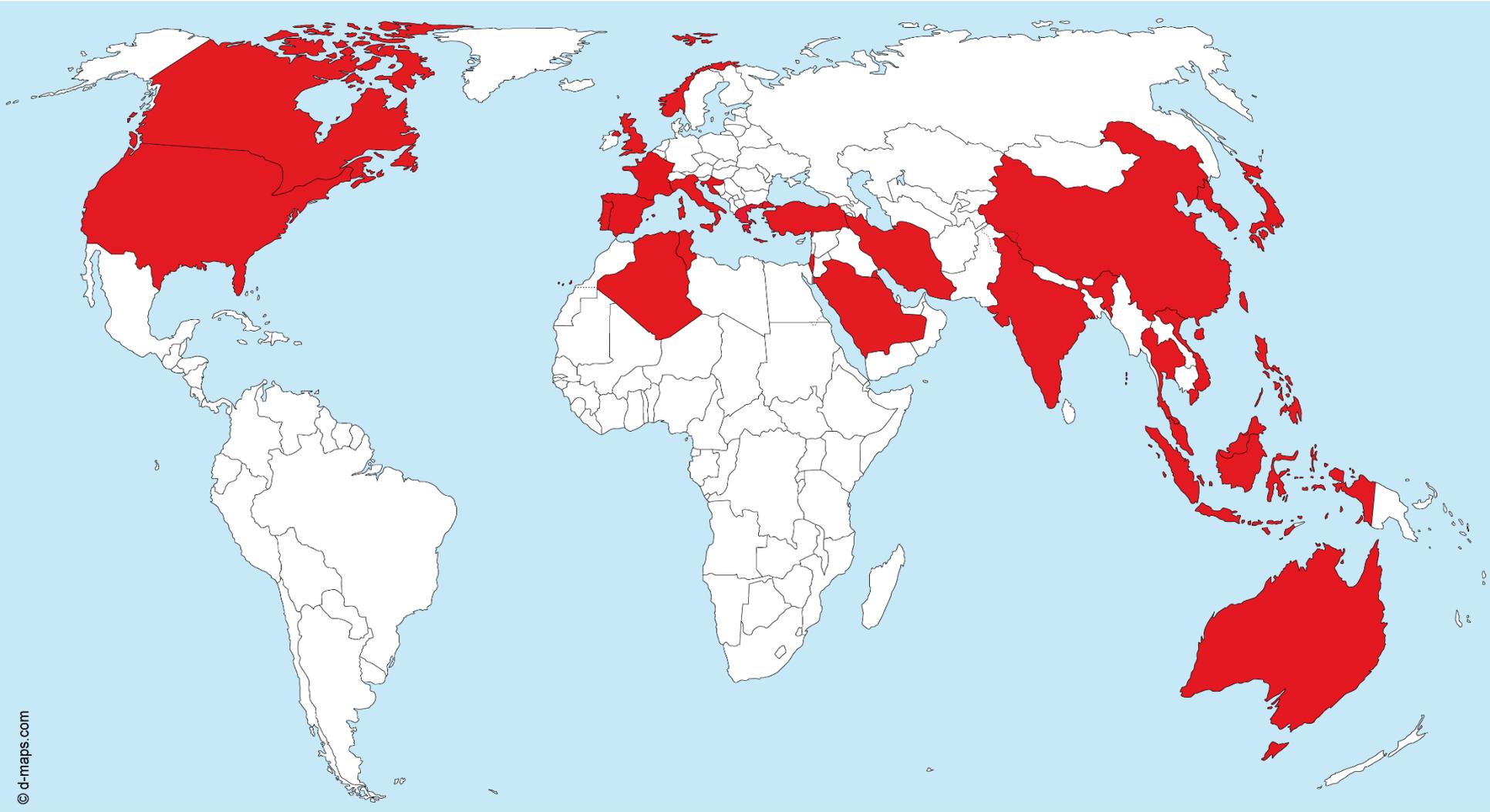


# Classificazione sierologica

Genotype	Serotype	Target host fish	Optimum growth temperature
SJNNV	A	Striped jack	20–25°C
TPNNV	B	Tiger puffer	20°C
BFNNV	<del>C</del> B	Cold-water fish: Atlantic halibut, Atlantic cod, flounders, etc.	15–20°C
RGNNV	C	Warm-water fish: Asian sea bass, European sea bass, groupers, etc.	25–30°C

Iwamoto *et al.*, 2000- Mori *et al.*, 2001- Panzarin *et al.*, 2016

# Distribuzione



© d-maps.com

# VER-Ospiti

Infetta specie appartenenti a 11 ordini diversi !

## Allevati marini:

- Spigola (*D. labrax*)
- Barramundi (*L. calcarifer*)
- Orata (*S. aurata*)
- Sarago pizzuto (*D. puntazzo*)
- Rombo (*S. maximus*)
- Sogliola (*S. solea* e *S. senegalensis*)
- Ombrina (*U. cirrosa*)
- Ombrina boccadoro (*A. Argyrosomus*)
- Corvina (*S. Umbra*)
- Ricciola (*S. dumerilii*)

## Selvatici:

- Triglia (*M. surmuletus* e *M. barbatus*)
- Cernia (*E. costae*, *E. marginatus*)
- Cefalo (*L. ramada*)
- Pagello fragolino (*P. erythrinus*)
- Sardina (*S. pilchardus*)
- Ghiozzo nero (*G. niger*)
- Merluzzetto (*T. minutus*)
- Altri

## Specie d'acqua dolce:

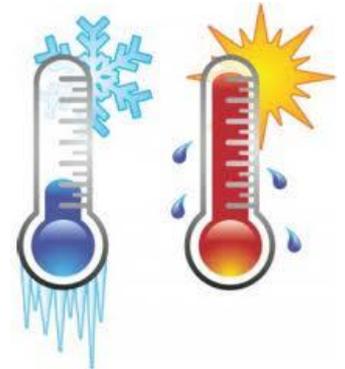
anguilla, tilapia, persico spigola, storione

# Trasmissione e Patogenesi

- Trasmissione orizzontale
- Trasmissione verticale
- Sospetta la trasmissione orale

I sopravvissuti restano portatori

- Temperatura dipendente
- Patologia stress correlata
- Elevata resistenza nell'ambiente del patogeno



## Segni clinici

- Nuoto erratico e scoordinato
- Anoressia
- Ipermelanosi
- Congestione della testa
- Erosioni e ulcerazioni cutanee
- Cecità
- Timpanismo vescica natatoria
- Vacuolizzazione cellule SNC e retina



