

# WP4: Salud. Enfermedades Recurrentes y Emergentes

## Grupo: Patología de Peces

### IATS, CSIC

Ariadna Sitjà Bobadilla, IP<sub>1</sub>

Carla Piazzon, IP<sub>2</sub>

IATS, CSIC<sub>3</sub>



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-CSIC3



**Ariadna Sitjà Bobadilla:** Prof. Investigación

**Oswaldo Palenzuela:** Científico Titular

**Carla Piazzon:** Científica Titular

**Itziar Estensoro:** Doctora FC

**Enrique Riera Ferrer:** Contratado FPI

**Socorro Toxqui Rodríguez:** MSCA-ITN

**Raquel Del Pozo:** Técnico



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*



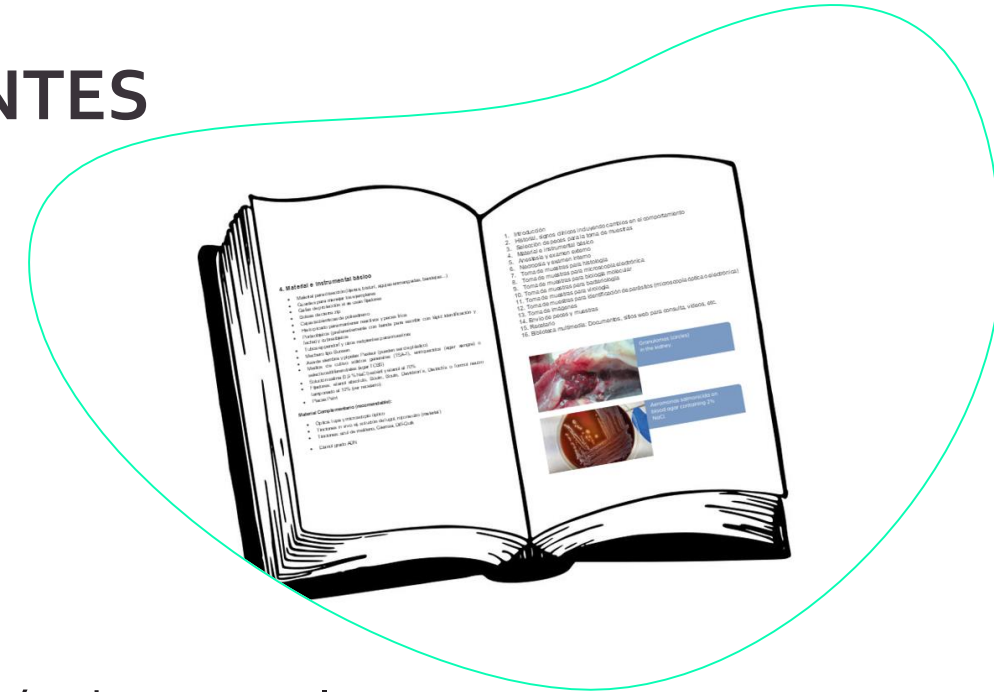
# Resultados obtenidos

## Objetivo 4.1 NUEVAS PATOLOGÍAS EMERGENTES

Tarea 4.1.1 Creación de protocolos para toma, envío, recepción y análisis de muestras

CSIC<sub>3</sub> Responsable

- Borrador avanzado de guía y protocolos
- Pendiente la parte gráfica y montaje (JAE-INTRO-ICU → Formación de personal: O4.7)
- La guía final será accesible a través de la página web y posiblemente en Digital CSIC



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*



Financiado por  
la Unión Europea  
NextGenerationEU



GOBIERNO  
DE ESPAÑA  
MINISTERIO  
DE CIENCIA, INNOVACIÓN  
Y UNIVERSIDADES



Plan de Recuperación,  
Transformación  
y Resiliencia



GENERALITAT  
VALENCIANA  
Conselleria de Educació,  
Universitats i Empie



Fondos Next Generation  
en la Comunitat Valenciana



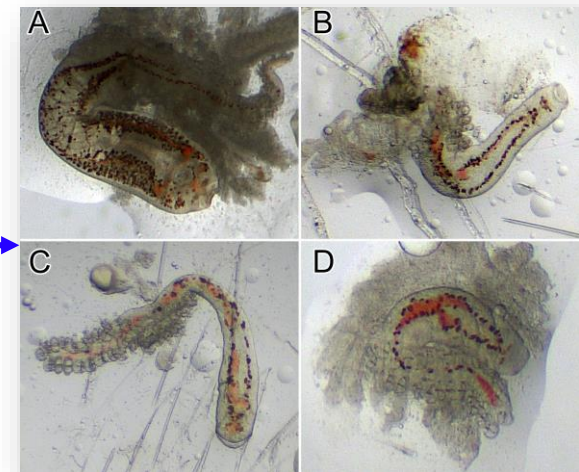
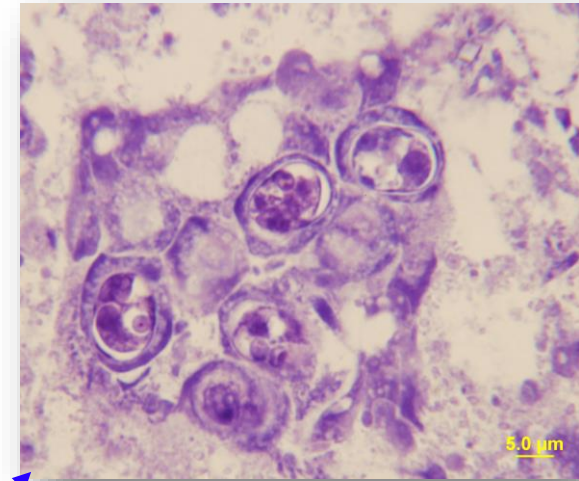
# Resultados obtenidos

