

MANUALE OPERATIVO
IN CASO DI UNA DELLE MALATTIE ESOTICHE DEI CROSTACEI
ELENCATE NELL'ALLEGATO IV PARTE II
DEL D.LGS 148/2008 e s.m.i

INDICE

Scheda 1: Eziologia della Sindrome di Taura e della Malattia della testa gialla

Scheda 2: Epidemiologia, patogenesi e segni clinici della Sindrome di Taura e della Malattia della testa gialla

Scheda 3: Caratteristiche di resistenza del virus della sindrome di Taura e della Malattia della testa gialla

Scheda 4: Caratteristiche cliniche e anatomopatologiche del virus della sindrome di Taura e della Malattia della testa gialla

Scheda 5: Criteri clinici, anatomopatologici ed epidemiologici per avanzare sospetto di sindrome di Taura e della Malattia della testa gialla

Scheda 6: Fondatezza del sospetto e conferma di infezione da Taura Syndrome virus o Yellow Head virus

Scheda 7: Misure da applicare in allevamento in caso di conferma e procedure per l'abbattimento

Scheda 8: Pulizia e disinfezione terminato l'abbattimento

Scheda 9: Fermo dell'impianto e ripopolamento

Allegato 1: Scheda di notifica

SCHEDA N. 1

SINDROME DI TAURA (O MALATTIA DELLA CODA ROSSA)

Eziologia

Il virus della sindrome di Taura (TSV), appartenente alla famiglia dei Dicistroviridae, genere Cripavirus, ha morfologia icosaedrica, diametro di 32 nm, è privo di envelope e ha il genoma costituito da un singolo filamento di RNA. Sono stati identificati 4 gruppi genotipici (Belize, America, Venezuela e Sud-Est Asia) con diversa virulenza, in relazione alla sequenza della proteina strutturale più grande e dominante (VP1).

Le due specie maggiormente sensibili alla malattia sono: *P. vannamei* e *P. stylirostris*, appartenenti al subgenere *Litopenaeus*. Infezioni sperimentali o naturali sono descritte in: *P. setiferus*, *P. schmitti*, *P. aztecus*, *P. duorarum*, *P. chinensis*, *P. monodon*, *Macrobrachium rosenbergii*, *Metapenaeus ensis* e *P. japonicus*.

MALATTIA DELLA TESTA GIALLA O YHD (YELLOW HEAD DISEASE)

Eziologia

L'agente eziologico della malattia della testa gialla è il cosiddetto "Yellow Head Virus" genotipo 1 (il primo dei sei genotipi conosciuti nel complesso di YHV), un corona-like RNA virus appartenente al genere Okavirus, della famiglia Roniviridae dell'ordine Nidovirales. Il virione ha morfologia bastoncellare, dimensioni comprese tra 40-60 nm di diametro e 150-200 nm di lunghezza ed è dotato di envelope.

SCHEDA N. 2

SINDROME DI TAURA (O MALATTIA DELLA CODA ROSSA)

Epidemiologia, patogenesi e segni clinici

La Sindrome di Taura o malattia della coda rossa prende nome dal fiume Taura presso Guyaquil (Ecuador), dove è stata riscontrata per la prima volta nel 1992. Le cause di mortalità furono erroneamente attribuite all'uso di fungicidi impiegati nelle piantagioni di banane e solo successivamente è stata dimostrata l'eziologia virale.

La malattia di Taura è presente in aree a produzione di peneidi dell'America e del Sud-Est Asiatico; nel continente americano è diffusa: negli Stati Uniti (Hawaii, Florida, Sud Carolina e Texas), in Messico, Nicaragua, Panama, Honduras, El Salvador, Guatemala, Costa Rica, Colombia, Belize, Venezuela, Ecuador, Perù e Brasile; in Asia è riscontrata: in Cina, Taiwan, Thailandia, Malesia, Indonesia, Corea, Vietnam e Birmania.

Il virus è molto virulento e provoca mortalità comprese tra il 5 e il 100% in post larve, stadi giovanili ed adulti di *P. vannamei*, mentre non è riscontrato in uova, embrioni e larve. La malattia più frequentemente si manifesta in stadi giovanili (0,1-5 grammi), entro 14-40 giorni dalla stabulazione, in vasche di svezzamento o in stagni di preingrasso. Tre fasi distinte e progressive caratterizzano la sindrome di Taura.

La malattia compare in forma acuta, nella quale si manifesta la mortalità ed i gamberi presentano una colorazione pallida rossastra ad esclusione di telson e pleopodi marcatamente rossi, da cui la denominazione di malattia della coda rossa. L'accentuata pigmentazione è dovuta all'espansione dei cromatofori. La cuticola dell'esoscheletro è tipicamente morbida, l'intestino vuoto ed i crostacei infetti possono non sopravvivere alla muta.