# Lesioni anatomopatologiche

Istologia

Immunoistochimica

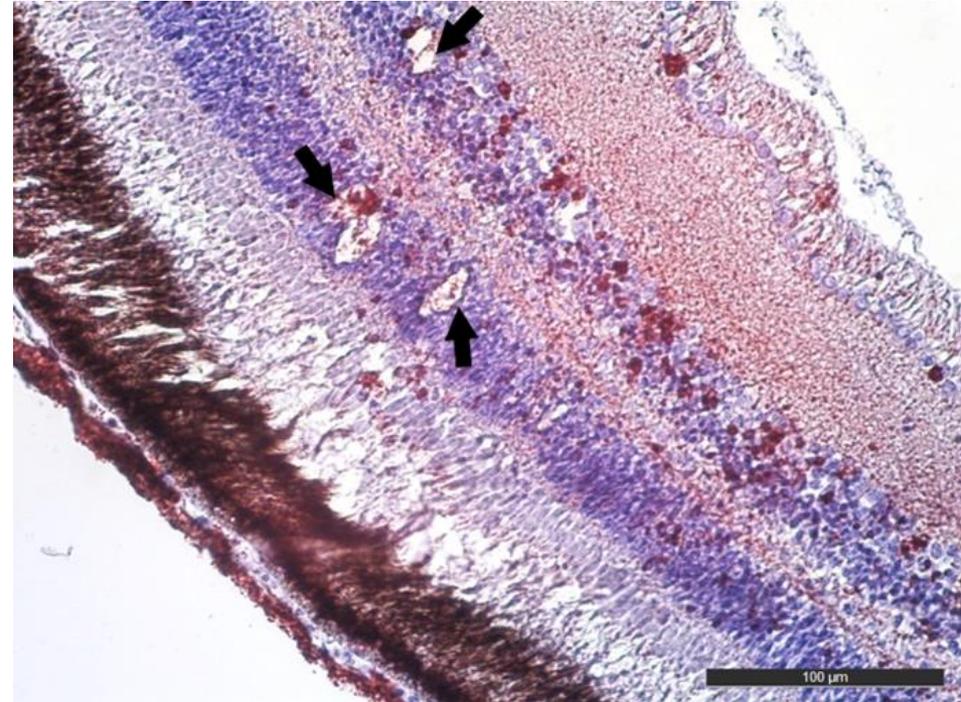
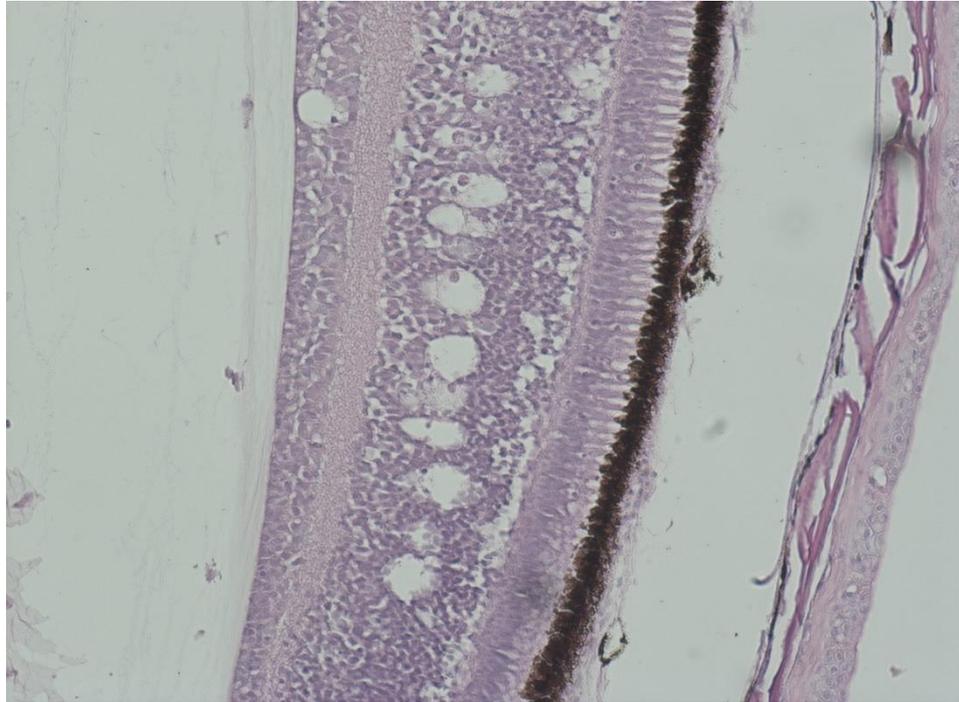
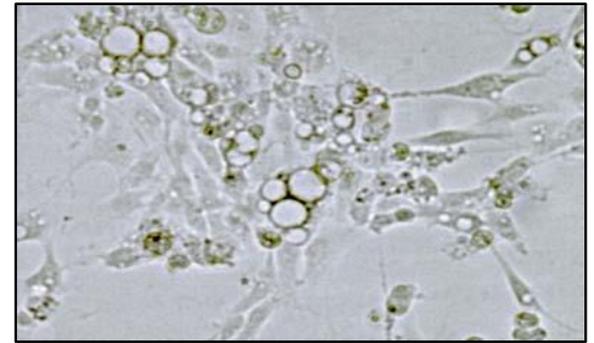


Foto: dott. T. Pretto (IZSVe)

# Diagnosi & Terapia

- ✓ Isolamento virale su SSN-1 e/o E-11 a 25° C
- ✓ Tipico effetto citopatico con vacuolizzazione delle cellule infettate
- ✓ Biologia molecolare (RNA 1 & RNA2)
- ✓ sequenziamento e analisi filogenetica
- ✓ Rilevazione anticorpi mediante SN/ELISA



Esiste un solo vaccino commerciale per la spigola, al momento non autorizzato in Italia

## Premessa

- Il controllo della diffusione dei patogeni rappresenta uno dei principali problemi della maricoltura
- L'utilizzo di sistemi "aperti" come le gabbie comporta un aumento dei rischi di introduzione dei patogeni, ma anche di disseminazione degli stessi
- Le alte densità di allevamento possono causare ai pesci uno stress tale da facilitare l'insorgenza delle malattie infettive ad aggravarne il decorso



## Premessa/2

- Molte specie selvatiche sono attratte dalla presenza delle gabbie per la maggiore presenza di cibo e talvolta riescono ad introdursi persino nelle gabbie.
- I pesci allevati d'atra parte possono "evadere" con tutte le conseguenze del caso.



## Scopo

Valutare l'impatto di un allevamento di spigole e orate infetto da VNN sulle specie selvatiche

# M&M

Nel 2007 un nuovo allevamento (spigole e orate) a mare viene installato in un area «naive» del sud Italia.

Nell'estate del 2008 nella stessa azienda compare la NNV.

