



**IZSAM G. CAPORALE
TERAMO**

Ruolo dei gamberi di acqua dolce alieni nella diffusione della afanomicosi e valutazione dei rischi alimentari



Cesare Cammà

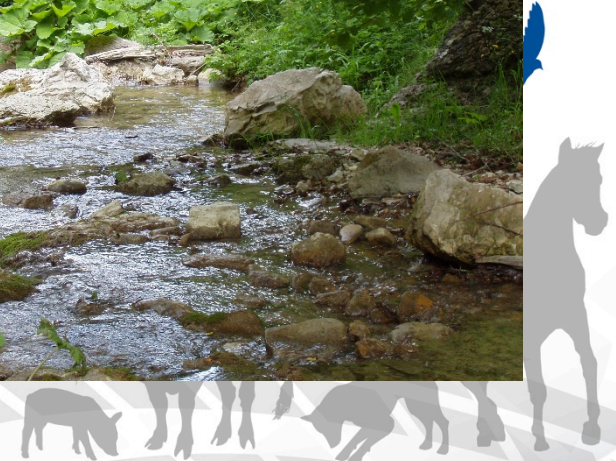
Teramo, 26 giugno 2020

Centro Internazionale per la Formazione e l'Informazione Veterinaria "F. Gramenzi" (CIFIV)

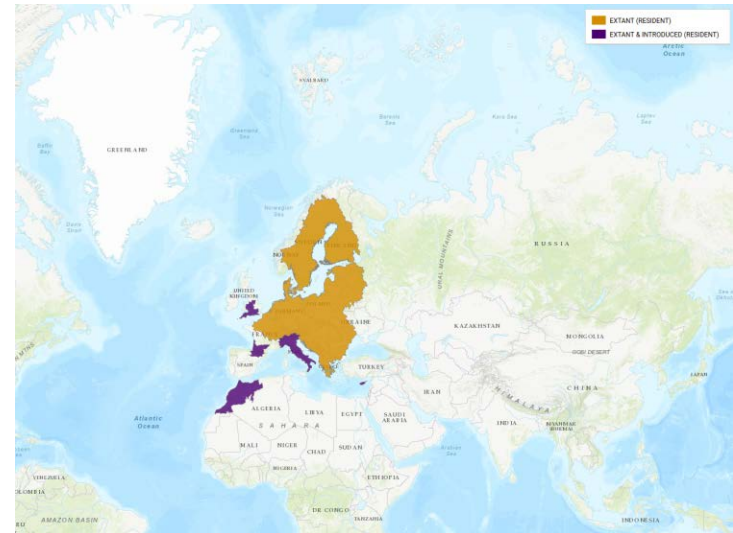
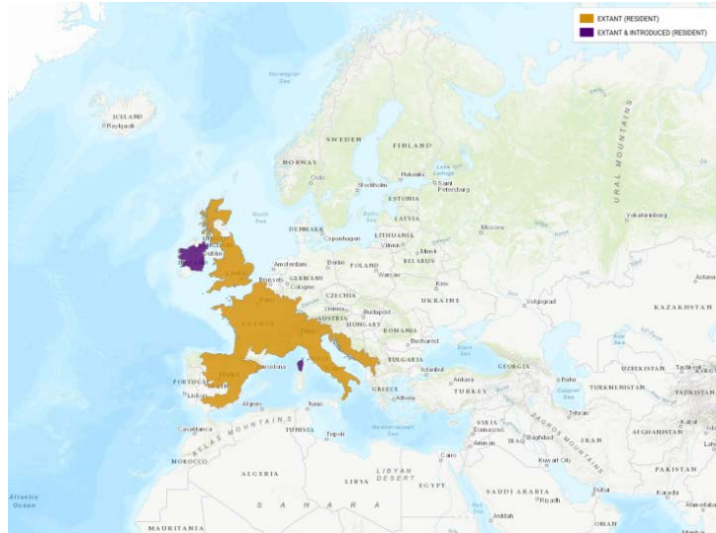


Il gambero di fiume

Austropotamobius pallipes



I gamberi nativi europei



Austropotamobius pallipes
Austropotamobius torrentium



Astacus astacus
*Pontastacus leptodactylus**
Astacus pachypus



Specie in pericolo e protetta

IUCN RED LIST

Direttiva Habitat

DIRETTIVA DEL CONSIGLIO

21 maggio 1992, 92/43/CEE e s.m.i.

