

Seguiment sanitari ex situ dels amfibis del Montnegre afectats pel fong *Batrachochytrium salamandrivorans*.

Albert Martínez-Silvestre

Doctor en Veterinària, European Veterinary Specialist in Herpetological Medicine and Surgery, Director Científic (CRARC)

Roser Velarde

Doctor en Veterinària (UAB)

Joaquim Soler

Director Tècnic (CRARC)

Rachel Marschang

Doctor en Veterinària, European Veterinary Specialist in Herpetological Medicine and Surgery (LABOKLIN)

Zuleika Alonso

Tècnic Laboratori (CRARC)

Jaime Bosch

Doctor en Biología (CSIC)



CRARC



**MALALTIA EMERGENT:
ELS CANVIS MEDIAMBIENTALS MODIFIQUEN LA
DINÀMICA HOSTE-PATÒGEN.**

HOSTE

PATÒGEN

MEDI AMBIENT

METODOLOGÍA

Des de primavera 2018:

Entre d'altres mesures de control

- 1) **Retirar** amfibis exòtics i autòctons de la bassa afectada.
- 2) 8 *Triturus anatolicus*; 7 *Ycthiosaura alpestris*; 3 *Triturus marmoratus* i 2 *Salamandra salamandra* van ser **dipositats** vius a les **instal·lacions de bioseguretat** per amfibis del CRARC.
- 3) Objectiu
 - 1) **Assegurar aïllament i bones mesures de manteniment.**
 - 2) **No s'ha fet cap tractament**
 - 3) **Estudi d'evolució** de la malaltia



METODOLOGIA **ANÀLISI SANITARI**

Animals sans /malalts

Hematologia (DQ)

Citologia cutània (DQ, Cotton blue)

Biòpsies

Histologia

PCR, qPCR

Animals morts

Necropsia (Sistemàtica, ordenada, complerta)

Histologia (H/E, Grocott, PAS, Congo Red)

PCR, qPCR

RESULTATS

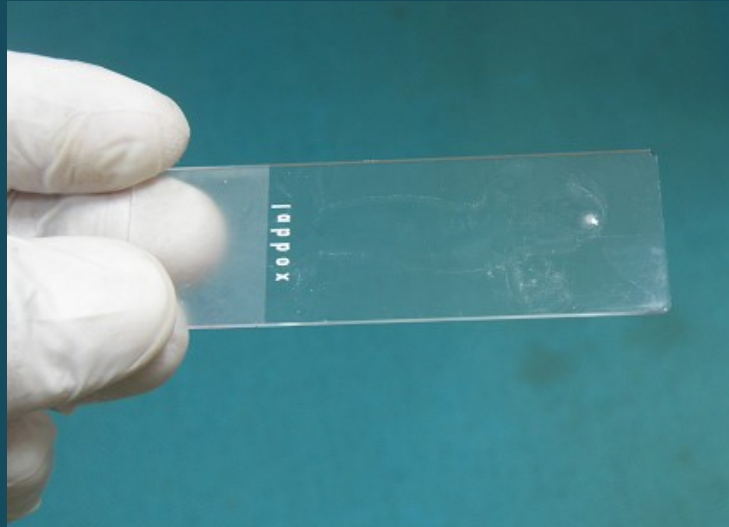
18 mesos després (novembre 2019):

a) 11 segueixen vius amb o sense
síntomes

b) 9 han mort.

	INGRES	MORTS	VIUS	%supervivencia
T. anatolicus	8	1	7	87,5
Alpestris	7	6	1	14,3
Marmoratus	3	1	2	66,7
salamandra	2	1	1	50

RESULTATS



Evolucio clínica mitjana durant 18 mesos

	Portador asintomàtic	Enferm	Causa de Muerte
Hematologia	Normal	Linfopenia /neutrofiiiia	Inmunodepresio severa
PCR	+	+	+
qPCR	Baja	Baja – Media – Alta	Media – Alta
Histologia (H/E o Grocott)	-	+	+++