Dal 2008 al 2013 è stata implementata un'attività di sorveglianza sanitaria (sia nei pesci allevati che nelle specie selvatiche) nelle vicinanze dell'impianto e in due AMP

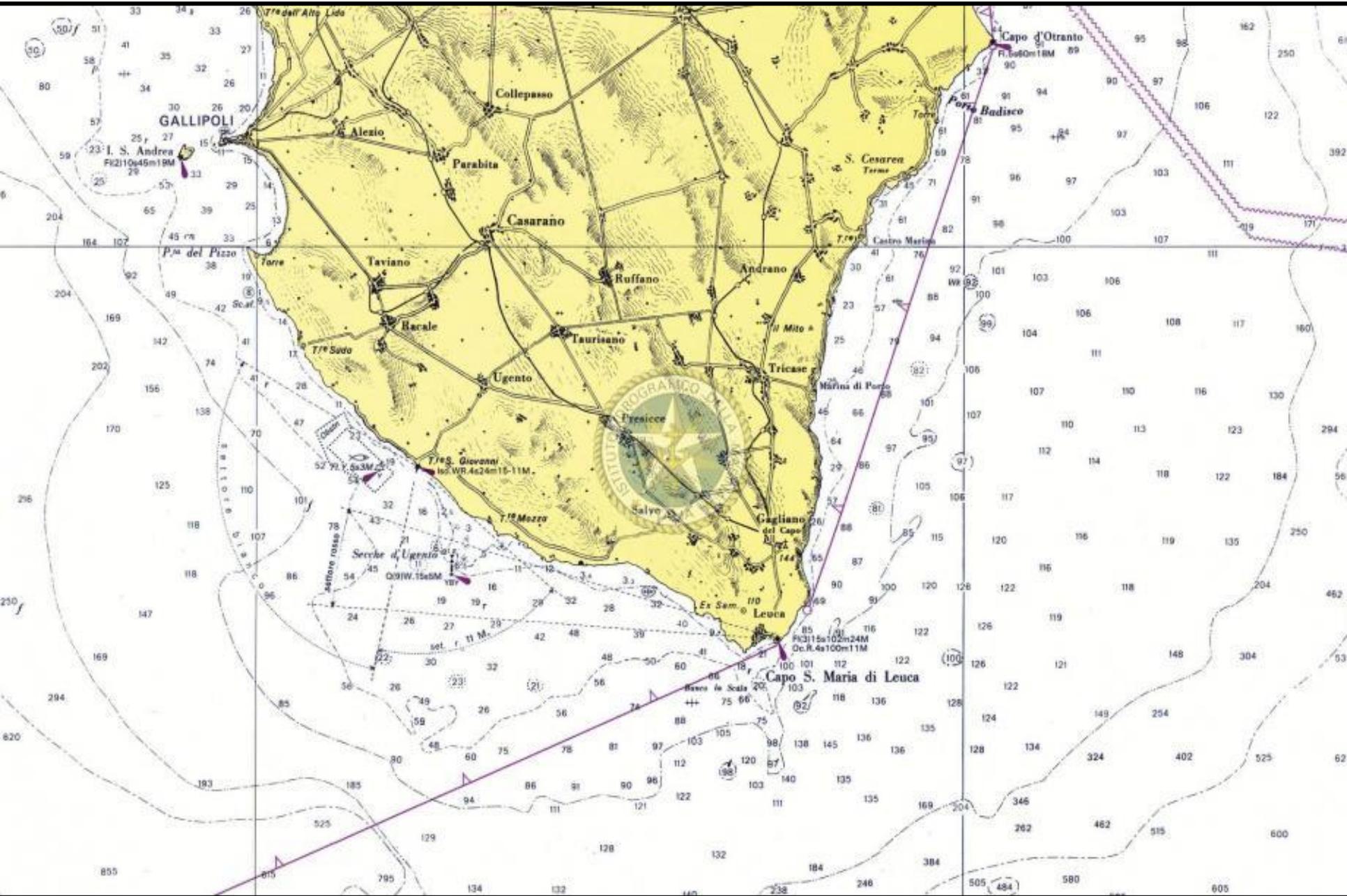
I pesci sono stati campionati da pescatori subacquei o durante campagne di pesca scientifica.

# Sampling Area/1



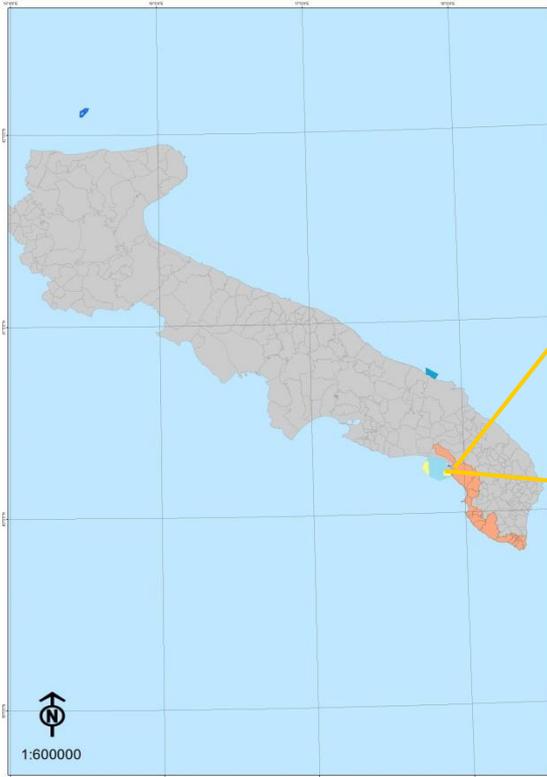
From Gallipoli to Leuca





# Sampling Area/2

## Marine Protected Area of Puglia



## Porto Cesareo AMP

(Ionian Sea, 40° 15' N - 17° 52' E)



# Risultati/1

Raccolti 627 campioni

127 pesci allevati

500 pesci selvatici

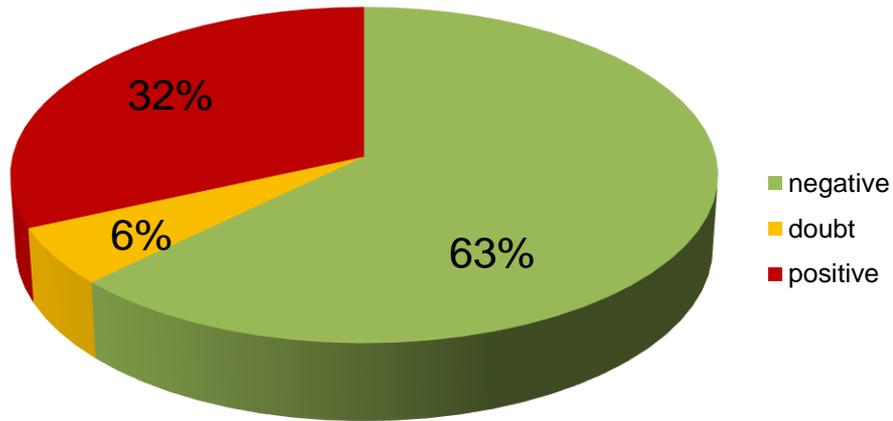
I pesci campionati appartenevano a 44 specie ittiche diverse e 22 specie tra crostacei e molluschi

