

Riesgos sanitarios asociados al ciclo migratorio del salmón atlántico (*Salmo salar* L.): programa de vigilancia epidemiológica en el Norte de España

C. Ortega, A.B. Fernandez, J.L. Muzquiz, S. Ania & O. Gimeno

Departamento de Patología Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, Miguel Servet 177, 50013 Zaragoza, España

Remitido para publicación el 16 de junio de 2004

Aceptado el 3 de noviembre de 2004

Resumen

Los autores presentan los resultados de un programa de vigilancia epidemiológica realizado en poblaciones de salmón atlántico (*Salmo salar*) del Noreste de España en el que se investiga la presencia de microorganismos potencialmente patógenos, la respuesta inmune celular de tipo innata de los salmones estudiados y la posible relación que hay entre ambos elementos, como puntos críticos de riesgo en la transmisión de enfermedades, tomando en cuenta las características del ciclo biológico y de migraciones de dichas poblaciones salmonícolas. Entre los resultados obtenidos destaca la presencia de *Aeromonas salmonicida* y *Saprolegnia parasitica* como los microorganismos más importantes por sus características patológicas, su frecuencia y capacidad de transmisión. Respecto a la respuesta inmune celular, se observa una gran variabilidad de tipo individual en algunos grupos celulares, además de apreciarse ciertas diferencias estacionales y de edad, factores que pueden predisponer a la adquisición de infecciones o al establecimiento de situaciones de portador asintomático y el consiguiente riesgo de transmisión de infecciones en los procesos de migración. Este hecho podría ser particularmente importante en situaciones de infección por *A. salmonicida* y *S. parasitica*, ya que se ha observado que ante estas infecciones los salmones presentaban una reducción del número de leucocitos en comparación con los peces no infectados.

Palabras clave

Epidemiología – España – Infección – Inmunología – Salmón atlántico – Vigilancia.

Introducción

Históricamente, el salmón atlántico (*Salmo salar* Linnaeus, 1758) se encontraba ampliamente distribuido en los países cuyos ríos fluyen al Atlántico Norte. Sin embargo, en las últimas décadas, se ha producido un descenso crítico en las poblaciones de salmones que ha llevado a su extinción en muchos de aquellos ríos o a una drástica reducción en otros, lo que originó cierta situación de alarma (1, 24).

Como consecuencia de esa situación, algunos países afectados en Europa y América del Norte han puesto en

marcha programas de recuperación que tratan de mantener y mejorar las poblaciones de salmón atlántico en los principales ríos salmoneros, caso de algunos ríos del Norte de España (1).

Las propiedades de su ciclo vital, de tipo anádromo, y por tanto caracterizado por la utilización de los ríos para la reproducción y el crecimiento en sus primeros estadios (alevín y juvenil) y del mar para el desarrollo posterior (adultos), los lleva a realizar grandes migraciones que llegan a alcanzar hasta los mares de Barents o de Groenlandia (24). Esta migración hace que los salmones de

una determinada procedencia se mezclen con poblaciones de diferentes orígenes en aquellos puntos y por tanto, existe la posibilidad de transmisión de microorganismos y su traslado posterior a ríos muy lejanos en la fase de retorno para la freza.

A esta situación hay que añadir que ese ciclo vital del salmón puede verse afectado por múltiples factores que, de forma natural (predación, competencia, medio acuático) o inducida por la intervención del hombre (presión de pesca, polución, barreras geográficas) tienen una repercusión clara en la supervivencia de los salmones y, especialmente, en su capacidad de resistencia a procesos como el estrés de la freza o el retorno a los ríos de forma ascendente, lo que implica grandes esfuerzos fisiológicos además de ser una época en la que los animales no comen. Todo ello lleva consigo una importante caída de las defensas, hecho que será aprovechado por aquellos microorganismos productores de enfermedad para desencadenar procesos patológicos que, bien acaban con la muerte de parte de las poblaciones salmonícolas, o bien evolucionan a infecciones inaparentes y por tanto a la aparición de portadores asintomáticos capaces de trasladar a los microorganismos durante largos periodos de tiempo y a grandes distancias (1, 3, 4, 5, 24, 30).

La resistencia a las situaciones adversas, y especialmente a la intervención de microorganismos, requiere, en gran medida, que los salmones posean una buena base inmunológica que les permita afrontar su ciclo biológico (altamente estresante) y el contacto con los agentes patógenos, que en la mayoría de ocasiones se encuentran en forma saprofita o comensal, con garantías de supervivencia (38).

Así pues, hay que considerar que la supervivencia de las poblaciones de salmón atlántico está condicionada, entre otros elementos, por dos claramente significativos, la presencia de microorganismos potencialmente patógenos y el funcionamiento del sistema inmune (12).

El sistema inmunológico del salmón es característico de los teleosteos y por tanto puede dividirse en dos tipos, por un lado un sistema de respuesta innata o inespecífica, son mecanismos filogenéticos ancestrales que tienden a eliminar cualquier elemento extraño al organismo de forma inespecífica, y por otro lado una respuesta inmune específica o combinada basada en la acción de grupos celulares y sustancias humorales que reaccionan específicamente frente a un agresor concreto (7). No obstante, esta clasificación de inmunidad innata y específica es un artificio, ya que ambas interactúan y funcionan simultáneamente ante una agresión externa. Para ello, intervienen una serie de grupos celulares inmunocompetentes, leucocitos fundamentalmente, y una serie de factores humorales, tanto inespecíficos, caso del

complemento, la lisozima o el interferón, como específicos, caso de los anticuerpos o inmunoglobulinas (20, 22, 33, 34, 43).

Esta respuesta inmune está condicionada por múltiples factores dependientes del propio hospedador como su edad, estado fisiológico o estrés, características del medio acuático como son la temperatura del agua o la presencia de tóxicos en el agua, y en tercer lugar dependientes del microorganismo implicado (2, 17, 19, 21, 32, 35, 48, 49).

