



Linee guida per il monitoraggio dell'Herpesvirus della carpa koi (KHV) importate dal Giappone

Situazione giapponese

Il Report diffuso in data 11 gennaio 2019 dagli allevatori della prefettura di Niigata (*All Japan Nishikigoi Promotion Association - Shinkokai*) e confermato in data 1 febbraio 2019 dalle autorità giapponesi (*Issuing Authority for Health Certificate*), evidenzia la positività per KHV in quattro aziende di carpe koi (*Cyprinus carpio*):

- **N.N.B.C.** (Nagaoka)
- **Hoshikin** (Ojiya)
- **Yamacho / Chogoro** (Nagaoka)
- **Tazawa koi** (Uonuma): eseguito lo stamping out e chiusura definitiva dell'azienda

Gli esemplari presenti in pond o vasche in serra in cui è stata riscontrata la presenza di KHV (anche in singoli esemplari) sono stati tutti eutanassati, mentre da pond o serre risultate negative ma epidemiologicamente collegate si è proceduto a riscaldare l'acqua alle temperature permissive per il virus (>16°C) ed effettuare nuovamente il test a distanza di alcune settimane. Gli esemplari stabulati in queste aziende sono tuttora sotto osservazione e la movimentazione degli esemplari è stata vietata a partire da:

- 28/11/2018 per N.N.B.C. (Nagaoka)
- 17/12/2018 per Hoshikin (Ojiya)
- 18/12/2018 per Yamacho / Chogoro (Nagaoka)

Situazione italiana

Tra il 25 settembre e l'11 dicembre sono stati rilasciati dalle autorità giapponesi certificati sanitari per l'esportazione verso l'Italia dalle aziende sopracitate (N.N.B.C.; Hoshikin; Yamacho).

È stata tracciata l'importazione dal Giappone di 6 partite di carpe koi e pesci rossi (*Carassius auratus*), distribuite a 3 importatori italiani, attraverso i PIF di Francoforte, Milano Malpensa e Roma Fiumicino nelle date 14-19 novembre 2018 e 05-18 dicembre 2018.

Normativa di riferimento

Direttiva 2006/88/CE recepita dal D.Lgs 4 agosto 2008 n° 148, attuazione della Direttiva 2006/88/CE.

La direttiva 2006/88/CE all'articolo 2 (campo di applicazione della norma) specifica che essa non si applica agli animali acquatici ornamentali se tenuti in vivai, stagni da giardino, acquari commerciali o grossisti se:

- non vi è contatto diretto con il sistema idrico naturale
oppure
- questi sono dotati di un sistema di trattamento delle acque reflue per contenere ad un livello accettabile il rischio di trasmissione delle malattie nel sistema idrico naturale.

Nelle considerazioni iniziali della direttiva (n. 39) però si fa speciale menzione delle carpe koi come specie ornamentale che può venire in contatto e veicolare patologie virali alle carpe allevate nella Comunità Europea o presenti allo stato selvatico.

Per tale motivo si è convenuto di effettuare controlli sulle importazioni “a rischio” sopraindicate.

Modalità di prelievo e tempistiche di stabulazione (v. anche “Schema campionamenti”)

Per incrementare la probabilità di identificare esemplari portatori di KHV si consiglia di sottoporre ad analisi carpe mantenute per un periodo superiore alle 2 settimane a temperatura compresa tra 16°C e 26°C, e sottoposte a eventi stressanti (manipolazione, confinamento, fluttuazione temporanea della temperatura) nelle 24-72 ore precedenti il campionamento.

Sottoporre ad analisi tutti gli esemplari morti durante la stabulazione, anche in assenza di segni clinici riferibili a KHV.

Campioni da sottoporre ad analisi

Esemplari morti o con segni clinici manifesti: raccolta immediata dalla vasca o eutanasia per sovraddosaggio di anestetico, conservazione in frigorifero in busta di plastica (soggetto sgrondato dall’acqua) fino al momento della spedizione. Spedizione tramite corriere al laboratorio in contenitore isolante.

Nell’impossibilità di spedire entro 24-36 ore dalla morte, gli esemplari possono essere congelati (-18°C) ed inviati successivamente in contenitore isolante con adeguato numero di siberine.

Campionamento non invasivo su esemplari vivi (branchie): prelievo bioptico di almeno 4 filamenti branchiali (apice delle lamelle), fissato immediatamente in etanolo alimentare assoluto o con gradazione superiore ad 80° (evitare alcol etilico denaturato commerciale rosa) e conservato a temperatura ambiente in provetta (tipo Eppendorf o con tappo a vite) adeguatamente identificata.

Il prelievo va effettuato su singoli soggetti; non unire campioni prelevati da più esemplari nella stessa provetta.

Data la variabilità nelle modalità di stabulazione non è possibile dare delle indicazioni univoche sulla numerosità campionaria; questa dovrà essere calcolata caso per caso, in base ai dati aziendali, in collaborazione con i servizi veterinari delle Asl competenti per territorio e Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie - Centro di Referenza Nazionale per le malattie dei pesci.



Interpretazione del risultato analitico

In caso di esito positivo per KHV anche in un singolo soggetto stabulato in una vasca dove siano ospitati altri esemplari risultati negativi per KHV, tutti i soggetti di quella vasca sono da considerarsi esposti al virus e possibili portatori.

