

WP4: Salud. Enfermedades Recurrentes y Emergentes

Grupo: Patología de Peces

IATS, CSIC

IP1: Ariadna Sitjà Bobadilla, IP2: Carla Piazzon
IATS, CSIC. Contratada Ramón y Cajal. IP2



think in azul

This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.11) and by *Generalitat Valenciana*



Descripción del Grupo de Trabajo



Ariadna Sitjà Bobadilla: Prof. Investigación

Oswaldo Palenzuela: Cientif. Titular

Carla Piazzon: RyC

Itziar Estensoro: Postdoc contratada

Enrique Riera Ferrer: FPI

Socorro Toxqui Rodríguez: MSCA-ITN

Raquel Del Pozo: Técnico PTA

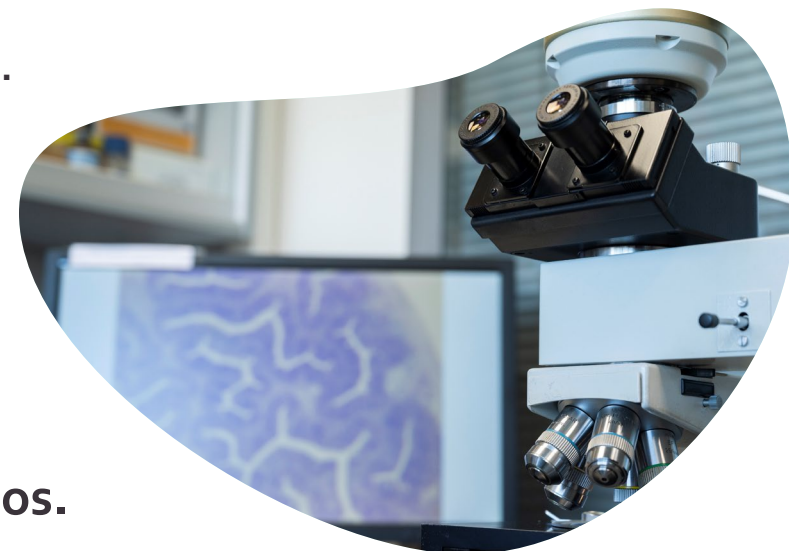


This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



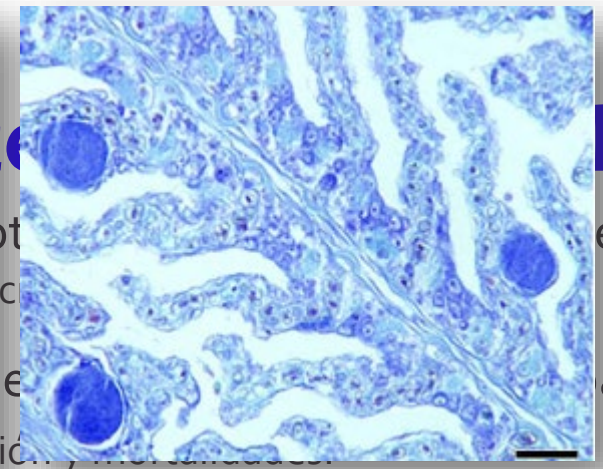
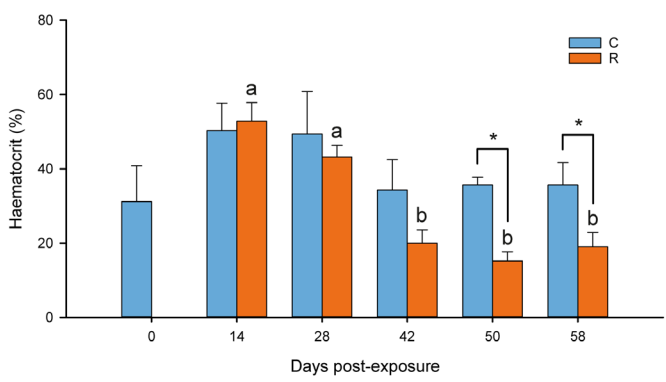
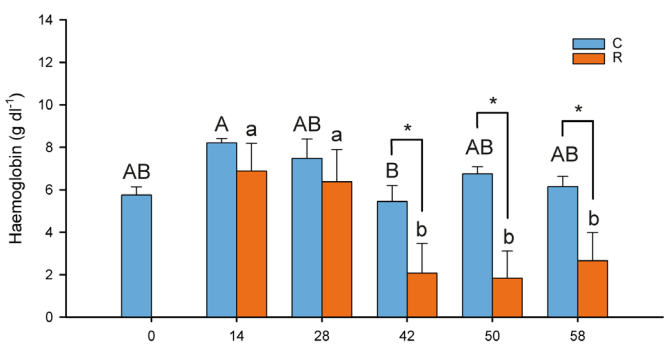
Objetivos y tareas