Confirmació Histològica de la malaltia

1. Hiperplasia epidèrmica multifocal a difusa
2. Hiperqueratosis
3. Necrosis keratinocítica

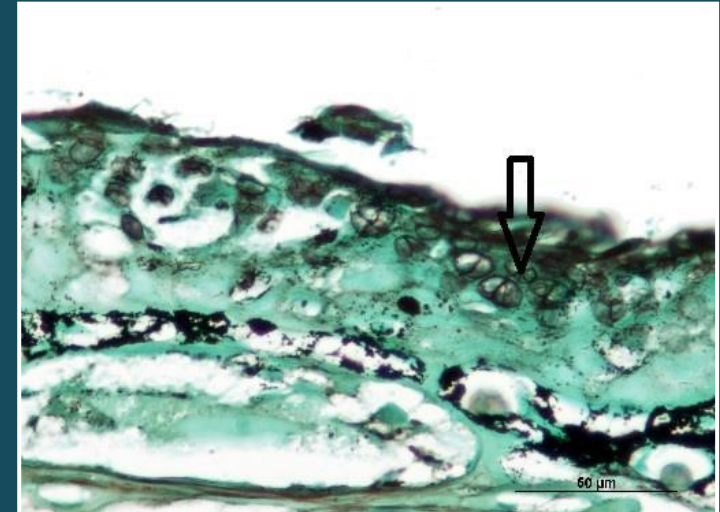


4. Organismes fúngics intracorneals

Tinció H/E



Tinció Grocott

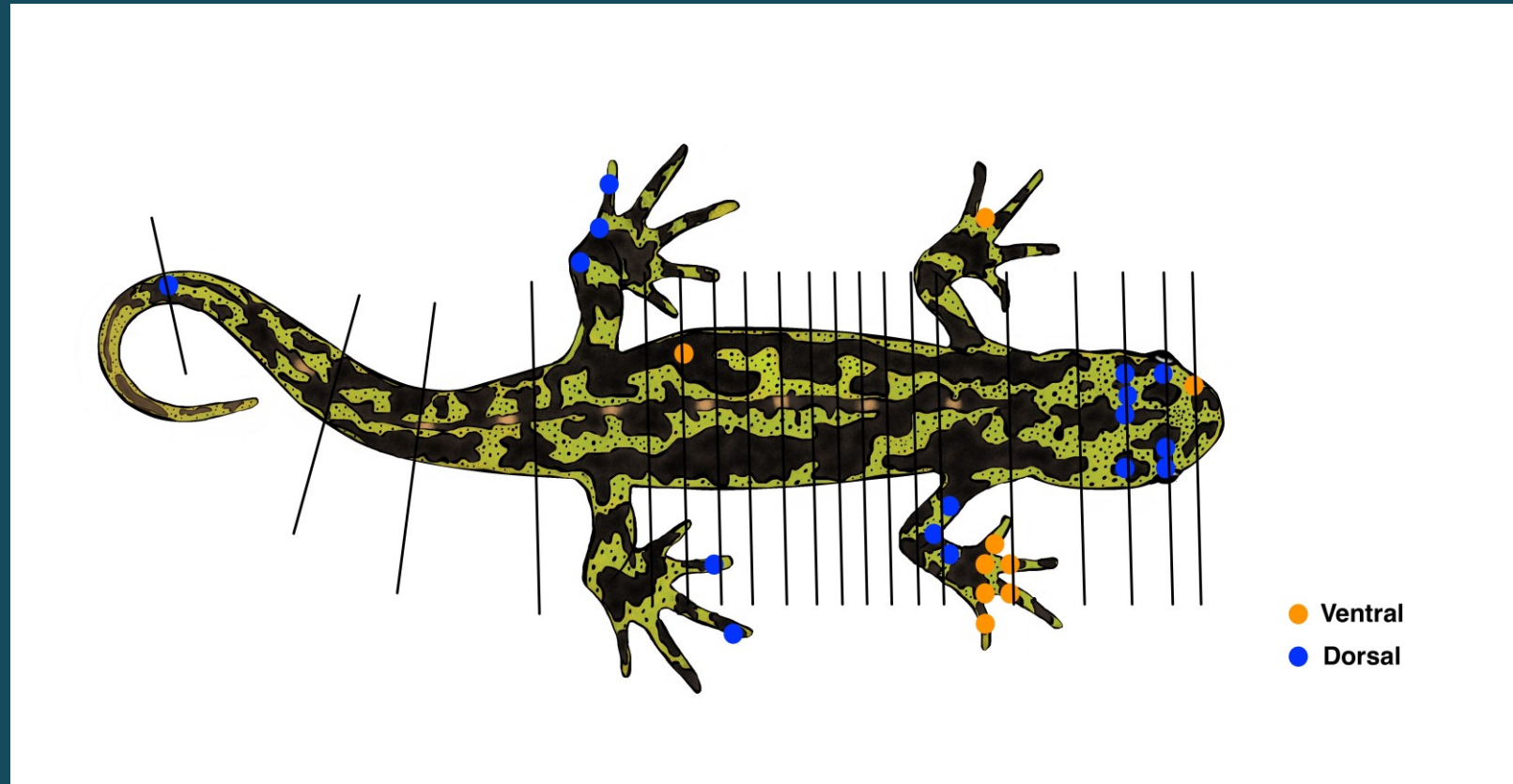