A causa della capacità del KHV di andare in latenza, i pesci positivi al KHV sono da considerarsi permanentemente infetti e in grado di trasmettere la malattia ad esemplari non-infetti.

Misure di biosicurezza

Per i grossisti:

Mantenere una separazione fisica (vasca, sistema di filtraggio) tra gli esemplari provenienti da aziende diverse e/o importati in momenti diversi garantendo condizioni di biosicurezza elevate:

- distribuzione separata dell'acqua tra le vasche (posizionamento in parallelo)
- impiego di attrezzatura dedicata per singola vasca (retini, vasche di trasporto, aeratori) e/o adeguatamente disinfettata
- mantenimento di elevati standard di pulizia
- divieto di spostamento/rimescolamento degli esemplari dopo il prelievo bioptico fino al completamento delle analisi
- isolare precocemente e sottoporre ad analisi laboratoristiche gli esemplari che evidenziano segni clinici o alterazioni comportamentali
- congelare gli esemplari morti per eventuali accertamenti diagnostici

Per gli acquirenti finali:

Considerare l'impiego di una vasca di quarantena adeguatamente dimensionata per la stabulazione preliminare degli esemplari acquistati, tenendo presente che:

- è consigliabile mantenere l'esemplare per almeno 3 settimane in osservazione a temperature permissive (16-28°C) allo sviluppo delle patologie virali (KHV)
- la quarantena permette di eseguire facilmente manipolazioni sugli esemplari, prelievi di muco cutaneo e branchiale per esami parassitologici, evidenziare eventuali patologie batteriche ed effettuare i trattamenti terapeutici
- è opportuno impiegare acqua proveniente dalla vasca principale per i cambi parziali ed eliminare in fognatura l'acqua della quarantena (mai direttamente in canali, fiumi o bacini idrici naturali)

Segni clinici compatibili con infezione da KHV

- letargia, disorientamento, anoressia
- difficoltà respiratoria, polipnea, stazionamento in superficie o in prossimità di aeratori/outlet del filtro
- enoftalmo mono/bilaterale (occhio infossato)
- ipermucosità cutanea o perdita totale di muco ed epitelio (a zone)
- necrosi diffusa o focale dei filamenti branchiali (aree biancastre o verdastre), ipermucosità branchiale diffusa
- soffusioni emorragiche sulla cute dei fianchi

Analisi offerte dal Centro di Referenza Nazionale per le malattie dei pesci

Il Laboratorio di ittiavirologia dell'IZS delle Venezie, Centro di Referenza Nazionale per le malattie dei pesci, per confermare la presenza di KHV o escluderne il sospetto a norma della Decisione 2015/1554, applica i metodi di cui all'allegato II, parte 2, e le procedure diagnostiche particolareggiate di cui ai punti da I.1 a I.2:

- Real-time PCR (qPCR) (Gilad et al., 2004)
- Nested-PCR (Engelsma et al., 2013) con sequenziamento degli amplificati

Contatti Centro di Referenza Nazionale per le malattie dei pesci

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Viale dell'Università, 10 - 35020 Legnaro (Padova)
Dott.ssa Anna Toffan
atoffan@izsvenezie.it | 049-8084333
Dott. Tobia Pretto
tpretto@izsvenezie.it | 049-8084459
Dott. Amedeo Manfrin
amanfrin@izsvenezie.it | 049-8084415



Contatti dei laboratori di ittiopatologia degli altri Istituti Zooprofilattici Sperimentali

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta
Via Bologna, 148 - 10154 Torino
Dott. Marino Prearo
marino.prearo@izsto.it | 011-2686251

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Lombardia e dell'Emilia Romagna
Via U. Bianchi, 9 - 25124 Brescia
Dott. Cristian Salogni
cristian.salogni@izsler.it | 030-2290271

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e Toscana
S.S. dell'Abetone e del Brennero, 4 - 56123 Pisa
Dott.ssa Francesca Susini
francesca.susini@izslt.it | 050-553563
Via Appia Nuova, 1411 - 00178 Roma
Dott.ssa Giusy Cardeti
giusy.cardeti@izslt.it | 06-79099314
Dott. ssa Antonella Cersini
antonella.cersini@izslt.it | 06-79099335

Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Mezzogiorno
Via della Salute, 2 - 80055 Portici (Napoli)
Dott. ssa Giovanna Fusco
giovanna.fusco@izsnportici.it | 081-7865113

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e Marche
Località Borgo Rivo - Via C.A. Dalla Chiesa, 78 - 05100 Terni
Dott. Francesco Agnetti
f.agnetti@izsum.it | 0744402476

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise
Viale Marinai d'Italia - 86039 Termoli (Campobasso)
Dott. ssa Nadia Barile
n.barile@izs.it | 0875-81343

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata
Via Lago di Montepulciano, 74100 Taranto
Dott.ssa Laura Guarino
lauraguari@tiscali.it | 099-7724440

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sicilia
Via Passo Gravina, 195 - 95125 Catania
Dott.ssa Anna Maria Fausta Marino
annamaria.marino@izssicilia.it

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna
Via Atene, 09170 Oristano
Dott. Fulvio Salati
fulviosal@hotmail.com | 0783-351003

