

# Situazione epidemiologica delle malattie infettive dei pesci in Europa

Anna Toffan

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie

Centro di Referenza Nazionale per la malattie dei pesci, dei molluschi e dei crostacei

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

# Sommario

- What's new dall'Europa

- KHV-aggiornamenti

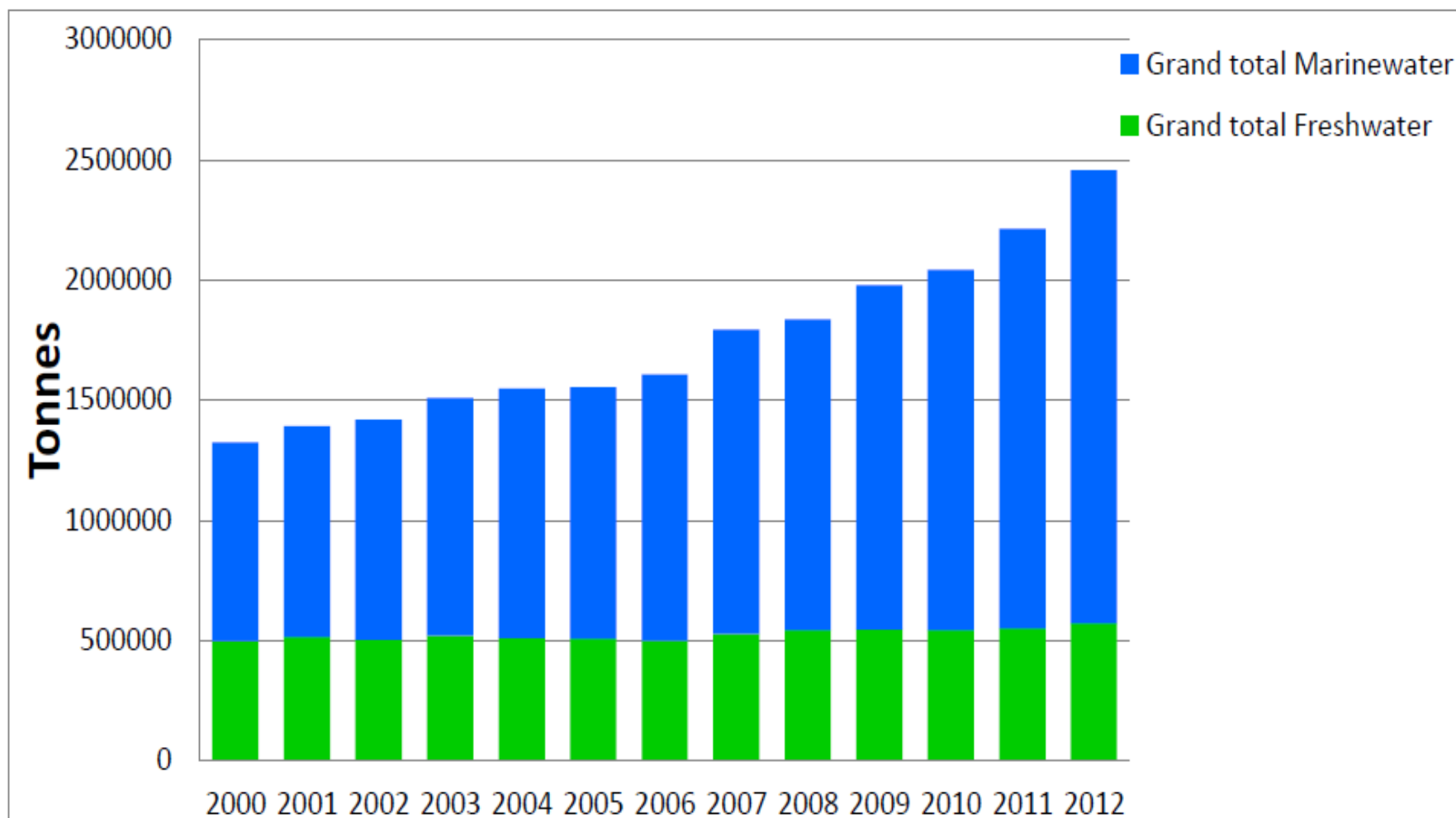
- Manuale diagnostico

- Nuove malattie:

- ✓ new disease of carp in Europe (CEV/KSD)
- ✓ new disease of trout in Norway (virus Y)
- ✓ new disease of trout in Sweden (sarcocystis)

# What's new dall'Europa??





Total production of fish in aquaculture in Europe 2000 to 2012 (<http://www.fao.org/figis>)

# Malattie notificabili/VHS

- 52 allevamenti di salmonidi ufficialmente infetti per VHS nel 2013 (0,6%)
- L'Italia nel 2013 ha dichiarato 1 nuovo focolaio
- Diminuzione del numero di focolai in Austria e Germania