Por otro lado, el papel de los microorganismos responsables de enfermedad será un punto clave en la supervivencia de los salmones, sobre todo si se considera que en la fauna silvestre su control y prevención son muy difíciles y que además, es frecuente la presentación de estados de portador casi permanente (37).

Ante el interés que ha presentado en los últimos años la recuperación del salmón atlántico en países como Francia, Reino Unido o España y asumiendo aquellas características de migración del mismo, se planteó la necesidad de desarrollar un programa de vigilancia epidemiológica que permitiese valorar la situación sanitaria (microorganismos potencialmente patógenos) e inmunológica de las poblaciones de salmón de algunos de los principales ríos salmoneros del Norte de España, ríos Bidasoa y Urumea, y la posible influencia de aquellas condiciones en la difusión de esos microorganismos y en la propia supervivencia del salmón atlántico.

Material y métodos

El programa de vigilancia epidemiológica consiste en el análisis microbiológico e inmunológico en el laboratorio a partir de muestras de salmón atlántico de los ríos Bidasoa y Urumea, y en la recogida de datos mediante una encuesta epidemiológica (45). Para la realización del estudio se seleccionaron cuatro puntos del río Bidasoa (uno de los principales ríos salmoneros de España y clara referencia del salmón del mar Cantábrico) y tres puntos en el río Urumea, puntos distribuidos a lo largo del tramo donde habita el salmón de forma natural. En cada punto de muestreo se toman cinco salmones para el estudio con una periodicidad trimestral. El tamaño se determinó utilizando el programa informático Epi Info 6.0 elaborado por el Centers of Disease Control and Prevention (CDC, Atlanta) y la Organización Mundial de la Salud (OMS, Ginebra).

Los muestreos a los que pertenecen los resultados que aquí se presentan se realizaron a lo largo de tres años sucesivos con una periodicidad estacional (cuatro muestreos al año). En cada muestreo, se recogía información, mediante la encuesta epidemiológica de características de los animales (sexo, edad, fisiología) y de condiciones ambientales

(temperatura, caudal, estación del año). Los datos se introducían en una base de datos diseñada con el programa informático Epi Info 6.0 y creada para posteriormente realizar el análisis estadístico.

Los salmones se capturaron mediante un sistema de pesca eléctrica de manera que el estrés de captura inducido fuera mínimo. Una vez capturados, los animales eran sacrificados con una sobredosis de 2-fenoxietanol. Inmediatamente se extraía una muestra de sangre mediante punción en la vena caudal. Una gota de la misma se depositaba en un portaobjetos para hacer una extensión y el resto se depositaba en un tubo ependorff con heparina de litio y se conservaba a 4°C hasta su utilización.

Para determinar el porcentaje de centros melanomacrofágicos se tomaron muestras de bazo y riñón anterior, que son sus principales puntos de localización, y se introdujeron en medio de inclusión "Tissue-Tek compound" para formación de bloques en nitrógeno líquido. Posteriormente, los bloques se mantuvieron a -22°C hasta su utilización (26).

Se realizó la necropsia de los salmones capturados y se procedió posteriormente a la toma de muestras para los diagnósticos bacteriano, micótico, vírico y parasitario. Para tal fin, se tomaron muestras de hígado, riñón anterior, bazo y ciegos pilóricos, muestras que, por un lado, fueron utilizadas para aislamiento de virus mediante la inoculación en cultivos celulares de las líneas continuas EPC (*Epithelioma papillosum cyprini*) y BF-2 (*bluegill fibroblast*). Por otro lado, muestras de hígado, bazo y riñón anterior se sembraron en medios de cultivo agar tripticosa de soja (TSA), agar sangre, agar marino y agar KDM-2 (*kidney disease medium*), para aislamiento de bacterias. La identificación de los microorganismos aislados se realizó según los protocolos descritos por Austin & Austin (4).

La detección de parásitos se realizó por visualización directa mediante microscopía óptica a partir de muestras de branquias y de aleta dorsal preparadas con una solución de hidróxido potásico (KOH). La detección de hongos, particularmente de *Saprolegnia parasitica*, se realizó mediante siembras en medio Saboureaud a partir de raspados de mucus y piel de aquellos salmones que presentaban manchas algodonosas en su superficie (16).

Los estudios inmunológicos realizados consistieron en recuentos de eritrocitos (que si bien no son células inmunológicas como tales, sí son importantes en el transporte de oxígeno utilizado en los fenómenos oxidativos que en algunos momentos forman parte de la respuesta inmune global) y leucocitos totales en sangre, utilizando para ello el protocolo descrito por Campbell (13). Además, se realizó la fórmula leucocitaria mediante la tinción con panóptico rápido y recuento en portaobjetos, y el recuento de centros melanomacrofágicos en cortes

histológicos de riñón anterior y bazo y que habían sido incluidos en moldes con Tissue-Tek.

Los resultados de los análisis microbiológico, parasitario e inmunológico se introdujeron en la base de datos creada junto a la información recogida previamente en la encuesta. El análisis estadístico fue de tipo descriptivo para cada variable independientemente y de tipo inferencial entre variables para determinar la asociación entre ellas (45).

Resultados

Frecuencias de infección

En el 49,3% del total de la población de salmones estudiada se detectó la presencia de microorganismos, bien causando enfermedad, bien en forma inaparente, y que por tanto, podrían estar implicados en la difusión de algún proceso patológico. De ellos, el 37,2% corresponde a agentes de etiología bacteriana; no se observó ningún microorganismo de naturaleza vírica.

Entre los microorganismos aislados, destaca *Pseudomonas* spp., detectada en un 20% de los salmones estudiados. Entre los microorganismos con mayor poder patógeno destaca *Aeromonas salmonicida*, responsable de la forunculosis, con una frecuencia del 3,5%. Junto a esta bacteria, presenta gran importancia *S. parasitica* con un 12,9% (Fig. 1). Entre los microorganismos de etiología parasitaria, la frecuencia más elevada se presentó para *Gyrodactylus* sp. (6,1% de la población estudiada).