Tutti i campioni selvatici risultavano **asintomatici**

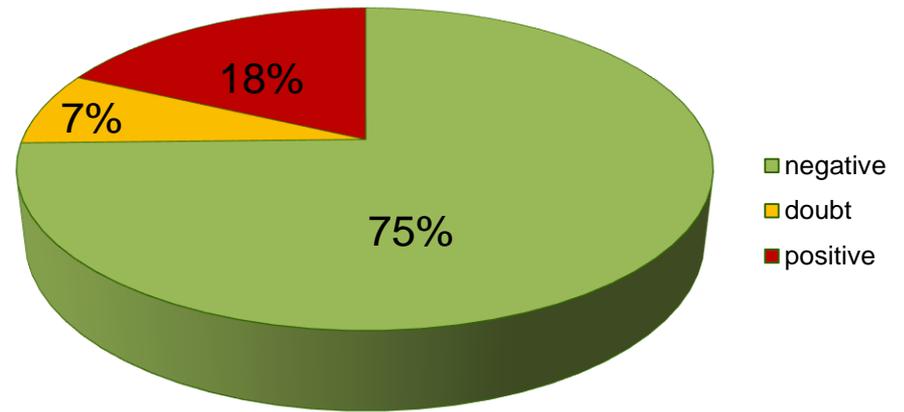


# Risultati /2

**farmed**



**wild**

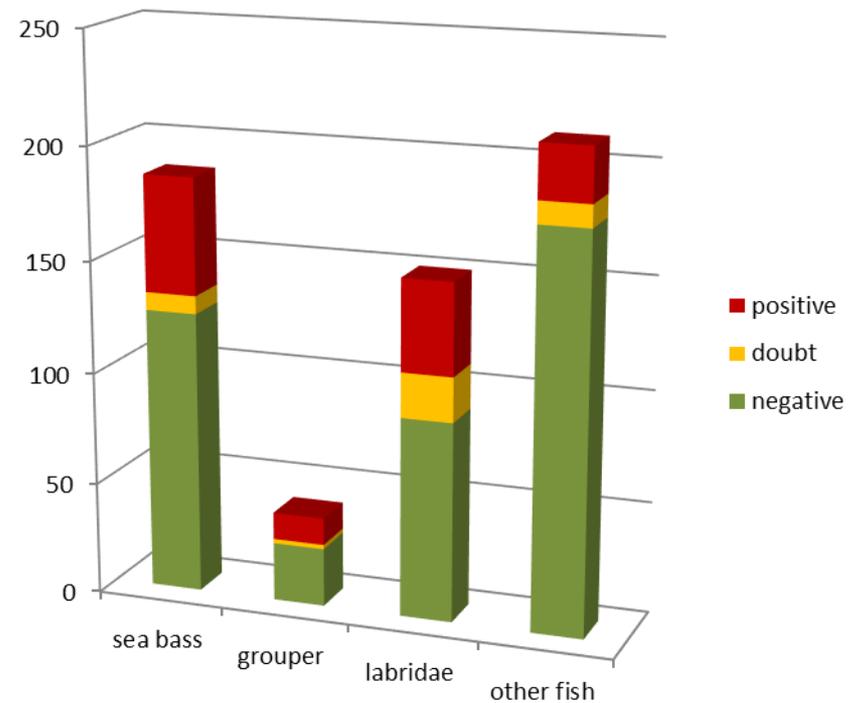
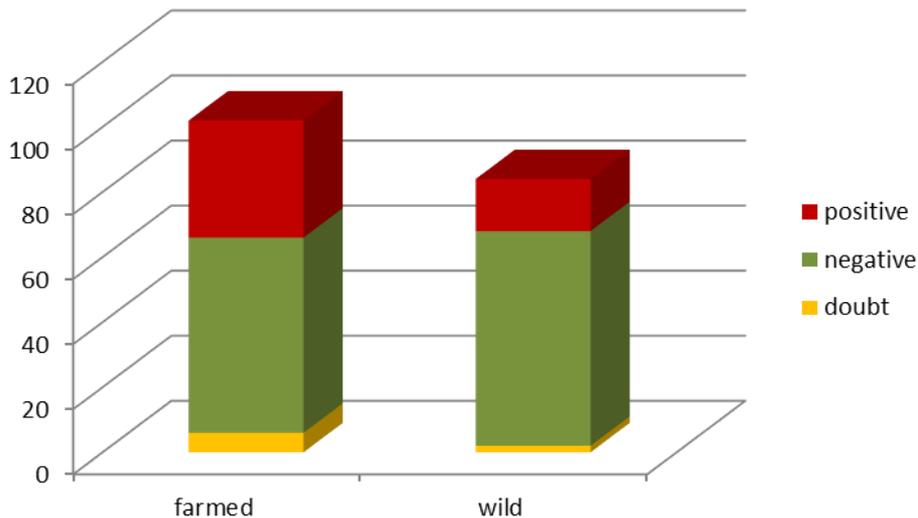


species	negative	doubt	positive	total
farmed	79	7	40	126
wild	374	37	90	501
total	453	44	130	627

# Risultati Spigola

La specie che ha presentato più positività è risultata essere la spigola (*D. labrax*) sia selvatica che allevata.