# Malattie notificabili/IHN

- 54 allevamenti di trote ufficialmente infetti per IHN nel 2013 (0,58%)
- L'Italia nel 2013 ha dichiarato 2 nuovi focolai
- Primo caso di IHN in Ungheria
- Aumento del numero di focolai in Svizzera, in calo in Austria e Germania

# Malattie notificabili/KHV

- Nel 2013, 50 allevamenti ufficialmente infetti per KHV (0,42%)
- L'Italia nel 2013 ha dichiarato 1 nuovo focolaio
- Aumento del numero di focolai in Germania e UK

# Malattie notificabili/ISA

- Nessun allevamento positivo in Europa per ISA al 31.12.2013
- In Norvegia sono riportati 10 episodi di ISA HPR0, immediatamente eradicati



# Altre malattie dei salmonidi

- **Pancreas disease** (SAV2 e SAV3) in aumento in Norvegia
- In aumento anche le segnalazioni di **CMS** (>100 in Norvegia).
- Stabile in numero di focolai da **HSMI**. Segnalate positività per PRV in trote selvatiche in Danimarca (monitoraggio nazionale)
- **AGD** in 56 allevamenti
- Aumento resistenza della **sea lice** ai chemioterapici

# Sommario

- What's new dall'Europa
- KHV-aggiornamenti
- Manuale diagnostico
- Nuove malattie:
  - ✓ new disease of carp in Europe (CEV/KSD)
  - ✓ new disease of trout in Norway (virus Y)
  - ✓ new disease of trout in Sweden (sarcocystis)

# KHV-Aggiornamenti

- L'EURL ha chiesto alla commissione di organizzare un «expert meeting» per discutere e aggiornare il manuale diagnostico del KHV
- Il meeting si è tenuto a Friederiksberg (DK) nell'estate 2014 e ha riunito i maggiori esperti di KHV Europei
- Ha generato le linee guida per la **diagnosi** del KHV
- Ha generato le linee guida per la **sorveglianza** del KHV
- Entrambi i documenti sono stati presentati allo SCOFCHA per essere inclusi nel nuovo manuale diagnostico

# KHV-Aggiornamenti/2

I principali aggiornamenti a quanto già scritto nel diagnostic manual disponibile sul sito dell'EURL sono:

- T° acqua: deve essere sempre  $>17^{\circ}\text{C}$
- Per la sorveglianza: i campioni non vanno mai prelevati prima che la T° dell'acqua sia  $>17^{\circ}\text{C}$  da almeno 2 settimane
- Meglio se alla temperatura si associa uno «stress factor» quale movimentazione/ cattura nelle 24h precedenti il campionamento
- Organi target: branchie e rene (SNC, intestino, milza sono di seconda scelta)
- Pool di campioni: sconsigliato unire i campioni, se proprio necessario pool di 5 nei casi sintomatici, pool di 2 per casi cronici/sorveglianza
- Isolamento virale non affidabile, meglio usare la PCR (Gilad et al 2004; Bercovier et al 2006)
- Il primo focolaio dovrebbe essere sempre confermato dall'analisi di sequenza
- Le nuove varianti di KHV (similarità inferiore al 98%) NON sono considerate KHV e quindi non sono denunciabili
- Sierologia: non ancora riconosciuta

# Varianti cyHV-3

Vol. 107: 113–120, 2013 doi: 10.3354/dao02666	DISEASES OF AQUATIC ORGANISMS Dis Aquat Org	Published December 12
--	--	-----------------------

## Detection of novel strains of cyprinid herpesvirus closely related to koi herpesvirus

Marc Y. Engelsma<sup>1</sup>, Keith Way<sup>2</sup>, Melanie J. Dodge<sup>2</sup>, Michal Voorbergen-Laarman<sup>1</sup>,  
Valentina Panzarin<sup>3</sup>, Miriam Abbadi<sup>3</sup>, Mansour El-Matbouli<sup>4</sup>, Helle Frank Skall<sup>5</sup>,  
Søren Kahns<sup>5,6</sup>, David M. Stone<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Central Veterinary Institute (CVI), part of Wageningen UR, PO Box 65, 8200 AB Lelystad, The Netherlands

<sup>2</sup>Cefas, Barrack Road, The Nothe, Weymouth, Dorset DT4 8UB, UK

<sup>3</sup>Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVe), Viale dell'Università 10, 35020 Legnaro, Padova, Italy

<sup>4</sup>University of Veterinary Medicine, Vienna, Veterinärplatz 1, 1210 Vienna, Austria

<sup>5</sup>National Veterinary Institute (DTU-Vet), Technical University of Denmark, Høngevej 2, 8200 Aarhus N, Denmark