La distribución geográfica de los salmones infectados en el curso de los ríos evidenció que, de forma general, la frecuencia de infección es mayor cuanto más se desciende en el cauce del río, es decir, más baja en la cabecera y más alta en puntos descendentes, lo que podría justificarse por que a la cabecera del río llegarán aquellos animales en mejores condiciones fisiológicas y sanitarias.

Respecto a la influencia estacional en la presentación de infecciones, se observa para las bacterias una mayor frecuencia de infección en otoño y verano (50,8% y 50% de aislamientos en los animales estudiados en esas estaciones), mientras que en el caso de los hongos, es el otoño la estación con mayor frecuencia de infección (17,1% de animales infectados entre los controlados en esa estación). Para los procesos parasitarios, la mayor frecuencia se ha presentado en invierno (24,4% de los salmones estudiados en esa estación) (Cuadro I).

Finalmente, la distribución de infección según la edad pone de manifiesto que en el caso de las bacterias son los alevines los que presentan mayor frecuencia de infección

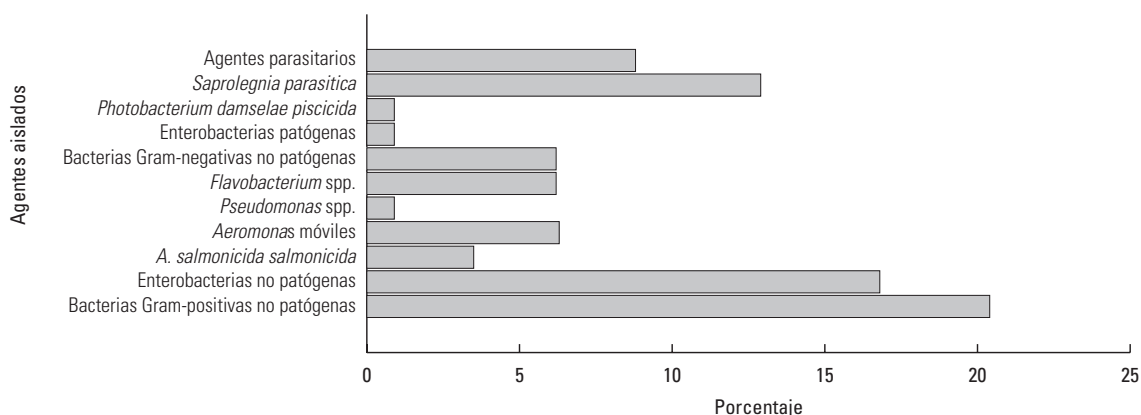


Fig. 1
Frecuencia de infecciones (porcentaje de la población estudiada)

Cuadro I
Frecuencias de infección según las estaciones del año (porcentaje del total de población controlada en cada estación)

Agentes	Primavera	Verano	Otoño	Invierno
Agentes bacterianos	8,3	50	50,8	26,8
Bacterias Gram-positivas no patógenas	0	0	32,2	9,8
Enterobacterias no patógenas	4,2	20,8	20,3	2,4
Género <i>Aeromonas</i>	4,2	8,3	1,7	19,5
<i>A. salmonicida salmonicida</i>	0	0	0	9,8
<i>A. hydrophila</i>	4,2	0	0	7,3
<i>A. caviae</i>	0	8,3	0	0
<i>A. sobria</i>	0	0	1,7	2,4
Género <i>Pseudomonas</i>	0	29,2	5,1	0
<i>Pseudomonas</i> spp.	0	29,2	1,7	0
<i>P. anguilliseptica</i>	0	0	1,7	0
<i>P. fluorescens</i>	0	0	1,7	0
<i>Flavobacterium</i> spp.	4,2	0	13,6	0
Bacterias Gram-negativas no patógenas	0	0	13,6	2,4
Enterobacterias patógenas	0	0	1,7	0
<i>Photobacterium damsela piscicida</i>	0	0	0	2,4
Agentes fúngicos	0	0	17,1	9,8
<i>Saprolegnia parasitica</i>	0	0	17,1	9,8
Agentes parasitarios	0	0	0	24,4
<i>Gyrodactylus</i> sp.	0	0	0	22
Nematodos intestinales	0	0	0	2,4
Agentes víricos	0	0	0	0

(66,7% de los salmones controlados de esa edad), seguidos de los adultos (54,8% de los adultos estudiados). En el caso de los hongos solo se ha detectado infección en adultos, concretamente en el 21,9% de los salmones de esa edad estudiados, y para las parasitosis son los juveniles el grupo de edad con más frecuencia de parasitación (9,1% de los salmones juveniles controlados) (Cuadro II).

Estudio inmunológico

El análisis de la respuesta inmune de los salmones de los ríos estudiados ha puesto de manifiesto la existencia de una respuesta inmune de tipo celular dentro de rangos normales, si bien la distribución de esa respuesta se ha caracterizado por una gran variabilidad individual, incluso

en un mismo punto de muestreo. La distribución de frecuencias para los recuentos de eritrocitos, leucocitos y sus tipos, así como de los centros melanomacrofágicos del riñón y bazo, se presenta en el Cuadro III.

Respecto a la influencia de la zona geográfica en la respuesta inmune, hemos observado que ésta no influye en los recuentos de eritrocitos, mientras que en el caso de los leucocitos sí se aprecia que en los puntos intermedios de los ríos los valores medios de los recuentos suelen ser más bajos que en puntos más altos o más bajos. Esa misma tendencia se aprecia cuando ese grupo de células se descompone en los diferentes tipos, linfocitos, neutrófilos y macrófagos, que también se encuentran reducidos en los puntos intermedios. En el caso de los centros melanomacrofágicos no se ha observado esa variación entre puntos, y los recuentos resultaron mucho más uniformes en todos los puntos que en el caso de los leucocitos.

