

Amtliche Methodensammlung

Infektion mit *Bonamia exitiosa*

1. Charakterisierung der Infektion
2. Untersuchungsmaterial
3. Untersuchungsgang

Infektion mit *Bonamia exitiosa*

1. Charakterisierung der Infestation

1.1 Erreger

Bonamia exitiosa ist ein einzelliger Parasit (2-5 µm) vom Phylum *Haplosporidia*, welcher eine Bonamiose-ähnliche Erkrankung bei Austern der Familie *Ostrea* verursachen kann. Der Parasit infiziert und zerstört die Hämozyten der Austern (Abbildung 1) und ist sehr selten als freier Erreger zu finden. Obwohl dieser Parasit als exotisch für die EU gilt, wurde er bereits in Spanien, Portugal und Italien nachgewiesen.

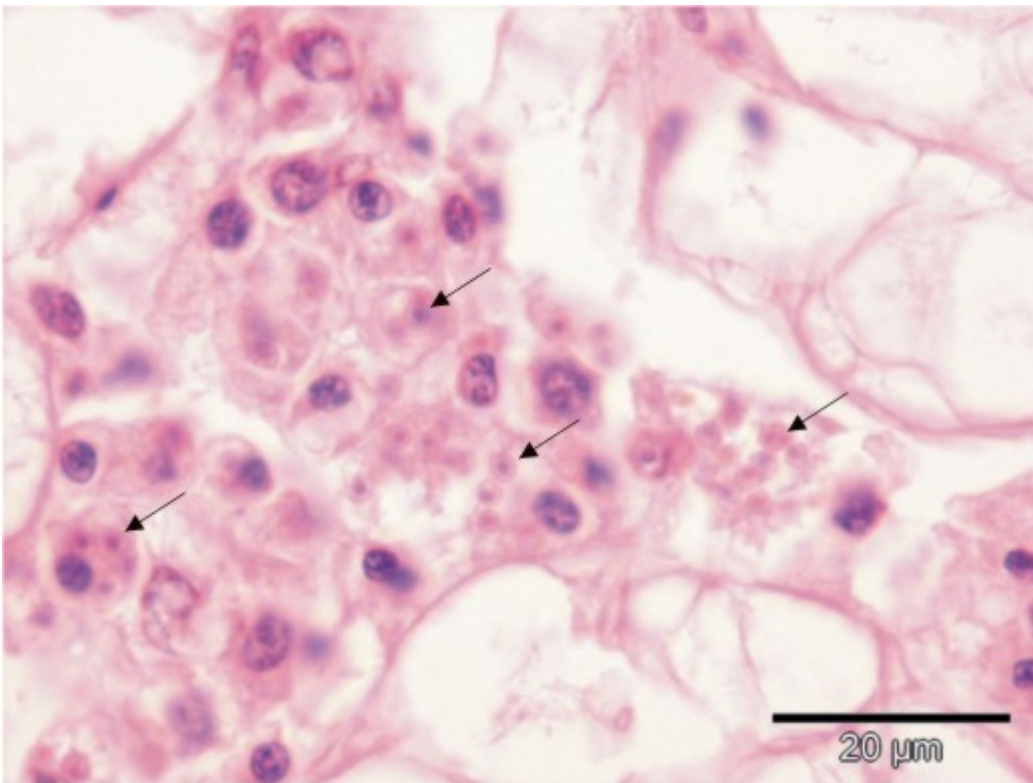


Abb. 1: *Bonamia exitiosa* - Parasiten in Hämozyten im Bindegewebe der Verdauungsdrüsen einer *Flachaster* aus Spanien (Galicia) (Hämatoxylin-Eosin (HE)-Färbung). (Bild EU-Referenzlabor Muschelkrankheiten)

Obwohl der Vermehrungszyklus des Parasiten nicht bekannt ist, kann dieser bei Experimenten wahrscheinlich über das Wasser von Auster zu Auster weitergegeben werden.

1.2 Klinische Symptomatik

Klinisch sind bei den meisten infizierten Austern keinerlei Zeichen zu erkennen. Offen stehende Schalen und von den Anheftungsmaterialien abgefallenen Austern weisen auf gestorbene Tiere hin.

Histologisch sind jedoch Läsionen im Bindegewebe der Austern in den Kiemen, im Mantel und zwischen den Verdauungsdrüsen zu finden. Wenn der Erreger sich systemisch verbreitet hat, stirbt die Auster.

1.3 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Infektionsmedizin, NRL für Muschelkrankheiten,
Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems, Tel. 0383517-0

1.4 Rechtsgrundlagen

- Richtlinie 2006/88/EG des Rates vom 24. Oktober 2006 mit Gesundheits- und Hygienevorschriften für Tiere in Aquakultur und Aquakulturerzeugnisse und zur Verhütung und Bekämpfung bestimmter Wassertierkrankheiten (ABl. EU Nr. L 328 S. 14)
- Fischseuchenverordnung und Verordnung zur Änderung der Verordnung über anzeigepflichtige Tierseuchen vom 24. November 2008 (BGBl. I S. 2315)

2. Untersuchungsmaterial

Für die Untersuchung werden die Schalen der Austern geöffnet und nach Durchtrennung des Schließmuskels, die gesamte Auster entfernt. Für alle mikroskopischen Methoden wird eine Vergrößerung von 100x empfohlen (Ölimmersion).

3. Untersuchungsgang

3.1 Histologie

Für die Histologie wird die Auster so geschnitten, dass möglichst alle Organe im Schnitt enthalten sind (Kieme, Mantel, Verdauungsdrüsen, Herz, Niere). Die Schnitte werden für mindestens 24 in Davidson's Solution fixiert und danach in Paraffin eingebettet. Vom Block werden 5 µm dicke Schnitte angefertigt und mit HE gefärbt (Abbildung 1).

3.2 Abklatschpräparate

Für die Darstellung im Abklatschpräparat wird der weiße Teil des Herzens der Auster mindestens 10 x auf einen Objektträger getupft (Abklatsch). Nach der Trocknung wird das Präparat mit Hämatoxylin-Eosin (HE) bzw. mit Haemacolor[®] angefärbt und mikroskopisch beurteilt.

Der Parasit wird nach Hemacolor[®]-Färbung mit eosinophilem Zytoplasma und basophilem Kern dargestellt.

3.3 PCR zum Nachweis des Parasiten

Für den molekularen Nachweis sind eine ganze Reihe von PCRs publiziert (z. B. Cochenec et al., 2000 [1] und Balseiro et al., 2006 [2]), die teilweise spezies-spezifisch bzw. parasiten-spezifisch sind. Detaillierte Information zu den Methoden werden vom EU-Referenzlabor in La Tremblade (Frankreich) bereitgestellt.

Infektion mit *Bonamia exitiosa*

3.4 Bestätigungsuntersuchung

Die histologischen Befunde und PCR-Ergebnisse können mit einer in-situ Hybridisierung ISH (Abbildung 3) bestätigt werden. Detaillierte Information zu den Methoden werden vom EU-Referenzlabor in La Tremblade (Frankreich) bereitgestellt. Die Methode ist auch geeignet um frühe Stadien der Infektion zu erkennen.

Literatur

- Cochenne, N., et al., *Detection of Bonamia ostreae based on small subunit ribosomal probe*. J Invertebr Pathol, 2000. 76(1): p. 26-32.
- Balseiro, P., et al., *Comparison of diagnosis techniques for the protozoan parasite Bonamia ostreae in flat oyster Ostrea edulis*. Aquaculture, 2006. 261(4): p. 1135-1143.