- **Objetivo 4.1 Nuevas patologías emergentes.**
 - Tarea 4.1.1 – Creación de protocolos para toma, envío, recepción y análisis de muestras.
 - Tarea 4.1.2 – Identificación de nuevos patógenos y sus patologías.
 - Tarea 4.1.3 – Nuevos métodos moleculares de diagnóstico y detección de patógenos.
 - Tarea 4.1.4 – Mejora de tests de diagnóstico de enfermedades parasitarias.
 - Tarea 4.1.5 – Detección alternativa de patógenos.
- **Objetivo 4.2 Ciclos vitales de patógenos de peces.**
 - Tarea 4.2.1 – Identificación ciclos vitales de parásitos de peces, vectores y reservorios.
- **Objetivo 4.3 Nuevas vacunas contra patógenos.**
 - Tarea 4.3.1 – Desarrollo de una vacuna de DNA frente a *Enteromyxum leei*.
- **Objetivo 4.4 Métodos alternativos de tratamiento y control de patógenos.**
 - Tarea 4.4.1 – Desarrollo de métodos de control de enfermedades parasitarias.
 - Tarea 4.4.3 – Evaluación del potencial microcida del agua electrolizada.
- **Objetivo 4.5 Creación de REMEDISA.**
- **Objetivo 4.6 Divulgación y transferencia.**
- **Objetivo 4.7 Formación de personal.**

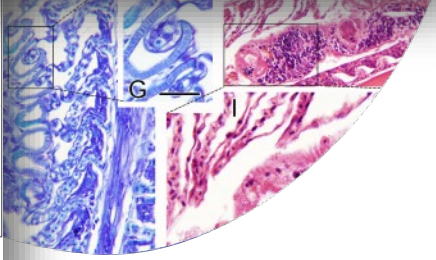
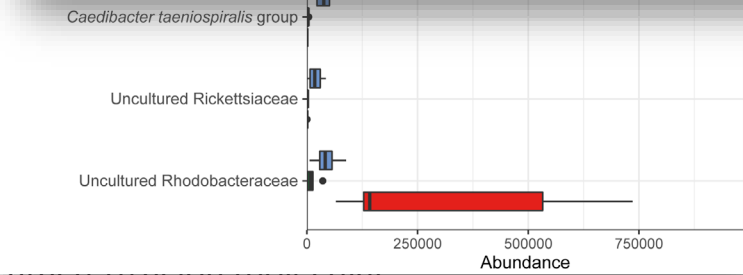


This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*





y mixosporidio
 uencia de microsporidio. No se consiguió
 microscopía electrónica.
 e reciben muestras en formol).
 ue podría ser *Sphaerospora*. No se puede
 muestras para microscopía electrónica y caracterización molecular.