Desde un punto de vista estacional, la primavera presenta cierta influencia en la respuesta inmune, especialmente en los recuentos de leucocitos que se ven claramente incrementados en esa época (Fig. 2). Los demás parámetros inmunológicos estudiados no han presentado diferencias estacionales significativas.

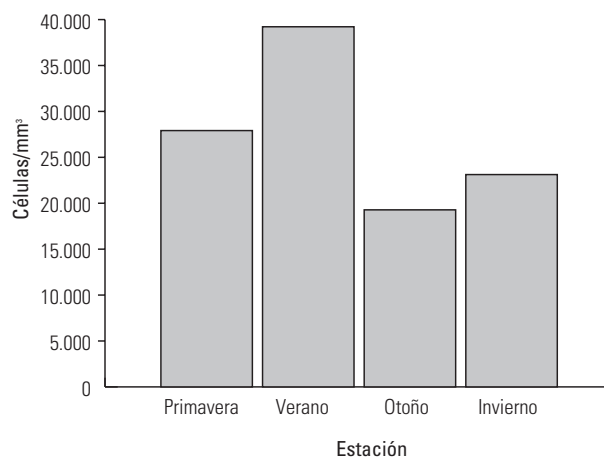


Fig. 2
Recuento de leucocitos según la estación del año (células/mm³)

El estudio de otras características de los salmones, como edad y sexo, no ha revelado diferencias significativas en cuanto a los parámetros inmunológicos estudiados. Solamente indicaremos al respecto que en los salmones juveniles se ha presentado una respuesta en leucocitos ligeramente mayor a la de los otros dos grupos de edad (alevines y adultos), si bien las diferencias no son significativas.

Cuadro II

Frecuencias de infección según la edad de los salmones (porcentaje del total de población controlada para cada edad)

Agentes	Alevines	Juveniles	Adultos
Agentes bacterianos	66,7	19,5	54,8
Bacterias Gram-positivas no patógenas	22,2	3,9	29
Enterobacterias no patógenas	0	6,5	22,6
Género <i>Aeromonas</i>	33,3	2,6	11,3
<i>A. salmonicida salmonicida</i>	0	0	6,5
<i>A. hydrophila</i>	33,3	1,3	0
<i>A. caviae</i>	0	1,3	1,6
<i>A. sobria</i>	0	0	3,2
Género <i>Pseudomonas</i>	22,2	7,8	3,2
<i>Pseudomonas</i> spp.	22,2	6,5	1,6
<i>P. anguilliseptica</i>	0	1,3	0
<i>P. fluorescens</i>	0	0	1,6
<i>Flavobacterium</i> spp.	11,1	3,9	8,1
Bacterias Gram-negativas no patógenas	0	2,6	11,3
Enterobacterias patógenas	0	1,3	0
<i>Photobacterium damsela piscicida</i>	0	0	1,6
Agentes fúngicos	0	0	21,9
<i>Saprolegnia parasitica</i>	0	0	21,9
Agentes parasitarios	0	9,1	4,8
<i>Gyrodactylus</i> sp.	0	9,1	3,2
Nematodos intestinales	0	0	1,6
Agentes víricos	0	0	0

Relaciones entre las infecciones y la respuesta inmune

El estudio de la relación entre la inmunidad y la presencia de agentes infecciosos y parasitarios ha evidenciado que en los casos de infección por *S. parasitica*, se observaba un claro descenso del recuento de leucocitos, manifiesto fundamentalmente por un importante descenso de linfocitos y una marcada neutrofilia, pero no se observaba ninguna diferencia en el caso de los centros melanomacrofágicos (Cuadro IV).

La misma situación se ha observado en los casos de infección por *A. salmonicida*, ante la cual los salmones sufrían una reducción en su respuesta inmune de leucocitos hasta más de la mitad del recuento existente para los salmones no infectados. Al analizar la fórmula leucocitaria en estos salmones infectados, se observa que el descenso crítico en los recuentos de leucocitos conlleva una reducción intensa de linfocitos y neutrófilos (Cuadro V).

Sin embargo, en ambas infecciones, por *S. parasitica* y por *A. salmonicida*, se observa que los salmones infectados presentan un importante incremento en los porcentajes de macrófagos circulantes (en sangre), incrementos que no se aprecian en los centros melanomacrofágicos de riñón y bazo (Cuadros IV y V).

Para los demás microorganismos infecciosos y parasitarios, no se han detectado diferencias significativas entre los salmones que presentaban el agente y aquellos que no lo presentaban.

Discusión

Los resultados del programa de vigilancia epidemiológica muestran que cerca del 50% de la población de salmón atlántico estudiada presenta infección por algún microorganismo, si bien hay que destacar la total ausencia de agentes víricos y la predominancia de los agentes bacterianos y parasitarios. Entre esos microorganismos,

Cuadro III
Parámetros inmunológicos (valores medios) en la población estudiada

Parámetro	Media	Desviación estándar	Mediana	Moda
Eritrocitos (células/mm ³)	922.898,6	351.765,6	875.000,0	590.000,0
Leucocitos (células/mm ³)	25.432,0	17.118,0	19.500,0	16.000,0
Linfocitos (%)	84,8	12,9	90,5	93,0
Neutrófilos (%)	13,2	11,8	8,0	4,0
Macrófagos (%)	1,8	3,9	1,0	0,0
CMM en riñón (%)	7,2	5,1	5,9	0,8
CMM en bazo (%)	2,3	2,2	1,2	0,5

CMM: centros melanomacrofágicos

Cuadro IV
Parámetros inmunológicos en los salmones infectados y no infectados por *Saprolegnia parasitica*