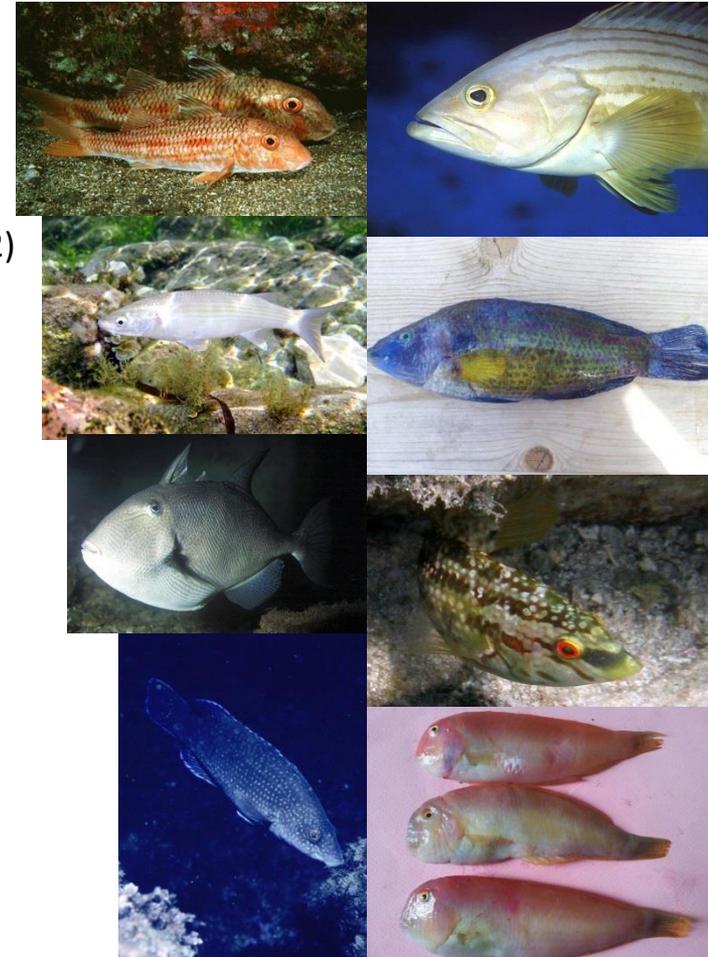
Altre specie con elevate % di positività sono state: *Epinephelus* spp e *Labridae*.



# Specie positive

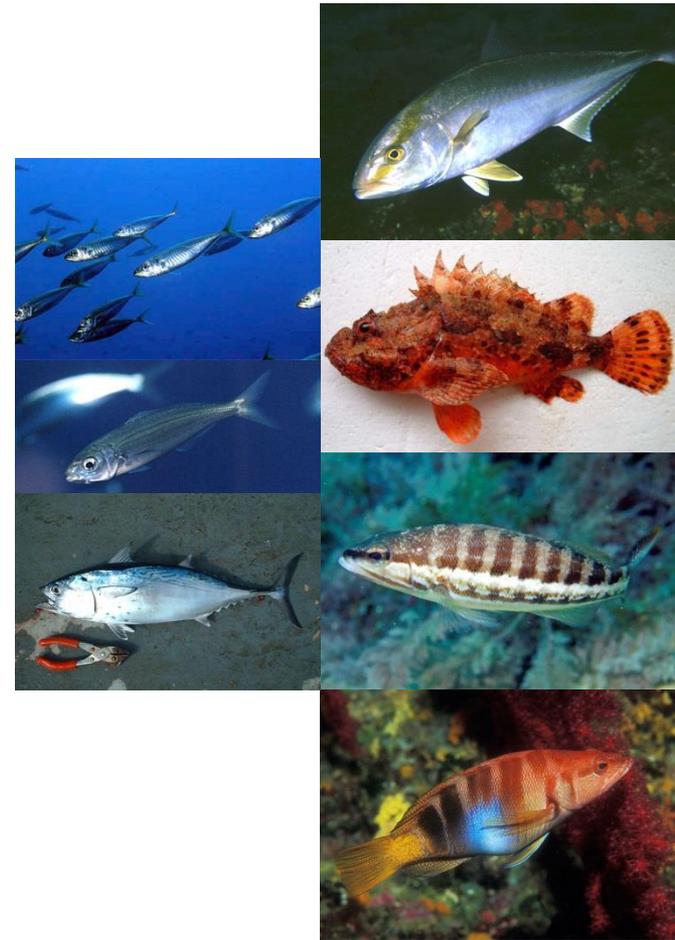
Elenco specie trovate positive:

- Triglia di scoglio (*M. surmuletus*) (Panzarin et al. 2012)
- Cernia bianca (*E. costae*) (Vendramin et al. 2013)
- Pesce balestra (*Balistapus spp.*) (Panzarin et al. 2012)
- Cefalo bosega (*C. Labrosus*) (Panzarin et al. 2012)
- Tordo pavone (*Symphodus tinca*)
- Tordo verde (*Symphodus roissali*)
- Tordo nero (*Labrus merula*)
- Pesce pettine (*Xyrichtys novacula*)



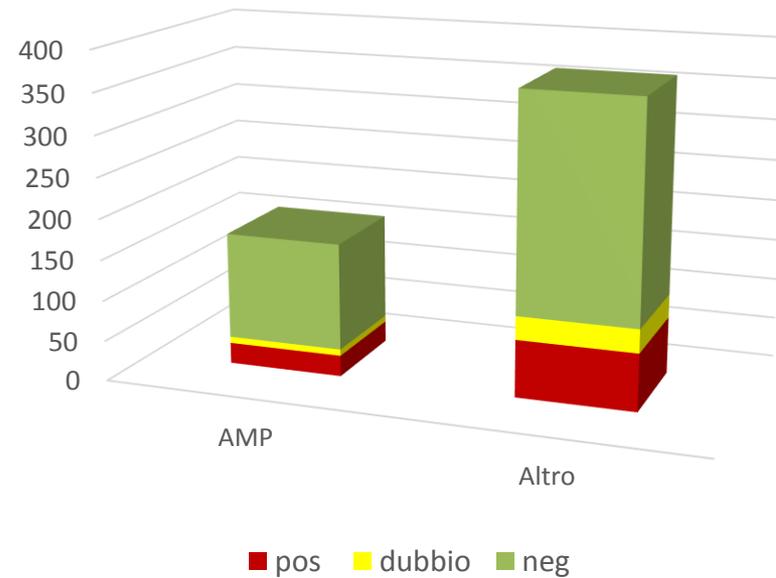
# Specie positive/2

- Sugarello (*Trachurus trachurus*)
- Boga (*Boops boops*)
- Alletterato (*Euthynnus alletteratus*)
- Ricciola (*Seriola Dumerili*)
- Scorfano (*Scorpaena scrofa*)
- Perchia (*Serranus cabrilla*)
- Sciarrano scriba (*Serranus scriba*)



# AMP vs Altre zone

	Positivo	Negativo	Dubbio	totale	%
AMP	26	131	8	165	15,76
Altro	71	266	29	366	19,40
totale	97	397	37	531	18,27



# Conclusioni

- **Elevate percentuali di positività per VNN** nell'area di studio compatibile con una situazione di **endemia**
- % positività > negli animali allevati ( $p < 0,005$ )
- **Positività nelle AMP superiore all'atteso**
- L'assenza di sintomatologia conclamata nella maggior parte dei pesci selvatici conferma i dati presenti in letteratura: **Resistenti? Portatori?**
- Importante sottolineare che è difficile evidenziare sintomatologia nei pesci selvatici
- Mancanza di studi simili in altre zone

# Moria di cernie, colpa di un virus.



Proprio oggi un amico mi parlava di una pesca miracolosa, un "dotto" (*cernia dorata*) di oltre 10 kg. Non voleva sbottonarsi sulla tecnica utilizzata per il recupero dell'animale, ma già da un mesetto sentivo una certa moria di cernie.