• Patología *Sparicotyle chrysophrii* (Modelo de infección experimental)

- Descripción en detalle de parámetros hematológicos, de crecimiento e histopatológicos (Riera et al., 2023).
- Detección de infección secundaria bacteriana en infecciones de alta intensidad (histología y microbiota).
- Correlación datos de RNAseq, proteómica y microbiota → Separación de efectos por infección primaria y secundaria.
- Se está trabajando en la descripción del aparato digestivo del parásito (microscopía electrónica – colab. UV3), demostrar hematofagia mediante localización de células sanguíneas de pez o sus residuos (tinción de Fe/hemoglobina).
- Procesos enzimáticos que necesita el parásito para captación y detoxificación de grupos hemo (*in silico*).

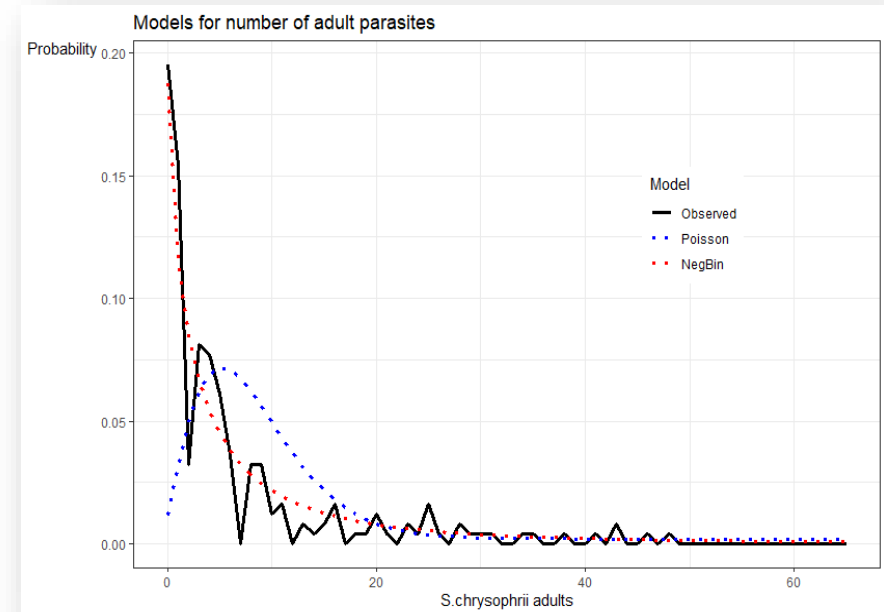
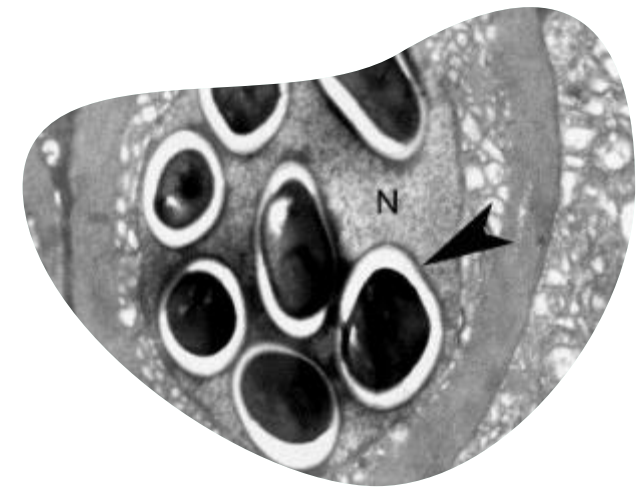


This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.11) and by Generalitat Valenciana