Parámetro	Infección por <i>S. parasitica</i>	Media ± desviación estándar	Mediana	Moda
Eritrocitos (células/mm ³)	Sí	989.375 ± 323.537	937.500,0	585.000,0
	No	929.083 ± 355.132	880.000,0	590.000,0
Leucocitos (células/mm ³)	Sí	18.531,2 ± 13.689,9	14.000,0	14.000,0
	No	25.141,8 ± 15.778,5	20.000,0	14.500,0
Linfocitos (%)	Sí	73,18 ± 12,6	74,0	64,0
	No	85,6 ± 12,3	91,0	93,0
Neutrófilos (%)	Sí	21,2 ± 11,2	20,5	12,0
	No	12,9 ± 11,6	8,0	4,0
Macrófagos (%)	Sí	5,5 ± 10,3	1,5	0,0
	No	1,3 ± 1,6	1,0	0,0
CMM en riñón (%)	Sí	6,5 ± 2,4	5,8	4,5
	No	7,2 ± 5,3	5,9	0,8
CMM en bazo (%)	Sí	2,1 ± 1,9	1,8	0,5
	No	2,3 ± 2,2	1,2	0,5

CMM: centros melanomacrofágicos

Cuadro V**Parámetros inmunológicos en los salmones infectados y no infectados por *Aeromonas salmonicida***

Parámetro	Infección por <i>A. salmonicida</i>	Media \pm desviación estándar	Mediana	Moda
Eritrocitos (células/mm ³)	Sí	593.750 \pm 17.969	587.500,0	580.000,0
	No	932.041 \pm 352.248	887.500,0	780.000,0
Leucocitos (células/mm ³)	Sí	8.250 \pm 2.217,3	8.500,0	5.500,0
	No	25.102,1 \pm 15.716,6	19.750,0	16.000,0
Linfocitos (%)	Sí	78,5 \pm 19,1	78,5	60,0
	No	84,9 \pm 12,8	90,5	96,0
Neutrófilos (%)	Sí	3,7 \pm 4,3	3,5	0,0
	No	13,5 \pm 11,8	8,5	4,0
Macrófagos (%)	Sí	17,7 \pm 14,9	17,5	3,0
	No	1,4 \pm 1,9	1,0	0,0
CMM en riñón (%)	Sí	8,2 \pm 1,4	8,2	7,1
	No	7,1 \pm 5,2	5,7	0,8
CMM en bazo (%)	Sí	2,4 \pm 2,2	1,3	0,5
	No	0,9 \pm 0,6	0,5	0,5

CMM: centros melanomacrofágicos

resaltan dos, por la frecuencia con que se han presentado y por su carácter patógeno: *A. salmonicida* y *S. parasitica*. Ambos microorganismos se caracterizan por el hecho de presentarse asociados en varias ocasiones, lo que agrava todavía más el proceso, y por la existencia de portadores asintomáticos que pueden mantener una infección latente durante largos periodos de tiempo, lo que puede indicar ciertos riesgos de infección en los procesos migratorios del salmón.

Saprolegnia parasitica es un hongo, endémico en la mayor parte de los ríos, que ha desencadenado brotes importantes de enfermedad a lo largo de los años entre los salmónidos, tal y como describen diversos autores (6, 16, 25). Algunos trabajos han indicado que factores como el estrés, la calidad química del agua y sobre todo la eutrofización del medio, facilitan la proliferación de *S. parasitica* (39).

La presencia de *S. parasitica* observada en otoño difiere de los resultados de otros autores, que la sitúan fundamentalmente en invierno y sobre todo en la fase de reproducción (11). No obstante, nuestro resultado se puede explicar por el hecho que el otoño corresponde a la época en la que los salmones adultos de la zona estudiada comienzan a ascender los ríos para reproducirse, lo que significa un intenso estrés y un gran esfuerzo físico, que posiblemente predisponen a la colonización del salmón por parte del agente.

Aeromonas salmonicida es, posiblemente, el agente patógeno más importante que se ha detectado. Esta bacteria, que se considera prácticamente endémica en todos los países donde se mantienen poblaciones de salmónidos, ha sido detectada con importantes

prevalencias en España, tanto en poblaciones de producción intensiva como de vida silvestre (37, 38, 46). Este microorganismo se caracteriza por su capacidad de infectar a múltiples especies de origen fluvial y marino y de persistir, además, en estas especies en forma asintomática, lo que permite la perpetuación de la infección mediante estas especies portadoras (47), sobre todo las especies anádromas que son las que más riesgo suponen para la transmisión del agente y la enfermedad (28). No obstante, parece que la enfermedad clínica está fuertemente condicionada por la intervención de factores de riesgo dependientes del medio acuático, fundamentalmente la calidad química del agua, bien por inducir estrés en el animal o bien por que producen alteraciones en el epitelio de los salmones, lo que predispone a la instauración del forúnculo (23). Desde el punto de vista estacional, hemos detectado la presencia de *A. salmonicida* en invierno, hecho que contrasta con las observaciones de otros autores que la sitúan fundamentalmente en primavera y verano, cuando las temperaturas inician su ascenso y se presentan cambios bruscos (4, 29). La razón de esta diferencia podría radicar en que el estudio se realizó en una zona geográfica sin inviernos extremos, lo que hace que las temperaturas medias del invierno sean más cálidas que en otros ríos y por tanto el periodo de riesgo se acerque más a esa época del año.

Respecto a la respuesta inmune, hemos observado una gran variabilidad, incluso de tipo individual, entre la población de salmones estudiada, hecho que posiblemente esté muy relacionado con los constantes cambios fisiológicos y del medio acuático que se producen en los ríos y que desencadenan situaciones de estrés que acaban afectando muy directamente al sistema inmunológico y

sobre todo a su capacidad de respuesta, tal como también han observado en otras especies de salmónidos algunos autores, caso de la trucha común (8, 9) o de la trucha arco iris (44).