## Objetivo 4.1 NUEVAS PATOLOGÍAS EMERGENTES

### Tarea 4.1.2 Identificación de nuevos patógenos y sus patologías

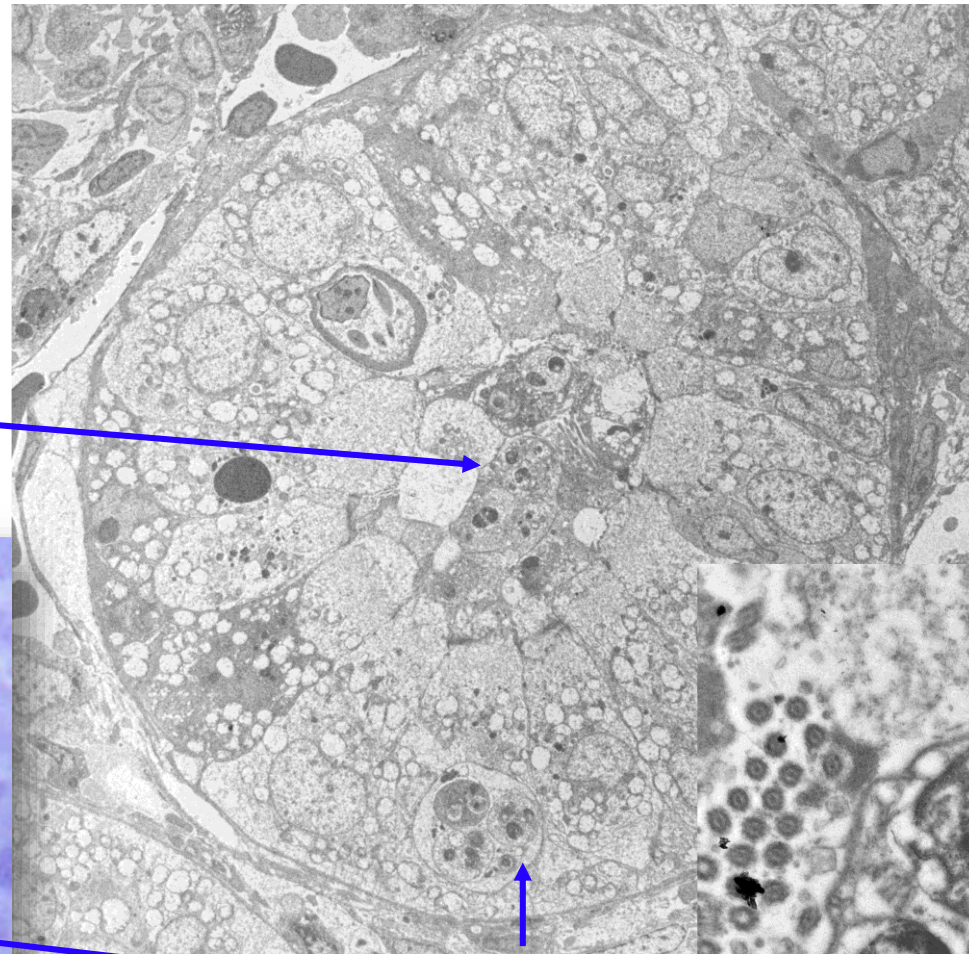
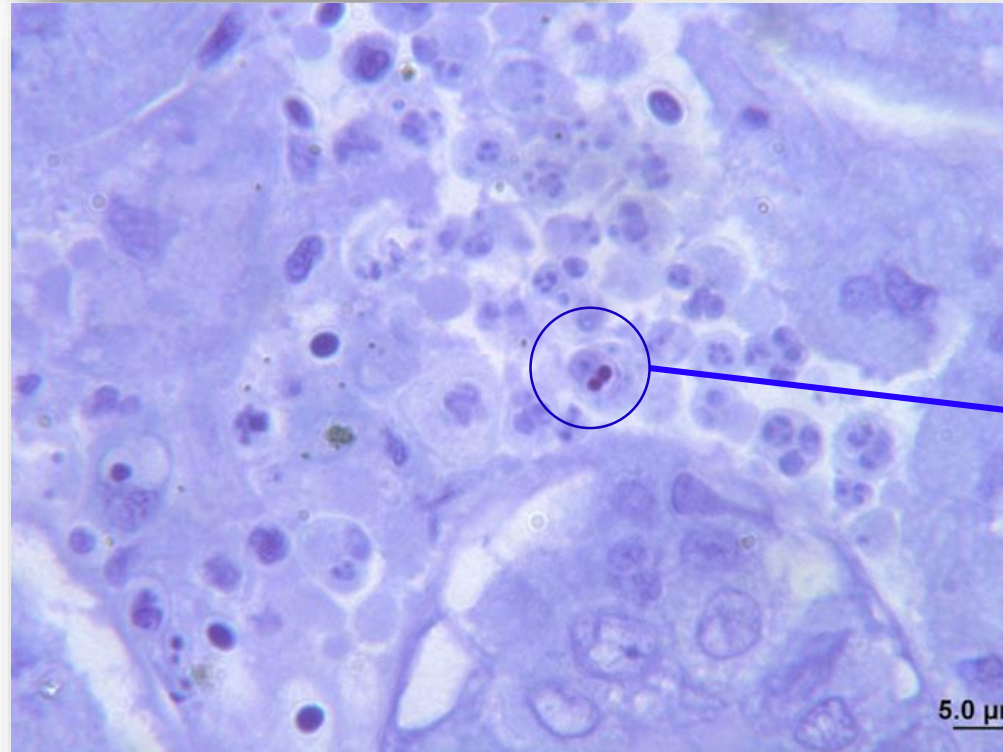
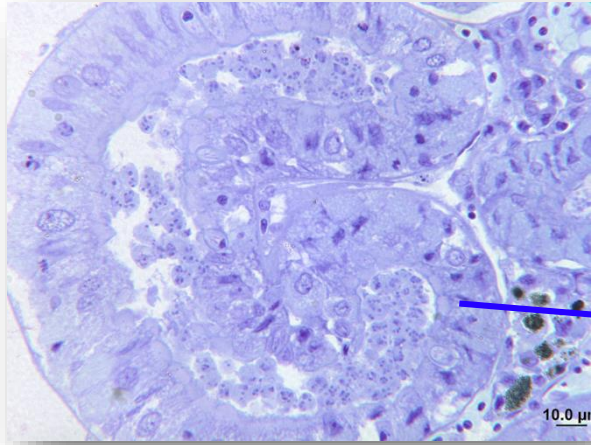
#### CSIC3 Participante