Direttiva del Consiglio relativa alla conservazione degli habitat naturali e seminaturali e della flora e della fauna selvatiche.

(G.U.C.E. n. L 206 del 22 luglio 1992)

Il Consiglio delle Comunità europee,

visto il trattato che istituisce la Comunità economica europea, in particolare l'articolo 130 S,

vista la proposta della Commissione,

visto il parere del Parlamento europeo,

visto il parere del Comitato economico e sociale,

considerando che la salvaguardia, la protezione e il miglioramento della qualità dell'ambiente, compresa la conservazione degli habitat naturali e della flora e della fauna selvatiche, costituiscono un obiettivo essenziale di interesse generale perseguito dalla Comunità conformemente all'articolo 130 R del trattato;

considerando che il programma d'azione comunitario in materia ambientale (1987-1992) prevede disposizioni riguardanti la conservazione della natura e delle risorse naturali;

Allegato V

ARTHROPODA

CRUSTACEA - DECAPODA

Astacidae


Astacus astacus

Austropotamobius pallipes

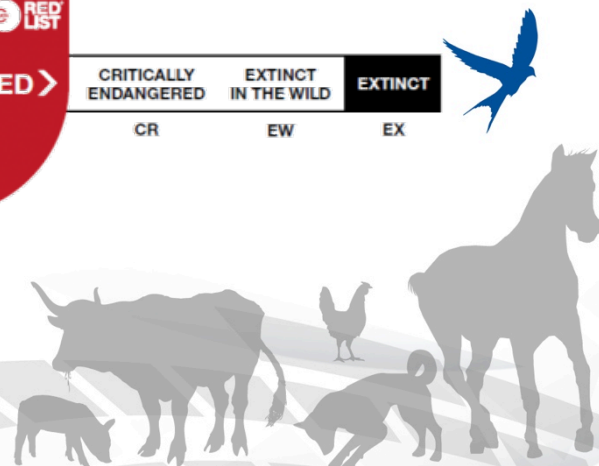
Austropotamobius torrentium

Scyllaridae


Scyllarides latus

The screenshot shows the IUCN Red List entry for the White-clawed Crayfish (*Austropotamobius pallipes*). It includes a search bar, a photo of the crayfish, and a citation: Füreder, L., Gherardi, F., Holdich, D., Reynolds, J., Sibley, P. & Souty-Grosset, C. 2010. *Austropotamobius pallipes*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2010: e.T2430A9438817. <http://dx.doi.org/10.2303/IUCN.UK.2010-3.RLTS.T2430A9438817.en>. Downloaded on 10 June 2019.



Cause del declino

- 
- Inquinamento
 - Distruzione degli habitat
 - Pesca fraudolenta e incontrollata
 - **Introduzione di specie aliene**



Pacifastacus lenisculus
(gambero della California)



Orconectes limosus
(gambero di fiume americano)



