

# MICROSPORIDIOSI

Agenti eziologici principali reperibili in letteratura:

***Thelohania*** spp.

*Pleistophora-like* spp.

*Vavraia parastacida*

Crostacei d'acqua dolce

***Enterocytozoon hepatopenaei*** (EHP)

*Ameson metacarcini*

*Nadelspora canceri*

*Thelohania* spp.

*Adelspora portucalensis*

*Myospora metanephrops*

Crostacei d'acqua salata

## Reports of microsporidians in freshwater crayfish

Name used	Host species	Location	Reference
<i>Ameson</i> sp.	<i>Austropotamobius pallipes</i>	England	Pixell Goodrich, 1956
<i>Pleistophora</i> sp.	<i>Cambarellus puer</i>	Louisiana, USA	Soganders-Bernal, 1962
	<i>Cherax destructor</i>	South Australia	O'Donoghue et al., 1990
<i>Thelohania cambari</i>	<i>Cambarellus bartoni</i>	Georgia and North Carolina, USA	Soganders-Bernal, 1962
<i>Thelohania contejeani</i>	<i>Astacus astacus</i>	France	Henneguy and Thelohan, 1892; cited in Alderman and Polglase, 1988
	<i>Astacus astacus</i>	East Germany	Schaperclaus, 1954; cited in Alderman and Polglase, 1988
	<i>Astacus astacus</i>	Russia	Voronin, 1971
	<i>Astacus astacus</i>	Russia	Mazylyis, 1978
	<i>Astacus astacus</i>	Yugoslavia	Obradovic and Sabocenec, 1983
	<i>Astacus astacus</i>	Finland	Sumari and Westman, 1969
	<i>Astacus astacus</i>	Norway	Skurdal et al., 1988, 1990
	<i>Astacus leptodactylus</i>	Poland	Krucinska and Simon, 1968
	<i>Austropotamobius pallipes</i>	France	Vey and Vago, 1973
	<i>Austropotamobius pallipes</i>	Northumberland, UK	Brown and Bowler, 1977
	<i>Cambarus affinis</i>	Poland	Krucinska and Simon, 1968
	<i>Orconectes virilis</i>	Ontario, Canada	France and Graham, 1985
	<i>Paranephrops zealandicus</i>	Dunedin, New Zealand	Quilter, 1976
<i>Thelohania soganderesi</i>	<i>Cambarellus shufeldti</i>	Louisiana, USA	Soganders-Bernal, 1962
<i>Thelohania</i> sp.	<i>Austropotamobius pallipes</i>	Ireland	Reynolds, 1978
	<i>Austropotamobius pallipes</i>	England	Pixell Goodrich, 1956
	<i>Cherax destructor</i>	Southern Australia	Carstairs, 1978
	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Northern Australia	Herbert, 1988
	<i>Cherax destructor</i>	South Australia	O'Donoghue et al., 1990
	<i>Paranephrops planiformis</i>	Lake Taupo, New Zealand	Jones, 1980
<i>Vavraia parastacida</i>	<i>Cherax tenuimanus</i>	Western Australia,	Langdon, 1991a,b
	<i>Cherax quadricarinatus</i>	Queensland	Langdon and Thorne, 1992
	<i>Cherax quinquecarinatus</i>		Evans et al., 1992
	<i>Cherax destructor albidus</i>		

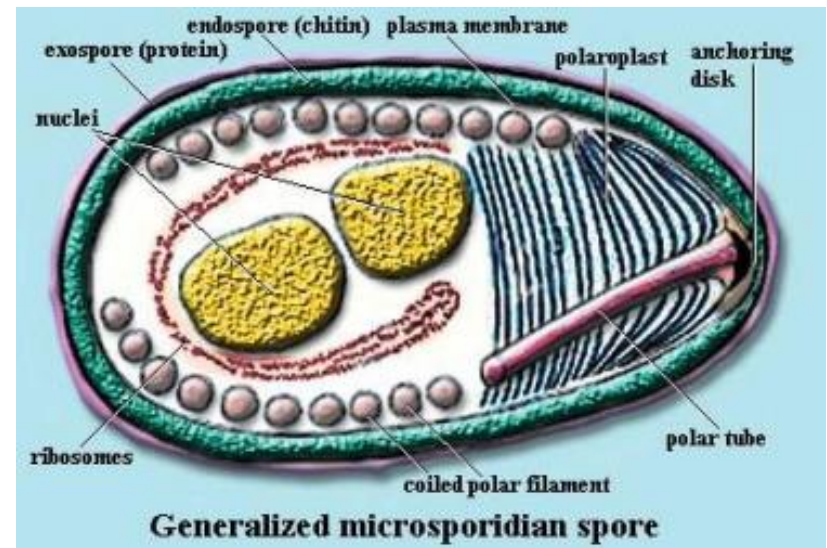
# MICROSPORIDA

Spore generalmente di forma ovoidale e dimensioni variabili a seconda della specie

Endocellulari. Riproduzione per fasi merogoniche e sporogoniche

Ospiti: a seconda della specie (in genere elevata ospite-specificità).

Localizzazione diversa a seconda della specie



Le spore delle specie appartenenti ai generi *Thelohania*, *Pleistophora* e *Vavraia* sono generalmente contenute in pansporoblasti.

Il numero di spore all'interno di un pansporoblasto può avere importanza tassonomica:

in *Thelohania* spp. ci sono 8 spore

in *Pleistophora* spp. il numero è assai più elevato e variabile

in *Vavraia parastacida* si possono trovare 8, 16, 32 e raramente 64 spore.

in *Ameson* spp. è presente un'unica spora.

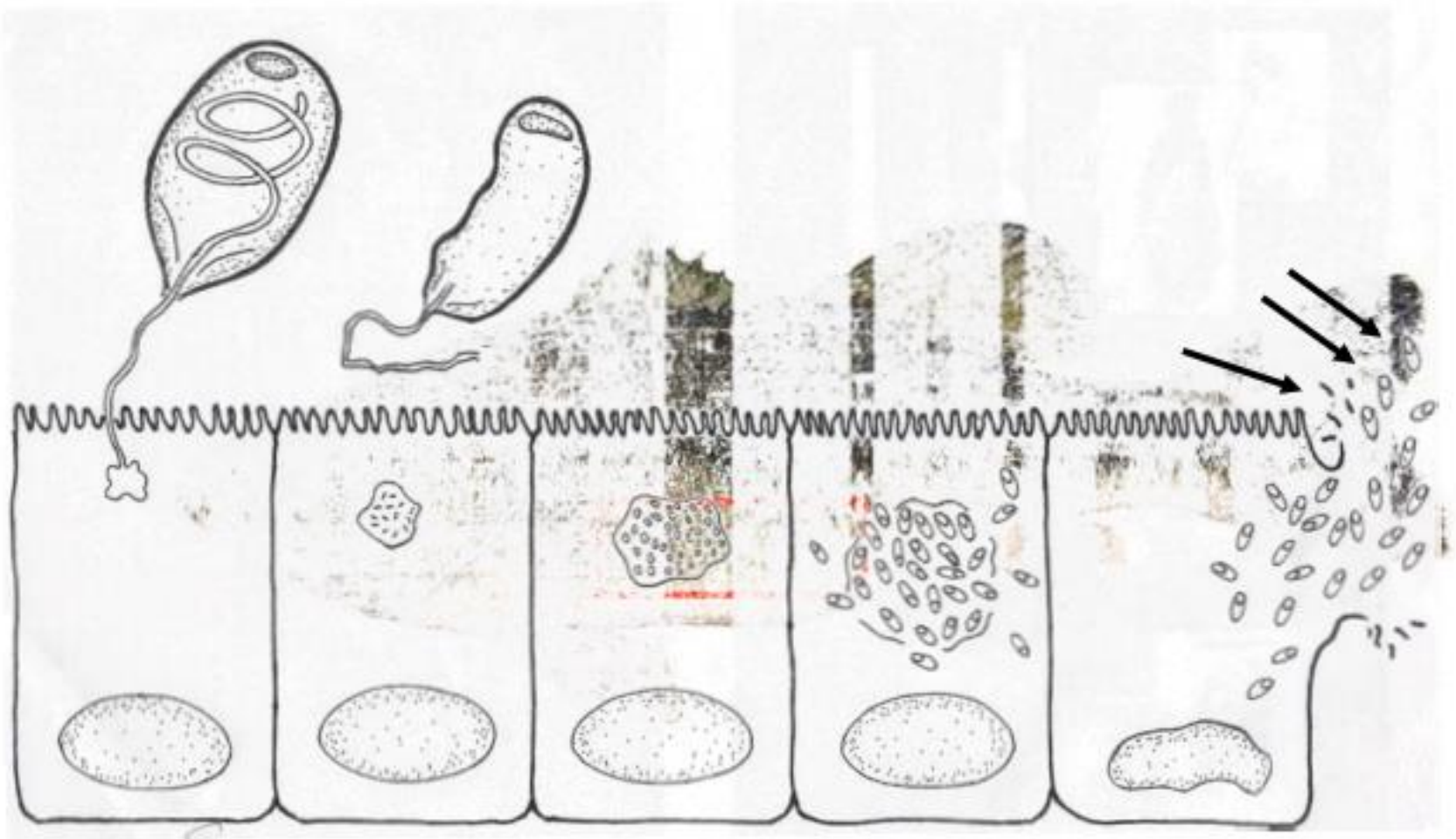
In generale sono parassiti a ciclo diretto

Ciclo diretto + ospiti paratenici + trasmissione transovarica ?

Il ciclo biologico dei microsporidi dei gamberi è poco conosciuto e probabilmente presenta delle differenze in base alla specie parassitaria.

Attualmente si ipotizza che nel mantenimento della presenza dei microsporidi dei gamberi nell'ambiente intervengano come serbatoi altri artropodi, quali ad esempio crostacei copepodi o insetti.

La trasmissione attraverso il cannibalismo è evento frequente ma non costante per tutte le specie di microsporidi dei gamberi.



I

La spora inietta lo sporoplasma

II

Formazione dei meronti

III

Formazione degli sporoblasti

IV

Formazione delle spore

V

Liberazione delle spore con rottura della cellula

MEROGONIA  
(stadio proliferativo)

SPOROGONIA  
(stadio sporogonico)

# TELOHANIASI

O

Malattia della porcellana (=porcelain disease)

Microsporidiosi che riconosce come agente eziologico *Thelohania contejeani*

Henneguy e Thélohan (1892) hanno descritto per la prima volta *Thelohania contejeani* in gamberi di fiume *Astacus astacus* in Francia, dove è stata imputata di essere l'agente di una malattia in grado di infliggere pesanti perdite nelle popolazioni di gamberi dulciacquicoli autoctone.

Anche se il range di ospiti per la maggior parte delle specie di microsporidi è di solito limitato, *Thelohania contejeani* è stata segnalata come causa di epidemie in diverse specie di gamberi d'acqua dolce europei come *Austropotamobius pallipes*, *Astacus astacus*, *Pacifastacus leniusculus*, *Astacus leptodactylus* e *Cambarus affinis* (= *Orconectes limosus*) e nordamericani come *Orconectes virilis* e *Pacifastacus leniusculus* e anche in Australia in *Paranephrops zealandicus*.



# Specie autoctone d'acqua dolce



Gambero di fiume *Austropotamobius pallipes*



Gambero europeo o gambero nobile *Astacus astacus*

# TELOHANIASI

I gamberi si infettano attraverso l'ingestione di spore di *T. contejeani*.

Lo sporoplasma infettante emerge dalla spora una volta estroflesso il filamento polare per aderire alle cellule della mucosa intestinale dell'ospite, penetra l'intestino e raggiunge il tessuto muscolare attraverso l'emocele.

La riproduzione asessuata avviene nel tessuto muscolare e porta ad un drammatico aumento del numero di cellule parassitate attraverso la formazione endocellulare di pansporoblasti che si trasformano direttamente in sporoblasti contenenti 8 spore, che a loro volta possono essere rilasciate in caso di rottura della membrana dello sporoblasto stesso.

Lom et al. (2001) riportano che *T. contejeani* ha 2 percorsi simultanei di sporogonia:

- uno che prevede la formazione di sporonti diplocariotici e che producono 8 spore mononucleate contenute in una vescicola sporofora con 9-10 spire del tubo polare
- l'altro in cui gli sporonti diplocariotici producono piccoli compartimenti nella membrana, in cui formare spore il cui tubo polare presenta 5-6 giri.