Animals morts

20 Seccions transversals
+ 4 frontals.

a) Estudi al **microscopi òptic** de pell i **totes** les vísceres (Cor, fetge, pulmons, ronyons, ossos, intestí, gònades, cervell).

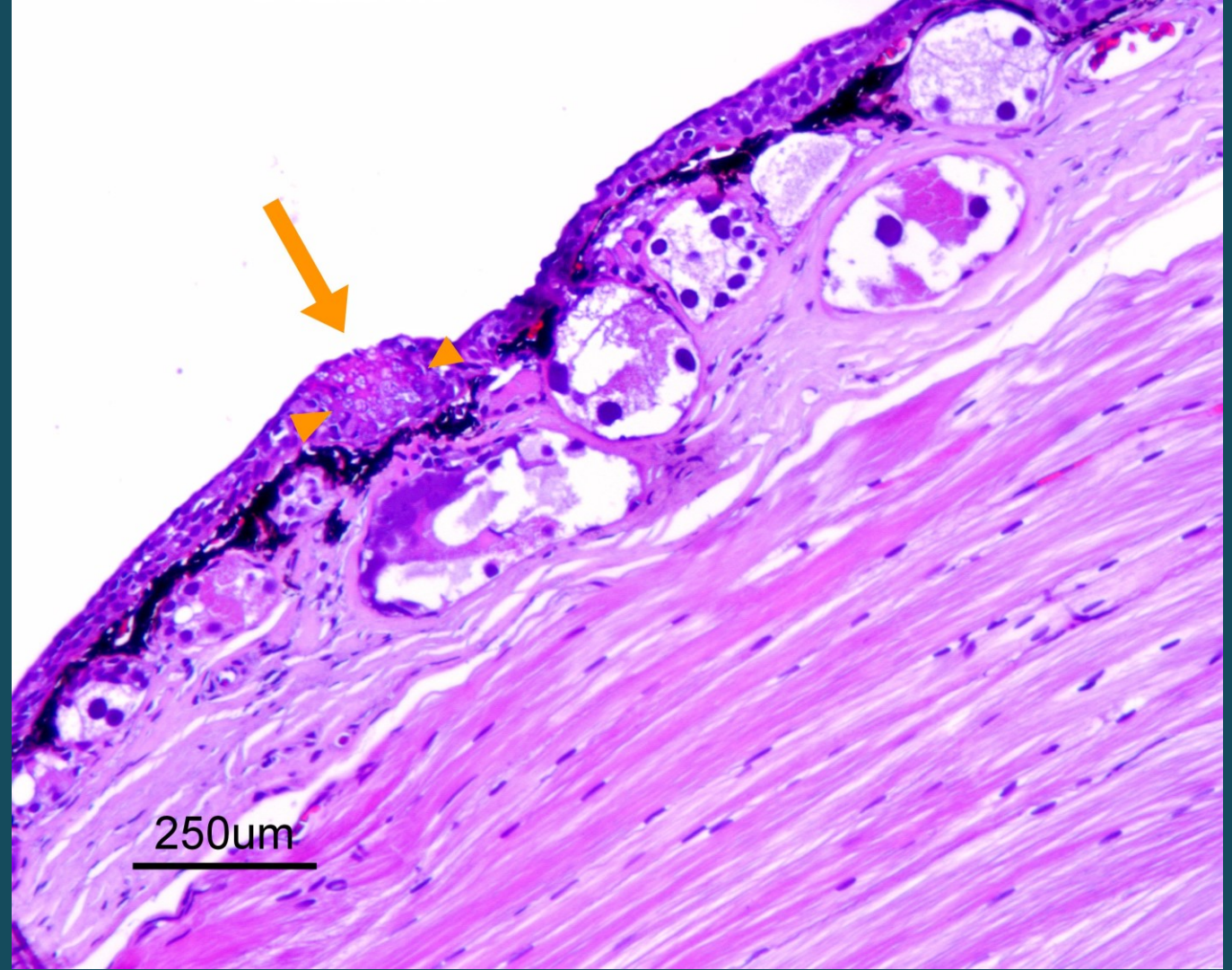
b) Estudi de **l'afectació** i la **localització** de les lesions.