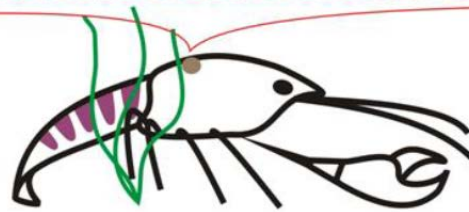
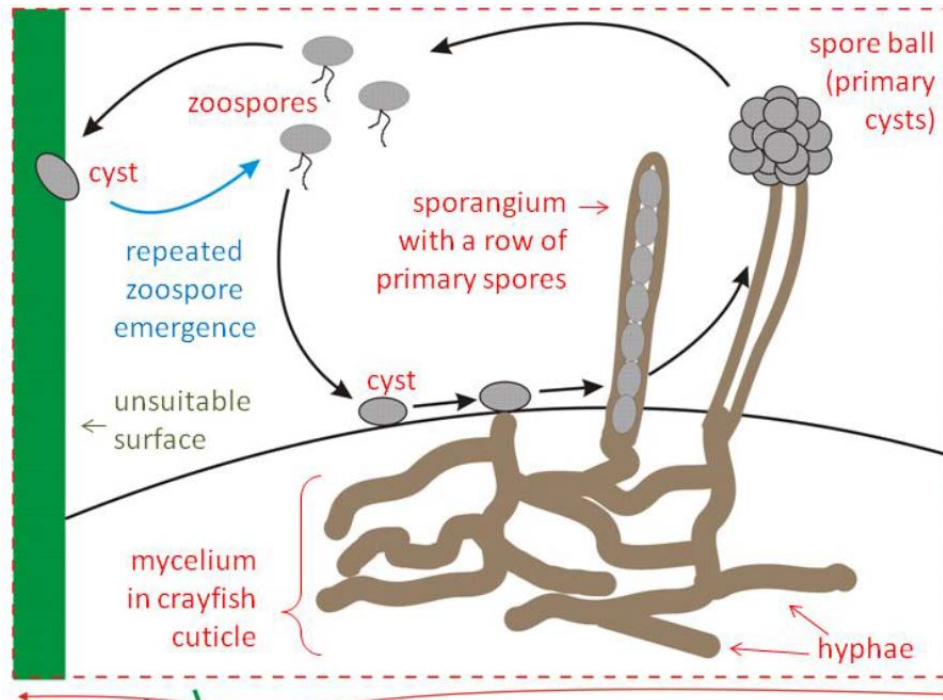
Procambarus clarkii
(gambero rosso della Louisiana)



Pontastacus leptodactylus
(gambero turco)

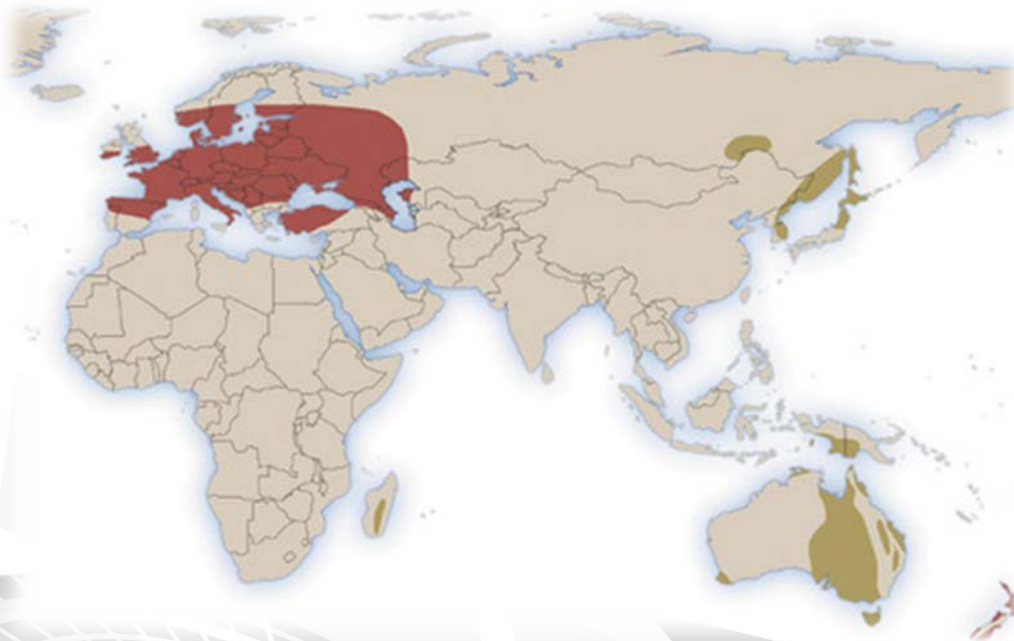
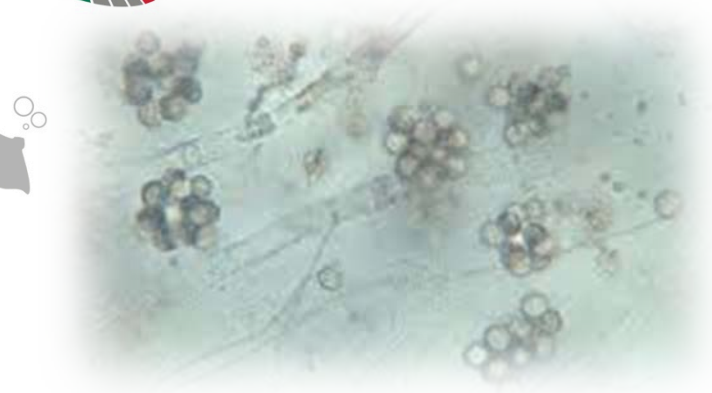


Aphanomyces astaci



Afanomicosi

- Crayfish plague
- Plaga de los crustaceos
- Peste des écrevisses
- Peste del gambero



CHAPTER 2.2.2.