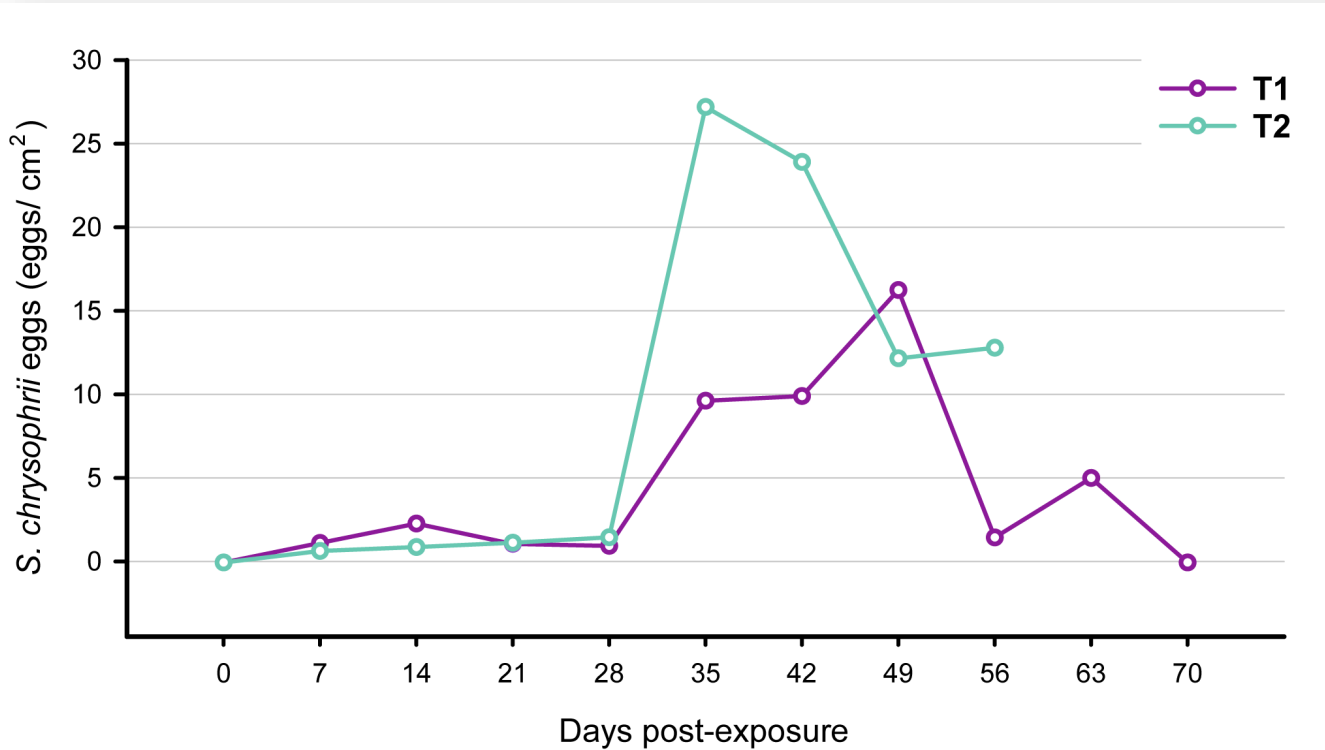


Resultados obtenidos hasta el momento

- Tarea 4.1.3 – Nuevos métodos moleculares de diagnóstico y detección de patógenos.
 - Se han rediseñado tests para multiplex con sondas TaqMan con varias combinaciones para *Enteromyxum* y *Enterospora*. Hay varias sondas validadas.
 - Otros parásitos: búsqueda activa de material para ampliar multiplex (ej. Coccidios).
- Tarea 4.1.4 – Mejora de test de diagnóstico de enfermedades parasitarias.
 - Desviación.
- Tarea 4.1.5 – Detección alternativa de patógenos.
 - Se enviaron a UPV1 muestras e información sobre sondas y secuencias de *Enterospora*.
 - Se está terminando un modelo predictivo de infección con *S. chrysophrii* mediante muestras no letales de sangre y determinación de hemoglobina.



Resultados obtenidos hasta el momento



es, vectores y reservorios.

ados de dorada para comprobar si se establece el parásito.

os débiles.