<sup>6</sup>Present address: Danish Technological Institute, Kongsvang Allé 29, 8000 Aarhus C, Denmark

# Varianti cyHV-3

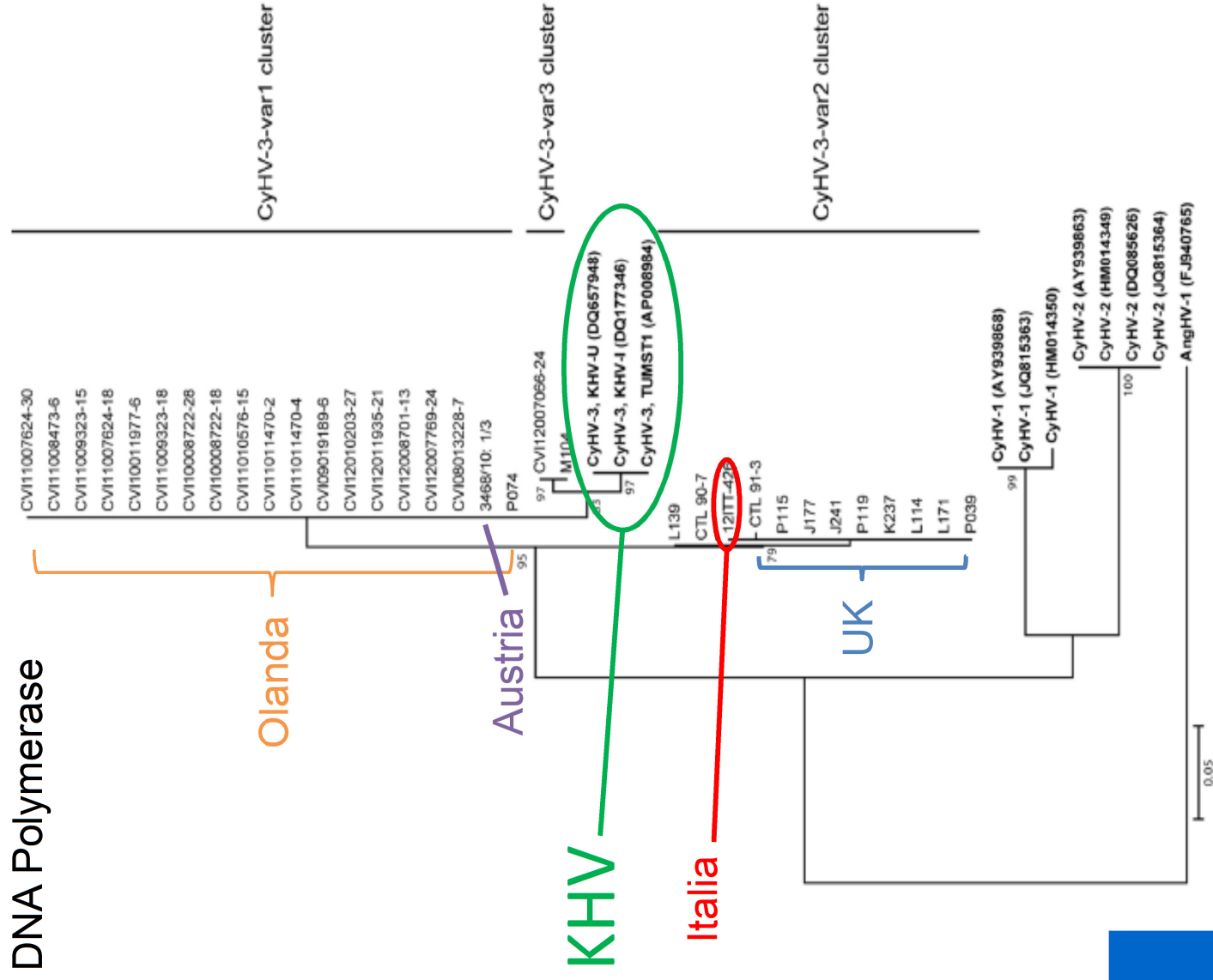
- Positività riscontrate alla nested PCR cyHV (CEFAS-Englesma et al. 2013)
- Protocollo nested PCR Bercovier et al. 2006 non rileva le varianti di CyHV-3, mentre la real time di Gilad et al. 2004 mostra risultati variabili
- Virus mai isolato
- Perlopiù in animali asintomatici
- Diffusione e patogenesi sconosciuta