- Lubinas con enteritis, emaciación y mortalidades
  - Mediante diagnóstico histopatológico y molecular se detectan 4 agentes: 1 microsporidio, 2 mixosporidios y 1 coccidio (*Eimeria dicentrarchi*)
  - Molecular: El microsporidio se clasifica como *Glugea*
  - Molecular, histopatología y TEM identifican *Sphaerospora dicentrarchi* y *Leptotheca* sp. (no se consigue caracterizar más por alta abundancia de *S. dicentrarchi*)
- Patología *Sparicotyle chrysophrii*
  - Descripción de hematofagia y aparato digestivo → Publicación enviada PRSB
  - Datos avanzados de enzimas de detoxificación y digestión de hemoglobina (*in silico*)
- Seriolas con patología renal y mortalidades anómalas
  - TEM y molecular: *Parvicapsula* → Descripción de nueva especie en preparación





# Parvicapsula n. sp.



- *S. dumerili* 70-100g
- Sea cages (W. Greece)
- Swollen kidney
- Other pathogens:
  - *Ceratomyxa* spp in GB
  - Epiteliocystis in gills



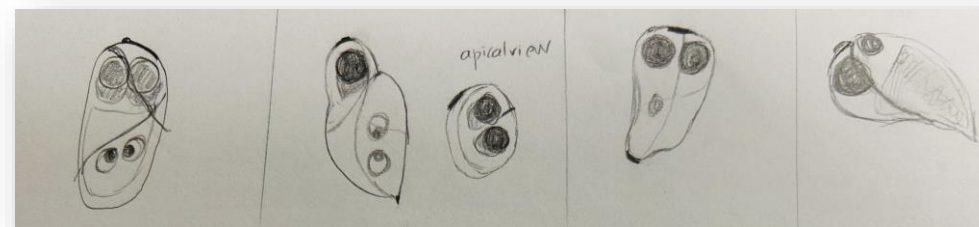
**Table 1** Records of *Parvicapsula* spp. in marine fish. Sizes in  $\mu\text{m}$ . [ ] indicates measurement based on a drawing of specimens. *Parvicapsula* sp. (see Hoffman 1984) is probably identical with *Parvicapsula pseudobranchicola* (see Karlsbakk et al. ). *Parvicapsula asymmetrica* has also been recorded from the urinary bladder of

*Macrourus holotrachys* from the Falkland-Patagonian shelf (Kovaleva and Gaevskaya 1981), and *Parvicapsula unicornis* has also been recorded from *Merluccius merluccius* off western Norway (see Karlsbakk et al. 2002) and *Lepidopsetta bilineata* off eastern Kamchatka (Aseeva 1992)

Species	Hosts (sites)	Locality	Myxospores, length x width (mean)	Polar capsule, pyriform: l x w (mean); spherical: $\emptyset$	Reference
<i>P. asymmetrica</i>	<i>Cyclopterus lumpus</i> (kidney)	White Sea	10.5-17 x 6-9	1.5 x 2.5	Shulman 1953
<i>P. unicornis</i>	<i>Callionymus lyra</i> , <i>Limanda limanda</i> , <i>Lepidorhombus whiffiagonis</i> (urinary bladder)	Northern North Sea	[10 x 5] latero-post. horn 4	$\emptyset$ : 1.5	Kabata 1962
<i>P. schulmani</i>	<i>Beryx splendens</i> (gall bladder)	Mid Atlantic ridge	10.6-14.9 x 4.2-5.3	$\emptyset$ : 1.4	Kovaleva and Gaevskaya 1981
<i>Parvicapsula</i> sp.	<i>Oncorhynchus kisutch</i> (epithelium of renal tubules)	Northern US Pacific	?	$\emptyset$ : ?	Hoffman 1984
<i>P. hoffmani</i>	<i>Liza macrolepis</i> (intestinal epithelium)	Visakhapatnam harbour, east coast of India	8.5-10.3 x 5.6-6.5	3.5 x 2.5	Dorothy and Kalavati 1993
<i>P. renalis</i>	<i>Sciaenops ocellatus</i> (kidney)	Florida USA	9-10 x 4-5	3 x 2	Landsberg 1993
<i>P. minibicornis</i>	<i>Oncorhynchus nerka</i> (kidney)	British Columbia Canada	9.7-12.6 (11.0) x 5.5-8.0 (7.5)	2.5 x 1.3	Kent et al. 1997
<i>P. kareii</i>	<i>Kareius bicoloratus</i> (urinary bladder)	Yellow Sea China	11.7-15.6 (13.2) x 7.0-8.9 (7.6)	(3.2 x 2.4)	Zhao et al. 2000
<i>P. anisocaudata</i>	<i>Paralichthys olivaceus</i> (urinary bladder)	Yellow Sea China	12.0-14.4 (12.9) x 4.9-5 (4.9)	(2.7 x 2.0)	Zhao et al. 2000
<i>P. pseudobranchicola</i>	<i>Salmo salar</i> (pseudobranch)	Northern Norway	11.1-13.8 (12.4) x 5.2-7.3 (6.2)	$\emptyset$ : 2.4	Karlsbakk et al. 2002
<i>P. spinachiae</i> n.sp.	<i>Spinachia spinachia</i> (renal tubules, urinary bladder)	Øresund, Denmark	9-12 (10) x 4-7 (5)	$\emptyset$ : 1.5	Present study