INFECTION WITH *APHANOMYCES ASTACI*
(CRAYFISH PLAGUE)

➤ **Clinica di campo**

- segni clinici (perdita di coordinazione dei movimenti)
- cambiamenti comportamentali (visibili di giorno)

➤ **Clinica di laboratorio**

- lesioni patologiche macroscopiche
- lesioni patologiche microscopiche

➤ **Isolamento**

➤ **Metodi Molecolari**

- **Real Time PCR ITS (Vraslad et al. 2009)**





Invasive Species Compendium

Detailed coverage of invasive species threatening livelihoods and the environment worldwide

Filter by type ▾

Search

Abstract

Confirmation of crayfish plague in Italy: detection of *Aphanomyces astaci* in white clawed crayfish.

Abstract

In the summer of 2009, high levels of mortality among white clawed crayfish *Austropotamobius pallipes* were observed in 3 watercourses of central Italy. PCR and culture methods were used to detect the causative agent of the disease. Two strains of *Aphanomyces* spp. were isolated and identified by PCR and DNA sequencing as *Aphanomyces astaci* and *A. repetans*. This is the first crayfish plague outbreak in Italy to be confirmed by the isolation in culture of a pathogen from *Austropotamobius pallipes*.

Abstract details

Author(s)

[Cammà, C.](#); [Ferri, N.](#); [Zezza, D.](#); [Marcacci, M.](#); [Paolini, A.](#); [Ricchiuti, L.](#); [Lelli, R.](#)

Author Affiliation

Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise 'G. Caporale', Via Campo Boario Teramo, Italy.

