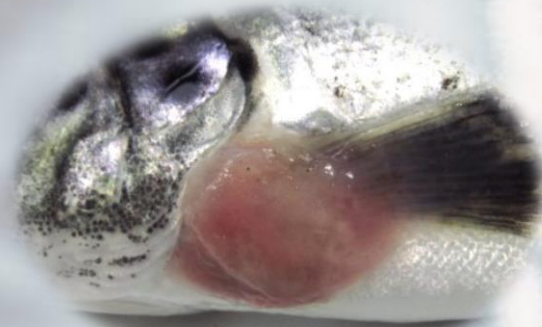


NOTA TÉCNICA N°9

Septiembre 2024



SAPROLEGNIOSIS: Aumentando los riesgos y desafíos con el cambio normativo. Diagnóstico, filogenia y factores que influyen su control



Elaborado por:
Área Asistencia Técnica & Área I+D+i
ADL Diagnostic Chile

INTRODUCCIÓN

La Saprolegniasis es una enfermedad relevante en la salmonicultura y es causada por varias especies del género *Saprolegnia*, como *S. australis*, *S. delica*, *S. diclina*, *S. ferax* y, especialmente *S. parasitica*, generando importantes pérdidas económicas en la fase de agua dulce, particularmente en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*).

Macroscópicamente, el signo clínico más común de esta patología es la presencia de estructuras blanquecinas superficiales de tipo “algodonoso” asociadas al crecimiento de micelios del hongo en la piel del pez, aletas y branquias.

La identificación clásica se basa, a la fecha, en la observación directa al microscopio de mucus o raspado de branquias, piel y aletas, indagando en las características morfológicas, como la presencia de hifas no septadas (Fig.1).

Desde 2021 a la fecha, en ADL Diagnostic Chile, del total de muestras analizadas provenientes de agua dulce, el 35,9% de los análisis efectuados han resultado en positividad para pseudohongos no tabicados consistentes con *Saprolegnia spp.*

Las matrices más infectadas por la colonización de este oomiceto incluyen aletas, piel y branquias (Fig.2) , siendo las branquias (70%) la matriz más afectada por este oomiceto (Gráf 1).

En cuanto a los cultivos microbiológicos (agar MAOA, agar SHIEH y agar TSA), las branquias correspondieron a la matriz en las cuales se obtuvo la mayor cantidad de aislados del agente patógeno (Gráf 2).

Estos resultados sugieren que *Saprolegnia spp.* tiene una alta afinidad por las branquias, lo que puede deberse a factores específicos de este tejido, como su mayor exposición al ambiente acuático, las propiedades nutritivas y la presencia de microlesiones que facilitan la colonización.

INTRODUCCIÓN

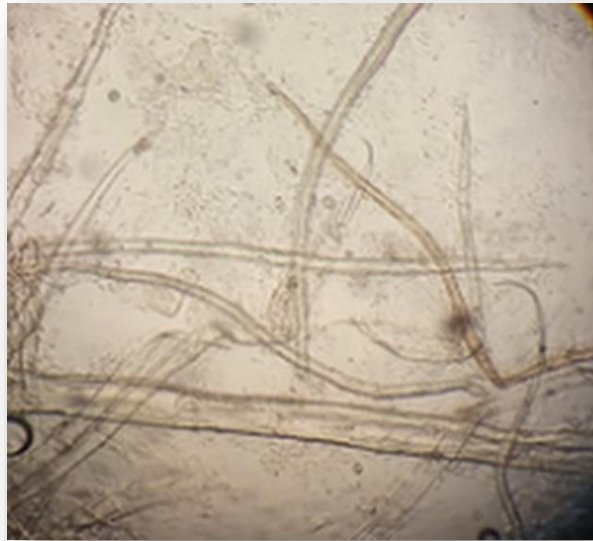


Figura 1. Hifas de oomiceto no septado sugerente de *Saprolegnia spp*, analizado mediante microscopía (directo a fresco)