Dentro del grupo de los leucocitos, los linfocitos son las células mayoritarias, obteniéndose valores dentro del rango de normalidad definido para los salmónidos, entre 70% y 90% según indican Ellis (18) y Hibiya (27). Sin embargo, existen diferencias con respecto a lo que observan autores como Pettersen y col. (40), quienes obtienen valores medios de neutrófilos en salmónidos en torno al 6%, es decir inferiores a los obtenidos por nosotros, o Ellis y col. (19) que indican que en salmones sanos, prácticamente no existen macrófagos.

Por otro lado, se observa que en aquellos puntos donde las proporciones de infección eran más altas, los salmones presentaban un mayor número de macrófagos, recuentos de leucocitos más bajos y cierta linfopenia y neutrofilia, valores claramente indicativos de inmunodepresión (41, 42, 50). De estos resultados podemos deducir una clara relación entre los estados de mayor debilidad inmunológica y la presencia de infecciones.

Además de las infecciones detectadas, también algunas de las características de calidad físicoquímica del agua como la concentración de amoníaco, podrían tener un efecto estresante que desencadenase una inmunosupresión del animal, tal como indican Carballo y col. (14).

Respecto a la estacionalidad, se observa que en otoño e invierno los recuentos de leucocitos son más bajos, seguramente como consecuencia de que en esta época convergen una serie de circunstancias que influyen negativamente en la respuesta inmune del salmón, es el caso de la migración a la cabecera del río, la freza, el cese de la alimentación, el esfuerzo físico para remontar barreras físicas del río o el fotoperíodo corto (15, 36, 48).

Entre los salmones adultos, los recuentos de leucocitos han sido claramente bajos y se ha observado además una importante leucopenia y neutrofilia, de nuevo signos de

inmunodepresión, lo que se justifica por el hecho que este grupo de edad es el que se encuentra más expuesto a algunos de los cambios fisiológicos indicados anteriormente, migración ascendente, reproducción que origina cambios hormonales, esteroides sexuales y corticosteroides que actúan como inmunosupresores (35).

Finalmente, respecto a los centros melanomacrofágicos de riñón anterior y bazo se puede concluir que si bien algunos autores los consideran indicativos del estado de salud de los salmónidos (10, 31), nuestros resultados no permiten clarificar esta situación, ya que no hemos detectado diferencias significativas en los valores de dichos grupos celulares entre salmones infectados y no infectados ni entre diferentes puntos del río. Lo que hemos observado es una mayor superficie de centros melanomacrofágicos en verano, resultado que concuerda con los de Blazer y col. (10), quienes observan también el aumento de estos grupos celulares en épocas cálidas, lo que nos hace pensar que esos grupos celulares podrían tener cierta relación directa con las condiciones ambientales, o indirecta a través de la inducción de estrés.

Por tanto, los resultados del programa de vigilancia epidemiológica nos hacen pensar que el salmón atlántico está sometido a situaciones muy estresantes que llevan a estados de clara inmunodepresión. Éstos, a su vez, facilitan la colonización del salmón por parte de microorganismos potencialmente patógenos que originarán situaciones de enfermedad o de portador asintomático, hecho, este último, que puede traducirse por la transmisión de los microorganismos a grandes distancias geográficas gracias al ciclo migratorio del salmón. Por todo ello concluimos que ese riesgo es real y que podría ser catastrófico, especialmente en el caso de que llegase a aparecer alguna enfermedad de etiología vírica.



Health risks associated with the migration of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): an epidemiological surveillance programme in Northern Spain

C. Ortega, A.B. Fernandez, J.L. Muzquiz, S. Ania & O. Gimeno

Summary

The authors present the results of an epidemiological surveillance programme involving Atlantic salmon (*Salmo salar*) populations in north-eastern Spain. The study investigates the risk factors critical in disease transmission, which include the presence of potentially pathogenic micro-organisms, the innate cell-mediated immune response of the salmon, and the potential interactions between the two. Also taken into account are the biological and migratory cycles of these salmon populations. The results showed that *Aeromonas salmonicida* and *Saprolegnia parasitica* were the micro-organisms that played the most important role in the transmission of the disease by virtue of their pathological characteristics, their occurrence in large numbers, and their capacity to transmit disease. With regard to the cell-mediated immune response, the authors observed a wide variability between individuals in some cell groups, as well as certain seasonal and age differences. These may be factors that predispose the animals to infection or to becoming asymptomatic carriers, with the attendant risk of transmitting infection in the course of migration. This could be especially relevant in the case of salmon infected with *A. salmonicida* and *S. parasitica*, since it has been observed that such salmon have a decreased number of leucocytes compared to non-infected salmon.

Keywords

Atlantic salmon – Epidemiology – Immunology – Infection – Spain – Surveillance.



Risques sanitaires associés au cycle migratoire du saumon de l'Atlantique (*Salmo salar* L.) : programme de surveillance épidémiologique dans le Nord de l'Espagne

C. Ortega, A.B. Fernandez, J.L. Muzquiz, S. Ania & O. Gimeno

Résumé

Les auteurs présentent les résultats d'un programme de surveillance épidémiologique réalisé sur les populations de saumons de l'Atlantique (*Salmo salar*) dans le Nord-Est de l'Espagne, qui portait, d'une part, sur la recherche des micro-organismes potentiellement pathogènes et sur la détection d'une réponse immunitaire à médiation cellulaire de type innée chez les saumons étudiés et, d'autre part, sur l'éventuelle corrélation entre ces deux aspects, en tant que points critiques de risque de transmission des maladies, compte tenu des caractéristiques du cycle biologique et migratoire de ces populations salmonicoles. Parmi les principaux résultats, l'importance d'*Aeromonas salmonicida* et de *Saprolegnia parasitica* est à souligner, en raison des caractéristiques pathogéniques, de la fréquence et de la capacité de

transmission de ces agents. S'agissant de la réponse immunitaire à médiation cellulaire, on constate une grande variabilité d'un individu à l'autre pour certains types de cellules, outre les variations dues à la période de l'année et à l'âge des saumons, autant de facteurs susceptibles de prédisposer à une infection ou à un portage asymptomatique, avec le risque qui en découle de transmission lors des processus migratoires. Cette observation peut s'avérer cruciale s'agissant des infections à *A. salmonicida* et à *S. parasitica*, dans la mesure où le nombre de leucocytes était fortement réduit chez les saumons infectés, en comparaison avec les saumons non infectés.