Epidermis de tritó (*Triturus marmoratus*)

- 1) Focus localitzat de **necrosi** (fletxa).
- 2) Canvi en la **coloració** (L'àrea de necrosi és més **eosinòfila**).

Tinció d'Hematoxilina i Eosina.



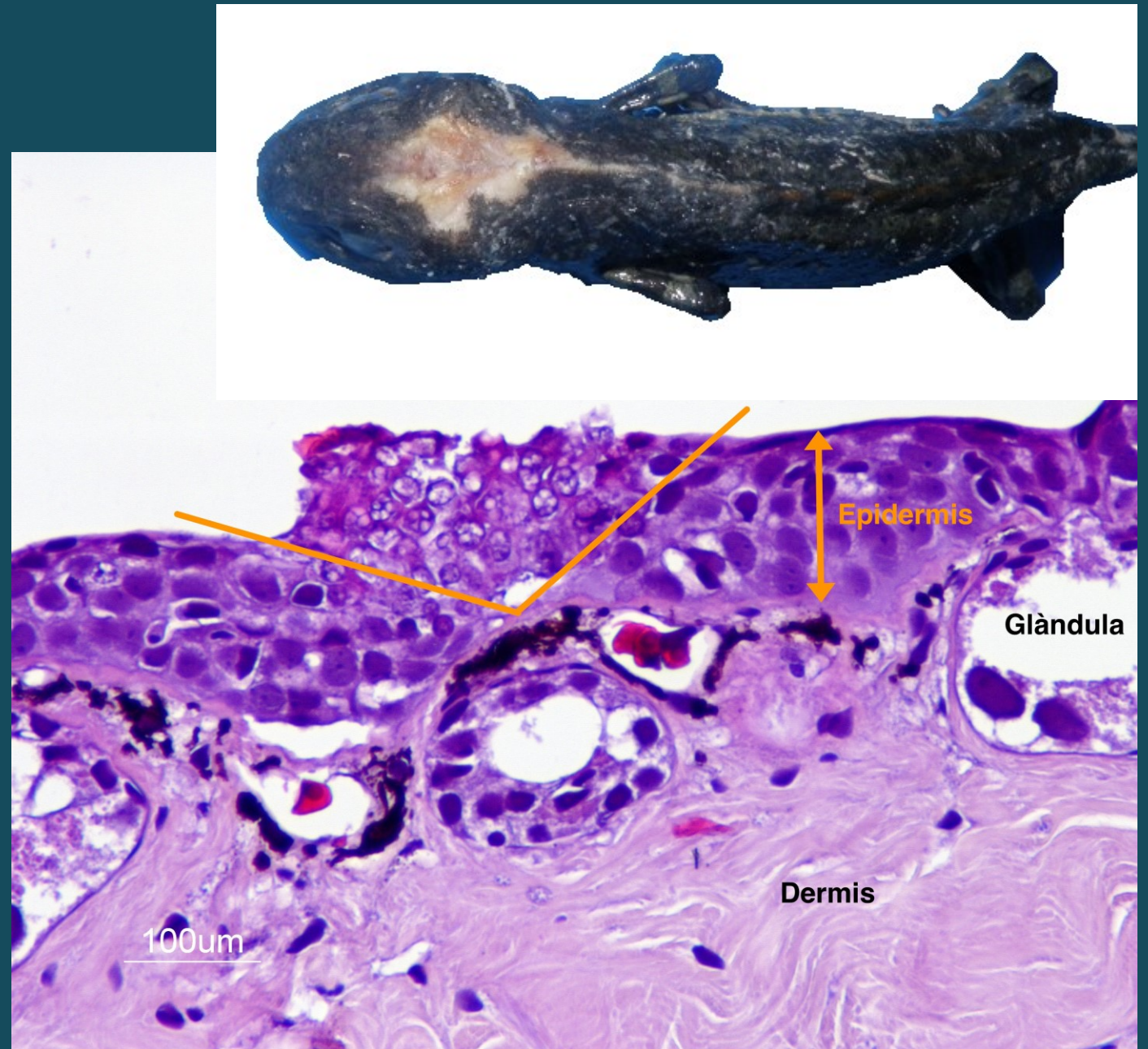
Epidermis de tritó (*Triturus marmoratus*)

