

Amtliche Methodensammlung

Infektion mit *Perkinsus marinus*

1. Charakterisierung der Infektion
2. Untersuchungsmaterial
3. Untersuchungsgang

Infektion mit *Perkinsus marinus*

1. Charakterisierung der Infestation

1.1 Erreger

Perkinsus marinus ist ein einzelliger Parasit (2-15 µm), welcher in ein neues Phylum *Perkinsozoa*, Superphylum *Alveolata*, zusammen mit den *Dinoflagellata* und *Apicomplexa*, eingeordnet wurde. Der Parasit scheint aber nahe verwandt den Dinoflagellaten zu sein. Er besitzt eine große Bedeutung für die Kulturen der Amerikanischen Auster (*Crassostrea virginica*). Die Pazifische Auster (*C. gigas*) kann infiziert werden, erkrankt aber nicht.

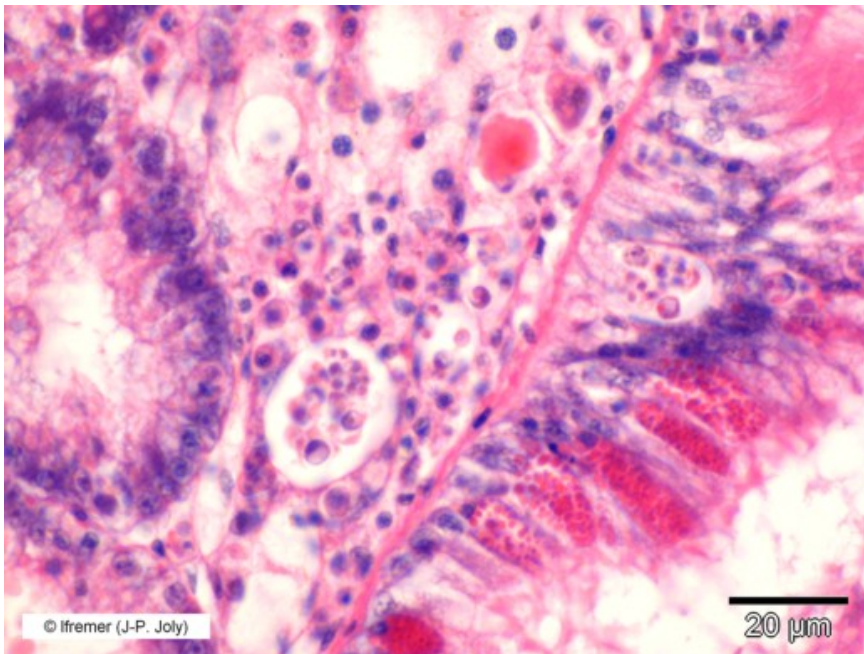


Abb. 1: *Perkinsus marinus* im Bindegewebe zwischen den Verdauungsdrüsen sowie im Epithel des Magens einer Amerikanischen Auster (*Crassostrea virginica*) (HE) (Bild EU-Referenzlabor Muschelkrankheiten, J-P Loly)

1.2 Klinische Symptomatik

Für die Perkinsose wird kein differenziertes klinisches Bild beschrieben. Ein Zeichen für die Infektion mit dem protozoären Parasiten *Perkinsus marinus* ist die stark erhöhte Mortalität in der betroffenen Muschel-Population. Histologisch stehen multifokale Läsionen im Epithel des Verdauungstraktes und im Bindegewebe im Vordergrund. In schweren Fällen der Infektionen können diese Gewebe komplett zerstört werden. Die Infektion wurde bis jetzt ausschließlich im nordamerikanischen Raum an der Ostküste (Main bis Karibik) beschrieben. Befallen werden die Austernarten *Crassostrea virginica*, *C. gigas*, *C. ariakensis* und *C. hizophorae*.

Infektion mit *Perkinsus marinus*

1.3 Zuständige Untersuchungseinrichtung

Friedrich-Loeffler-Institut, Institut für Infektionsmedizin, NRL für Muschelkrankheiten, Südufer 10, 17493 Greifswald-Insel Riems, Tel. 0383517-1150 (1103)

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 40 - 60x empfohlen.

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 Thioglykolat-Kultur

Der Parasit kann im Thioglykolat-Medium für 7-9 Tage angezüchtet werden. Detaillierte Information zur Methode werden vom EU-Referenzlabor in La Tremblade (Frankreich) bereitgestellt.

3.3 PCR

Für den molekularen Nachweis sind eine ganze Reihe von PCRs publiziert [1]. Detaillierte Information zu den Methoden werden vom EU-Referenzlabor in La Tremblade (Frankreich) bereitgestellt.

Infektion mit *Perkinsus marinus*

3.4 Bestätigungsuntersuchung

Die histologischen Befunde und PCR-Ergebnisse können mit einer in-situ Hybridisierung ISH, einer weiteren PCR und der Sequenzierung der PCR-Produkte bestätigt werden. Detaillierte Information zu den Methoden werden vom EU-Referenzlabor in La Tremblade (Frankreich) bereitgestellt.

Literatur

- Audemard, C., K.S. Reece, and E.M. Burreson, *Real-time PCR for detection and quantification of the protistan parasite Perkinsus marinus in environmental waters*. Applied and Environmental Microbiology, 2004. 70(11): p. 6611-6618.

Friedrich-Loeffler-Institut, Bundesforschungsinstitut für Tiergesundheit
Südufer 10, D-17493 Greifswald – Insel Riems, www.fli.bund.de