Author Email

c.camma@izs.it

Journal article

[Diseases of Aquatic Organisms](#)
2010 89 3 265-268

ISSN

0177-5103

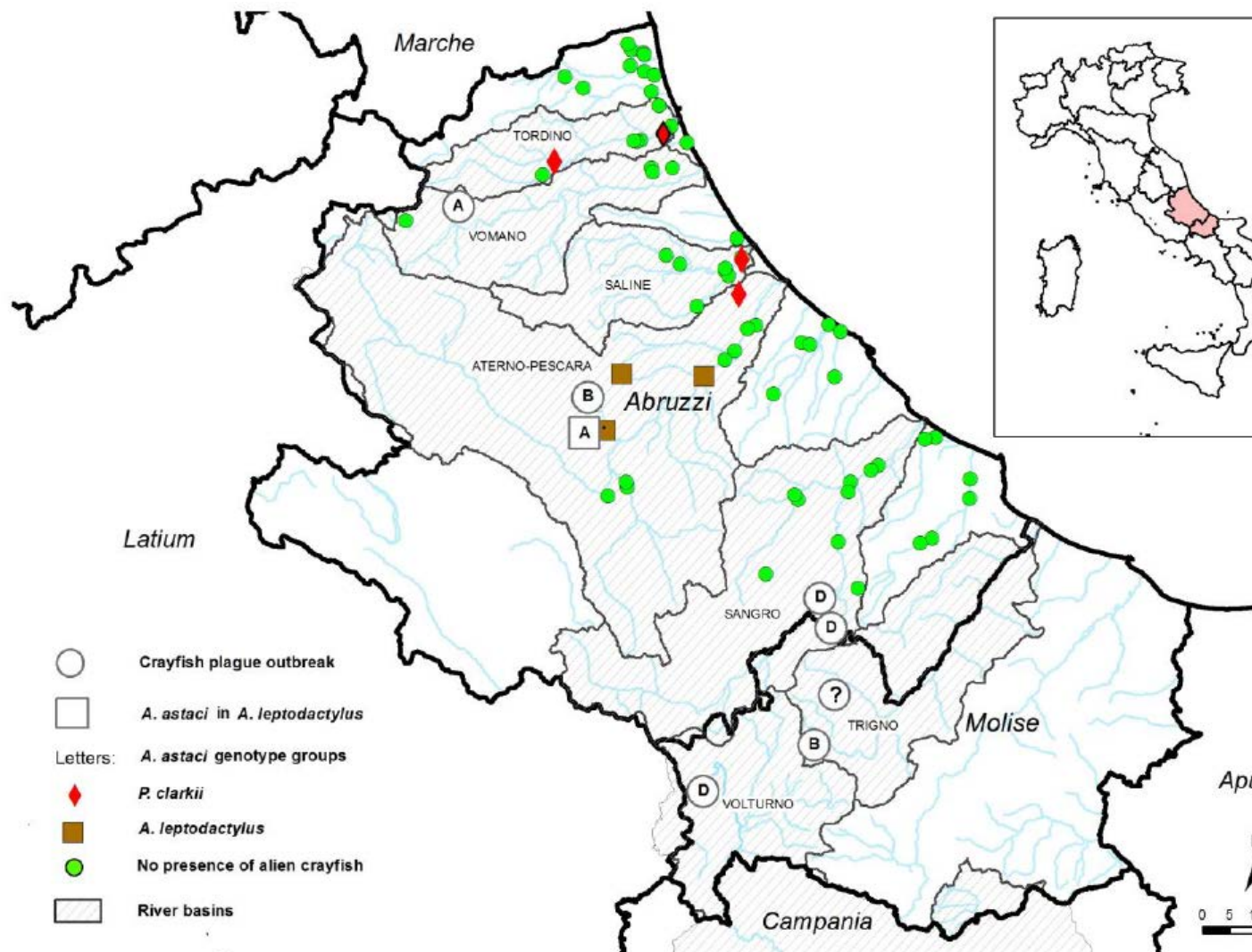


**Gamberi di acqua dolce alieni nelle regioni
Abruzzo e Molise: studio del loro ruolo quali
vettori della peste del gambero con approcci di
epidemiologia molecolare e valutazione dei
rischi legati al loro consumo alimentare**

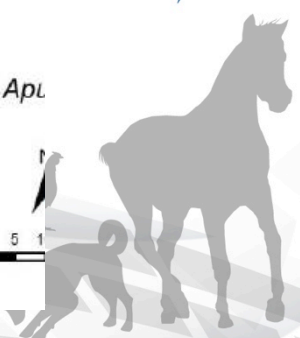




Monitoraggio e mappatura dei focolai di peste del gambero di peste del gambero



- Crayfish plague outbreak
- *A. astaci* in *A. leptodactylus*
- Letters: *A. astaci* genotype groups
- ◆ *P. clarkii*
- *A. leptodactylus*
- No presence of alien crayfish
- ▨ River basins






IZZAM
TERAMO

Monitoraggio della presenza di gamberi appartenenti a specie aliene

- 1) ITTICA VOLTURNO - IS (30 luglio 2018) 13 esemplari di gambero rosso
- 2) BACINO DEL FUCINO Lago di pesca sportiva (21 giugno 2018) 14 esemplari di gambero rosso
- 3) BACINO DEL FUCINO Corsi naturali (18 luglio 2018) 28 esemplari di gambero rosso
- 4) FIUME SALTO (18 luglio 2018) nessuna cattura
- 5) LAGO CERULLI – Spoltore (18 luglio 2018) 4 esemplari di gambero rosso
- 6) ITTICOLTURA BUSSI SUL TIRINO (18 luglio 2018) 10 esemplari di gambero turco
- 7) BACINO IDROGRAFICO FIUME TORDINO – laghetto artificiale (19 luglio 2018) oltre 70 esemplari di gambero rosso
- 8) LAGHETTO DELLA VILLA COMUNALE DI TERAMO (13 settembre 2018) 20 esemplari di gambero rosso





La caratterizzazione genetica di *A. astaci* consente di individuare l'origine dell'infezione e le possibili modalità d'introduzione del patogeno

- RAPD-PCR (Huang et al., 1994)
- **Microsatelliti** (Grandjean et al., 2014)
- Genotype-specific regions - PCR (Minardi et al., 2018)
- mtDNA - RFLP - Sequencing (Minardi et al., 2019)
- **Real-time PCR assays for rapid identification of *Aphanomyces astaci* genotypes (Di Domenico et al....)**



Genotype-specific carriers

B
C



Pacifastacus leniusculus
(gambero della California)

?