Hit Table	Query Centric View	Annotations	Distances	Info									
<input checked="" type="checkbox"/>	Name	Organism	Bit-Score	E Val...	Grade	Hit start	Hit end	Sequence Length	% Pairwise Identity	Query start	Query end	Query coverage	% GC
<input checked="" type="checkbox"/>	EF431928	<i>Parvicapsula spinachiae</i>	1,668.64	0	95.6%	1	1,185	1,203	92.0%	11	1,208	99.17%	47.4%
	DQ515821	<i>Parvicapsula kabatai</i>	1,439.66	0	94.2%	87	1,300	1,480	88.4%	1	1,208	100.00%	49.0%
	MT840094	<i>Parvicapsula</i> sp. g AC-2020	1,223.6	0	92.7%	87	1,300	1,610	85.3%	1	1,208	100.00%	48.3%
	MT840094	<i>Parvicapsula</i> sp. g AC-2020	1,223.6	0	92.7%	87	1,300	1,610	85.3%	1	1,208	100.00%	48.3%
	MT840094	<i>Parvicapsula</i> sp. g AC-2020	1,223.6	0	92.7%	87	1,300	1,610	85.3%	1	1,208	100.00%	48.3%
	MF161398	<i>Parvicapsula curvatura</i>	859.812	0	70.7%	874	1,452	581	93.5%	630	1,208	47.93%	46.6%
	MG554466	<i>Parvicapsula asymmetrica</i>	848.732	0	70.4%	506	1,084	580	93.3%	636	1,208	47.43%	47.2%
	AY584191	<i>Parvicapsula asymmetrica</i>	848.732	0	70.4%	828	1,406	580	93.3%	636	1,208	47.43%	47.3%
	EF429096	<i>Parvicapsula limandae</i>	843.193	0	70.3%	466	1,044	581	93.1%	636	1,208	47.43%	47.3%
	OP133363	<i>Parvicapsula limandae</i>	7.653	0	70.2%	830	1,408	582	93.0%	636	1,208	47.43%	47.0%
	OP133362	<i>Parvicapsula pseudobranchicola</i>	837.653	0	70.2%	854	1,432	582	93.0%	636	1,208	47.43%	47.0%
	OP133361	<i>Parvicapsula pseudobranchicola</i>	837.653	0	70.2%	854	1,432	582	93.0%	636	1,208	47.43%	47.0%
	AY308481	<i>Parvicapsula pseudobranchicola</i>	832.113	0	70.1%	901	1,479	582	92.8%	636	1,208	47.43%	47.2%
	AY584190	<i>Parvicapsula unicornis</i>	811.799	0	69.7%	772	1,342	573	92.5%	643	1,208	46.85%	47.6%
	EU163427	<i>Gadimyxa arctica</i>	758.247	0	69.0%	546	1,118	576	90.6%	637	1,208	47.35%	43.3%
	EU163426	<i>Gadimyxa arctica</i>	758.247	0	69.0%	534	1,106	576	90.6%	637	1,208	47.35%	43.3%
	MG554473	<i>Parvicapsula limandae</i>	793.333	0	68.9%	466	1,014	551	92.9%	636	1,178	44.95%	46.6%
	EU163428	<i>Gadimyxa arctica</i>	750.86	0	68.9%	520	1,092	576	90.5%	637	1,208	47.35%	43.3%
	EU163418	<i>Gadimyxa atlantica</i>	752.707	0	68.9%	515	1,087	576	90.5%	637	1,208	47.35%	43.5%
	EU163416	<i>Gadimyxa atlantica</i>	752.707	0	68.9%	516	1,088	576	90.5%	637	1,208	47.35%	43.5%
	EU163413	<i>Gadimyxa atlantica</i>	752.707	0	68.9%	516	1,088	576	90.5%	637	1,208	47.35%	43.5%
	EU163412	<i>Gadimyxa atlantica</i>	752.707	0	68.9%	516	1,088	576	90.5%	637	1,208	47.35%	43.5%
	MG554471	<i>Gadimyxa atlantica</i>	749.013	0	68.9%	417	989	576	90.4%	637	1,208	47.35%	43.5%
	FJ830379	<i>Gadimyxa</i> sp.	732.394	0	68.8%	433	1,015	586	89.4%	627	1,208	48.18%	42.2%
	FJ830376	<i>Gadimyxa</i> sp.	728.7	0	68.8%	415	997	586	89.4%	627	1,208	48.18%	42.2%
	FJ830378	<i>Gadimyxa</i> sp.	737.934	0	68.7%	425	997	576	90.1%	637	1,208	47.35%	42.9%
	FJ830377	<i>Gadimyxa</i> sp.	739.78	0	68.7%	425	997	576	90.1%	637	1,208	47.35%	43.1%
	EU163425	<i>Gadimyxa</i> sp.	741.627	0	68.7%	526	1,098	576	90.1%	637	1,208	47.35%	42.9%