I gamberi moribondi si raggruppano in superficie, ai margini degli stagni, attirando uccelli ittiofagi. I soggetti che sopravvivono manifestano una fase di transizione con lesioni cuticolari (non sempre presenti) melaniche, disseminate, multifocali e di forma irregolare, conseguenti ad aggregazione emocitaria. Segue la fase cronica dell'infezione, con assenza di segni clinici, che può durare da 12 mesi a tutta la vita.

La trasmissione orizzontale avviene per contatto di soggetti sani con individui infetti, per via alimentare o mediante contaminazione ambientale. La trasmissione verticale è sospettata ma non dimostrata.

Portatori di malattia possono essere: uccelli acquatici, gamberi infetti in fase cronica ed insetti acquatici. Prodotti di scarto della lavorazione di crostacei sono stati imputati all'origine di epidemie. Il virus può sopravvivere alcuni anni in gamberi congelati.

MALATTIA DELLA TESTA GIALLA O YHD (YELLOW HEAD DISEASE)

Epidemiologia Patogenesi e segni clinici

YHV è altamente infettivo per la maggior parte dei peneidi allevati. Il primo caso di malattia della testa gialla è stato descritto nel 1991 in Thailandia, dove in seguito si è ripresentata sporadicamente. Attualmente la patologia è segnalata in Malesia, Filippine, Sri Lanka, Thailandia, India, Cina, Taipei, Indonesia, Vietnam, Messico, Texas, Stati Uniti d'America. Episodi naturali di malattia sono stati riportati in: *P. monodon* e *P. vannamei*. Infezioni naturali o sperimentali sono segnalate in peneidi, palemonidi e krill: *Penaeus monodon*, *P. merguensis*, *Palaemon styliferus*, *P. setiferus*, *Metapeneus ensis*, *Asctes sp*, *Euphasia superba*, *Palaemon serrifer*, *P. esculentus*, *Metapeneus bennettiae*, *P. japonicus*, *P. aztecus*, *P. duorarum*, *P. stylirostris*, *P. vannamei*, *Machrobrachium sintangense*. Diverse specie di peneidi selvatici e palemonidi suscettibili all'infezione sono indicate come potenziali vettori e diffusori della malattia. La trasmissione può avvenire per via orizzontale: per contatto con gamberi portatori, attraverso l'acqua e per ingestione di organismi infetti; per via verticale, tramite i gameti dei genitori o per contaminazione della superficie dell'uovo. La dinamica d'infezione in stagno non è stata studiata approfonditamente, ma la rapida mortalità fa ritenere che la trasmissione avvenga per via orizzontale. La forma acuta della malattia può manifestarsi in intere popolazioni allevate di *P. monodon*, con tassi di mortalità fino al 100%, in 3-5 giorni. I soggetti sopravvissuti possono rimanere portatori asintomatici. Le postlarve di età inferiore ai 15 giorni (PL 15) sono più resistenti dei gamberi in stadi biologici più avanzati (da PL 20-25 a subadulti). Il periodo di incubazione è di 2 o 3 giorni, seguito dalla comparsa dei segni clinici della malattia ed elevata mortalità. A questa fase segue un intervallo in cui si osserva nei gamberi un aumento dell'appetito e successivamente digiuno con ripresa della mortalità. I gamberi moribondi si concentrano ai margini del bacino di allevamento. Il tasso di mortalità può innalzarsi in seguito a stress, indotto da improvvise modificazioni del pH, riduzione di ossigeno disciolto ed altri fattori ambientali. I peneidi ammalati presentano colorazione pallida del cefalotorace, che appare giallastro o biancastro. E' possibile osservare l'epatopancreas in trasparenza, che risulta più soffice. Le branchie assumono una colorazione giallo-brunastra.