# DNA Polymerase

Similarità nt var1 con  
KHV 97,3-97,7%

Similarità nt var3 con  
KHV 98,3%

Similarità nt var2 con  
KHV 95,3-96%

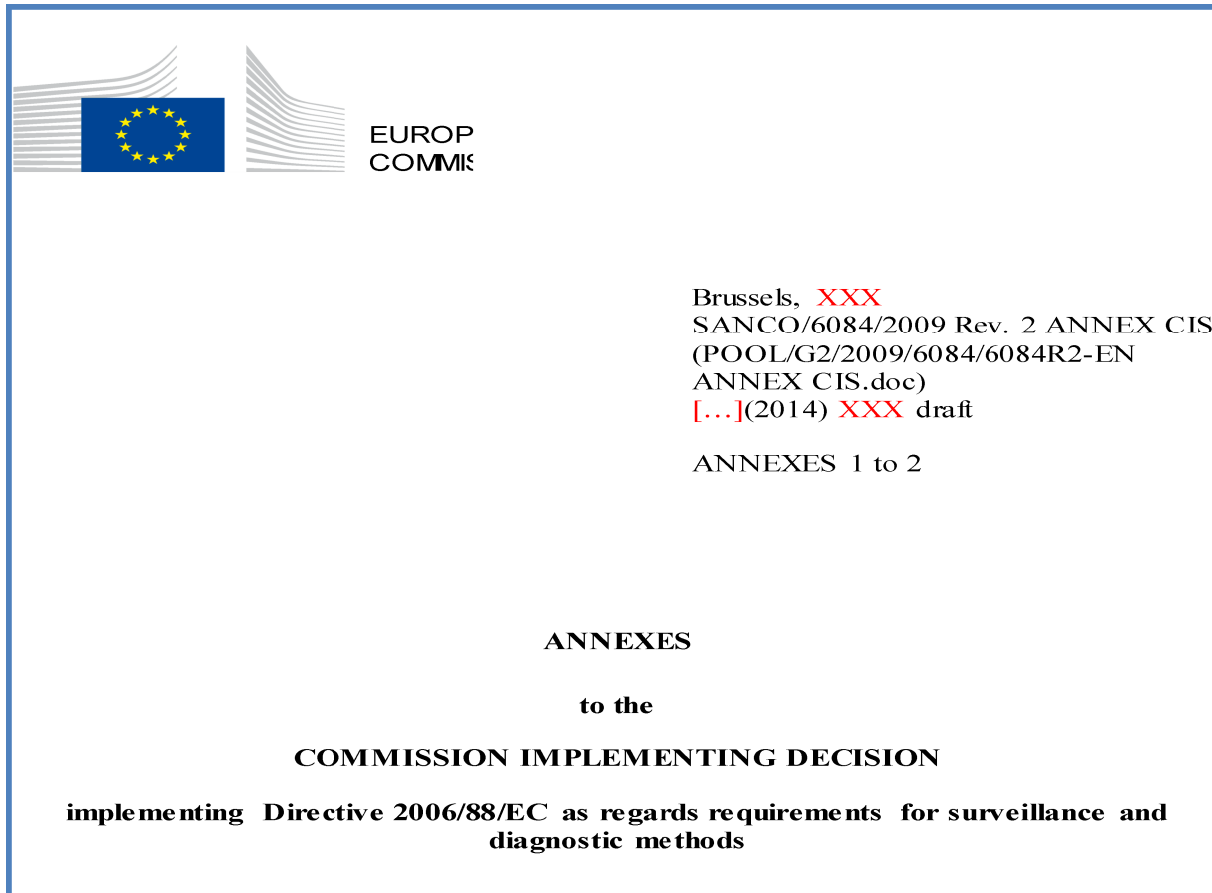


# Sommario

- What's new dall'Europa
- KHV-aggiornamenti
- Manuale diagnostico
- Nuove malattie:
  - ✓ new disease of carp in Europe (CEV/KSD)
  - ✓ new disease of trout in Norway (virus Y)
  - ✓ new disease of trout in Sweden (sarcocystis)