- *Parvicapsula* is an obscure myxozoan clade: many morphotypes without gene data and many sequences without species assignment.
- SSu rDNA sequenced
- Clustered with *Parvicapsula* spp. Closest relative 92% pairwise ID with 100% coverage: *P. spinachiae*



From: *Parasitol Res* (2003) 90: 445-448



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



# Resultados obtenidos

## Objetivo 4.1 NUEVAS PATOLOGÍAS EMERGENTES

Tarea 4.1.3 Nuevos métodos moleculares de diagnóstico y detección de patógenos.  
(engloba antigua Tarea 4.1.4: Mejora de test de diagnóstico de enfermedades parasitarias)

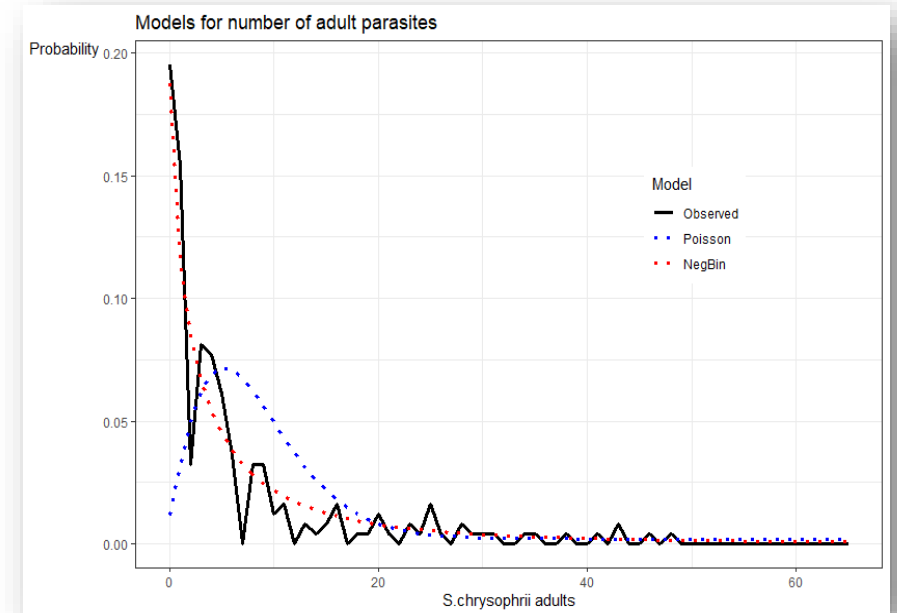
### CSIC<sub>3</sub> Responsable

- Se sigue buscando fuente de coccidios para mejorar la multiplex

Tarea 4.1.5 Detección alternativa de patógenos

### CSIC<sub>3</sub> Participante

- Modelo predictivo de infección con *S. chrysophrii* mediante muestras no letales de sangre y determinación de hemoglobina
  - Se tomaron más muestras y datos para mejorar el modelo



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*



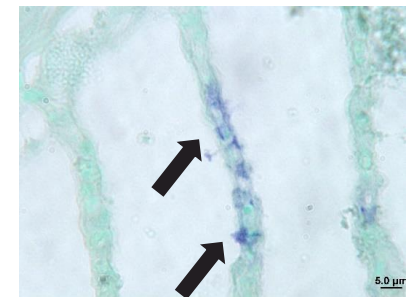
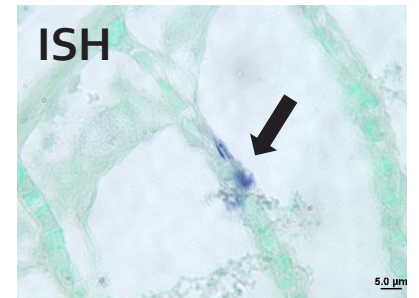
# Resultados obtenidos

## Objetivo 4.2 CICLOS VITALES DE PATÓGENOS DE PECES

### Tarea 4.2.1 Identificación de ciclos vitales de parásitos de peces, vectores y reservorios

#### CSIC<sub>3</sub> Participante

- Camarones (*Palaemonetes varians*) como vectores de *Enteromyxum leei*
  - Se alimentaron camarones con intestinos de dorada infectados para comprobar establecimiento
  - Se detectaron positivos débiles por qPCR a distintos tiempos y sin integración en tejidos concluyente mediante histología
  - Se realizarán pruebas de cohabitación y alimentación de doradas con camarones expuestos para ver su capacidad como vectores
- Estudio de vías de entrada de *E. leei*
  - Exposición de doradas a efluente de tanque con peces infectados (10, 24, 48 y 72h; 1 y 2 wk)
  - Toma de muestras de diferentes tramos de digestivo, branquias, sangre y órganos linfoides
  - Molecular e ISH: Positivos en branquias, sangre y digestivo a tiempos tempranos
  - Se está repitiendo toma de muestras a tiempos más cortos