SCHEDA N. 3

CARATTERISTICHE DI RESISTENZA DEL VIRUS DELLA SINDROME DI TAURA

Agenti chimici	Non esistono dati specifici a riguardo. Per analogia con altri patogeni virali viene può essere inattivato con concentrazioni di Cloro > 100 ppm oppure con idrato di sodio NaOH (soda caustica) al 10 %
Agenti fisici	Non esistono dati specifici a riguardo. Per analogia con altri patogeni virali può essere inattivato a 70°C per 15 min
Resistenza in condizioni naturali	TSV può sopravvivere nel tratto intestinale di uccelli per alcuni giorni. Resiste per più di 2 anni in tessuti animali congelati

CARATTERISTICHE DI RESISTENZA DEL VIRUS DELLA TESTA GIALLA

Agenti chimici	E' sensibile al trattamento con cloro a 30 ppm.
Agenti fisici	E' inattivato al calore a 60°C per 15 minuti
Resistenza in condizioni naturali	Il virus rimane vitale in acqua marina fino a 72 ore

SCHEMA N. 4

CARATTERISTICHE CLINICHE E ANATOMOPATOLOGICHE

I segni clinici delle malattie non sono strettamente specifici poiché alcuni dei sintomi e delle lesioni che si riscontrano negli animali malati e morti sono comuni anche ad altre malattie infettive dei crostacei. In linea generale i segni clinici e le lesioni anatomico-patologiche associati alla Sindrome di Taura sono riassunti nelle tabelle sottostanti.

Sindrome di Taura

SPECIE SENSIBILI	T° /salinità dell'acqua	SEGNI CLINICI	ANATOMIA PATOLOGICA
Gambero dalle zampe bianche del Pacifico (<i>Penaeus vannamei</i>), gambero bianco del golfo (<i>P. setiferus</i>), gambero blu del Pacifico (<i>P. stylirostris</i>)	> 20°C > 20 ‰	<ul style="list-style-type: none">▪ Letargia▪ Nuoto superficiale (facile preda degli uccelli ittiofagi).▪ Leggero arrossamento▪ Episodi di elevata mortalità (soprattutto nei giovanili e durante la muta)	<ul style="list-style-type: none">▪ Intestino vuoto.▪ Leggero arrossamento della cuticola▪ Forte arrossamento della coda▪ Presenza di macchie nerastre▪ Cuticola morbida

Virus della Testa Gialla

SPECIE SENSIBILI	T° /salinità dell'acqua	SEGNI CLINICI	ANATOMIA PATOLOGICA
Gambero nero del Golfo (<i>P. aztecus</i>), Gambero rosa (<i>P. duorarum</i>), gambero Kuruma (<i>P. japonicus</i>), gambero tigre nero (<i>P. monodon</i>), gambero dalle zampe bianche del Pacifico (<i>Penaeus vannamei</i>), gambero bianco del golfo (<i>P. setiferus</i>), gambero blu del Pacifico (<i>P. stylirostris</i>).	> 20°C > 20 ‰	<ul style="list-style-type: none">▪ Letargia▪ Nuoto irregolare lungo i bordi della vasca.▪ Aumento dell'appetito e poi inappetenza.▪ Porzione anteriore giallastra▪ Episodi di elevata mortalità (soprattutto nei giovanili > PL 20 e adulti).	<ul style="list-style-type: none">▪ Intestino vuoto.▪ Porzione anteriore (cefalotorace o testa) pallida o giallastra▪ Epatopancreas molto evidente▪ Branchie bluastre

SCHEDA N. 5

CRITERI CLINICI, ANATOMOPATOLOGICI ED EPIDEMIOLOGICI PER AVANZARE SOSPETTO DI SINDROME DI TAURA

Criteria	Rilievi
Clinici	<p>Non ci sono segni clinici specifici.</p> <p>In corso di infezione si possono osservare i seguenti segni clinici:</p> <ul style="list-style-type: none">▪ Letargia.▪ Scarso appetito.▪ Nuoto superficiale, anziché stare sul fondo gli animali si raggruppano in superficie o vicino all'acqua di entrata (facile preda degli uccelli ittiofagi).▪ Leggero arrossamento della cuticola, talvolta coda rossa.▪ Episodi di elevata mortalità (soprattutto nei giovanili e durante la muta).
Rilievi Anatomopatologici	<ul style="list-style-type: none">▪ Intestino vuoto.▪ Leggero arrossamento della cuticola▪ Forte arrossamento della coda▪ Presenza di macchie di melanina nerastre sulla cuticola (pepper disease).▪ Cuticola morbida anche in soggetti dopo la muta o adulti.
Epidemiologia	<ul style="list-style-type: none">▪ Introduzioni illegali o da aziende infette.▪ Diffusione per via orizzontale tramite feci, soggetti morti (cannibalismo), uccelli ittiofagi o insetti vettori.▪ Utilizzo di attrezzature o mezzi di trasporto contaminati.▪ Necessarie temperature e salinità elevate.
Laboratorio	<p>La diagnosi della sindrome di Taura si effettua mediante: esami istologici, ibridazione in situ, RT-PCR e sequenziamento su post larve (PL), giovanili e soggetti adulti che vanno consegnati al laboratorio in giornata.</p>
Misure di controllo	<p>Attualmente non sono disponibili trattamenti vaccinali e terapeutici.</p> <p>E' possibile utilizzare in allevamento linee selezionate di <i>P. vannamei</i> resistenti all'infezione e SPF (specific pathogen free). In caso di focolaio svuotare le vasche, distruggere gli animali morti e destinare al consumo umano quelli vivi, disinfettare le vasche con ipoclorito di sodio > 100 ppm o con calce in polvere (0.75 kg/mq).</p>