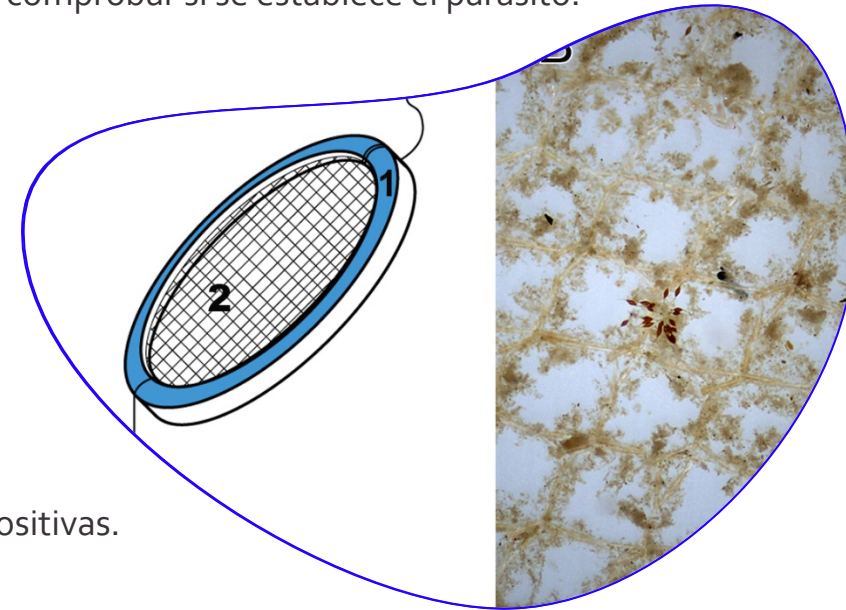
stología y qPCR.

, 48 y 72h; 1 y 2w).

y órganos linfoides.

mpos.

las muestras más positivas.



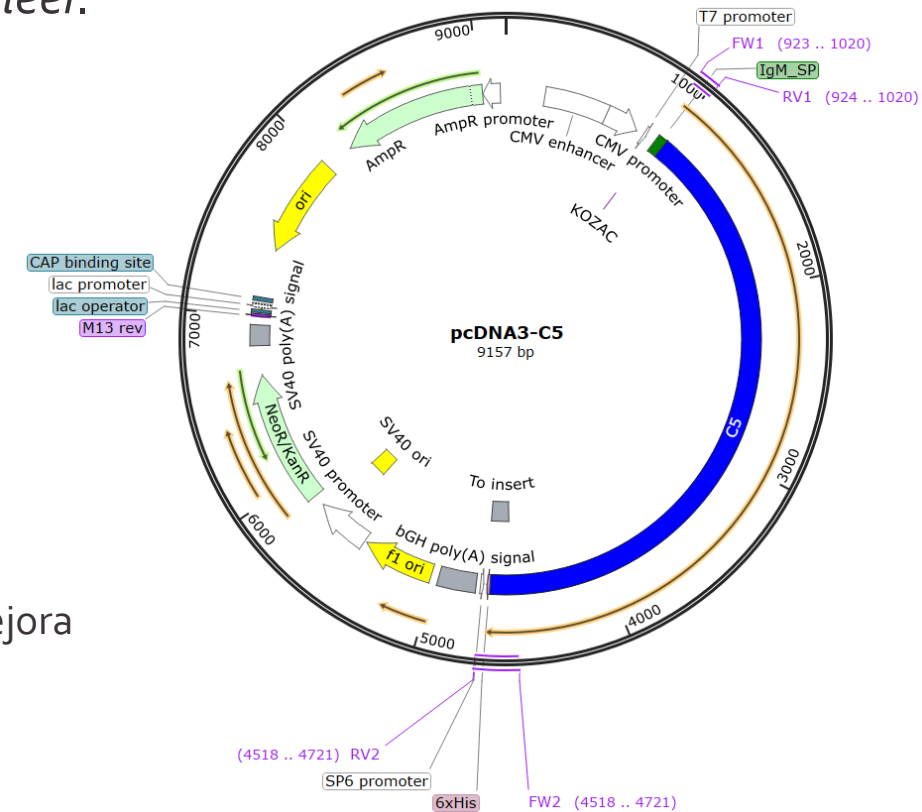
- Detalles de la dinámica del ciclo vital de *S. chrysophrii*
 - Se optimizó un protocolo de mantenimiento *in vivo* experimental que cierra el ciclo (Riera et al., 2023).
 - Picos de aparición de adultos y producción de huevos (colectores) dependientes de temperatura.