Mots-clés

Épidémiologie – Espagne – Immunologie – Infection – Saumon de l'Atlantique – Surveillance.



Bibliografía

- Alvarez J., Urrizalki I., Mendiola I., Rodríguez C., García de Leaniz C., Consuegra S. & Serdio A. (2002). – Densidad de obstáculos y su incidencia sobre el área utilizada por el salmón en los ríos ibéricos. In Un viaje de ida y vuelta. IV Jornadas del salmón atlántico en la península ibérica, 23-25 de octubre, Pamplona (M. Lamuela & J. Álvarez, edit.). Gobierno de Navarra, Pamplona.
- Anderson D.P. (1992). – Immunostimulants. Adjuvants and vaccine carriers in fish: applications in aquaculture. *Annu. Rev. Fish Dis.*, **2**, 281-307.
- Ania S., Fernandez A.B., Alvarez J., Lamuela M., Orós J., Claver R. & Ortega C. (2002). – Aspectos ecopatológicos asociados a las infecciones que afectan al salmón atlántico (*Salmo salar*) en el río Bidasoa. In Un viaje de ida y vuelta. IV Jornadas del salmón atlántico en la península ibérica, 23-25 de octubre, Pamplona (M. Lamuela & J. Álvarez, edit.). Gobierno de Navarra, Pamplona.
- Austin B. & Austin A. (1999). – Bacterial fish pathogens. In *Diseases of farmed and wild fish*. Springer-Praxis Publishing Ltd, Chichester, 63-81.
- Baum E.T., Rizzo B., Rideout S.G., Haro A. & Colligan M. (2002). – Atlantic salmon restoration in New England: fish passage challenges and solutions. In Un viaje de ida y vuelta. IV Jornadas del salmón atlántico en la península ibérica, 23-25 de octubre, Pamplona (M. Lamuela & J. Álvarez, edit.). Gobierno de Navarra, Pamplona.
- Beakes G.W., Wood S.E. & Burr A.W. (1994). – Features which characterized *Saprolegnia* isolates from Salmonoid fish lesions. A review. In *Salmo saprolegniosis* (G.J. Mueller, edit.). Department of Botany, University of Washington, Seattle, 33-66.
- Bernstein R.M., Schluter S.F. & Marchalonis J.J. (1998). – Immunity. In *The physiology of fishes* (D.H. Evans, edit.). CRC Press, Boca Raton.
- Blaxhall P.C. & Daisley K.W. (1973). – Routine haematological methods for use with fish blood. *J. Fish Biol.*, **5**, 771-781.
- Blaxhall P.C. & Hood K. (1985). – Cytochemical enzyme staining of fish lymphocytes separated on a Percoll gradient. *J. Fish Biol.*, **27**, 749-755.
- Blazer V.S., Wolke R.E., Brown J. & Powell C.A. (1987). – Piscine macrophage aggregate parameters as health monitors: effect of age, sex, relative weight, season and site quality in largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquat. Toxicol.*, **10**, 199-215.
- Bly J.E., Lawson L.A., Szalai A.J. & Clem L.W. (1993). – Environmental factors affecting outbreaks of winter saprolegniosis in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish Dis.*, **16**, 541-549.
- Brown L. (2000). – Acuicultura para veterinarios. Producción y clínica de peces. Acribia, Zaragoza.
- Campbell T.W. (1988). – Fish cytology and hematology. *Vet. Clin. North Am. (small Anim. Pract.)*, **18**, 349-364.
- Carballo M., Muñoz M.J., Cuellar M. & Tarazona J.V. (1995). – Effects of water-borne copper, cyanide, ammonia and nitrite on stress parameters and changes in susceptibility to saprolegniosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Appl. environ. Microbiol.*, **61**, 2108-2112.
- Clem L.W., Faulmann E., Miller N.W., Ellsaesser C.F., Lobb C.J. & Cuchens M.A. (1984). – Temperature-mediated processes in teleost immunity: differential effects of *in vitro* and *in vivo* temperatures on mitogenic responses of channel catfish lymphocytes. *Dev. comp. Immunol.*, **8**, 313-322.
- Dieguez-Urbeondo J., Cerenius L. & Söderhäll K. (1996). – Physiological characterization of *Saprolegnia parasitica* isolates from brown trout. *Aquaculture*, **140**, 247-257.