Fuente: ADL

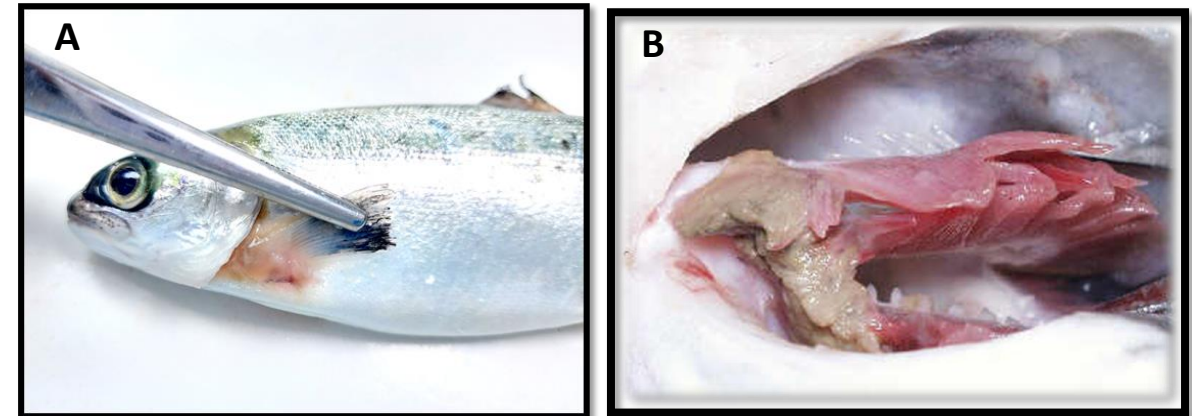


Figura 2

- A) Smolt de salmón del Atlántico con presencia de estructura algodonosa y erosión en base de aleta pectoral.
- B) salmón del Atlántico afectado por estructura algodonosa en branquias.

A y B sugerentes de *Saprolegnia spp*

Fuente: ADL

DATA CLINICA DE ADL (2021-2024)

DISTRIBUCIÓN DE MATRICES AFECTADAS

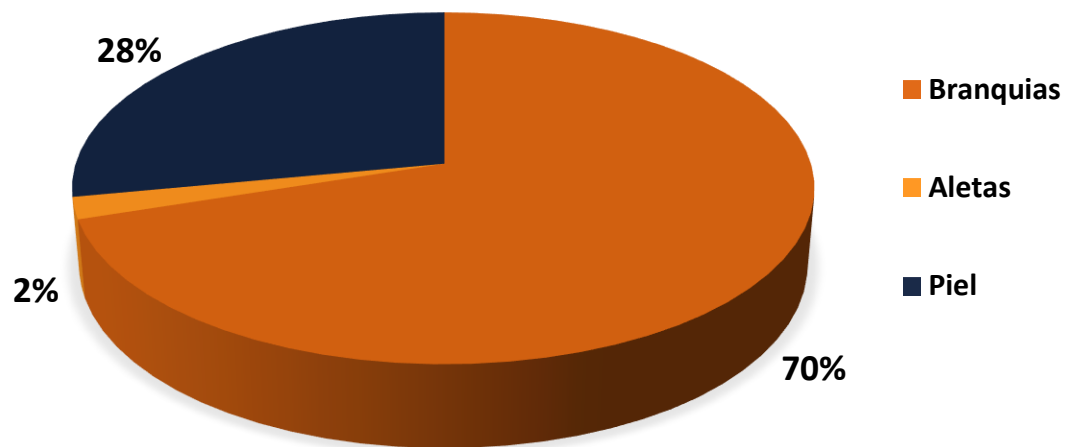


Gráfico 1. Distribución porcentual de matrices infectadas por presencia de hifas de oomiceto no tabicado sugerente de *Saprolegnia spp.*, diagnosticados por microscopía directa. 2021 a Sept 2024.