# TELOHANIASI

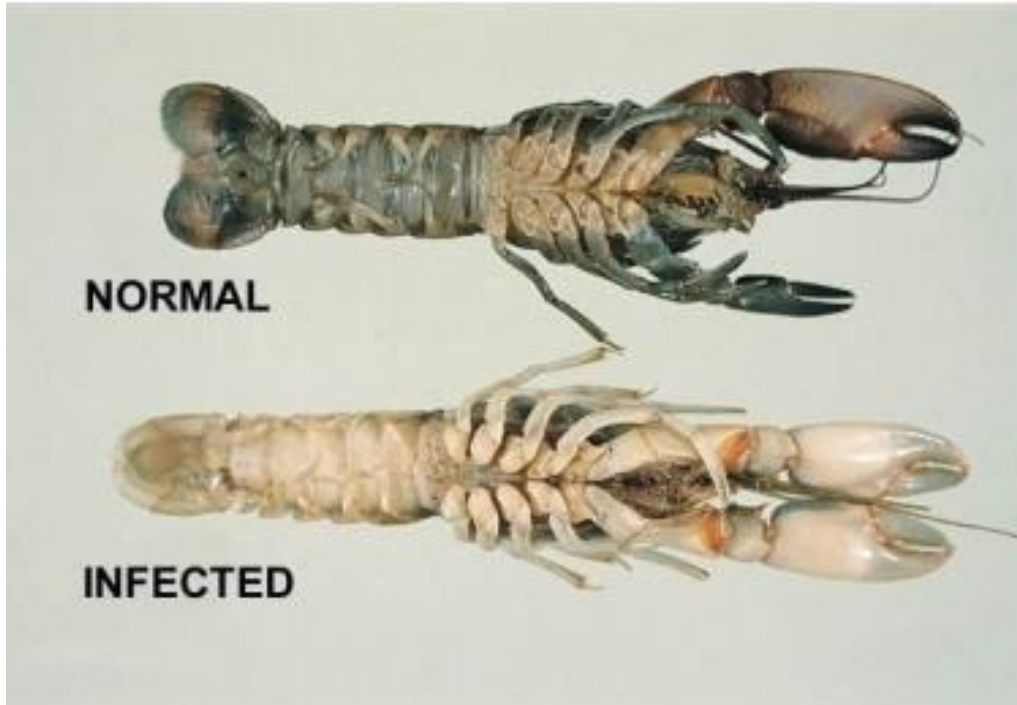
*Thelohania contejeani* infetta i gamberi sia allo stadio giovanile che adulto di entrambi i sessi.

L'infezione provoca la produzione massiva di spore che conferiscono alla muscolatura addominale dell'ospite un aspetto opaco e lattiginoso al contrario del muscolo sano che è grigiastro e traslucido. Ad infezione avanzata il gambero parassitato appare lento e il riflesso caudale di fuga è inconsistente.

*T. contejeani* può causare notevoli mortalità in entrambe le popolazioni di gambero, naturali ed artificialmente allevate.

Raramente causa di mortalità di massa. Può essere presente nel 10% di una popolazione senza danno apparente, ma i problemi si possono verificare se si raggiunge una più alta prevalenza.

# TELOHANIASI



Infection rates from 0.1 to 50% have been reported in the literature (Schäperclaus, 1954; Sumari and Westam, 1969; Voronin, 1971; Cossins, 1973; Vey and Vago, 1973; Hofmann, 1980; Chartier and Chaisemartin, 1983; O'Keefe and Reynolds, 1983; Cukerzis, 1984; Diéguez 27p9 F. Quaglio et al.: Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst. (2011) 401, 27 Uribeondo et al., 1997).

As stated by Alderman and Polglase, levels of infection up to 10% are frequent in crayfish populations and values of 30% are not uncommon

Thelohania is not a threat to human health if infected crayfish are consumed. However, the infection is an important issue for the management of WA's yabby and marron aquaculture industries, and to the future of the State's recreational marron fishery.

# DIAGNOSI

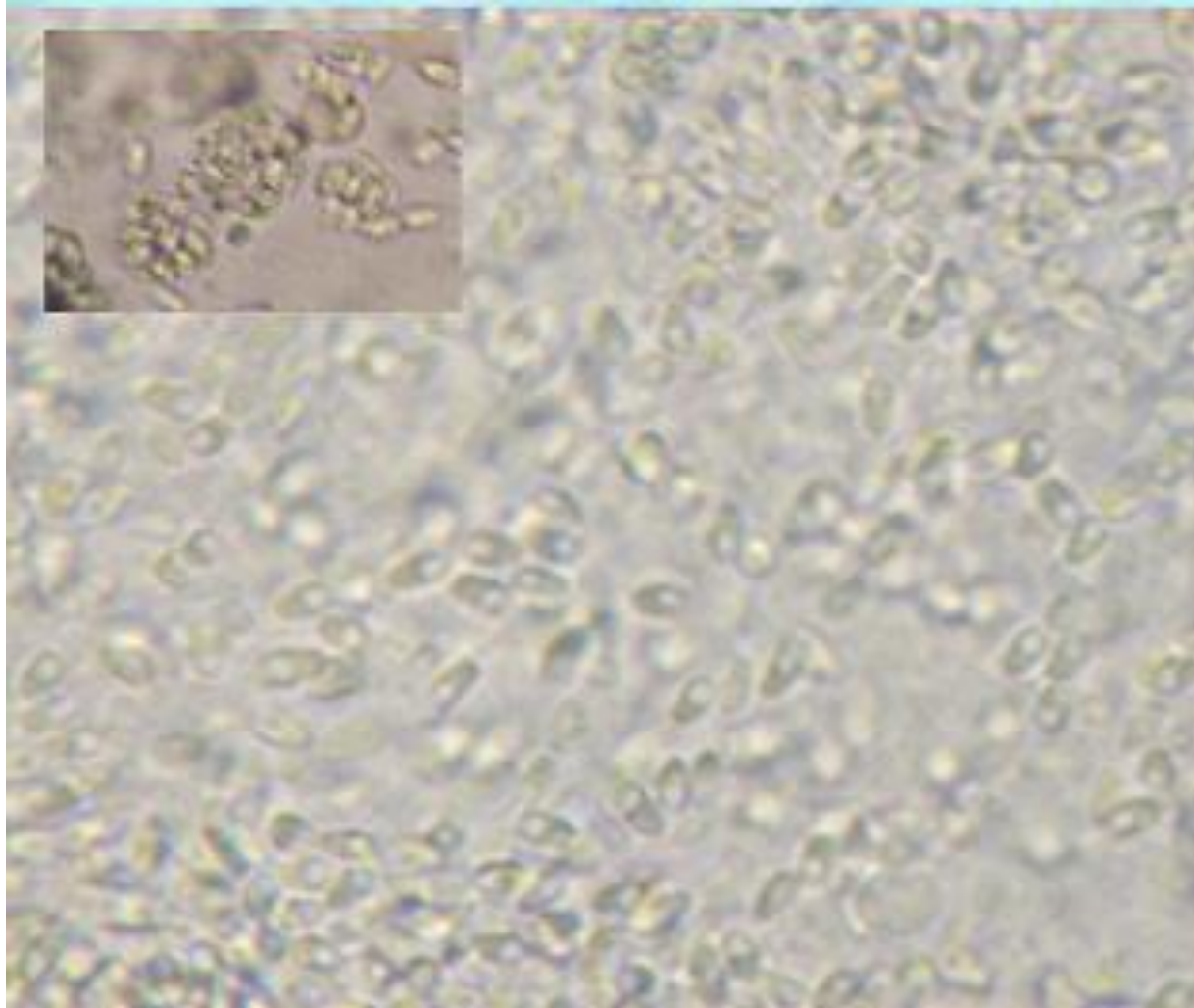
La diagnosi di malattia della porcellana è tradizionalmente condotta affidandosi all'osservazione dei segni clinici - la muscolatura bianca e l'addome opaco - seguita dall'osservazione dei pansporoblasti (5 micron di diametro) nelle sezioni istologiche del muscolo.



Tuttavia, nelle fasi iniziali della malattia i segni clinici possono essere difficilmente osservabili o del tutto assenti.

Quindi si è reso necessario ricorrere alle metodiche molecolari che permettono una rapida individuazione ed identificazione del parassita, particolarmente utile anche ai fini protezionistici.

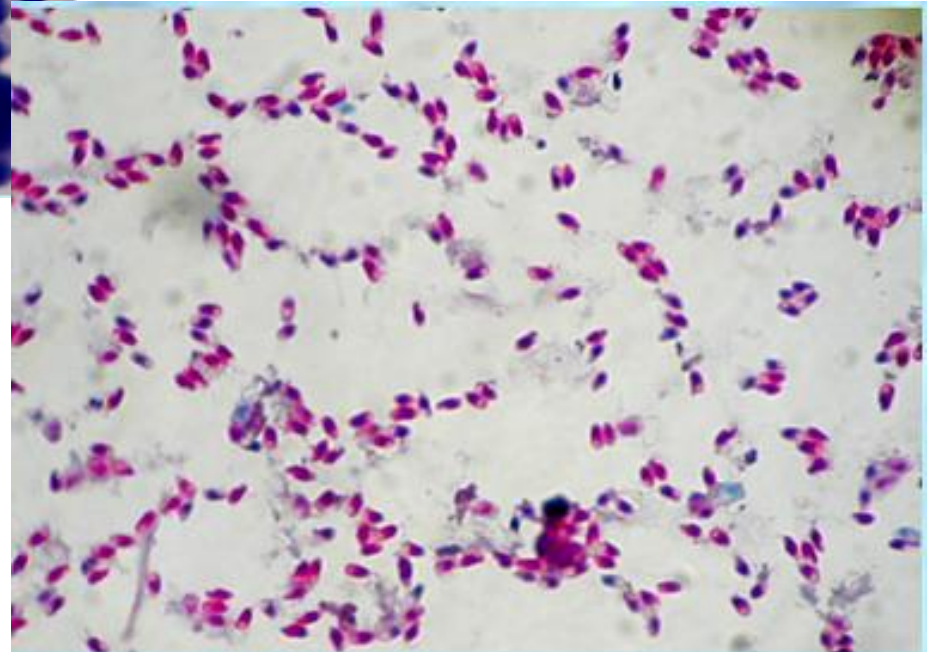
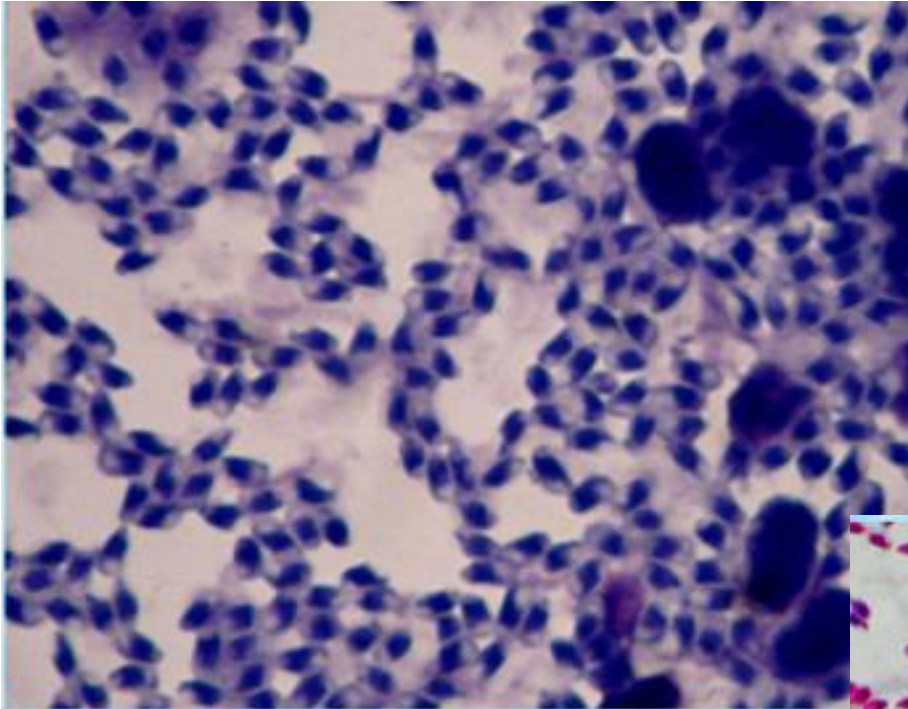
# TELOHANSIASI



Spore mature di *T. contajani* di forma ovalare: in media 4  $\mu\text{m}$  di lunghezza e 2,2  $\mu\text{m}$  di larghezza.