CRITERI CLINICI, ANATOMOPATOLOGICI ED EPIDEMIOLOGICI PER AVANZARE SOSPETTO DI MALATTIA DELLA TESTA GIALLA

Criteri	Rilievi
Clinici	<p>Non ci sono segni clinici specifici. In corso di infezione si possono osservare i seguenti segni clinici:</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Letargia. ▪ Aumento dell'appetito seguito da digiuno improvviso. ▪ Nuoto irregolare con gli animali lungo i bordi della vasca. ▪ Improvvisa mortalità (soprattutto nei giovanili > PL 20-25 e negli adulti).
Rilievi Anatomopatologici	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Intestino vuoto. ▪ Porzione anteriore (cefalotorace o testa) pallida o giallastra ▪ Epatopancreas molto evidente ▪ Branchie bluastre
Epidemiologia	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Introduzioni illegali o da aziende infette. ▪ Diffusione per via orizzontale tramite feci, soggetti morti (cannibalismo), uccelli ittiofagi o insetti vettori. ▪ Trasmissione verticale da riproduttori infetti. ▪ Utilizzo di attrezzature o mezzi di trasporto contaminati. ▪ Necessarie temperature e salinità elevate.
Laboratorio	<p>L'istopatologia può essere utilizzata come diagnosi preliminare durante episodi di malattia della testa gialla. Corpi inclusi intracitoplasmatici possono essere osservati in preparati a fresco di branchie, tessuto sottocuticolare ed in strisci di emolinfa. Gli emociti di soggetti non moribondi possono presentare picnosi e carioressi. La diagnosi di conferma richiede analisi specifiche tramite RT-PCR, Western blot, ibridazione <i>in situ</i> e TEM.</p>
Misure di controllo	<p>Attualmente non sono disponibili trattamenti vaccinali e terapeutici. Introdurre solo animali provenienti da zone indenni dotati di certificato sanitario. Evitare stress negli animali durante il trasporto e la manipolazione. In caso di focolaio svuotare le vasche, distruggere gli animali morti e destinare al consumo umano quelli vivi, disinfettare le vasche con ipoclorito di sodio > 30 ppm o con calce in polvere (0.5 kg/mq)</p>

SCHEDA N. 6

FONDATEZZA DEL SOSPETTO E CONFERMA DI INFEZIONE DA TAURA SYNDROME VIRUS O YELLOW HEAD VIRUS

In ottemperanza all'art. 26 punto 1 del D.Lgs. n. 148 dell'8 agosto 2008, in caso di sospetto o conferma della presenza di una delle malattie esotiche dei crostacei elencate nell'allegato IV, parte II del sopracitato decreto, il servizio veterinario dell'Azienda Sanitaria Locale competente per territorio deve informare immediatamente il Ministero e la Regione mediante la compilazione della scheda in allegato 1.

Inoltre, così come previsto al punto 2 del sopracitato articolo, se si osserva un aumento del tasso di mortalità, i casi di decesso devono essere denunciati al servizio veterinario.

Al momento della segnalazione del sospetto, il veterinario ufficiale identifica colui che ha effettuato la segnalazione. Così come previsto dall'art. 26 punto 3, la segnalazione del sospetto all'Autorità competente, può essere effettuata da qualsiasi persona incaricata della cura degli animali.

Qualora si sospetti la presenza di una malattia esotica o emergente dei crostacei, è necessario, così come previsto dall'art. 28 punto 1 del D.lgs 148/2008, che il veterinario ufficiale proceda al prelievo dei campioni necessari per la conferma; i soggetti campionati devono essere inviati vivi e vitali oppure refrigerati al Centro di Referenza Nazionale per le malattie dei pesci, molluschi e crostacei (CRN).

Il materiale necessario per il prelievo è il seguente:

- Contenitore isotermico: Temperatura di trasporto, max 10°C
- Sacchetti in plastica

La conferma del sospetto di infezione può essere fatta solo a seguito di esecuzione di esame RT-PCR secondo metodica OIE e/o EURL per le malattie dei crostacei, seguita da sequenziamento del prodotto di amplificazione.