Fuente: Base de datos ADL

DISTRIBUCIÓN DE AISLADOS DE *SAPROLEGNIA SPP*

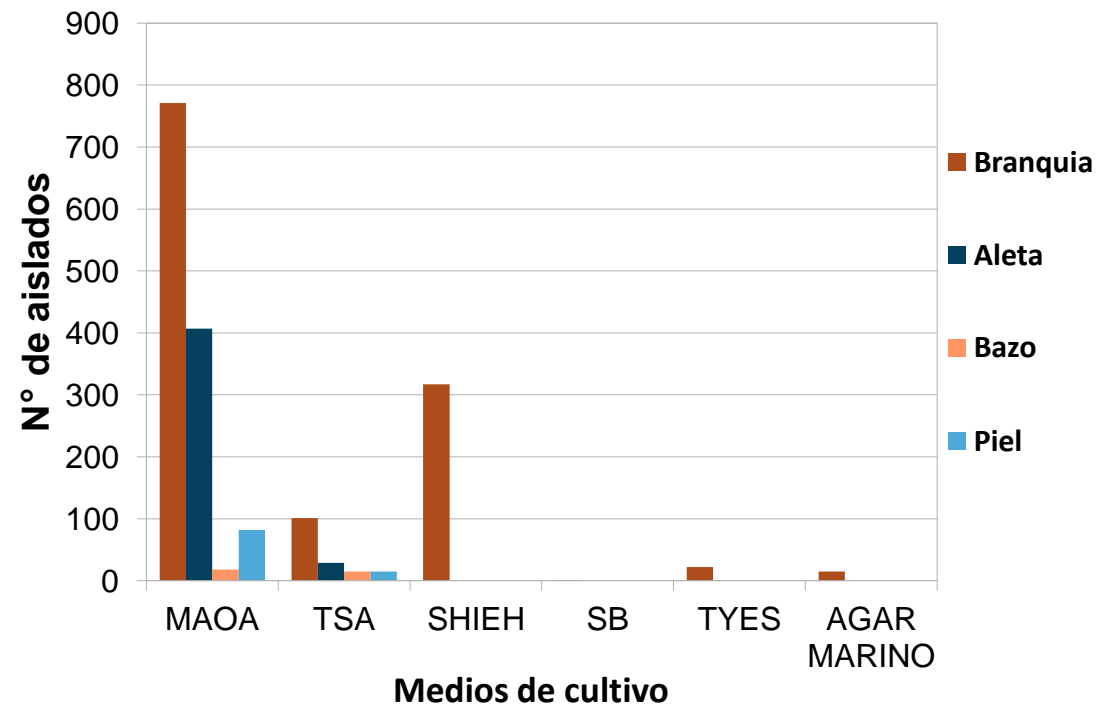


Gráfico 2. Número de aislados de *Saprolegnia spp.* en diferentes medios de cultivo según matriz afectada.

Fuente: Base de datos ADL.

FILOGENIA DEL AGENTE

Si bien de microscopía (directo a fresco, wet mount) posibilita detectar la presencia de este agente y su morfología, no permite discriminar entre diferentes especies de *Saprolegnia*, especialmente en casos donde el diagnóstico basado en la signología y observaciones microscópicas no es concluyente. Por tal motivo, es necesario disponer de técnicas de identificación más sensibles y específicas que permitan la detección temprana de esta enfermedad.

La filogenia del género *Saprolegnia* es compleja y sigue en desarrollo, con errores frecuentes en la clasificación y caracterización de las especies antes de la introducción de técnicas moleculares con las cuales se ha mejorado la clasificación de este agente y reevaluado su filogenia.

Se han descrito 23 clústeres de *Saprolegnia* basados en la secuenciación genética de la región ITS (*Internal Transcribed Spacers*) del ADN ribosómico nuclear.

Recientemente, Shreves et al. (2024) analizaron la región ITS de hongos aislados de peces y muestras de agua, identificando cinco filotipos de *S. parasítica*: S2, S3, S4, S5 y S6, siendo el filotipo S2 y S6 los más abundantes. Específicamente, la región ITS2 presenta un nivel de polimorfismo que permite distinguir entre especies.