# TELOHANIASI

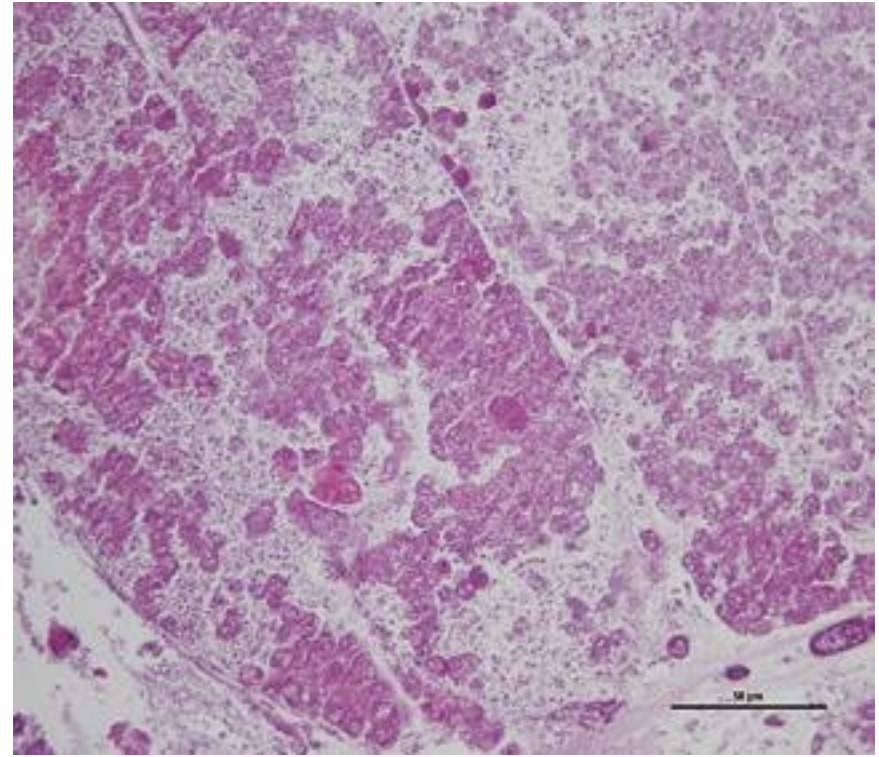
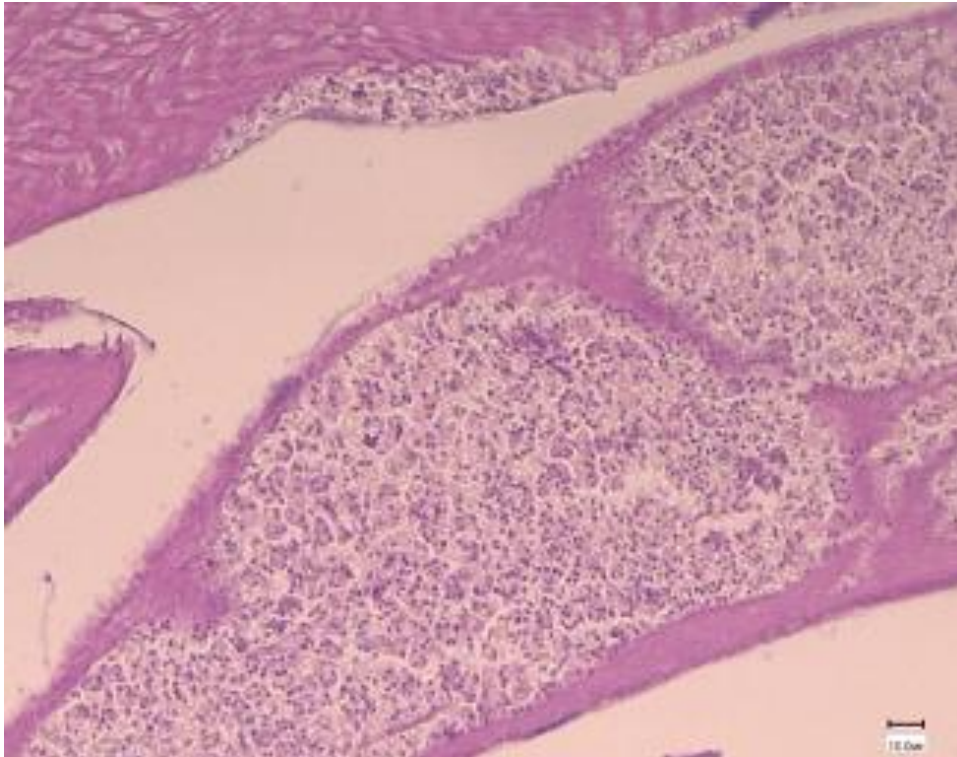


# TELOHANIASI

All'esame istologico dei muscoli scheletrici si possono osservare le fibre muscolari completamente replete di spore a diversi stadi di sviluppo. Fino al 90% delle fibre possono essere colpite. Grappoli di spore occupano sia il centro che i margini delle fibre muscolari.

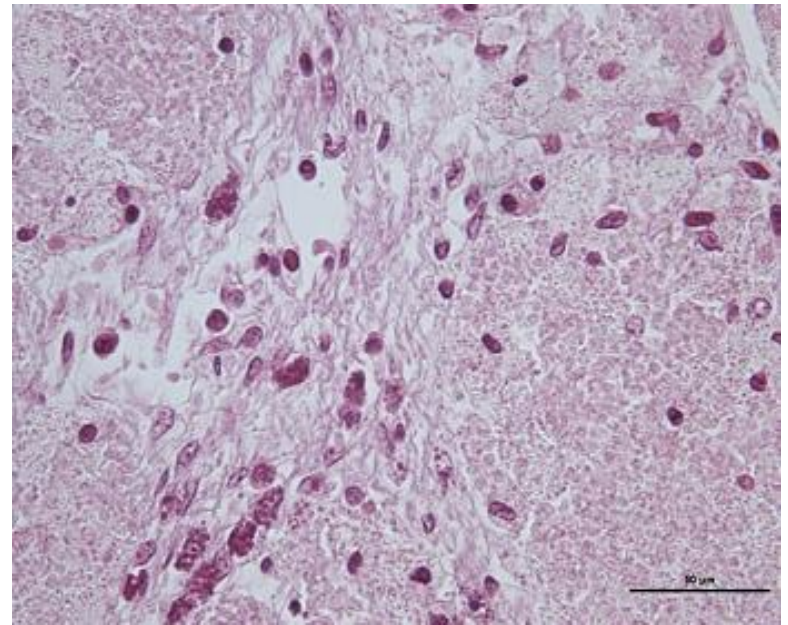
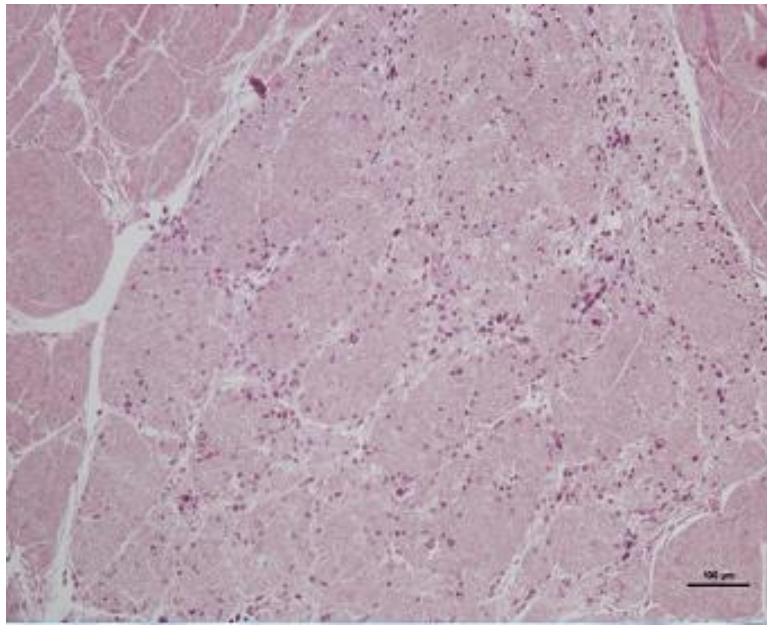
Il tessuto muscolare intorno alle spore può mostrare marcata atrofia.

La risposta emocitaria si rileva più frequentemente nella zona infetta in cui le spore sono meno abbondanti.

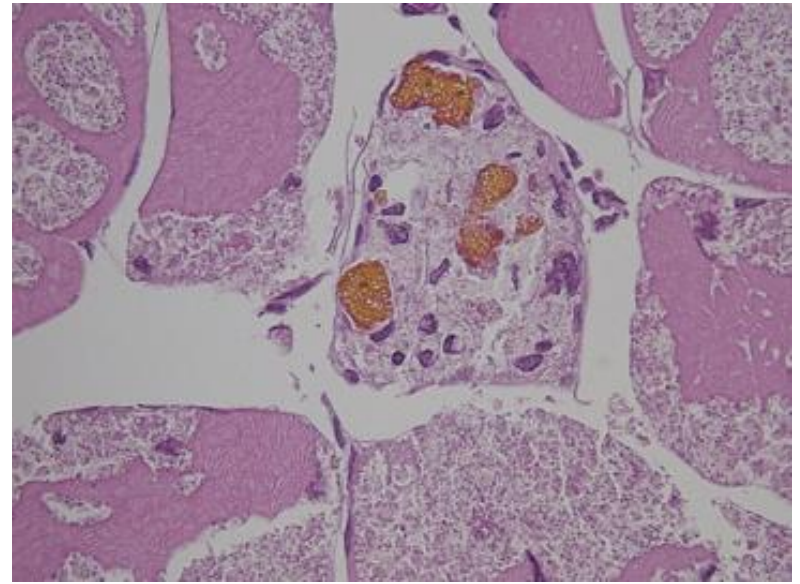
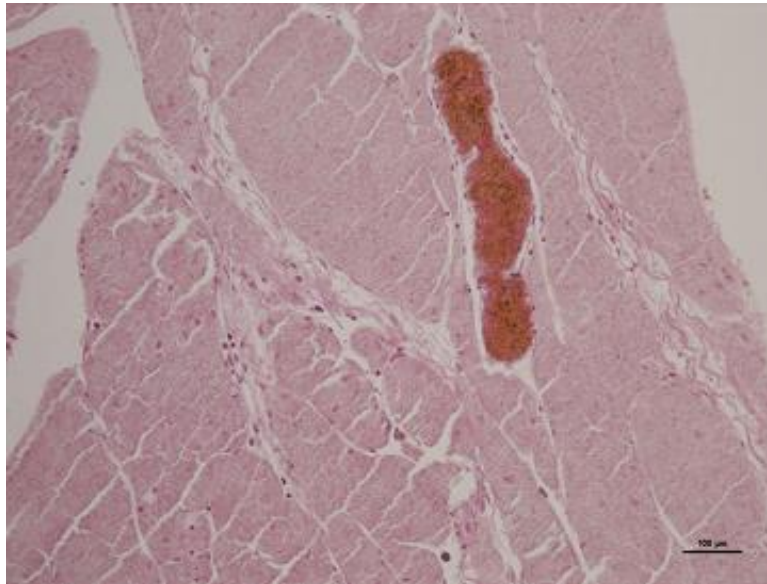


muscolatura scheletrica (a sx) e cardiaca (a dx) di un soggetto di *A. pallipes* massivamente infarcita di spore di microsporidi a diverso stadio di maturazione