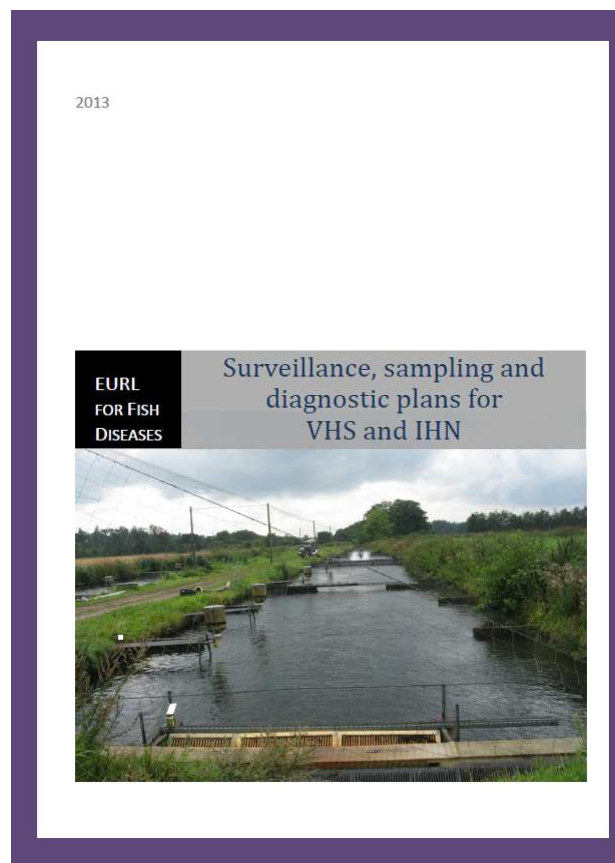
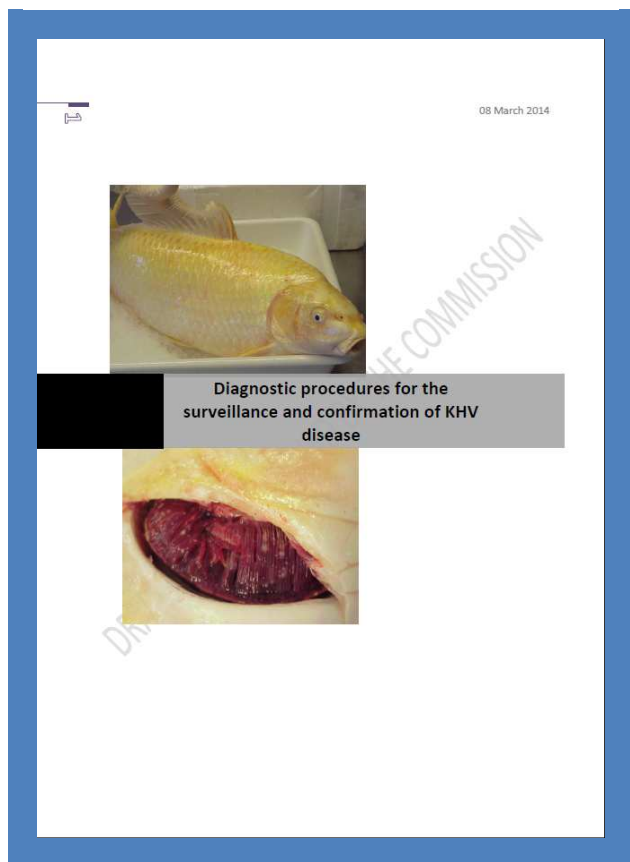
# Diagnostic manual



- In discussione dal 2009
- Nuovo incontro dei MS a Bruxelles il 29/10/14
- In attesa di approvazione (2015??)

# Nell'attesa....

[http://www.eurl-fish.eu/Diagnostic\\_Manuals](http://www.eurl-fish.eu/Diagnostic_Manuals)



# Sommario

- What's new dall'Europa
- KHV-aggiornamenti
- Manuale diagnostico



- Nuove malattie:

- ✓ new disease of carp in Europe (CEV/KSD)
- ✓ new disease of trout in Norway (virus Y)
- ✓ new disease of trout in Sweden (sarcocystis)

# Koi sleepy disease/Carp edema like

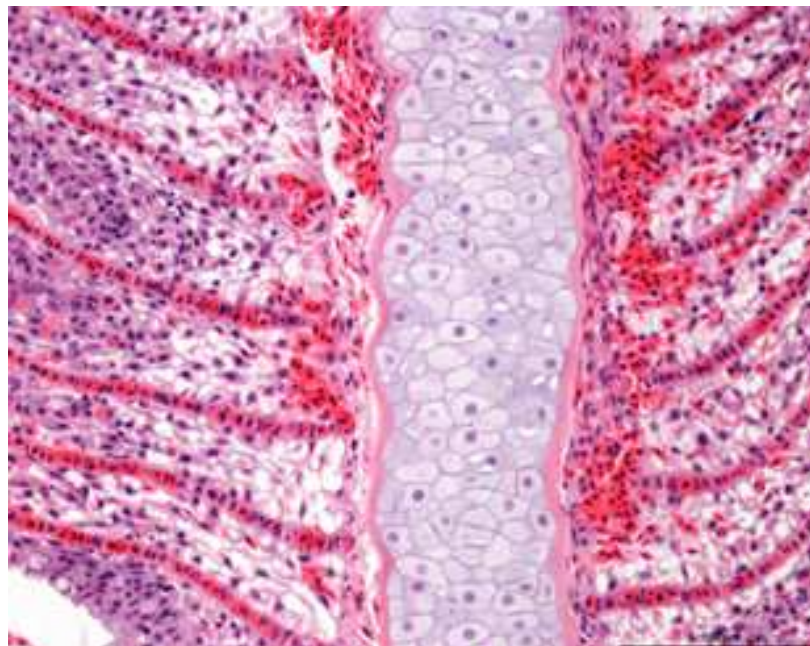
- Agente causale: **poxvirus**
- Prima descrizione in Giappone negli anni '70
- Presente in Israele
- Prima segnalazione in UK nel 2012-13 da carpe koi importate
- Nel 2012 primo focolaio in carpe comuni in UK
- Nel 2014 prima segnalazione in Olanda e Francia in carpe comuni
- Mortalità: avviene per anossia, variabile dal 50% all'80%
- Diffusione ed impatto in Europa ignoti, ma analisi retrospettiva ha evidenziato positività in campioni del 2004