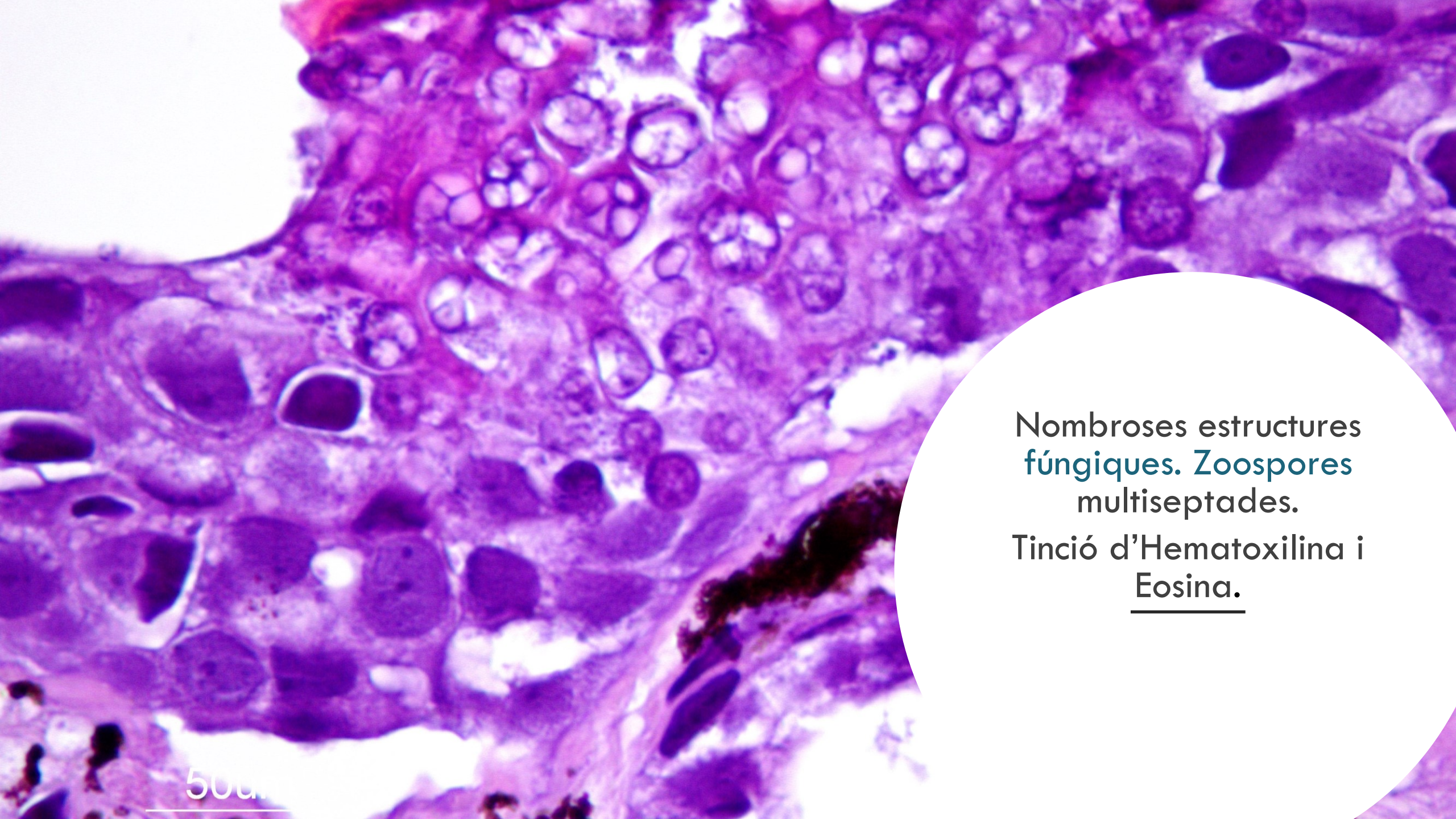
1) Focus localitzat de **necrosi** a l'epidermis.