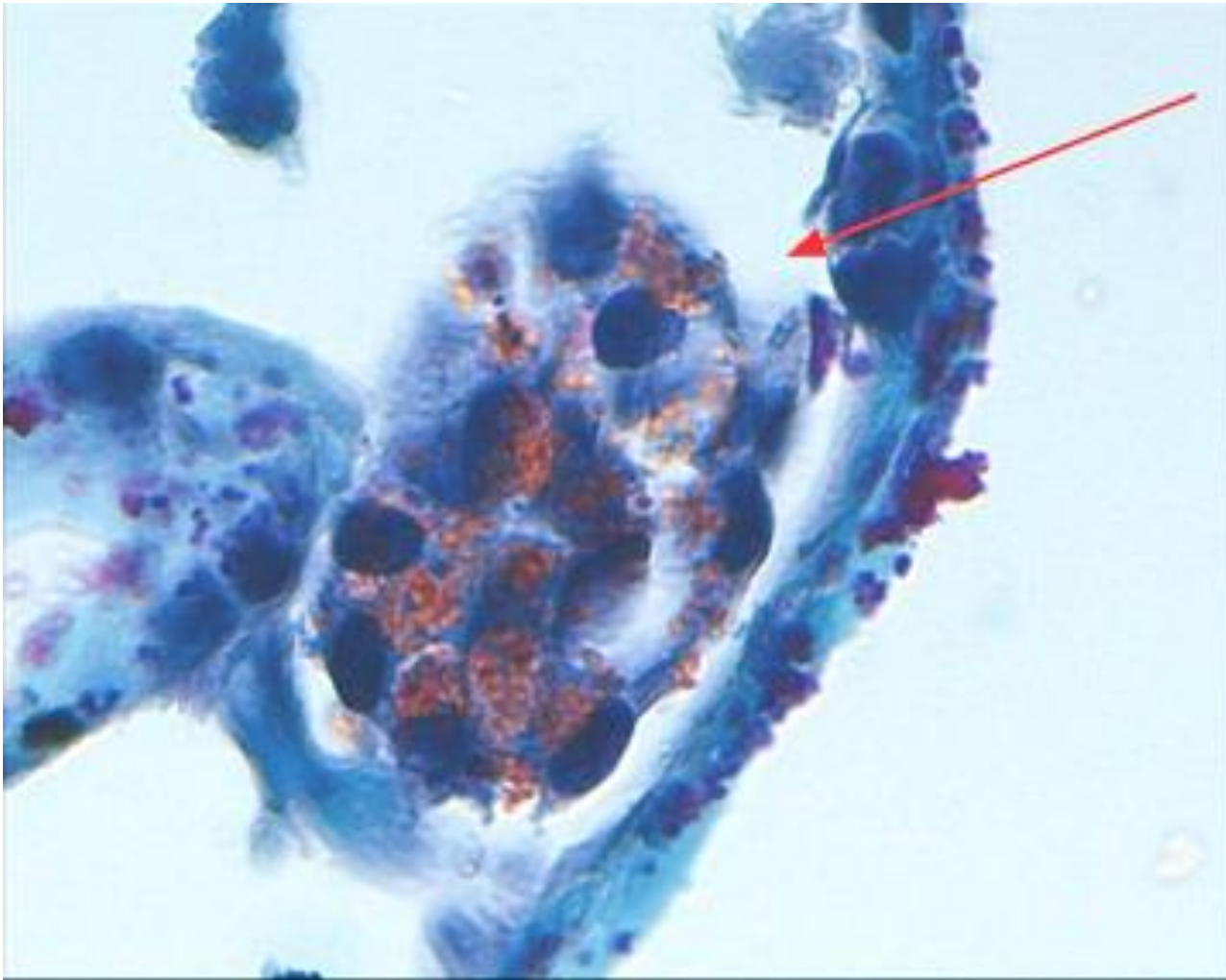
In alcune aree si può osservare aggregazione emocitaria



Infiltrati di melanina si possono riscontrare con carattere focale all'interno di fibre parassitate



# TELOHANIASI



Nefrociti fagocitari, ampie cellule vacuolizzate presenti nei setti assiali e nei filamenti branchiali ripieni di masse di spore.

# TELOHANIASI

Thelohania is passed on by healthy marron or yabbies feeding on an infected animal. It could only take one crayfish infected with Thelohania, or parts of it used as bait, being placed in a waterway to infect wild crayfish populations. It is spread by infected crayfish being moved from one dam to another, or from one property to another.

Infected crayfish are sometimes difficult to tell from healthy ones. For this reason, it is essential that captive crayfish are never released into the wild. It is important to protect our unique wild marron populations for future generations.

A zoning system should be established to minimise the further spread of Thelohania

Farmers with a confirmed Thelohania problem may wish to remove all crayfish from their dams and restock with a supply of clean juveniles. Those who are wishing to destock should note that it is illegal to use chemicals that are not approved for the purposes of killing crayfish in dams. It is essential you seek advice on safe chemicals, as the use of chemicals not registered for this purpose is not only illegal, but dangerous.

The suggested approach to destocking is:

- Trapping to remove as many animals as possible from the dam for consumption or appropriate disposal;
- Draining dams to harvest animals (if competing demands on water use permit); and
- If legally permitted, through chemical treatment.

# TELOHANIASI

The best way to attempt to avoid *Thelohania* is not to bring any new freshwater crayfish onto your property. Animals that need to be brought in should, where possible, be from a property with a sample of animals tested and certified by us as being free from *Thelohania*.

**Farming techniques** If *Thelohania* is present on your property, individual crayfish will be more susceptible to infection if they are stressed by poor water quality. Ways to minimize the incidence of *Thelohania* include: ensuring regular harvesting; monitoring stocking density; appropriate feeding regimes; and optimum dissolved oxygen, salinity and temperature levels. The movement of crayfish from one dam to another should be avoided. It is also important to ensure traps and nets are cleaned and disinfected after use in one dam before using them for harvesting from another. After cleaning the equipment, soak for at least 10 minutes in a chlorine solution made with 200 ml of swimming pool chlorine (which is around 10 - 12 per cent chlorine) mixed with 100 litres of clean water. Clean water should then be used to rinse the equipment.

**Treatment and control:** No drug treatments have proven totally effective, but some successes have been reported when treating human infections with albendazole (ocular, intestinal and disseminated infections), metronidazole (intestinal infections) and trimethoprim-sulfamethoxazole (disseminated infections). Recent studies have shown that the coccidiostat toltrazuril may be effective against microsporidial infections in fish, insects and decapod crustacea. Various forms of control have been attempted in aquaculture systems, the most successful being to drain culture ponds and lime them or bake them over summer before restocking.



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Invertebrate Pathology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jip](http://www.elsevier.com/locate/jip)



Ultrastructural and molecular characterization of *Vairimorpha austropotambii* sp. nov. (Microsporidia: Burenellidae) and *Thelohania contejeani* (Microsporidia: Thelohaniidae), two parasites of the white-clawed crayfish, *Austropotamobius pallipes* complex (Decapoda: Astacidae)

Tobia Pretto<sup>a,b,\*</sup>, Francesco Montesi<sup>c</sup>, Daniela Ghia<sup>d</sup>, Valeria Berton<sup>c</sup>, Miriam Abbadi<sup>c</sup>, Michele Gastaldelli<sup>a</sup>, Amedeo Manfrin<sup>a</sup>, Gianluca Fea<sup>d</sup>