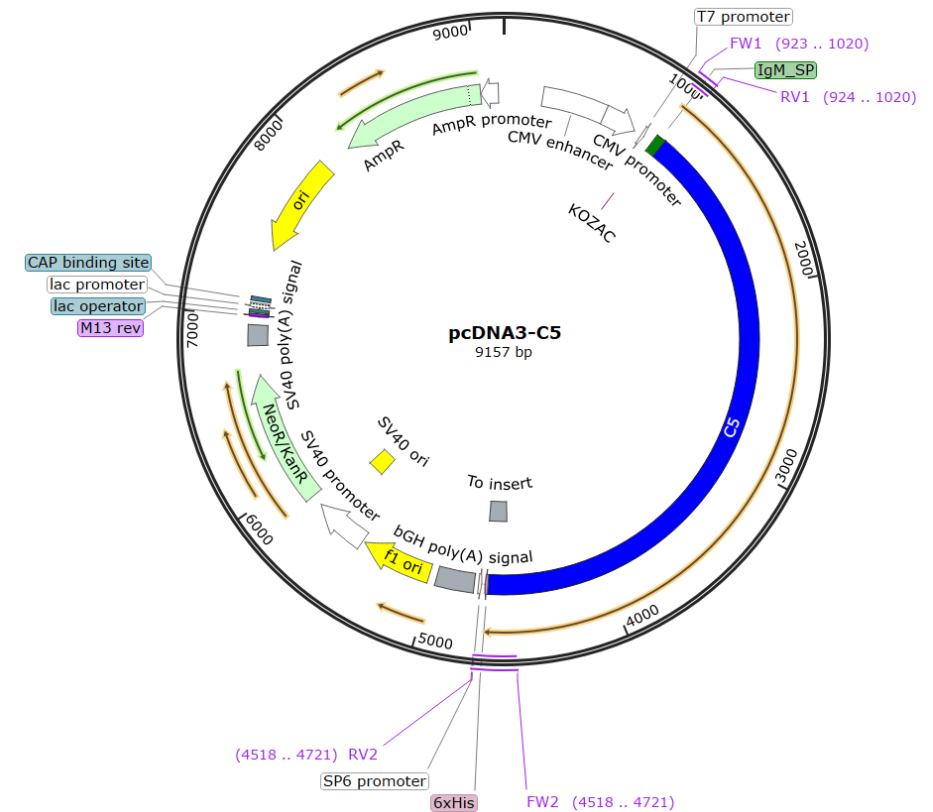
# Resultados obtenidos

## Objetivo 4.3 NUEVAS VACUNAS CONTRA PATÓGENOS

### Tarea 4.3.1 Desarrollo de una vacuna de DNA frente a *Enteromyxum leei*

#### CSIC<sub>3</sub> Responsable

- Plásmido (pcDNA3) con proteína diana más prometedora
- Se esperan más avances en siguiente periodo
  - Comprobación de expresión en células y tejidos de pez
  - Prueba de antigenicidad



# Resultados obtenidos

## Objetivo 4.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS DE TRATAMIENTO Y CONTROL

### Tarea 4.4.1 Desarrollo de métodos de control de enfermedades parasitarias

#### CSIC<sub>3</sub> Responsable

- Ensayos *in vivo*
  - Dos experiencias de infección con *S. chrysophrii* con dietas suplementadas con hierro
  - Resultados de crecimiento, infección, hematología y microbiota en análisis
- Ensayos *in vitro*
  - Efecto de fitogénicos frente a *S. chrysophrii* en colaboración con dos empresas y Universidad de Bologna
  - Resultados en análisis. Las dos sustancias más prometedoras se probarán *in vivo*
- *In silico*
  - Selección de sustancias sintéticas análogas a antihelmintos registrados para prueba *in vitro* frente a *S. chrysophrii*



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*



## Tarea 4.6.1. Divulgación y transferencia de conocimientos y herramientas científico-técnicas

### Participación en diferentes foros:

- Presentaciones y posters en Congresos diversos (ver sección de comunicaciones)
- Ciclo de Conferencias “La Ciencia en tu Vida: Del Laboratorio a la Sociedad” en la Casa de la Ciencia del CSIC en Valencia: Oswaldo Palenzuela “Los peces también enferman, pero ¿quién los cura?”. Presencial y streaming YouTube (CSIC3): <https://youtu.be/g3u6l0lMuBc>
- Entrevista para la fundación biodiversidad, Ariadna Sitjà-Bobadilla (<https://www.observatorio-acuicultura.es/informacion-de-interes/entrevistas/ariadna-sitja-directora-del-instituto-de-acuicultura-torre-de-la>).
- Episodio en programa Via Verda de Apunt sobre *Sparicotyle* (CSIC3): [https://www.youtube.com/watch?v=AjkJl9oaK\\_w](https://www.youtube.com/watch?v=AjkJl9oaK_w)
- Organización y participación en jornadas del día de la Acuicultura 30N