2) Lesió té forma de V (**infiltrativa**) i arriba a la capa **basal**.

3) Pèrdua d'aquest fragment necrotic d'epidermis dona lloc a una **úlcer**a.

Tinció d'Hematoxilina i Eosina.

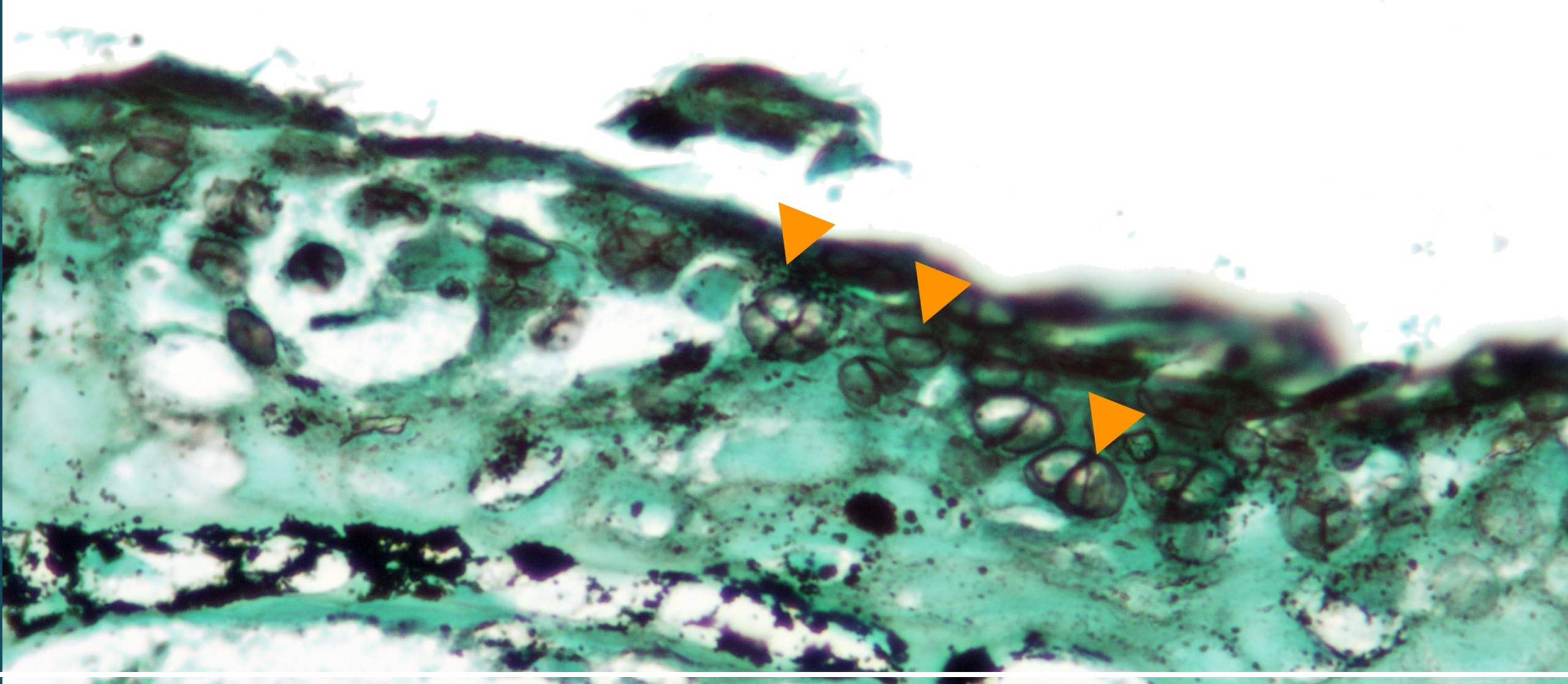




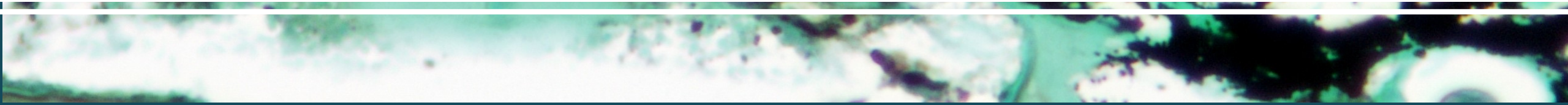
Nombroses estructures
fúngiques. Zoospores
multiseptades.

Tinció d'Hematoxilina i
Eosina.

50µm



Zoospores multiseptades, Tinció específica argèntica de Grocott.



CONCLUSIONS

- 1) Poden quedar com a portadors asimptomàtics més d'un any.
- 2) Les condicions ambientals poden « negativitzar » resultats.
- 3) L'espècie mes resistent sembla ser *Triturus anatolicus* .
- 4) La citologia es una eina util i immediata només en casos avançats.
- 5) La histologia de Bsal es inequívoca i lleugeremant diferenciada de la descrita per a Bd.
- 6) La combinació de hematologia, citologia, histologia i PCR és fonamental per saber si Bsal es la causa de mort o nomes és un portador asimptomàtic.

Agraiements

Joaquim Soler, Zuleica Alonso, Isabel Verdaguer (CRARC-Aj. Masquefa); Mireia Vila, Josep Pannon, Albert Ferran (PN Montnegre); Ricard Casanova, Aïda Tarragó, Vanessa Cadenas (Generalitat de Catalunya); Salvador Carranza (IBE- CSIC / UPF); Rafael Molina, Elena Obón, Joan Mayne, Francesc Carbonell (C.R. Torreferrussa); Albert Montori (UB); Fèlix Amat (Museu Granollers); Projecte INTERREG POCTEFA ECTOPYR; Olivier Calvez, Audrey Trochet, Olivier Guillaume, Fabien Aubert, Jeremie Sauchet, Hugo Le Chevalier (CNRS Moulis); Frank Pasmans, An Martel, Stefano Canessa (Fac. Veterinària Ghent , Belgica); Iago Pérez, Eudald Pujol (Societat Catalana d'Herpetologia); Oriol Vidal (UdG); Daniel Fernández-Guibertau, Carolina Molina, Laia Pérez (GRENP); Cos Agents Rurals; Johan Espunyes, Maria Puig Ribas, Lourdes Lobato, Josep M. Alonso, Oscar Cabezón (Programa AsPrCat –UAB).