# Sintomi e lesioni

- Sintomi:
- Animali giovani: letargia, edema, alterazioni delle branchie ed enoftalmo (CEV)
- Animali adulti: grave letargia, necrosi branchiale, lesioni ulcerose bocca e base delle pinne (KSD)



- Lesioni:
- Ipertrofia e grave iperplasia branchiale con fusione lamelle secondarie
- Grave ipossia con compromissione degli organi interni (rene e fegato)

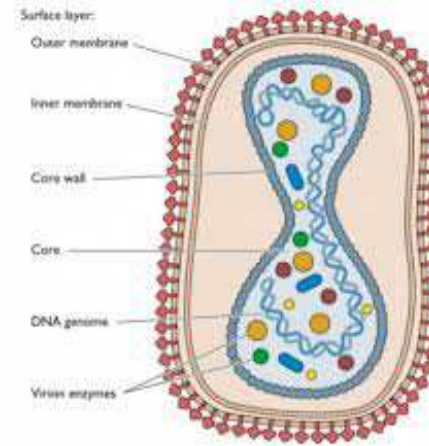


# Epidemiologia

- Ospiti: carpe koi e carpe comuni
- Temperatura:
  - ✓ 15-25°C per le carpe koi (primavera-autunno)
  - ✓ 6-9°C per le carpe comuni (inverno-primavera)
- I sintomi si sviluppano dopo eventi stressanti
- 0,5 % di sale nell'acqua e/o aumentare la T°C >29 prevengono la comparsa dei sintomi clinici

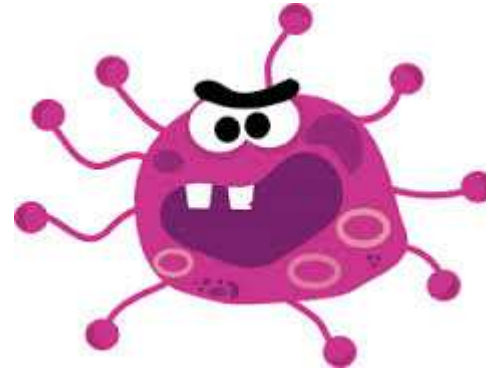
# Diagnosi

- Virus **non coltivabile** su cellule
- Osservato raramente al TEM
- Protocollo di nested PCR sviluppato dal CEFAS
- Nuova real time in Sybr green
- L'analisi di sequenza ha evidenziato l'esistenza di sue lineaggi:
  - ✓ Lineage 1: virus carpa koi (>similarità al virus giapponese e israeliano)
  - ✓ Lineage 2: virus carpa comune



# Sommario

- What's new dall'Europa
- KHV-aggiornamenti
- Manuale diagnostico
- Nuove malattie:
  - ✓ new disease of carp in Europe (CEV/KSD)
  - ✓ new disease of trout in Norway (virus Y)
  - ✓ new disease of trout in Sweden (sarcocystis)