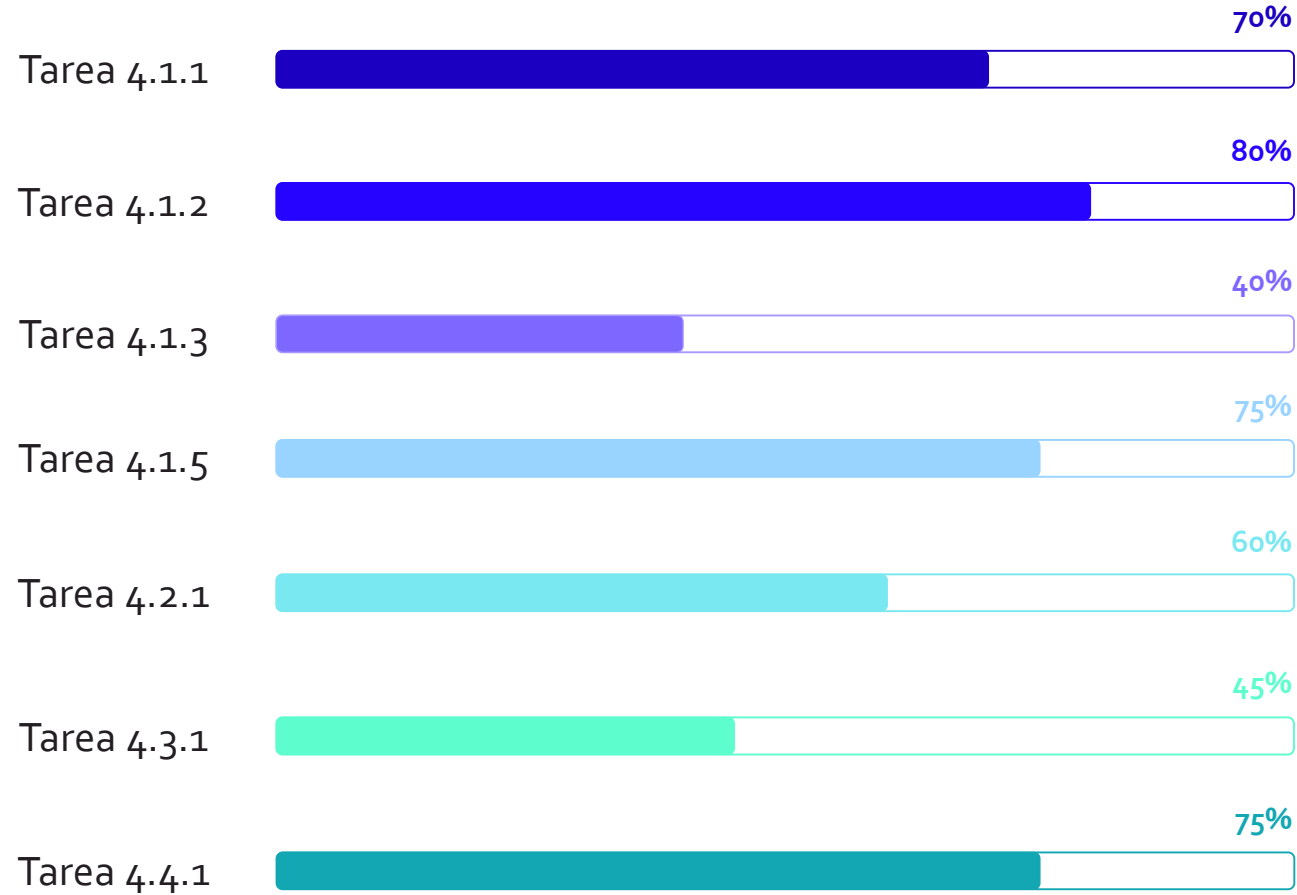


This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.11) and by Generalitat Valenciana





# 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

- Las tareas 4.2.1 y 4.3.1 avanzaron más lentamente de lo inicialmente previsto
  - Se contratará personal de apoyo (1 septiembre 2024 hasta el final del proyecto) específico para poder finalizar estas tareas antes de fin de proyecto



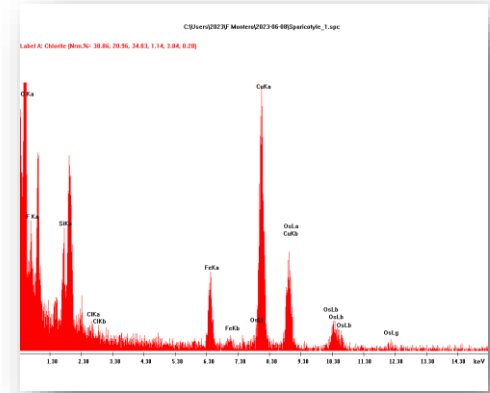
This study forms part of the ThinkInAzul programme and was supported by MCIN with funding from European Union NextGenerationEU (PRTR-C17.I1) and by *Generalitat Valenciana*



# Colaboraciones con grupos GVA-ThinkInAzul

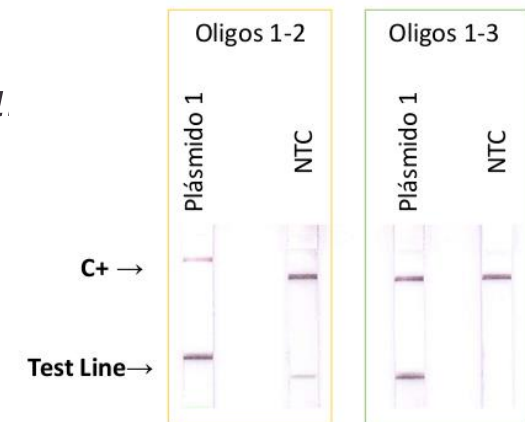
- Tarea 4.1.2

- Artículo enviado en colaboración con UV3 y futuro atlas de *S. chrysophrii* (TEM)
- Colaboración con personal externo a GVA-ThinkInAzul y UMH2  
Muestras de meros con infección de Nodavirus, publicación enviada



- Tarea 4.1.5

- UPV1 avanzó en el sistema de detección de *Enterospora nucleophila*
- Se propone hacer avances para *Enteromyxum leei*