Resultados obtenidos hasta el momento

- Tarea 4.3.1 – Desarrollo de una vacuna de DNA frente a *Enteromyxum leei*.

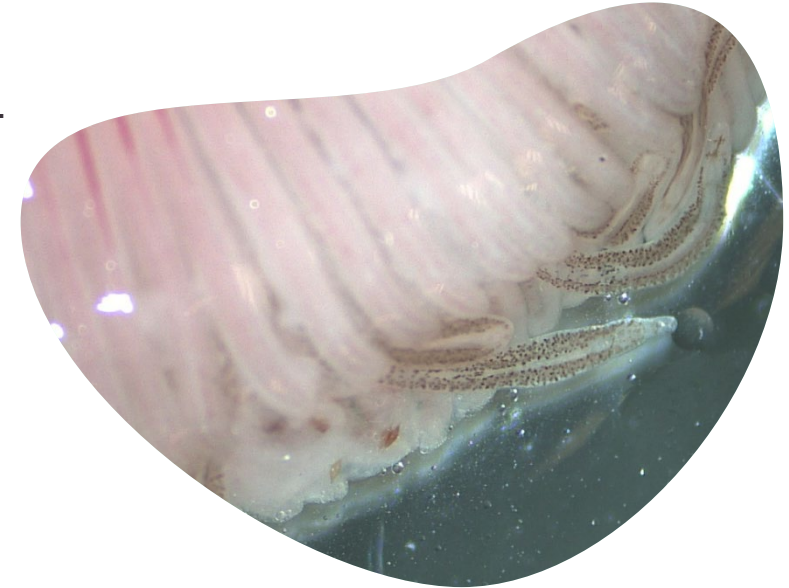
- Estudio *in silico* de posibles proteínas antigénicas del parásito.
- Selección de dos candidatos transmembrana y amplificación.
- Gibson assembly en pcDNA3 (SP sIgM dorada + HIS tag).
- Expresión en cultivos celulares y detección con anti-HIS (WB, inmunocitoquímica).

- Se ha clonado la proteína más prometedora (~1200 aa) en pcDNA3 y se consiguió expresar en células HEK → Baja eficiencia de transfección y/o expresión.
- Secuenciación de plásmido vacunal y transfección en células de pez para buscar mejora de expresión.
- Comprobación de antigenicidad de la proteína expresada.