"L'hai trovata a fior d'acqua?"

Pochi secondi di smarrimento si son fatti largo negli occhi del mio amico, conclusi poi con:

"Perché...? Fanno male se vengono mangiate?"

Purtroppo sono davvero tante le cernie recuperate a galla dai pescatori in questo periodo, e non è davvero un buon indice di salute per il nostro mare.

La colpa è del virus...

VNN (*Virus Nervous Necrosis*) o **Nodavirus**, un virus ad RNA del diametro di circa 25nm

Questo virus colpisce pesci di diverse specie e già nel 1990 fu studiato da *Yoshioshi et Inoue* sui Pesci Pappagallo Giapponesi, sterminati da tale malattia.

Il virus si trasmette sia orizzontalmente (animali facenti parte della stessa comunità) sia verticalmente (da madre a figli), ed è riscontrabile sia negli adulti che nelle uova, fattore che probabilmente favorisce la diffusione virale.

I primi ad essere colpiti, comunque, risultano essere gli esemplari giovani.

nov  
30

## ANCHE I PESCI HANNO L'«INFLUENZA»

Mi piace

I veterinari: segnalati tre casi

Un'epidemia uccide le cernie, l'allarme lanciato dai pescatori.  
Uno studio dell'Università di Lecce



Murena malata

BRINDISI — E' uno stillicidio, e tra i pescatori sportivi la notizia circola. Quella di cernie trovate in superficie già morte o con forti difficoltà natatorie, nelle acque di

Brindisi. Sembravano vittime di una bomba fatta esplodere da pescatori di frodo a grande profondità, ma quasi tutti gli esemplari presentavano una strana patologia agli occhi. Un veterinario della Asl Br/1 appassionato di pesca subacquea conferma di averne sentito parlare almeno in tre casi, ma anche che nessuno ha mai presentato una segnalazione ufficiale all'autorità sanitaria. In realtà si tratta di Ery. encefalopatia e retinopatia

# Puglia

LA GAZZETTA DEL MEZZOGIORNO.it

## Virus «killer» uccide le cernie nel Salento

di MAURO CIARDO



SANTA MARIA DI LEUCA.

«Encefalopatia virale tra le cernie di Leuca e Gallipoli». I risultati dall'Istituto zooprofilattico di Padova sono arrivati venerdì e non lasciano dubbi sulla patologia che ha colpito diversi esemplari di cernia bruna e cernia dorata. Negli ultimi tempi si sono susseguiti gli avvistamenti di esemplari che nuotavano con difficoltà fino ad affiorare sulla superficie dell'acqua, diventando facile preda dei pescatori. Tra Leuca e Gallipoli sono stati prelevati quattro esemplari ancora vivi e in tutti è stato riscontrato il Vnn («Viral nervous necrosis»)

ha causato un'encefalo-retinopatia virale. Altri quattro campioni estratti da altrettanti pesci partirono la mattina alla volta del Veneto, perché la Asl di Lecce sta monitorando tutto il litorale salentino e le acque che si stanno spingendo anche negli specchi d'acqua del Brindisino.

### RISORSE CORRELATE

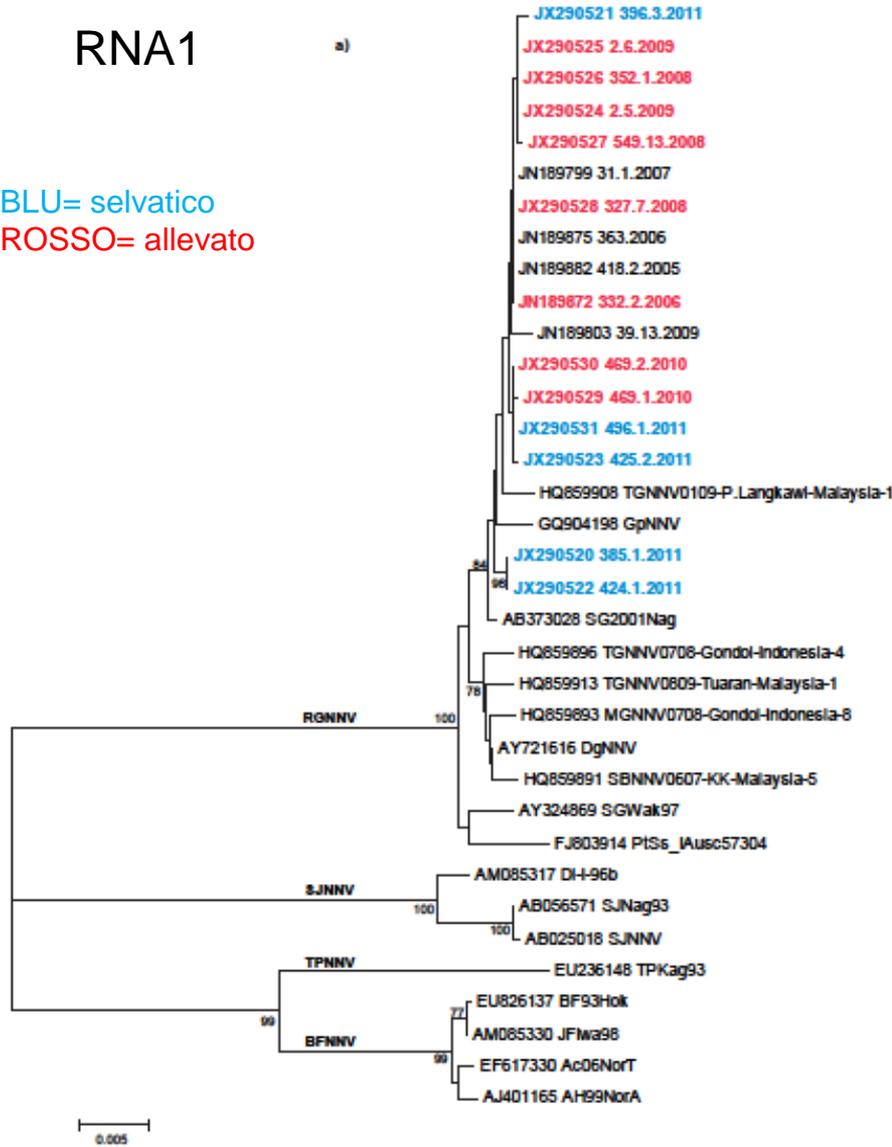
- L'ittologo: «Allevamenti sicuri evitare allarmismi»
- Sotto accusa le alte temperature