*Pontastacus
leptodactylus*
(gambero turco)

D

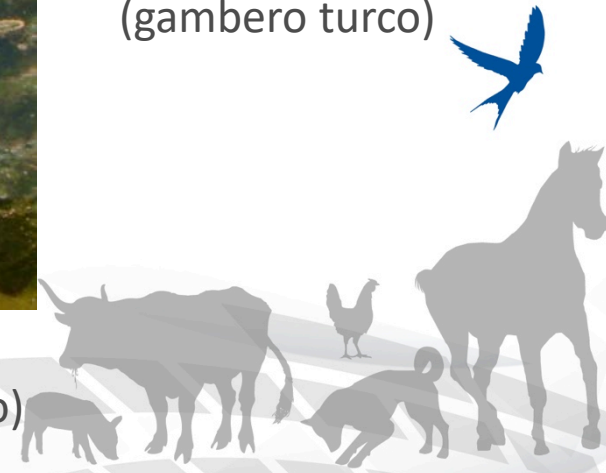


Procambarus clarkii
(gambero rosso della Louisiana)

E



Orconectes limosus
(gambero di fiume americano)



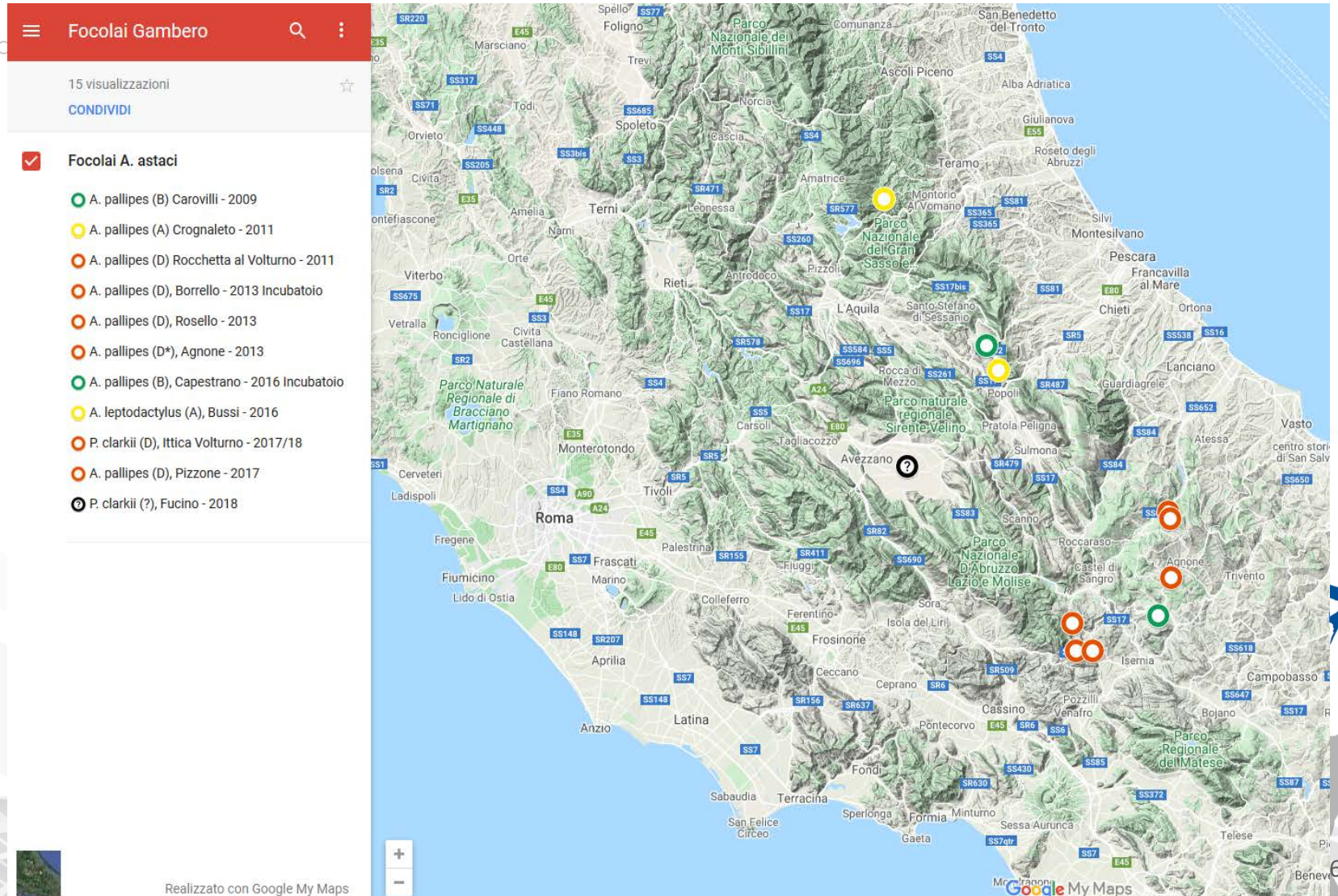
RealTime PCR basata sulle regioni uniche