T. Pretto et al.

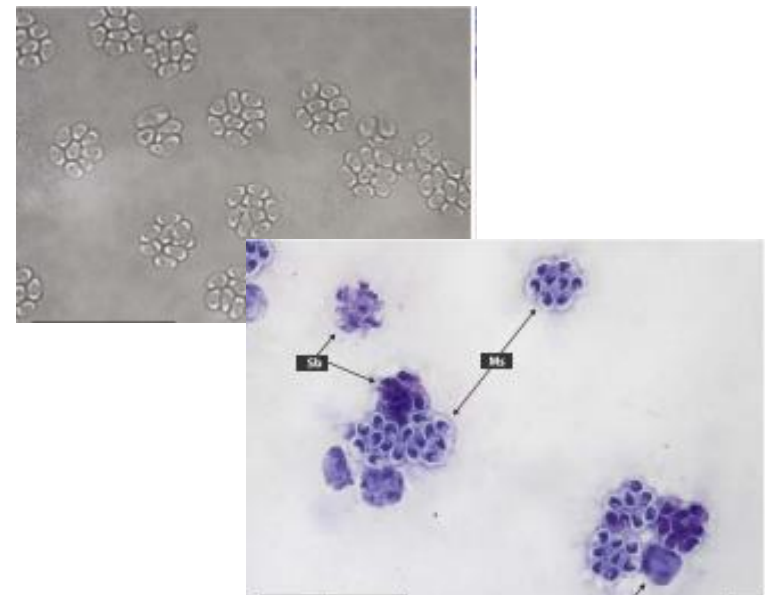
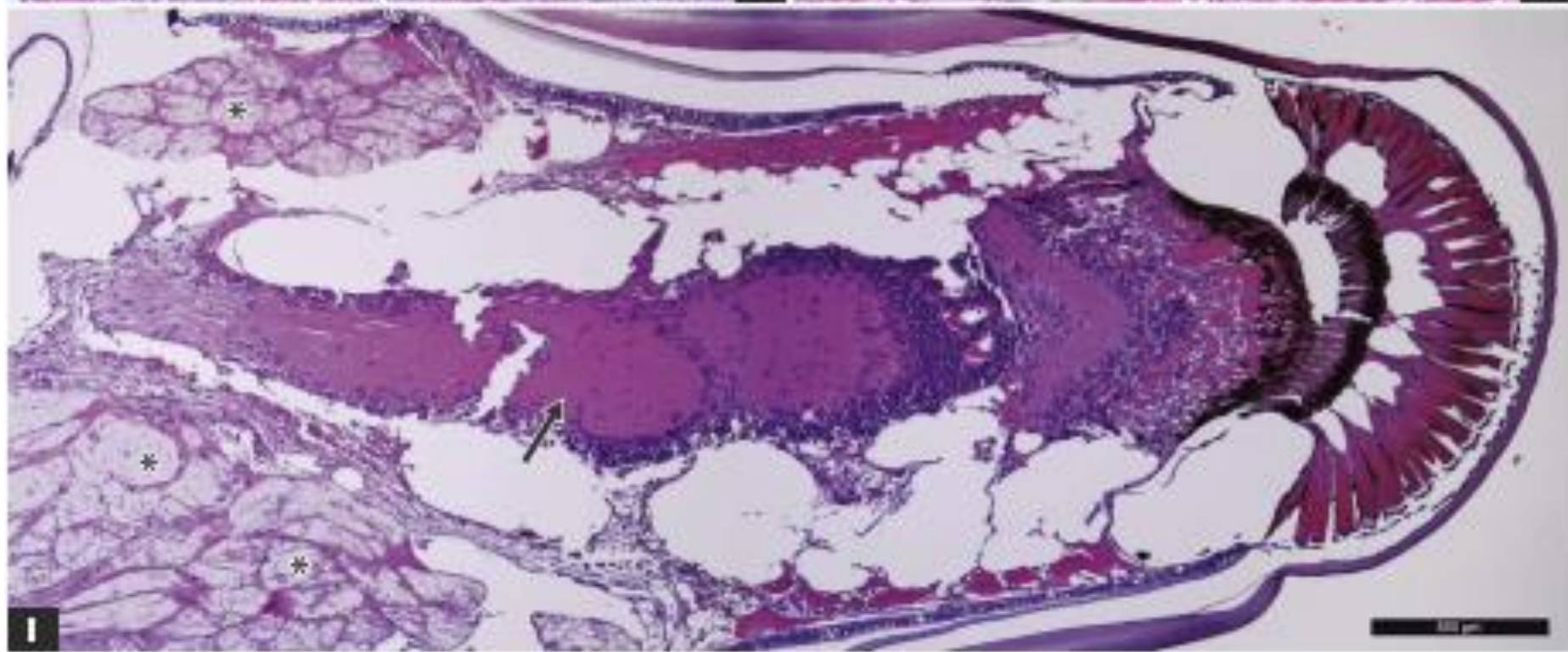
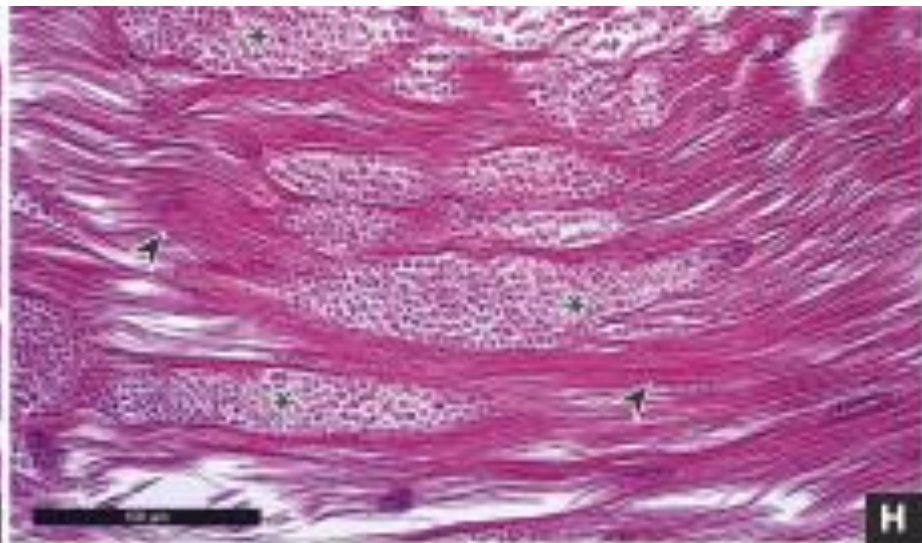
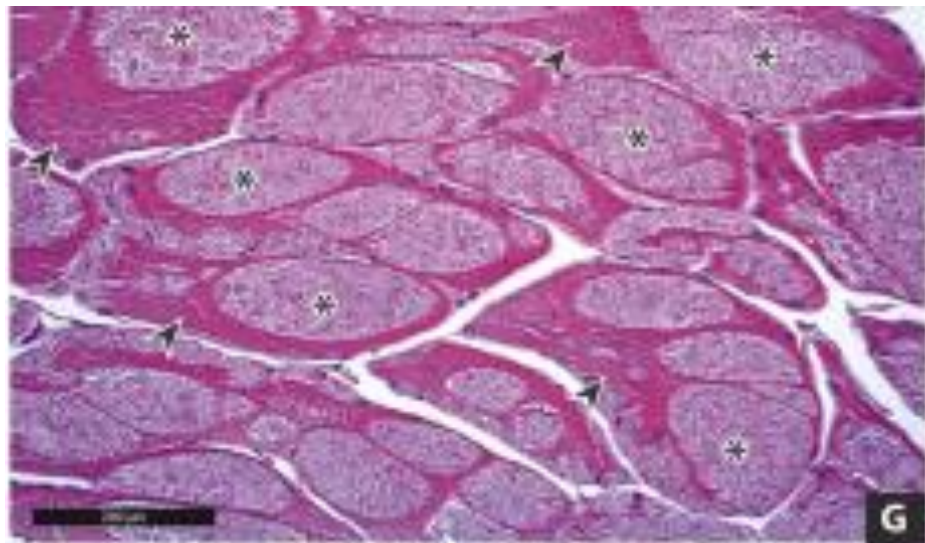
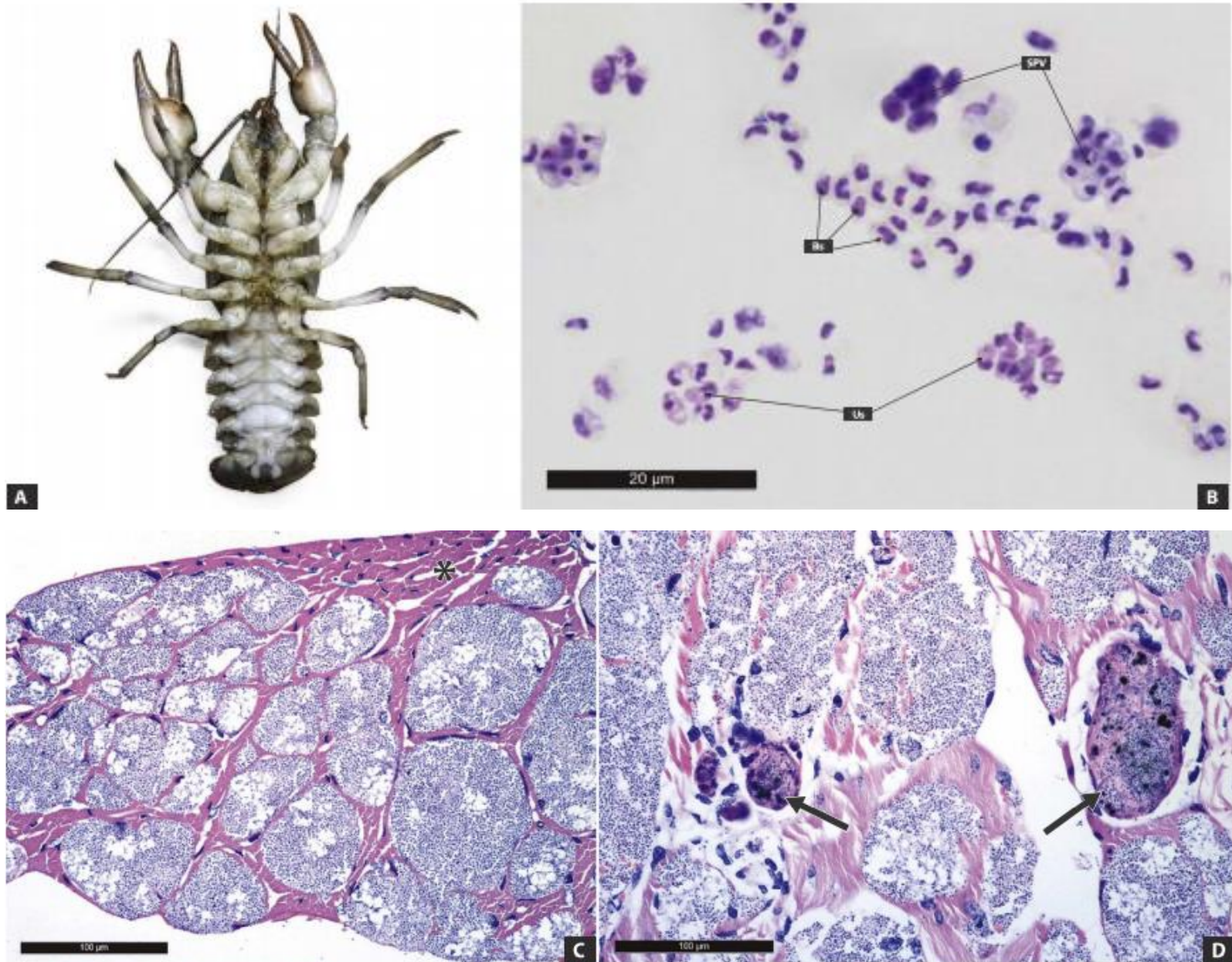


Fig. 1. Macroscopic and microscopic observation of *Vairimorpha austropotambii* sp. nov. affected specimens:

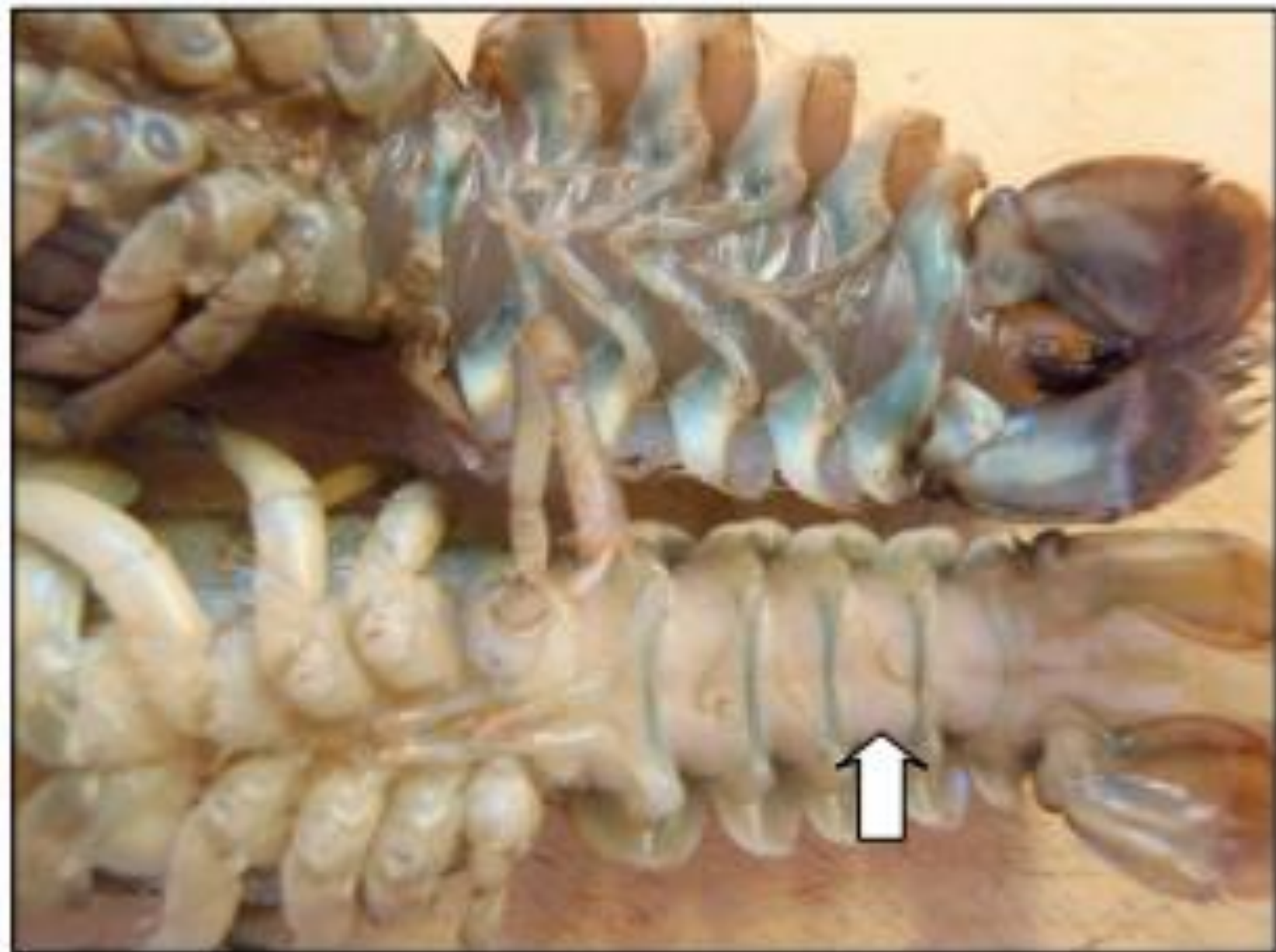








**Fig. 2.** Macroscopic and microscopic observation of *T. contejeani* affected specimens: **A:** *Austropotamobius pallipes* complex severely affected by *Thelohania contejeani* with chalk-white opaque appearance of the abdominal musculature. **B:** Light microscopy of stained muscle imprint. SPVs with mature uninucleated spores (Us) and free binucleated mature spores (Bs). Hemacolor®100×. **C:** Histological appearance of *T. contejeani* affected skeletal muscle fibers of the pleon. The myofibres are replete by maturing stages of the microsporidia. Normal myofibres (\*). Giemsa, 4×. **D:** Affected myofibres eliciting an inflammatory response with hyalinocytes infiltration and melanin deposition (arrows). Giemsa, 10×. **E:** Increased



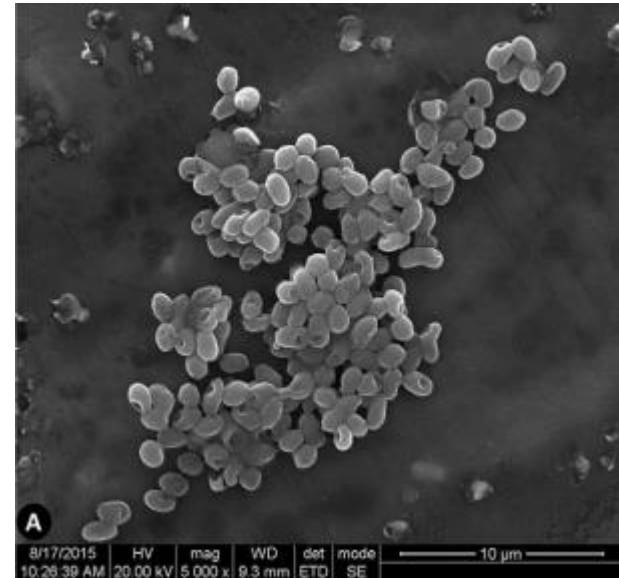


# Enterocitoozoonosi dei gamberi asiatici *Penaeus (Penaeus) monodon* e *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*

*Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) è un microsporidio estremamente diffuso in Asia ed in altre parti del mondo che rappresenta una seria minaccia per la gambericoltura provocando marcati ritardi di accrescimento negli animali colpiti.