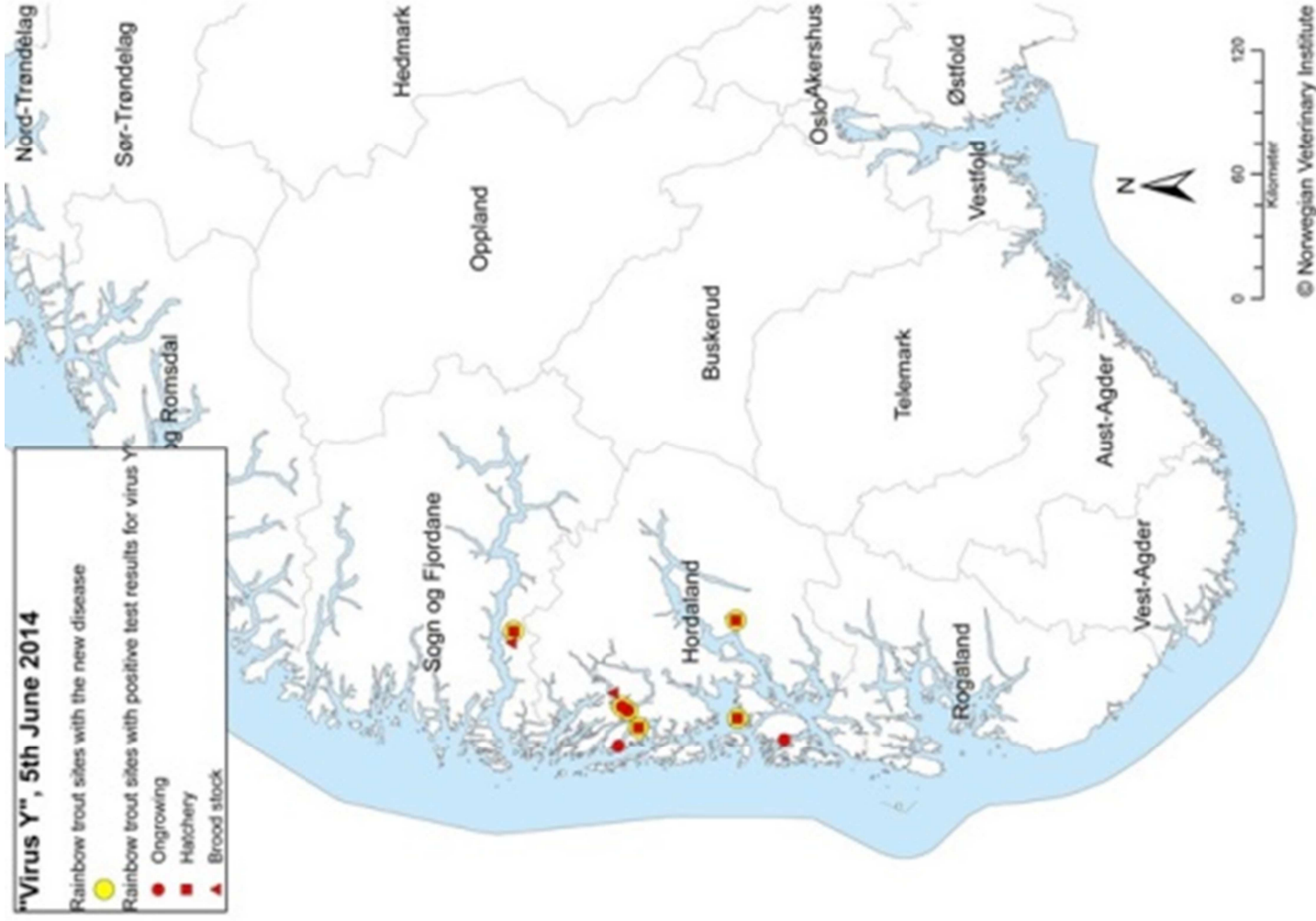


# Virus Y

- Autunno 2013: 3 allevamenti di trote con mortalità medio-alta (animali provenienti dalla stessa avannotteria)
- **Età:** 30-100 g
- **Segni clinici:** pallore degli organi interni, anemia (ematocrito bassissimo), ascite
- **Esame istologico:** infiammazione muscolo cardiaco e muscolatura rossa, necrosi epatica.
- **Esame batteriologico:** negativo. Nessun miglioramento della sintomatologia dopo trattamento con antibiotici
- **Esame virologico:** IPN in 1/3 allevamenti colpiti.

# Virus Y

- Mediante tecniche di «random sequencing» è stata identificata un piccolo frammento di RNA attribuibile ad un **Reovirus** nei campioni prelevati dagli allevamenti problema.
- Una real time RT-PCR è stata disegnata su questo frammento virale ed è in validazione presso NVI
- Mediante IFAT ( con Ab in grado di legarsi all'RNA a doppio filamento) hanno rilevato **positività nei globuli rossi** degli animali malati.
- **Positività all'agente Y anche in allevamenti sani**, ma la quantità è nettamente inferiore a quella rilevata negli allevamenti con mortalità



# Pilot study virus Y

- Trote e salmoni infettati mediante IP con pellet di globuli rossi di animali malati
- Sviluppo sintomi 1 settimana p.i.
- Le trote sono risultate positive alla real time PCR fino a 8 settimane p.i.
- Soggetti sani posti a contatto con gli animali malati hanno sviluppato la malattia
- I salmoni infettati non hanno manifestati sintomi , ma sono risultati positivi in real time PCR anche se in grado minore rispetto alle trote
- I salmoni sani posti a contatto con gli animali infettati sperimentalmente sono risultati sempre negativi