Table 3. Direct genotyping on field samples

Host	Rivers/streams (Country code)	Year	Genotype group	ITS (Ct)	Agent level	Real-time PCR genotyping (Ct)				
						A	B	C	D	E
<i>A. astacus</i>	Olše (CZ)		A	27.5	A4	36.9				
<i>A. astacus</i>	Besének (CZ)		A	21.3	A5	34.6				
<i>A. astacus</i>	brook in Horní Pěna (CZ)		B	14.2	A7		22.6			
<i>A. astacus</i>	Černý brook (CZ)		B	11.8	A7		21.2			
<i>A. astacus</i>	Litavka (CZ)		E	18.3	A6					27.1
<i>A. astacus</i>	Zákolanský brook (CZ)		E	37.2	A2					
<i>A. torrentium</i>	Úpořský brook (CZ)		"Up"	16.4	A7		24.1			
<i>A. torrentium</i>	Úpořský brook (CZ)		"Up"	20.4	A6		25.5			
<i>A. torrentium</i>	Žebrákovský potok (CZ)		B	17.1	A7		24.5			
<i>A. astacus</i>	Rožnovská Bečva (CZ)		D	19.8	A6					26.8
<i>A. torrentium</i>	Kublovský brook (CZ)		D	13.7	A7					28.3
<i>A. astacus</i>	Stroupinský brook (CZ)		D	14.9	A7					22.1
<i>A. astacus</i>	Blanice (CZ)		A	16.6	A7	24.8				
<i>A. torrentium</i>	Radotínský brook (CZ)		E	16.6	A7					25.6
<i>A. pallipes</i>	Zingano brook (IT)	2011	A	31.0	A3	38.0				
<i>A. pallipes</i>	Zingano brook (IT)	2011	A	20.3	A6	27.0				
<i>A. pallipes</i>	Zingano brook (IT)	2011	A	25.9	A4	33.0				
<i>A. pallipes</i>	Zingano brook (IT)	2011	A	27.9	A4	34.0				
<i>A. pallipes</i>	Zingano brook (IT)	2011	A	26.3	A4	33.0				
<i>A. pallipes</i>	Zingano brook (IT)	2011	A	28.3	A3	35.0				
<i>A. pallipes</i>	Castelnuovo brook (IT)	2011	D	19.5	A6					27.0
<i>A. pallipes</i>	Castelnuovo brook (IT)	2011	D	16.9	A7					24.0
<i>A. pallipes</i>	Gamberale brook (IT)	2013	nd	31.4	A3					39.0
<i>A. pallipes</i>	Rio Verde brook (IT)	2013	D	16.8	A7					25.0
<i>A. pallipes</i>	Rio Verde brook (IT)	2013	D	24.0	A5					33.1
<i>A. pallipes</i>	Rio Verde brook (IT)	2013	D	19.9	A6					27.0
<i>A. pallipes</i>	Rio Verde brook (IT)	2013	D	14.7	A7					21.9
<i>A. pallipes</i>	San Leo Brook (IT)	2009	B	27.0	A4		36.0			