A differenza di *Thelohania*, EHP infetta solo i tubuli dell'epatopancreas del gambero, danneggiandone la funzionalità e compromettendo le capacità digestive e di assorbimento da parte dell'animale parassitato.

È opinione diffusa che EHP non provoca fenomeni di mortalità, ma limita fortemente la crescita.



EHP è ormai endemico in tutta la Cina, Malesia, Thailandia, Indonesia e Vietnam, e probabilmente è presente in India e in Messico.

Probabilmente può essere ritrovato in ogni paese che abbia importato mangimi provenienti dalla Cina e dalle zone in cui EHP è endemico.

Difficile la sua eradicazione mentre ci sono margini di manovra nel controllare i livelli di infestazione.



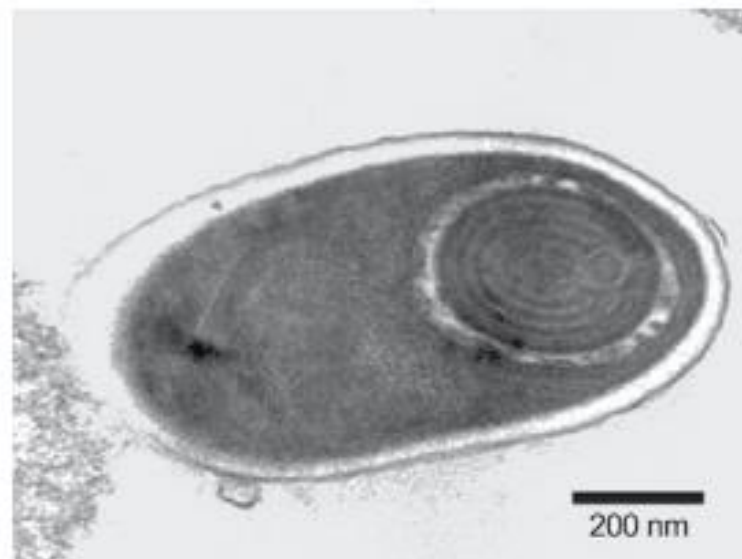
# EHP disease in shrimp may be hard to control, likely will increase volatility in market



*Enterocytozoon hepatopenaei* è un microsporidio scoperto inizialmente in *Penaeus (Penaeus) monodon* in Thailandia nel 2004 ed in seguito descritto in dettaglio e caratterizzato a livello tassonomico e segnalato anche in *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* nello stesso areale geografico ma probabilmente anche in Australia in *Penaeus (Marsupenaeus) japonicus* e poi in numerosi altri paesi.

Le spore sono molto piccole ( $1,1 \pm 0,2 \pm 0,1$  di  $0,6-0,7$  micron) ed evidenziano la presenza di un filamento polare con 4-5 spire

EHP non deve essere confuso con *Agmasoma penaei*, un'altra specie di microsporidio che infetta in Asia *P. monodon*, *P. merquiensis* e *P. vannamei* a livello muscolare e del tessuto connettivo ed è responsabile della Shrimp Cotton Disease.



# Segni clinici di malattia

Non ci sono segni specificamente distintivi in corso di infezione da EHP



Farm-level observations made during the collection of samples of *P. vannamei*.

- A. Retarded growth observed during ~90 days of culture;
- B. White/empty gut (arrow) and discolouration of hepatopancreas

Rajendran et al. (2016)

L'infezione può essere sospettata appurando il verificarsi di una crescita insolitamente ritardata in assenza di altri segni gravi di malattia riconducibili ad altri agenti eziologici

L'infezione comunque deve essere confermata da metodiche microscopiche e molecolari.



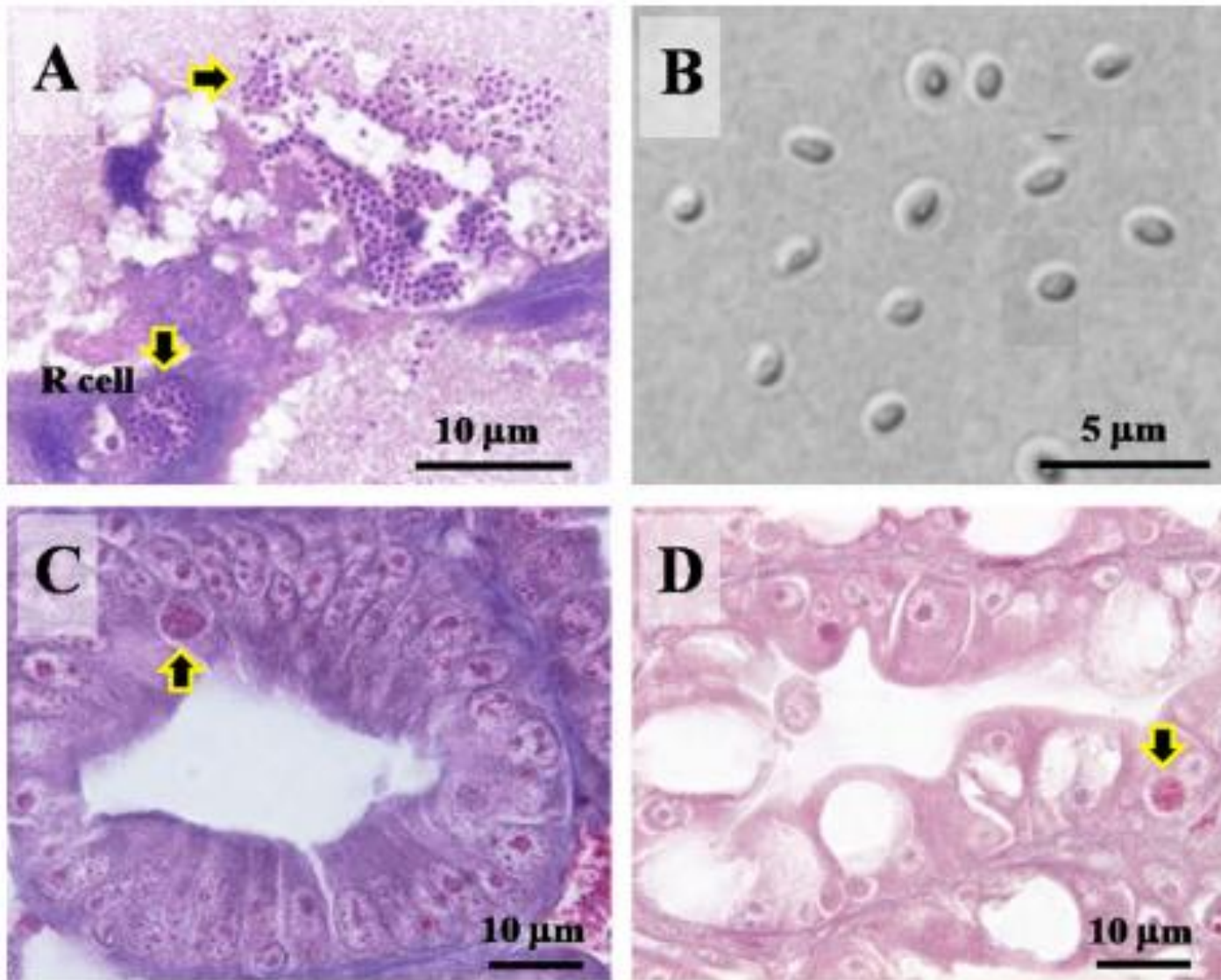


**Shrimp size difference is very large**



**Shrimps lose their gut and the hepatopancreas mass turns green, which is associated with white feces**





Photomicrographs of *Enterocytozoon hepatopenaei* tubule epithelial cells of the hepatopancreas of *Penaeus monodon*. (A) H&E-stained smear of hepatopancreatic tissue showing numerous microsporidian spores (arrows). (B) Fresh preparation of microsporidian spores from a Percoll gradient. (C and D) Hepatopancreatic tissue sections showing acidophilic, granular inclusions in the cytoplasm of tubule epithelial cells (arrows). (Tourtip et al., 2009)