IV Convegno SIEF  
Domodossola 11-13 Ottobre 2017

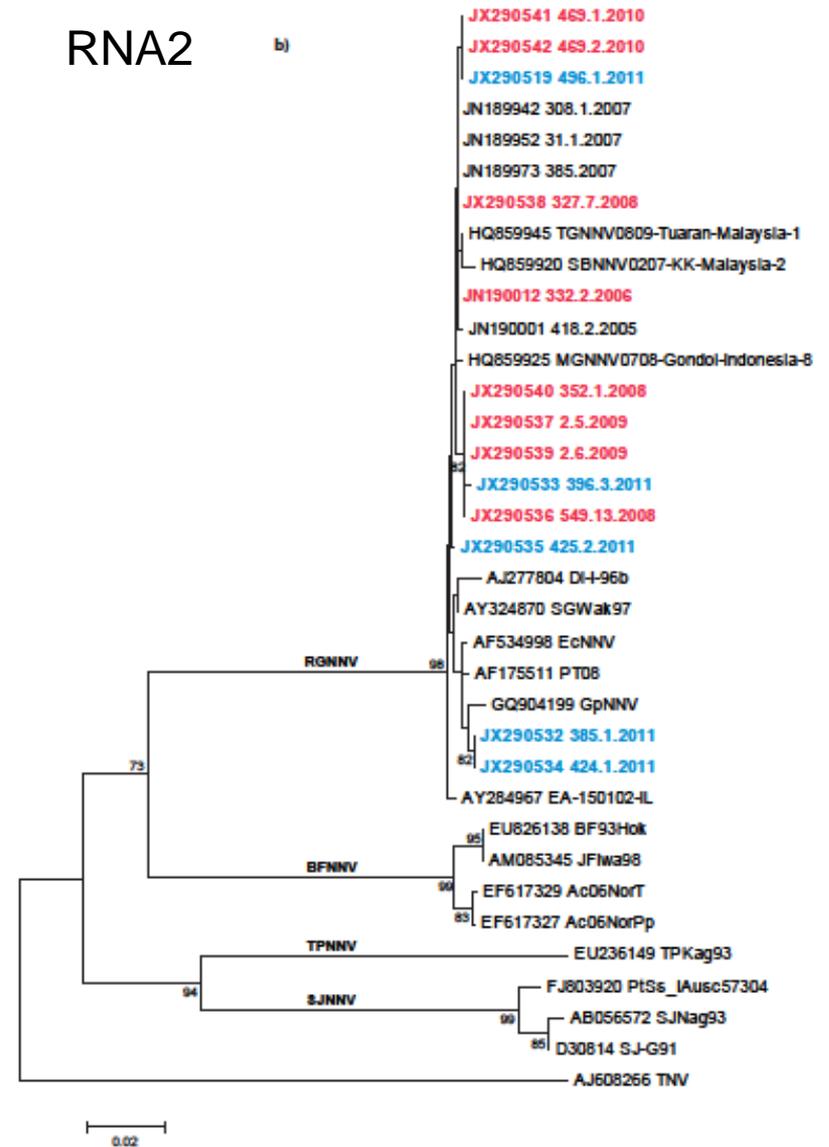


# RNA1

BLU= selvatico  
ROSSO= allevato



# RNA2



# Conclusioni

- Prima segnalazione di moria di cernie da VNN nel Mediterraneo
- Non è stato possibile accertare l'origine del patogeno anche se è stato accertato uno scambio virale tra allevati e selvatici

Vendramin *et al.* *BMC Veterinary Research* 2013, **9**:20  
<http://www.biomedcentral.com/1746-6148/9/20>



**CASE REPORT**

**Open Access**

## Viral Encephalopathy and Retinopathy in groupers (*Epinephelus* spp.) in southern Italy: a threat for wild endangered species?

Niccolò Vendramin<sup>1,2</sup>, Pierpaolo Patarnello<sup>4</sup>, Anna Toffan<sup>1\*</sup>, Valentina Panzarin<sup>1</sup>, Elisabetta Cappellozza<sup>1</sup>, Perla Tedesco<sup>3</sup>, Antonio Terlizzi<sup>3</sup>, Calogero Terregino<sup>1</sup> and Giovanni Cattoli<sup>1</sup>

# Le cernie: sentinelle del Mediterraneo

- Il genus *Epinephelus* è considerato altamente suscettibile a VNN
- Nel mediterraneo sono ricorrenti i fenomeni di mortalità nelle popolazioni di cernie selvatiche
- Possono le cernie fungere da sentinella per lo valutare lo stato sanitario dei nostri mari?
- Studio retrospettivo con lo scopo di catalogare e caratterizzare meglio questi eventi



# Risultati

- Periodo compreso tra il **2001-2014**
- Specie raccolte: *E. aeneus*, *E. marginatus* and *E. costae*
- Origine: **Algeria, Grecia, Italia e Tunisia.**
- 43 virus analizzati