17. Dunier M. & Siwicki A.K. (1993). – Effects of pesticides and other organic pollutants in the aquatic environment on immunity of fish: a review. *Fish Shellfish Immunol.*, **3**, 423-438.
18. Ellis A.E. (1977). – The leucocytes of fish: a review. *J. Fish Biol.*, **11**, 453-491.
19. Ellis A.E. (1981). – Stress and the modulation of defence mechanisms in fish. In *Stress and fish* (A.D. Pickering, edit.). Academic Press, Londres.
20. Ellis A.E. (1990). – Lysozyme assays. In *Techniques in fish immunology* (J.S. Stolen, T.C. Fletcher, D.P. Anderson, B.S. Roberson & W.B. Muiswinkel, edit.). SOS Publications, Fair Haven, New Jersey.
21. Elsasser M.S., Roberson B.S. & Hetrick F.M. (1986). – Effects of metals on the chemiluminescent response of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) phagocytes. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **12**, 243-250.
22. Espenes A., Press C.M.L., Dannevig D.H. & Landsverk T. (1995). – Immune-complex trapping in the splenic ellipsoids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Cell Tissue Res.*, **282** (1), 41-48.
23. Ezura Y., Yamamoto H., Yoshimizu M., Tajima K., Sannohe H., Ikeda K., Sako H., Hara T. & Kimura T. (1984). – An outbreak of furunculosis in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) at the beginning of marine pen culture. *Fish Pathol.*, **19** (2), 75-80.
24. Hansen L.P. (2002). – A review of the biology of Atlantic salmon in the marine environment. In *Un viaje de ida y vuelta. IV Jornadas del salmón atlántico en la península ibérica*, 23-25 de octubre, Pamplona (M. Lamuela & J. Álvarez, edit.). Gobierno de Navarra, Pamplona.
25. Hatai K. & Osilla G. (1992). – Mass mortality in cultured coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) due to *Saprolegnia parasitica* Coker. *J. Wildl. Dis.*, **28**, 532-536.
26. Herráez M.P. & Zapata A.G. (1986). – Structure and function of the melano-macrophage centres of goldfish *Carassius auratus*. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **12**, 117-126.
27. Hibiya T. (1994). – An atlas of fish histology. Normal and pathological features. Gustav Fisher Verlag, Stuttgart.
28. Jarp J., Tangen K., Willumsen F.V., Djupvik H.O. & Tveit A.M. (1993). – Risk factors for infection with *Aeromonas salmonicida* subsp. *salmonicida* in Norwegian freshwater hatcheries. *Dis. aquat. Organisms*, **17**, 81-86.
29. Jensen N.J. & Larsen J.L. (1985). – Seasonal occurrence of *Aeromonas salmonicida* carriers. In *Fish and shellfish pathology* (A.E. Ellis, edit.). Academic Press, Londres.
30. Jutila E., Jokikokko E., Kallio-Nyberg I., Saloniemi I. & Pasanen P. (2002). – Differences in sea migration between wild and reared Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the Baltic Sea. *Fish. Res.*, **1**, 455, 1-11.
31. Lamas J., Santos Y., Bruno D.W., Toranzo A.E. & Anadón R. (1994). – Non-specific cellular responses of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) to *Vibrio anguillarum* and its extracellular products (ECPs). *J. Fish Biol.*, **45**, 839-854.
32. Lillehaug A., Ramstad A., Bekken K. & Reitan L.J. (1993). – Protective immunity in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) vaccinated at different water temperatures. *Fish Shellfish Immunol.*, **3**, 143-156.
33. Lobb C.J. & Olson M.O. (1988). – Immunoglobulin heavy H chain isotypes in a teleost fish. *J. Immunol.*, **141**, 1236-1245.
34. Manning M.J. & Tatner M.F. (1985). – *Fish immunology*. Academic Press, Londres.
35. Maule A.G., Schrock R., Slater C., Fitzpatrick M.S. & Schireck C.B. (1996). – Immune and endocrine responses of adult chinook salmon during freshwater immigration and sexual maturation. *Fish Shellfish Immunol.*, **6**, 221-233.
36. Miller N.W. & Clem L.W. (1984). – Temperature-mediated processes in teleost immunity: differential effects of temperature on catfish *in vitro* antibody responses to thymus-dependent and thymus-independent antigens. *J. Immunol.*, **133**, 2356-2359.
37. Ortega C., Muzquiz J.L., Docando J., Planas E., Alonso J.L. & Simón M.C. (1995). – Ecopathology in aquaculture: risk factors in infectious disease outbreak. *Vet. Res.*, **26**, 57-62.
38. Ortega C. (2002). – Principales patologías de naturaleza infecciosa en las poblaciones fluviales de salmón atlántico y posibilidades de lucha frente a las mismas. In *Un viaje de ida y vuelta. IV Jornadas del salmón atlántico en la península ibérica*, 23-25 de octubre, Pamplona (M. Lamuela & J. Álvarez, edit.). Gobierno de Navarra, Pamplona.
39. Pérez J.A. & Espigares M. (1995). – Estudio sanitario del agua. Universidad de Granada, Granada.
40. Pettersen E.F., Fyllingen I., Kavlie A., Maaseide N.P., Glette J., Endresen C. & Wergeland H.I. (1995). – Monoclonal antibodies reactive with serum IgM and leucocytes from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish Shellfish Immunol.*, **5**, 275-287.
41. Pickering A.D. (1984). – Cortisol-induced lymphocytopenia in brown trout, *Salmo trutta* L. *Gen. comp. Endocrinol.*, **53**, 252-259.
42. Pickering A.D. & Pottinger T.G. (1988). – Lymphocytopenia and the overwinter survival of Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L. *J. Fish Biol.*, **32**, 689-697.
43. Press C.M.L., Reita L.J. & Landsverk T. (1995). – Antigen retention and enzyme reactivity in the spleen of Atlantic salmon, *Salmo salar* L., following administration of injectable furunculosis vaccine. *J. Fish Dis.*, **18**, 199-210.
44. Siwicki A.K., Anderson D.P. & Rumsey G.L. (1994). – Dietary intake of immunostimulants by rainbow trout affects non-specific immunity and protection against furunculosis. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **41**, 125-139.
45. Thrusfield M. (1995). – *Veterinary epidemiology*. Blackwell Science, Oxford.
46. Toranzo A.E., Santos I., Nuñez S. & Barja J.L. (1991). – Biochemical and serological characteristics, drug resistance and plasmid profiles of Spanish isolates of *Aeromonas salmonicida*. *Fish Pathol.*, **26**, 55-60.

47. Wiklund T. (1990). – Atypical *Aeromonas salmonicida* isolates from ulcers of pike, *Esox lucius* L. *J. Fish Dis.*, **13**, 541-544.
48. Zapata A., Varas A. & Torroba M. (1992). – Seasonal variations in the immune system of lower vertebrates. *Immunol. Today*, **12**, 142-147.
49. Zeeman M. (1986). – Modulation of the immune response in fish. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, **12**, 235-241.
50. Ziegenfuss M.C. & Wolke R. (1991). – The use of fluorescent microspheres in the study of piscine macrophage aggregate kinetics. *Dev. comp. Immunol.*, **15**, 165-171.
- 