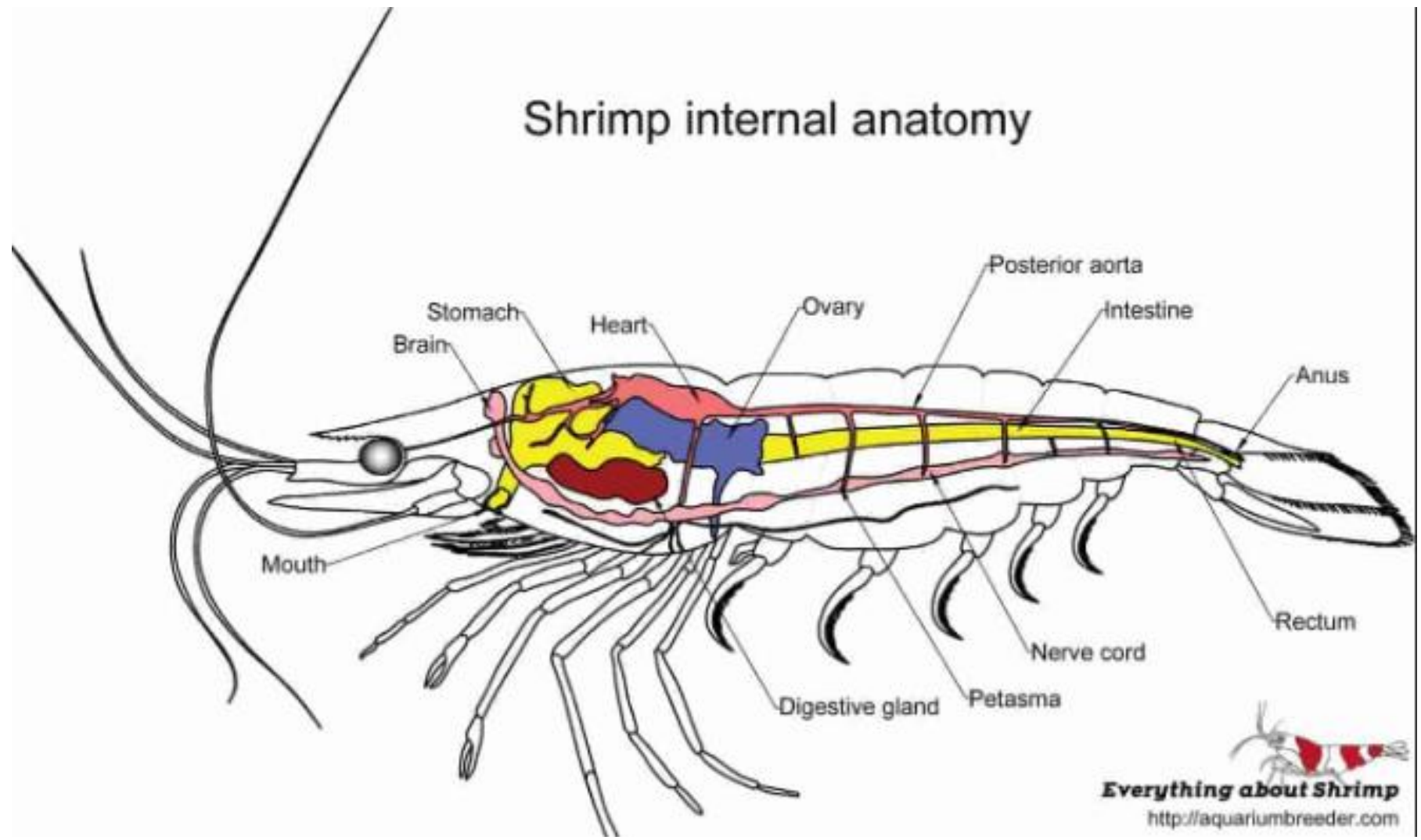
# DIAGNOSI

## Biopsia dall'epatopancreas



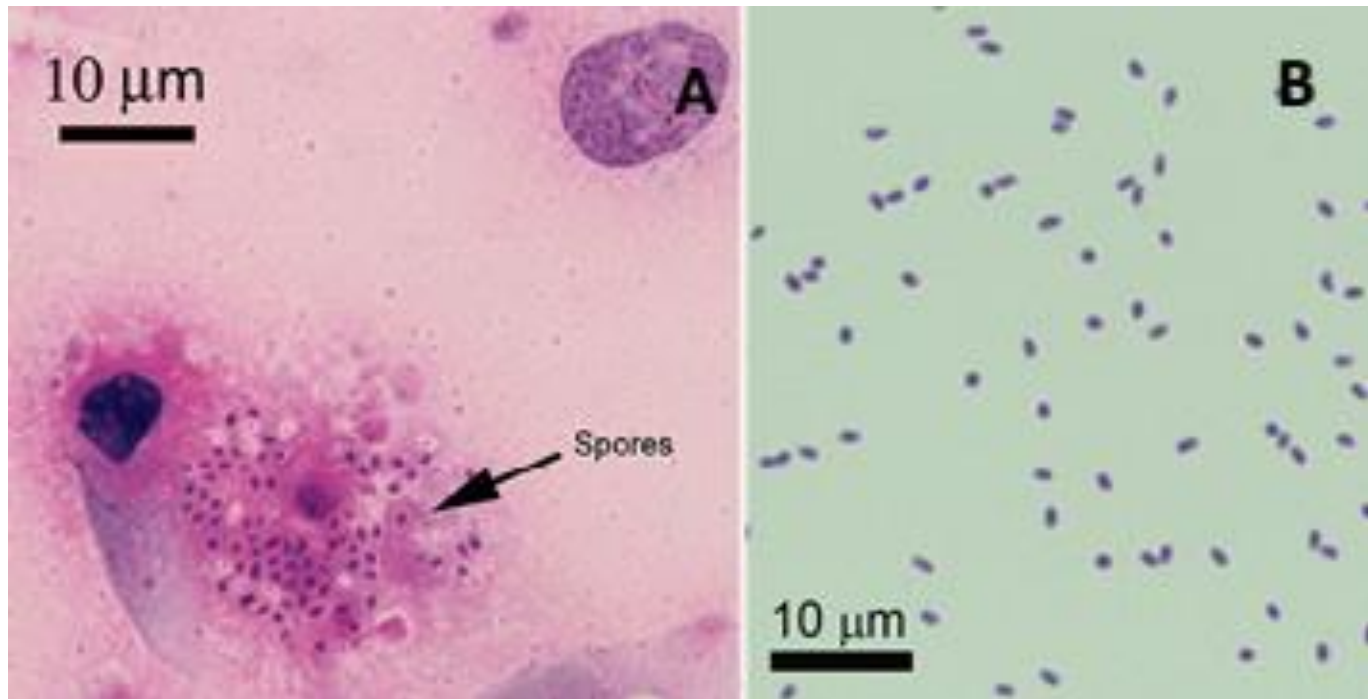
Location of the area where the needle was inserted for the biopsy. The needle was inserted in the lateral part of the center of the hepatopancreas (HP). The orange circle indicates the HP area, the blue circle indicates the last rostrum spine and the red dot indicates the location where the needle was inserted.

# Shrimp internal anatomy



# DIAGNOSI

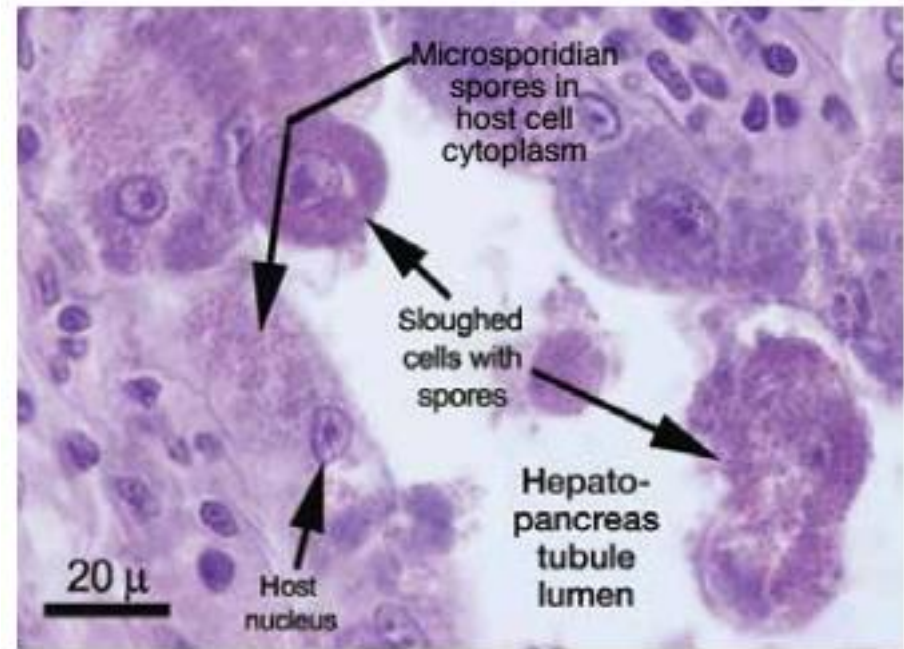
La microscopia ottica può essere utilizzata, anche se può essere molto difficile visualizzare le piccole spore. Anche se efficace, lo screening dei riproduttori comporta l'esame dei singoli animali, una pratica costosa e che non tiene conto della possibilità che ci possano essere animali completamente liberi del patogeno.



(A) Photomicrograph of a smear of HP tissue stained with H&E and showing a cluster of EHP spores next to the nucleus of the lysed cell that contained them. (B) Photomicrograph of spores purified by density gradient separation. Source: T .Flegel

Utile risulta l'esame istologico: in sezioni di tessuto epatopancreatico colorate con ematossilina e eosina (H&E), le cellule dell'epitelio tubulare mostrano la presenza di inclusioni citoplasmatiche basofile contenenti gruppi di spore di forma ellittica o ovoidale di  $1.1 \pm 0.2 \times 0,6-0,7 \pm 0,1$  micron.

Le spore libere a volte possono essere individuate nel lume dei tubuli.



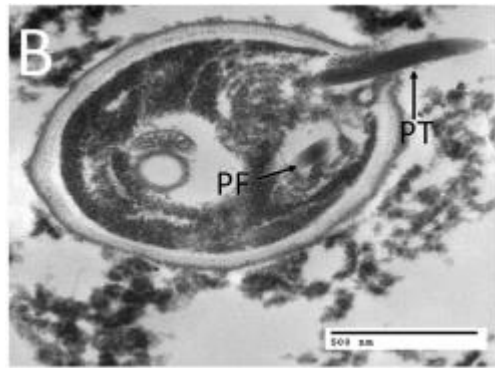
Photomicrograph of H&E stained HP tissue showing tubule epithelial cells infected with EHP. Source: T. Flegel

In alcune situazioni la produzione di spore può essere limitata o non ancora avviata, rendendo la diagnosi difficile o impossibile.

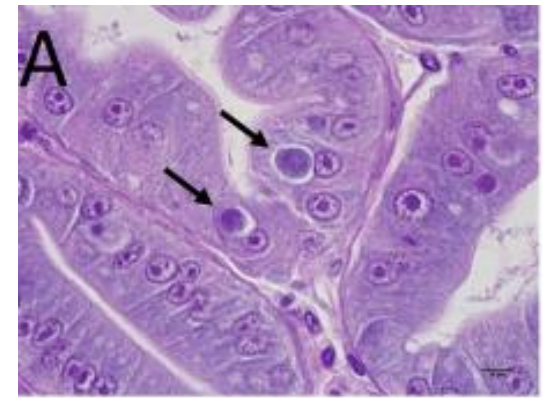
In tali casi si rende obbligatorio l'uso delle metodiche molecolari.

A causa della difficoltà nell'individuazione ed identificazione delle spore di EHP e anche perché il metodo microscopico è distruttivo e inadatto per uno screening non invasivo, metodiche molecolari come la nested PCR, LAMP o real-time PCR condotte sulle feci degli animali dovrebbero essere la scelta d'elezione per il rilevamento di EHP.

Questi metodi possono inoltre anche essere usati con le postlarve.



# PREVENZIONE E CONTROLLO



## Trattamento EHP

Le infezioni da microsporidi negli animali acquatici non riconoscono trattamenti farmacologici efficaci. L'eliminazione totale dei microsporidi potrebbe non essere possibile data l'estrema resistenza delle spore

Il problema va affrontato attraverso una strategia su tre fronti che vada a gestire la biosicurezza nell'incubatoio e fornisca un'adeguata preparazione del bacino di stabulazione e una corretta gestione dello stesso durante il ciclo di crescita.

L'approccio migliore è comunque quello di ridurre i carichi di biomassa che entrano nei bacini e controllare i livelli permessi dal singolo ecosistema.

Buone pratiche di gestione e procedure per la biosicurezza negli allevamenti possono aiutare a controllare EHP.

L'utilizzo di cibo vivo va evitato preferendogli alimento preventivamente congelato, pastorizzato o anche irradiato.

Disinfezione routinaria di impianti di maturazione e vivai con asciugatura totale dei bacini e utilizzo di calce; disinfezione di apparecchiature, tubi e serbatoi con soluzione di idrossido di sodio al 2,5% per almeno tre ore successivamente risciacquata e lavata con soluzione a base di cloro prima dell'utilizzo.





### Pulizia di Uova e Nauplii

Strategie provate per il lavaggio e risciacquo naupli con l'appropriato mix di acqua dolce e prodotti chimici (iodio e formaldeide, tra gli altri) che possono indebolire l'attaccamento passivo di spore di uova e naupli - riducendo così la trasmissione - devono diventare di routine. Questo è uno strumento efficace contro EHP.

### Preparazione del bacino

Ad elevati carichi organici in genere corrispondono elevate quantità di spore nell'ambiente. La rimozione della sostanza organica ed il trattamento del fondo con calce viva sono utili anche se possono non essere risolutivi.

### Gestione del bacino

Dopo che il suolo ha recuperato, utilizzare prodotti commerciali adatti dalle prime fasi della cultura per prevenire l'accumulo di grandi quantità di materia organica. Questi possono essere usati da soli o in combinazione con acqua. L'obiettivo è quello di ridurre la quantità di materia organica accumulata e possibilmente anche il potenziale serbatoio delle spore che, una volta ingerito, continuerà ad infettare i gamberetti.

## **Control is only by preventing infection**

Once the infection occurs, there is no known treatment. The spore is nearly indestructible. Some industry experts believe that the spores can withstand 50 years of drying, or 200 ppm of chlorine disinfectant. So if a hatchery or farm is infected drastic decontamination measures must be done before restocking if the infection is not to spread.

The infection starts with broodstock. If the broodstock comes in contact with the spore, all the nauplii it produces will carry a spore that will then infect the post larvae and then the farm.

If many farms in an area become infected, the waterways will carry the spores as well, and bring them into uninfected farms, or hatcheries or broodstock grow out ponds using the same water.

To prevent infection, the entire chain of custody must be clean.



## White Gut Disease (WGD) by Microsporidian infection of the abdominal muscles of Shrimps

Shrimps have purplish-mauve coloration on the cuticle and to have large white tumors or cysts in the muscle. Shrimps have a disease known as cotton or milk shrimp caused by a parasite infection of primarily the abdominal muscle. The muscle has a cottony appearance, which is externally visible as white opaque patchy areas under the carapace. The disease is caused by a severe infection of parasitic microsporidia. The white mass is not a cancerous tumor or cyst but is caused by hundreds of microscopic parasites. The presence of the parasite can elicit a host response by the shrimp that leads to a buildup of blue-black pigmentation in the cuticle.