Resultados obtenidos hasta el momento

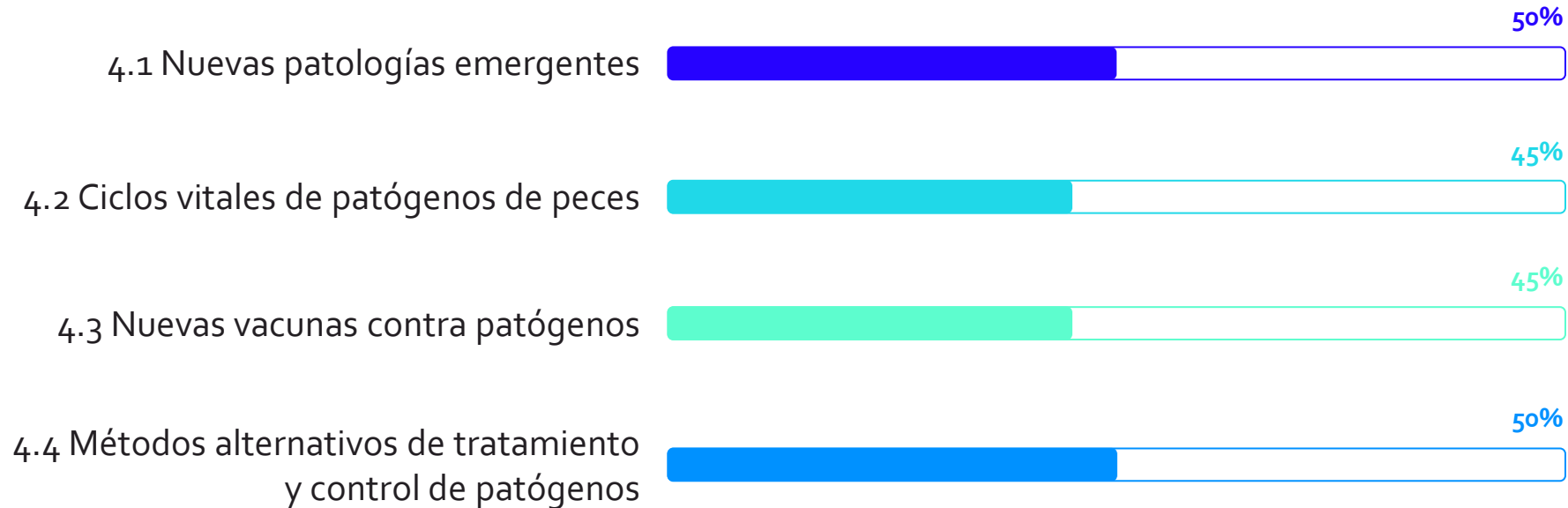
- Tarea 4.4.1 – Desarrollo de métodos de control de enfermedades parasitarias.
 - Dos experiencias *in vivo* con piensos con aditivos para *E. leei* (intestinal) y *S. chrysophrii* (branquial). No se vieron resultados muy prometedores.
 - Se testaron 7 sustancias *in vitro* frente a *S. chrysophrii* . Algunas dieron buenos resultados.
 - Se está produciendo pienso con estos aditivos para probar efecto *in vivo*.
- Tarea 4.4.3 – Evaluación del potencial microcida del agua electrolizada.
 - Se pasaron datos de concentraciones *in vitro* que matan *S. chrysophrii* (formol, peróxido, cloro) a UV2.
- Objetivo 4.7 – Formación de personal.
 - En la producción de estos resultados han participado una estudiante JAE-Intro-ICU, una estudiante de TFG y un predoctoral.



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Grado de consecución de las tareas



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Desviaciones del programa inicial

- Tarea 4.1.4 planteaba la producción de nuevos test diagnósticos basados en el uso de Digital droplet PCR. El equipo no se puede adquirir. Actualmente, esta tarea queda englobada en la tarea 4.1.3 relativa al diseño de nuevos métodos de diagnóstico y detección de patógenos.



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



Hoja de ruta 6 próximos meses

Colaboraciones con otros grupos del WP4:

- 4.1.1: Recopilar datos y protocolos para toma, envío, recepción y análisis de muestras de otros parásitos, virus y bacterias. Unificar y poner a disposición del sector (Página web?).
- 4.1.2: Nuevos patógenos: Microsporidio de atún con UV3.
- 4.1.5: Detección alternativa de patógenos: Ver estado y necesidad de más material/información por parte de UPV1.
- 4.4.3: Agua electrolizada. Discutir futuros experimentos con UV2.
- 4.6.1: Divulgación y transferencia: Se podría plantear la idea de hacer un ciclo de charlas temáticas en la Casa de la Ciencia (CSIC). ¿Sólo REMEDISA o todo el ThinkInAzul-GVA?



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



We're thinking in azul

Thanks | Gràcies

Project Coordinators

Jaume Pérez-Sánchez
jaime.perez.sanchez@csic.es
Carlos Valle Pérez
carlos.valle@ua.es

Project Manager

Leyre Rivero Álvarez
leyre.rivero@csic.es



This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*

Carla Piazzon

IATS, CSIC. Contratada Ramón y Cajal. IP2