# RNA2

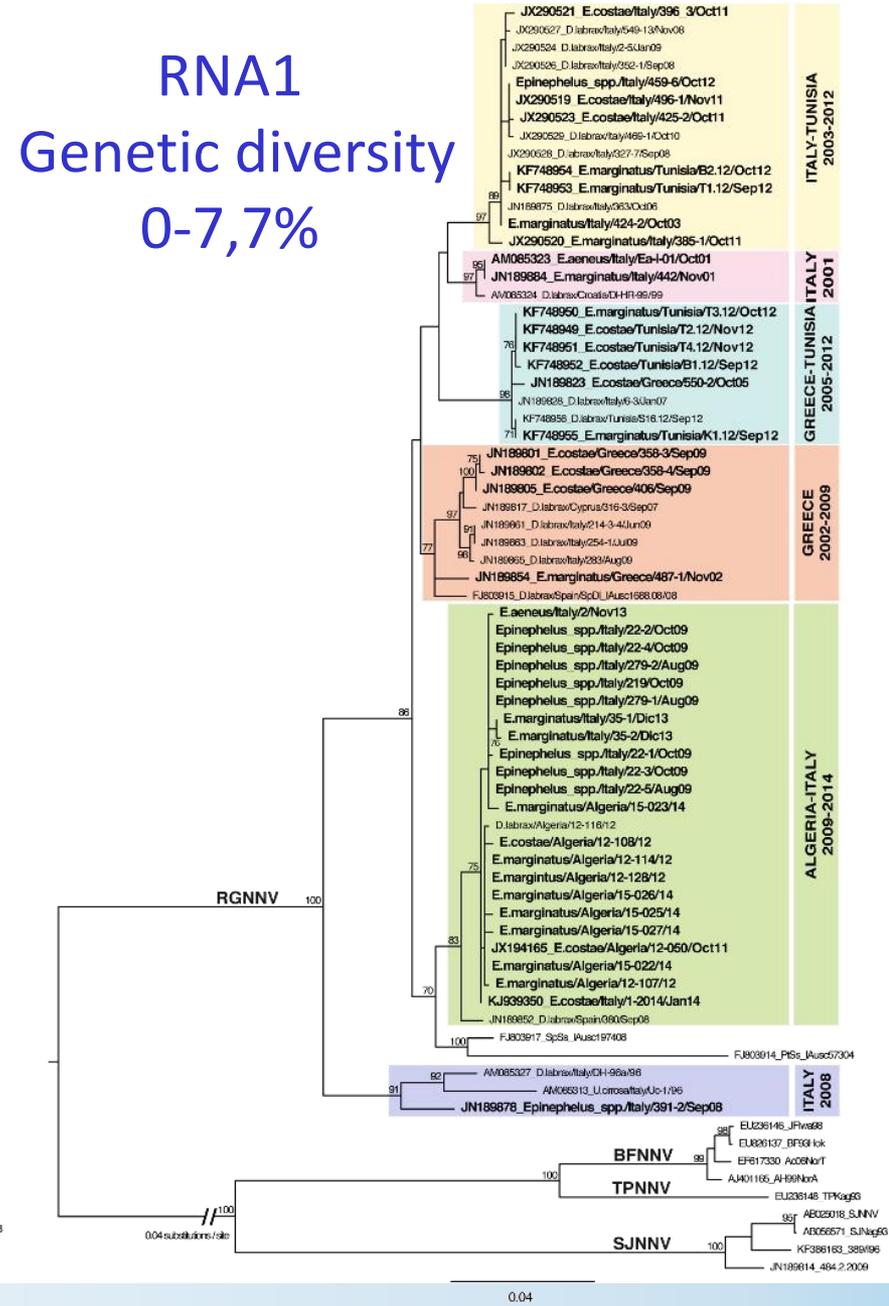
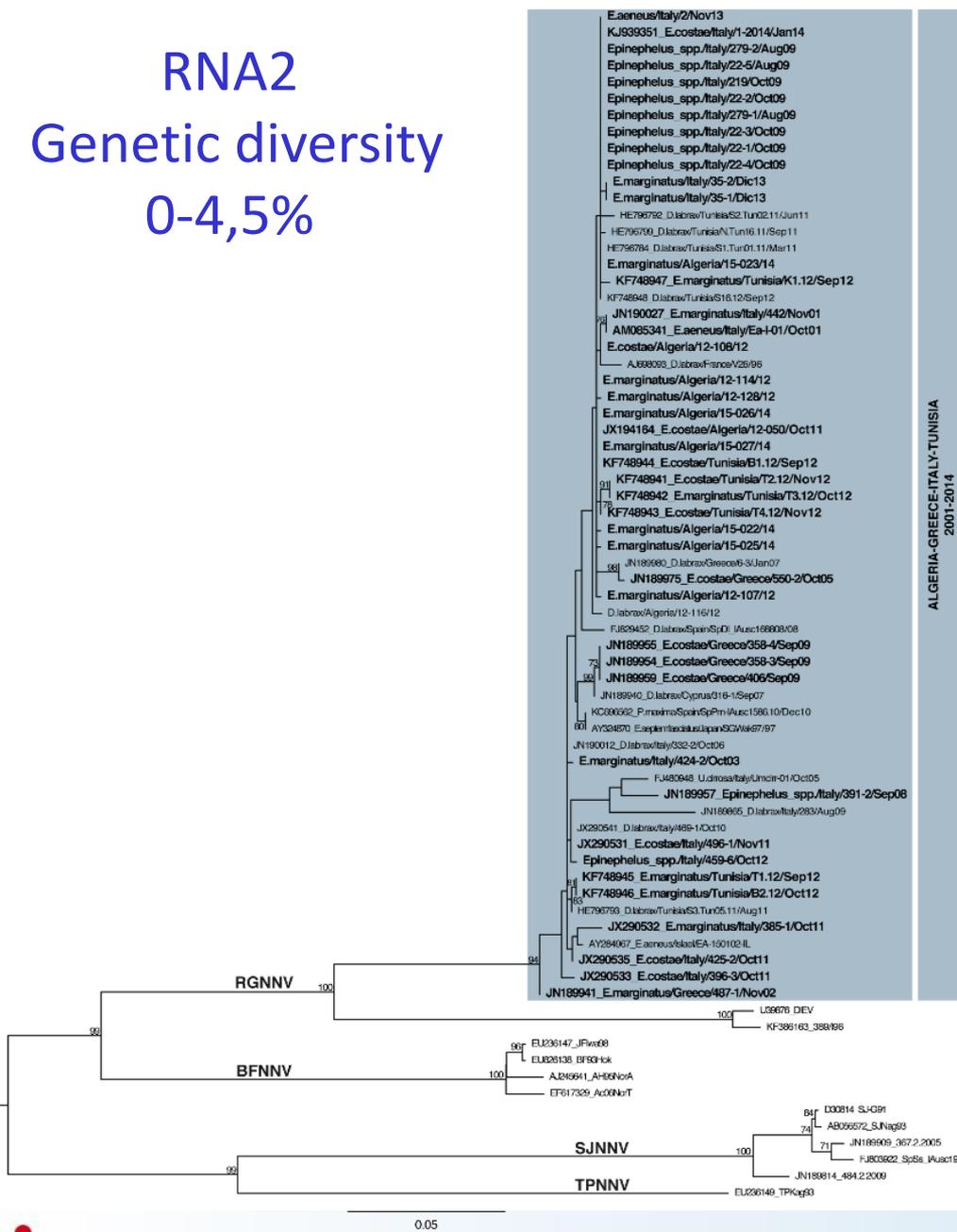
## Genetic diversity

### 0-4,5%

# RNA1

## Genetic diversity

### 0-7,7%



# Conclusioni

- Aumento delle segnalazioni di episodi di mortalità di cernie
- Tutti i virus appartengono al genotipo **RGNNV**, il più diffuso nel **Mediterraneo**
- Sulla base dell'RNA1 è stato possibile identificare **6 cluster genetici** distinti in base **all'area geografica di origine**
- L'RNA2 è risultato meno informativo mostrando una scarsa diversità genetica
- La similarità delle sequenze di cernia con sequenze di specie allevate in siti contigui alle zone interessate dagli episodi di mortalità suggeriscono **un continuo interscambio virale selvatico e allevato.**
- Il ruolo delle cernie come sentinelle è inficiato dalle **scarse numerosità** e **dallo stato di conservazione**



Grazie per l'attenzione !