# Fusariosi da *Fusarium* spp.

## Agente eziologico

La tassonomia del genere *Fusarium* (per la maggior parte riconducibile a forme imperfette di Ascomiceti), oltre ad essere complessa e discordante a seconda della classificazione seguita (Americana-Australiana o Europea), è in continua evoluzione.

*Fusarium* è un vasto genere di funghi che si riproducono per conidiospore. Le specie di *Fusarium* sono ampiamente diffuse nell'ambiente, nel suolo e sulle piante e sono riportate anche in organismi acquatici.

*Fusarium* spp. provocano malattia in gamberi marini e di acqua dolce.

Le specie che infettano i gamberi dulciacquicoli sono:

*Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. tabacinum*, *F. roseum* var. *culmorum*.

# EPIDEMIOLOGIA

*Fusarium* viene definito come agente patogeno opportunista del gambero d'acqua dolce.

La patogenicità del fungo può essere correlata a ferite dell'esoscheletro, ad inquinamento ambientale o fattori fisico-chimici sfavorevoli e stressanti, che diminuiscono le difese dell'animale.

Le condizioni che favoriscono l'infezione sono frequenti in acquacoltura. Alcuni autori suggeriscono che alcune specie o ceppi siano altamente patogeni.

L'isolamento e la caratterizzazione dei differenti ceppi può essere importante per valutare la virulenza nei diversi ospiti

In Europa, è stata segnalata malattia da *Fusarium solani* in *Austropotamobius leptodactylus* e *Pacifastacus leniusculus*, da *Fusarium oxysporum* in *Austropotamobius leptodactylus* ed *Austropotamobius pallipes*, da *Fusarium tabacinum* in branchie di *Austropotamobius pallipes* e da *Fusarium roseum* var. *culmorum* in gamberi turchi *Austropotampobius leptodactylus* con lesioni melanotiche branchiali durante episodi di mortalità.

Lahser (1975) ha segnalato *Fusarium* in gamberi nord americani, *Procambarus simulans simulans*, senza osservare lesioni, mentre Galuppi et al. (2002), hanno isolato *Fusarium* sp. in *Procambarus clarkii* e *Pacifastacus leniusculus* con e senza lesioni dell'esoscheletro.

Episodi di malattia causata da *Fusarium* spp. sono stati riportati in crostacei in Australia, per esempio *F. solani* nella rock lobster *Panulirus cygnus*, ma non sembrano essere stati riportati casi di infezione da *Fusarium* in gamberi d'acqua dolce australiani.



Infine Quaglio et al. (2008), hanno descritto *Fusarium* spp. in gamberi di fiume *Austropotamobius pallipes* in nord Italia, durante episodidi mortalità.



L'infezione da *Fusarium* può manifestarsi con lesioni sull'esoscheletro, branchie ed emocele. La presenza del fungo è accompagnata da depositi di melanina nella cuticola e nelle branchie; la malattia perciò viene definita Burn spot disease o malattia dell'addome bruno o "brown abdomen disease".



Makkonen et al. - Journal of Invertebrate Pathology 113 (2013) 184–190

La morte, in condizioni sperimentali, si può verificare anche dopo diversi mesi dall'infezione e la malattia può avere un decorso anche molto lungo e raggiungere il 100% di mortalità.

**La morte viene attribuita a disturbi fisiologici derivanti da interferenze con la muta, in seguito alla produzione di un'esotossina in grado di generare disturbi della pressione osmotica e del bilancio degli ioni sodio e cloruro nell'emolinfa.**

**Il tasso di mortalità può variare tra le specie di gamberi, le specie di *Fusarium* e se i gamberi sono feriti o in buone condizioni al momento dell'infezione.**

**Le mortalità aumentano in alcune condizioni di allevamento e durante o dopo una muta.**

**Infezioni batteriche secondarie possono contribuire alla morte del gambero.**



Figura 16 - *Fusarium* sp. isolato da lesioni dell'esoscheletro di *Procambarus clarkii*. Figura 17 – Fusariosi in gambero turco, *Astacus leptodactylus*; caratteristiche macchie brunastre a carico del telson e dell'ultimo segmento addominale.

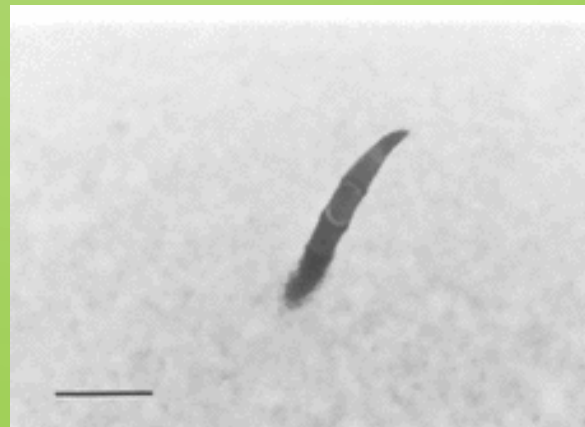
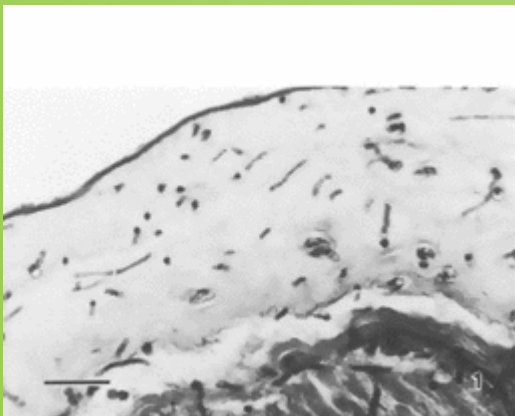
ITTIOPATOLOGIA, 2011, 8: 5-52

# ISTOLOGIA

Le infezioni sostenute da *Fusarium* spp. possono dare origine a lesioni dell'esoscheletro, branchie ed emocele. Nei gamberi d'acqua dolce, la regione più frequentemente colpita inizialmente è la faccia ventrale degli uropodi, ma in seguito le lesioni diffondono a cefalotorace, addome e branchie.

In infezioni di modesta entità la necrosi interessa il tessuto cuticolare, nei casi più severi i tessuti molli sottostanti l'esoscheletro.

Una reazione melanotica si sviluppa attorno alle ife fungine, formando vaste aree brunastre sulla cuticola ed un'intensa risposta infiammatoria nell'ipoderma e nei tessuti sottostanti. Gli aggregati di emociti determinano reazioni nodulari granulomatosi incapsulate o granulomi.

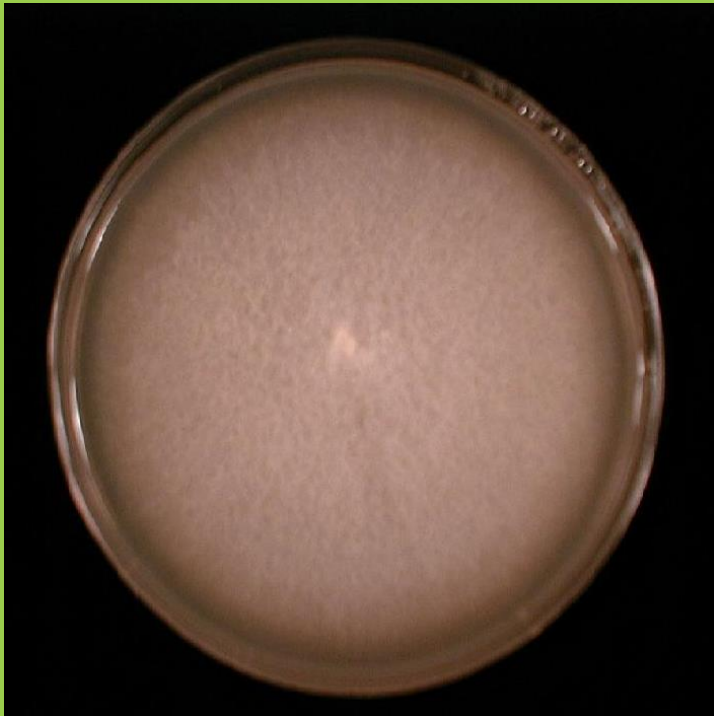


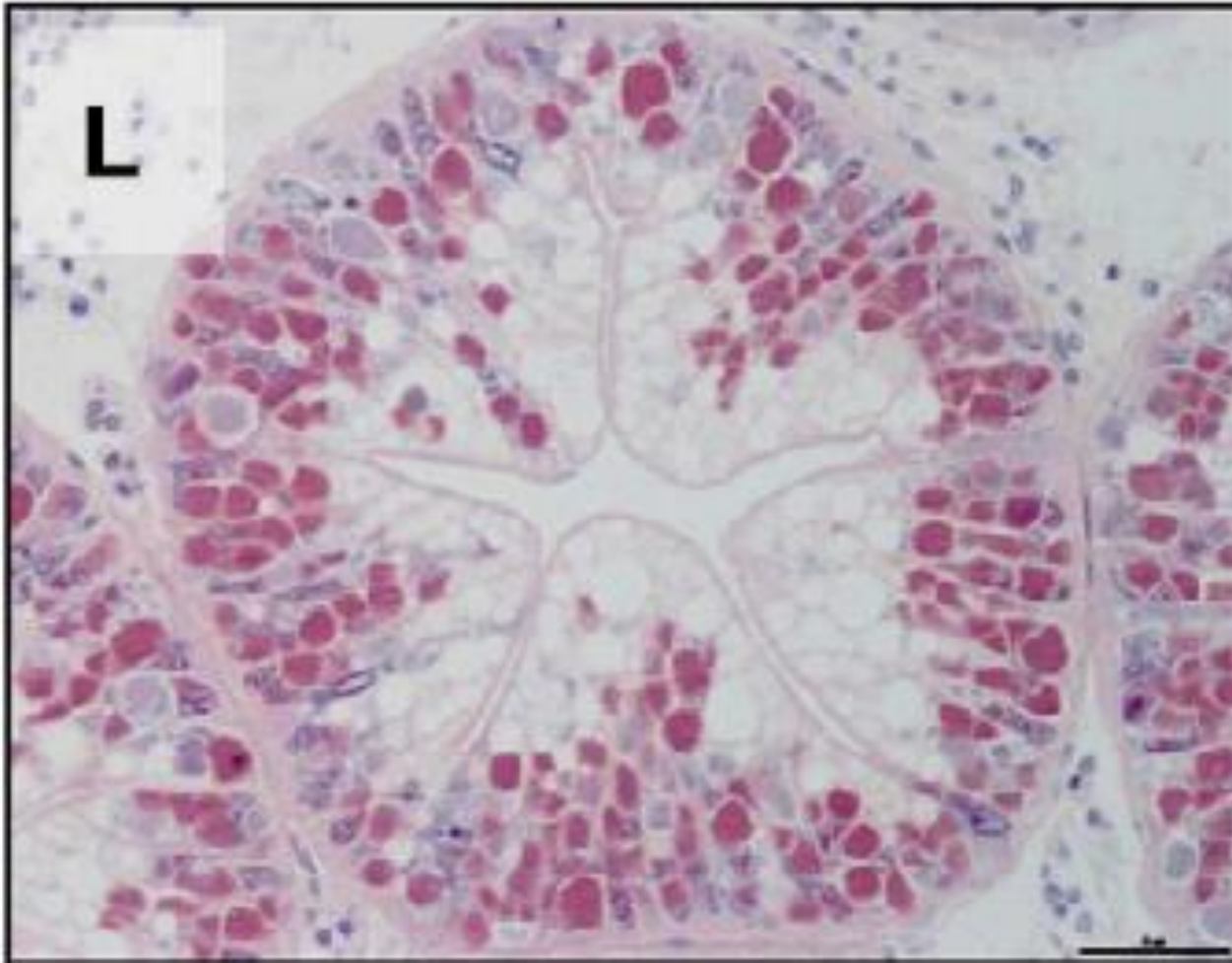


# Diagnosi

Gli isolati di *F. solani* sono ottenuti da inoculi in Agar Malto di porzioni di cuticola previo disinfezione con ipoclorito di sodio e soluzioni antibiotate, seguiti da incubazione a 25°C. Le colonie mostrano un colore rosato.

*F. tabacinum* può essere isolato anche su RGY agar con Streptomicina solfato e Pencillina G incubato a 16°C





Microsporidian pathogens such as *Hepatospora eriocheir* (Stentiford et al., 2011).