En Chile, en el 2014 (Sandoval- Sierra et al), ya se habían descrito los filotipos *sp 1* y *sp 2* (*sp 1* y *sp 2* es homólogo a S1 y S2), además de S3, S4, S5 y S6, que también fueron identificados en el estudio mencionado previamente.

En Escocia (2024), el filotipo S2 representó el 91,1% de todas las cepas aisladas, mientras que en Chile alcanzó el 97,3% de todas las cepas muestreadas en salmón del Atlántico.

Por otro lado, el filotipo S6 no fue aislado durante los periodos epizoóticos, lo que sugiere que la patogenicidad varía entre los aislados de *S. parasítica*.

VIRULENCIA DEL AGENTE

La virulencia de un agente es la capacidad que tiene un microorganismo de causar daño a su anfitrión. Stueland et al (2005) identificaron diferencias significativas en la virulencia de diversas cepas de *Saprolegnia* obtenidas desde países como Noruega, Japón, Chile, Escocia y Canadá y, además, concluyeron que la tasa de crecimiento inicial de los quistes germinativos en agua pura, asociado a la presencia de características morfológicas, podrían influir en la virulencia de las cepas de *Saprolegnia* en el salmón del Atlántico. Esto sugiere que las cepas de *Saprolegnia* de estos países comparten en gran medida el mismo material genético.

Por otro lado, Elameen et al (2021) señalaron que existe una relación entre la susceptibilidad variable del salmón del Atlántico y la diversidad molecular de las cepas de *Saprolegnia*.

Es importante mencionar que la patogenicidad varía también según otros factores, tales como las condiciones ambientales específicas (González., et al, 2001), estadio de los peces (Bruno & Stamps, 1987), estrés (Brown & Bruno, 2002), lesiones o abrasiones previas (Moreno, 2023) y la competencia microbiana (Campillay, 2007), entre otros.

Una serie de factores relevantes que influyen la mayor o menor presencia de *Saprolegnia*, su multiplicación, su virulencia y patogenicidad de los casos clínicos, obedece a una serie de factores que al conocerlos mejor evidentemente aumenta las posibilidades de una buena prevención y control.



Figura 3. Factores que influyen la infección, patogenicidad y control de Saprolegniosis

CONSIDERACIONES FINALES



Actualmente, el potencial adaptativo y la gran variedad de filotipos de *S. parasitica* sugiere un importante desafío para la industria salmoniculora debido a la escasa información y actualización que existe acerca de la prevención y tratamiento de este cuadro, en especial con la prohibición del uso de formalina. Por lo anterior, es necesario realizar identificaciones específicas que permitan conocer los distintos agentes que producen micosis, así como las condiciones del agua que podrían influenciar su desarrollo (ej. temperaturas específicas, dureza, pH), y la respuesta frente a los escasos agentes antimicóticos disponibles en el mercado.

En ese sentido, ADL ha elaborado **nuevos protocolos de qPCR en tiempo real para diagnóstico**. Se trabajó en la identificación específica de *S. parasitica* al adaptar el protocolo de PCR convencional de Pavic et al. (2022) mediante la mejora en la purificación de ácido nucleico a partir del cultivo en placas de agar.

Por otra parte, respecto de las evaluaciones de productos antimicóticos, durante el primer semestre de 2024 se desarrolló un **nuevo método *in vitro* de naturaleza cuantitativa para la evaluación de la eficacia de los productos frente a *S. parasitica***. Tal como ocurre con una concentración inhibitoria mínima (CIM) para bacterias, esta metodología permite obtener la mínima concentración del producto antifúngico que inactiva el agente.

En este mismo contexto, actualmente en el Centro Experimental de TEKBios, se están **desarrollando, implementando y estandarizando los procedimientos que permiten evaluar *in vivo* la eficacia de los productos antifúngicos**; metodologías que serán exigidas para registrar los productos que reemplazarán la formalina. Los resultados a la fecha han sido prometedores.

Finalmente, cabe destacar que ADL cuenta con un amplio cepario de aislados de *S. parasítica*, con material que ha sido obtenido de casos clínicos confirmados mediante RT-PCR específica.