Valutazione dei fattori di rischio per la diffusione della peste del gambero



Valutazione dei rischi legati al consumo alimentare di gamberi alieni

Carica batterica mesofila e numerazione batteri fecali

Pool Id	Carica batterica mesofila totale (UFC/g)	Numerazione Streptococchi fecali (UFC/g)	Numerazione Coliformi (UFC/g)	Numerazione <i>E. coli</i> (UFC/g)	Numerazione Stafilococchi coagulasi positivi (UFC/g)
1	$1,2 \times 10^7$	<40	<10	<10	<10
2	$4,3 \times 10^5$	$7,3 \times 10^1$	<10	<10	<10
3	$8,3 \times 10^5$	$4,5 \times 10^2$	<10	<10	<10
4	$5,5 \times 10^5$	$4,5 \times 10^2$	<10	<10	<10
5	$1,8 \times 10^7$	$4,5 \times 10^3$	<10	<10	<10
6	$5,5 \times 10^5$	<10	<10	<10	<10
7	$4,4 \times 10^8$	$2,3 \times 10^6$	<10	<10	<10



Valori conformi



Valutazione dei rischi legati al consumo alimentare di gamberi alieni

Identificazione delle specie batteriche isolate

Pool Id	Specie non patogene	Specie patogene
1	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Hafnia alvei</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
2	<i>Escherichia hermannii</i> <i>Aeromonas sobria</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
3	<i>Proteus hauseri</i> <i>Citrobacter braakii</i> <i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Aeromonas sobria</i>	
4	<i>Aeromonas sobria</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Morganella morganii</i> ssp. <i>sibonii</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
5	<i>Aeromonas hydrophila</i> <i>Citrobacter braakii</i> <i>Aeromonas sobria</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Vibrio parahaemolyticus</i> <i>Listeria monocytogenes</i>
6	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Yokenella regensburgei</i>	<i>Vibrio cholerae</i> <i>Listeria monocytogenes</i>
7	<i>Raoultella planticola</i> <i>Aeromonas sobria</i> <i>Aeromonas veronii</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Kluyvera intermedia</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Serratia plymuthica</i> <i>Morganella morganii</i> ssp. <i>sibonii</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>

Non produttori di tossine



Naturalmente presente in ambienti dulciacquicoli



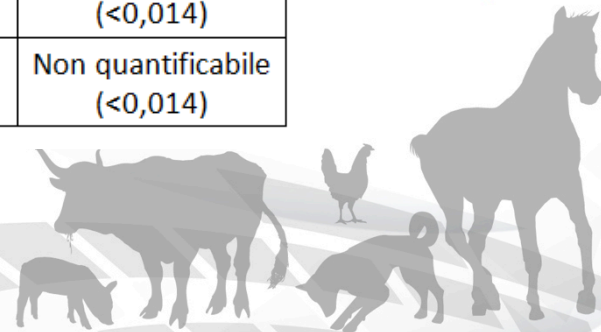
Valutazione dei rischi legati al consumo alimentare di gamberi alieni

Analisi chimiche per la determinazione dei metalli

Pool Id	Cadmio (mg/Kg)	Piombo (mg/Kg)	Arsenico (mg/Kg)	Cromo (mg/Kg)	Mercurio (mg/Kg)
1	0,022	0,040	ne	ne	0,014
2	0,0084	0,10	0,49	0,64	Non quantificabile (<0,014)
3	0,013	0,014	0,35	0,12	0,017
4	0,0067	0,093	0,39	0,21	Non quantificabile (<0,014)
5	0,0026	0,060	0,36	0,77	Non quantificabile (<0,014)
6	0,0087	0,22	0,15	0,33	Non quantificabile (<0,014)
7	0,0069	0,056	0,31	0,11	Non quantificabile (<0,014)



Tutti i valori sono al di sotto dei limiti di legge



Grazie

- Marco Di Domenico
- Valentina Curini
- Carla Giansante
- Riccardo Caprioli
- Francesco Pomilio
- Cristina Marfoggia
- Violeta Di Marzio
- Valeria Melai

- Adam Petrusek
- Agata Mrugala