La conferma della diagnosi effettuata dal CRN viene fatta dal EURL per le malattie dei crostacei (CEFAS - Weymouth, UK), al quale il CRN invia i campioni risultati positivi.

In attesa dei risultati degli esami di conferma, conformemente all'art. 28 punto 2 del D.lgs 148/2008 è necessario che:

- a) l'azienda in cui si sospetta la presenza della malattia sia posta sotto controllo ufficiale e vengano adottate misure di lotta idonee a prevenire la diffusione della malattia ad altri animali acquatici;
- b) sia vietata la movimentazione in entrata e in uscita di animali d'acquacoltura dall'azienda in cui si sospetta la presenza della malattia, senza l'autorizzazione del servizio veterinario dell'Azienda sanitaria locale competente per territorio;
- c) venga avviata l'indagine epidemiologica.

L'obiettivo **dell'indagine epidemiologica** è quello di:

- a) determinare le possibili origini e vie di diffusione della malattia;
- b) accertare se animali di acquacoltura abbiano lasciato la zona o la zona destinata a molluschicoltura nel periodo precedente alla notifica del caso sospetto;
- c) indagare se sono state infettate altre aziende

SCHEDA n. 7

MISURE DA APPLICARE IN ALLEVAMENTO IN CASO DI CONFERMA E PROCEDURE PER L'ABBATTIMENTO

Prodotto in fase di allevamento

In questo caso l'autorità sanitaria competente per territorio interviene per evitare che il prodotto allevato venga spostato in altre aree. Gli animali clinicamente sani, a fine ciclo di allevamento, possono essere venduti per scopi alimentari.

I crostacei non sono soggetti a norme specifiche relative al benessere animale. La morte dell'animale avviene per asfissia una volta estratto dall'acqua. Successivamente gli animali vengono smaltiti secondo quanto previsto dalla normativa riguardante lo smaltimento di sottoprodotti di origine animale (reg. CE 1069/2009 e s.m.i).

SCHEDA n. 8

PULIZIA E DISINFEZIONE TERMINATO L'ABBATTIMENTO

In caso di focolaio svuotare le vasche e disinfettarle con:

ipoclorito di sodio > 100 ppm o con calce in polvere 0.75 kg/mq (Malattia di Taura)

ipoclorito di sodio > 30 ppm o con calce in polvere 0.5 kg/mq (Malattia della testa gialla)

SCHEDA n. 9

FERMO DELL'IMPIANTO E RIPOPOLAMENTO

L'impianto può essere riavviato dopo eliminazione di tutto l'effettivo presente e previo trattamento di pulizia e disinfezione secondo le modalità della scheda n. 12. Se nell'impianto sono presenti altri gruppi di animali allevati in vasche nettamente separate, è possibile continuarne l'allevamento previo sopralluogo e relativo parere dell'autorità sanitaria competente, in collaborazione con il CRN delle malattie dei pesci, molluschi e crostacei in attesa di destinare gli animali al consumo umano.

SCHEMA DI NOTIFICA DI MALATTIA INFETTIVA (Decisione 2008/650/CE del 30/07/08)

(Da compilare già in fase di sospetto e da inviare al Ministero della Salute via fax o via mail , all'Ufficio Veterinario Regionale competente e via fax al Centro di Referenza Nazionale

1. Data dell'invio _____
2. Ora dell'invio _____
3. Stato d'origine _____
4. Nome della malattia e, se del caso, tipo di virus _____
5. Numero di serie del focolaio _____
6. Tipo di focolaio (primario/secondario) _____
7. Numero di riferimento del focolaio cui si riferisce il focolaio in causa _____
8. Regione e ubicazione geografica dell'azienda _____
9. Altre regioni cui si applicano restrizioni _____
10. Data di conferma _____
11. Data di insorgenza del sospetto di malattia _____
12. Data presunta della prima infezione nell'azienda _____
13. Origine della malattia _____
14. Misure di controllo _____
15. Numero di animali **suscettibili** alla malattia presenti nell'azienda:
crostacei (peso o numero) _____
16. Numero di animali **cl clinicamente infetti** nell'azienda:
a) crostacei (peso o numero) _____
17. Numero di animali **morti** nell'azienda:
a) crostacei (peso o numero) _____
18. Numero di animali **macellati**:
a) crostacei (peso o numero) _____
19. Numero di carcasse distrutte:
a) crostacei (peso o numero) _____
20. Data (stimata) per il termine dell'abbattimento (se del caso) _____
21. Data (stimata) per il termine della distruzione (se del caso) _____

N.B. I punti 1, 2, 3 e 5 sono di competenza del Ministero della Salute.