REFERENCIAS

1. Bruno, D. W., & Stamps, D. J. (1987). Saprolegniasis of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., fry. *Journal of Fish Diseases*, 10(6) <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1987.tb01104.x>
2. Brown, L. L., & Bruno, D. W. (2002). Infectious diseases of coldwater fish in fresh water. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20023191650>
3. Ojeda, A., Yuivar, Y., Grandón, M., Grothusen, H., Bustos, P., Mancilla, M., Ojeda, A., & Yuivar, Y. (2024). Desarrollo de un método molecular para identificación de *Saprolegnia parasitica* y comparación con el diagnóstico tradicional. *Salmonexpert*, 123, 40-43. https://salmonexpert.buyandread.com/next/reader.htm?pub=salmonexpert&back=hide&accessUrl=https%3A%2F%2Fsalmonexpert.buyandread.com%2Fframe%2Fread.htm%3Fpub%3Dsalmonexpert%26lang%3Den%26back%3Dhide&js_bar_token=apCBAJFyClAbvkOkyUyvhdnZCxb1xCl&lang=en
4. Campillay Alarcón, R.G. (2007). Antagonismo biológico de cepas bacterianas contra *Saprolegnia* spp., agente causal de micosis en peces. Memoria de título. Universidad Austral de Chile. <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fvc196a/doc/fvc196a.pdf>
5. Diéguez-Uribeondo, J., Fregeneda-Grandes, J. M., Cerenius, L., Pérez-Iniesta, E., Allergancedo, J. M., Tellería, M. T., ... & Martín, M. P. (2007). Re-evaluation of the enigmatic species complex *Saprolegnia diclina*–*Saprolegnia parasitica* based on morphological, physiological and molecular data. *Fungal Genetics and Biology*, 44(7), 585-601 <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2007.02.010>
6. Elameen, A., Stueland, S., Kristensen, R., Fristad, R. F., Vrålstad, T., & Skaar, I. (2021). Genetic Analyses of *Saprolegnia* Strains Isolated from Salmonid Fish of Different Geographic Origin Document the Connection between Pathogenicity and Molecular Diversity. *Journal of Fungi* (Basel, Switzerland), 7(9), 713. <https://doi.org/10.3390/jof7090713>
7. González de Canales, M. L., Bosco Ortiz, J., González del Valle, M. A., & Sarasquete, C. (2001). Saprolegniasis en poblaciones naturales de peces. *Ciencias Marinas*, 27(1), 125-137 Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=48027108>
8. Moreno, P. (2023). Oomicosis en salmónidos (Salmonidae) y pejerrey patagónico (*Odontesthes hatcheri*) de cultivo en la provincia del Neuquén (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata) <https://doi.org/10.35537/10915/150994>
9. Pavić, D., Grbin, D., Hudina, S., Prosenec Zmrzljak, U., Miljanović, A., Košir, R., ... & Bielen, A. (2022). Tracing the oomycete pathogen *Saprolegnia parasitica* in aquaculture and the environment. *Scientific reports*, 12(1), 16646 doi.org/10.1038/s41598-022-16553-0
10. Sandoval-Sierra, J. V., Latif-Eugenin, F., Martín, M. P., Zaror, L., & Dieguez-Uribeondo, J. (2014). *Saprolegnia* species affecting the salmonid aquaculture in Chile and their associations with fish developmental stage. *Aquaculture*, 434, 462-469 doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.005
11. Shreves KV, Saraiva M, Ruba T, Miller C, Scott EM, McLaggan D, van West P. Specific phlotypes of *Saprolegnia parasitica* associated with atlantic Salmon freshwater aquaculture. *Journal of Fungi* (Basel). 2024 Jan 9;10(1):57. <https://doi.org/10.3390/jof10010057>
12. Stueland, S., Hatai, K., & Skaar, I. (2005). Morphological and physiological characteristics of *Saprolegnia* spp strains pathogenic to Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Journal of fish diseases*, 28(8), 445-453 doi.org/10.1111/j.1365-2761.2005.00635.x