# Resultados: Publicaciones

1. Kersting, D., Celia García-Quintanilla, Nagore Quintano, Itziar Estensoro, María del Mar Ortega-Villaizan (2024). Dusky grouper massive die-off in a Mediterranean marine reserve. *Marine Biology* (submitted).
2. Riera-Ferrer, E., Del Pozo, R., Muñoz-Berruezo, U., Palenzuela, O., Sitjà-bobadilla, A., Estensoro, I., Piazzon, M.C. (2024). Mucosal affairs: Glycosylation and expression changes of gill goblet cells and mucins in a fish-monogenean polyopisthocotylidan interaction. *Frontiers in Veterinary Science*, 11:1347707.
3. Riera-ferrer, E., Del Pozo, R., Piazzon, M.C., Sitjà-bobadilla, A., Estensoro, I., Palenzuela, O. (2023). *Sparicotyle chrysofhrui* experimental infection of gilthead sea bream (*Sparus aurata*): establishment of an in vivo model reproducing the pathological outcomes of sparicotylosis. *Aquaculture*, 573,739588.
4. Riera-Ferrer, E., Estensoro, I., López-Gurillo, B., Del Pozo, R., Montero, F.E., Sitjà-bobadilla, A., Palenzuela, O. (2024). Hooked on fish blood: the reliance of a gill parasite on haematophagy. *Proceedings of the Royal Society of London. B* (submitted).
5. Riera-Ferrer, E., Mazanec, H., Mladineo, I., Konik, P., Piazzon, M.C., Kuchta, R., Palenzuela, O., Estensoro, I., Sotillo, J. Sitjà-Bobadilla, A. (2024). Biogenesis, ultrastructure and proteomic characterisation of the monogenean *Sparicotyle chrysofhrui* extracellular vesicles: An inside out journey. *Parasites & Vectors*, 17: 175.
6. Toxqui-Rodríguez, S., Riera-Ferrer, E., del Pozo, R., Palenzuela, O., Sitjà-Bobadilla, A., Estensoro, I., Piazzon, M.C. (2024). Molecular interactions in a holobiont-pathogen model: Integromics in gilthead seabream infected with *Sparicotyle chrysofhrui*, *Aquaculture*, 581, 740365.



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*



# Resultados: congresos

1. Piazzon, M.C., Riera-Ferrer, E., Toxqui-Rodríguez, S., Del Pozo, R., Palenzuela, O., Sitjà-Bobadilla, A., Estensoro, I. (2023). Unravelling molecular interactions in a host-parasite model: Integration of different omic approaches in gilthead seabream infected with *Sparicotyle chrysophrii*. [Oral]. 21st International Conference on Diseases of Fish and Shellfish (AEFP), Aberdeen, United Kingdom.
2. Riera-Ferrer, E., Del Pozo, R., Piazzon, M.C., Sitjà-Bobadilla, A., Estensoro, I., Palenzuela, O. (2023). A *Sparicotyle chrysophrii* in vivo model reproducing the pathological outcomes of sparicotylosis in gilthead seabream (*Sparus aurata*) [Oral]. 21st International Conference on Diseases of Fish and Shellfish (AEFP), Aberdeen, United Kingdom.
3. Riera-Ferrer, E., Gimeno, E., Del Pozo, R., Palenzuela, O., Piazzon, M.C., Sitjà-Bobadilla, A., Estensoro, I. (2023). Gill mucus holds the key against *Sparicotyle chrysophrii* infection in gilthead seabream (*Sparus aurata*). 15th Congress of the International Society of Developmental and Comparative Immunology (ISDCI), Wageningen, The Netherlands.
4. Riera-Ferrer, E., Mazanec, H., Mladineo, I., Dirks, R.P., Piazzon, M.C., Kuchta, R., Palenzuela, O., Estensoro, I., Sotillo, J., Sitjà-Bobadilla, A. (2023). *Sparicotyle chrysophrii* extracellular vesicle biogenesis, ultrastructure and protein composition: An inside out journey [Oral]. 21st International Conference on Diseases of Fish and Shellfish (AEFP), Aberdeen, United Kingdom.
5. Toxqui-Rodríguez, S., Riera-Ferrer, E., del Pozo, R., Palenzuela, O., Sitjà-Bobadilla, A., Estensoro, I., Piazzon, M.C. (2023). Modulation of gill microbiota in gilthead seabream infected with *Sparicotyle chrysophrii* [Poster]. 21st International Conference on Diseases of Fish and Shellfish (AEFP), Aberdeen, United Kingdom.



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

- T4.1.1 Finalizar la guía y los protocolos, subir a web y difundir entre empresas y usuarios interesados
- T4.1.2 Completar la descripción de la *Parvicapsula* de seriola y publicar nueva especie
- T4.1.3 Continuar búsqueda activa de coccidios para completar la multiplex
- T4.1.5 Terminar de afinar el modelo predictivo introduciendo los nuevos datos
- T4.2.1 Realizar ensayo de transmisión de *E. leei* por camarones expuestos mediante cohabitación o alimentación de doradas
- T4.2.1 Terminar de muestrear y analizar tiempos tempranos y definir las rutas de entrada de *E. leei*
- T4.3.1 Comprobar expresión y antigenicidad de la proteína candidata vacunal
- T4.4.1 Probar efecto *in vivo* de los fitogénicos seleccionados frente a *S. chrysophrii* (planificado para otoño 2024, enmarcado en TNA de Aquaexcel3.0)



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

Gracias | Gràcies

## Project Coordinators

Jaume Pérez-Sánchez  
[jaime.perez.sanchez@csic.es](mailto:jaime.perez.sanchez@csic.es)  
Carlos Valle Pérez  
[carlos.valle@ua.es](mailto:carlos.valle@ua.es)

## Project Manager

Leyre Rivero Álvarez  
[leyre.rivero@csic.es](mailto:leyre.rivero@csic.es)



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