# Sommario

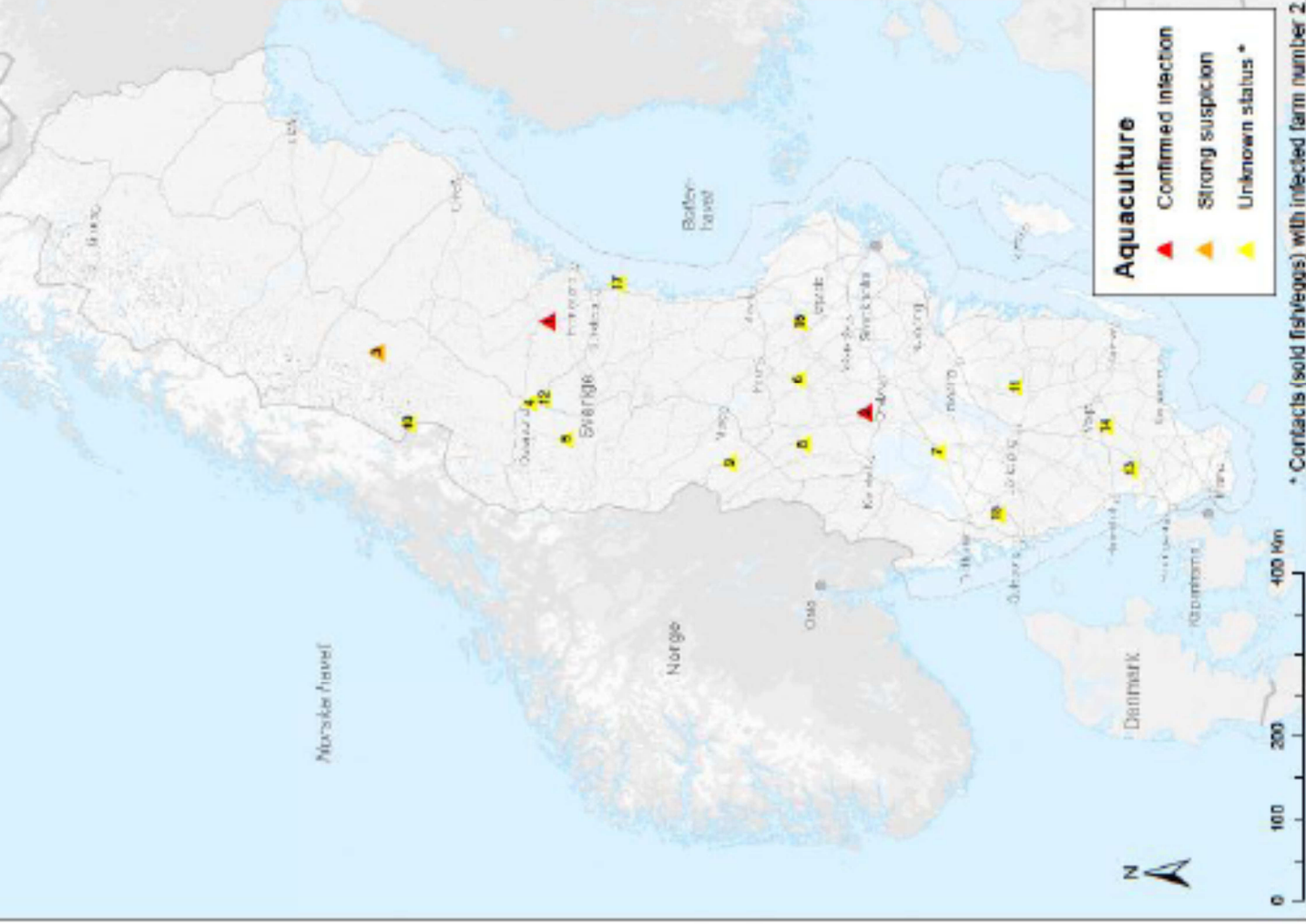
- What's new dall'Europa
- KHV-aggiornamenti
- Manuale diagnostico
- Nuove malattie:
  - ✓ new disease of carp in Europe (CEV/KSD)
  - ✓ new disease of trout in Norway (virus Y)
  - ✓ new disease of trout in Sweden (sarcocystis)



# Emerging disease in Sweden (2011-2014)

- 3 trocticulture interessate in 2011-2014
- Mortalita variabile fino al 15% nei soggetti giovani fino a 2.5 cm (1 mese d'età)
- Sintomi clinici: discromia della parte posteriore del corpo, edema della testa (superficie dorsale)
- Lesioni osservate: rene pallido ed ingrossato, milza ingrossata, pallore visceri
- Esame batteriologico e virologico: negativo
- Esame istologico: degenerazione glomeruli renali con fibrosi tubulare, presenza elementi parassitari attribuibili alla famiglia protozoaria Sarcocystidae





ma 16-17 Ottobre 2014



# Sarcocystidae

- Effettuate prove di trasmissione per coabitazione
- In fase di sviluppo una PCR per velocizzare la diagnosi che ad oggi si effettua solo con l'esame istologico ed eventualmente immunoistochimico
- Origine e diffusione del patogeno???



GRAZIE PER  
L'ATTENZIONE !