

La quitridiomicosi

Josep Antoni MELERO

Societat Catalana d'Herpetologia. Museu de Ciències Naturals. Plaça Leonardo da Vinci 4-5, 08019- Barcelona.
jmelero39@gmail.com

Introducció

Aquesta malaltia emergent que afecta els amfibis està provocada pel fong quitridi *Batrachochytrium dendrobatidis* o Bd, i és la que més alarma ha aixecat. Una de les coses que més va cridar l'atenció al principi és que les mortalitats massives també es produïen (i es produeixen) fins i tot a zones protegides, el que no encaixava amb contaminació ni altres perturbacions humanes. A

Europa el primer lloc on es van detectar va ser al Parc Natural de Peñalara, Madrid, al 1997 inclús abans de saber-se l'agent causal. L'any 1998 BERGER i els seus col·laboradors van descobrir que el patògen era un fong quitridi i l'any 1999 LONGCORE *et al.* el van aconseguir cultivar i descriure'l com espècie nova per a la ciència. Va ser el primer fong quitridi

descobert que parasitava vertebrats; fins aleshores només se sabia que atacaven plantes i alguns invertebrats. Desgraciadament ara ja coneixem un altre quitridiomicet amb efectes encara més devastadors, que actua exclusivament sobre els urodels, el *Batrachochytrium salamandrivorans* o Bsal.

Origen de la malaltia

L'origen més probable del Bd és el sud d'Àfrica. Sembla que aquest fong ha coevolucionat amb les espècies natives d'aquella zona des de fa molt de temps, de forma que les infestacions de moltes espècies d'aquella procedència són asimptomàtiques o lleus. La utilització de la granota d'ungles (*Xenopus laevis*) per a les proves d'embaràs a partir dels anys 30 i posteriorment el seu

ús com animal de laboratori, a partir dels anys 70, i sobretot, el seu comerç com animal d'aquariofília van propiciar l'extensió del fong a tots els continents excepte l'Antàrtida. Moltes de les espècies mai exposades es van mostrar summament sensibles a la malaltia. En el cas de Bsal la zona de procedència sembla ser l'Àsia. Tot apunta que l'extensió cap a Europa s'ha

donat a conseqüència de la importació de tritons per aquariofília. Per aquesta raó als EEUU ja s'ha vetat la importació de més de dues-centes espècies asiàtiques i europees. La Unió europea també ha recomanat accions similars, però és la legislació de cada estat l'encarregada de desenvolupar-les. L'afectació a Europa per ara s'estén pels Països Baixos i Alemanya.

Característiques de la malaltia

Només es produeixen mortalitats massives per Bd quan es donen les condicions adequades. Aquests episodis són molt més freqüent a alta muntanya, perquè es requereixen temperatures relativament fresques, entre 14 i 25°C. Tot i que el fong pot viure com a sapròfit

depèn força de la presència d'hostes per mantenir-se al llarg del temps. A temperatures baixes, fins a 4°C, el fong és capaç de reproduir-se de forma molt lenta. La majoria dels amfibis sembla que es troben immunodeprimits en aquestes condicions, fet que afavoreix al fong. A

més de 25°C es produeix una acceleració en la velocitat de muda de la pell. Això pot provocar que el fong no tingui temps de completar el seu cicle i la malaltia desapareix per eliminació de la part afectada abans de la formació de zoòspores. A T^a de

més de 27°C el fong comença a morir.

Els símptomes dels animals malalts són molt variables entre individus i entre espècies. Malgrat tot, acostuma a produir la hiperqueratinització de l'estrat corni de la pell. En general es dona inapetència, decoloració de la pell, excessiva mucositat, postures anormals, absència de

comportament de fugida i comportaments estranys (per exemple els animals romanen al sol sense cercar refugi), i només en algunes ocasions hi ha símptomes evidents com úlceres i erosió en la pell (BERGER *et al.*, 1999; PESSIER *et al.*, 1999).

No se sap quina és la causa que provoca la mort. Hi ha diverses hipòtesis: l'engruiximent de la capa

còrnia dificulta la respiració cutània i els animals moririen asfixiats; els fongs excreten enzims per digerir externament el seu aliment que podrien ser tòxics pels amfibis; algunes excrecions podrien provocar desequilibris d'electròlits en les cèl·lules de l'hoste; i una combinació d'algunes o totes les anteriors.

Conseqüències del Bd sobre els amfibis ibèrics

Les diferències de susceptibilitat a la malaltia tan d'espècies afectades com de les seves fases de desenvolupament poden condicionar la comunitat amfíbia com s'ha vist que passa a Peñalara. En adults d'*Alytes obstetricans*, *Bufo spinosus* i *Salamandra salamandra* sovint acaba per desaparèixer perquè no aguanta la sequera de la fase terrestre, però es reinfesten quan van a l'aigua a reproduir-se. A les larves d'anurs només es localitza a les dents (única zona queratinitzada). En fer la metamorfosi s'estén per tot el cos i provoca la mort del juvenil. *B. spinosus* encara que sensible, és

més resistent a Bd que *A. obstetricans*. *B. spinosus* rebutja pondre en basses amb altes densitats de capgrossos d'*Alytes*. S'ha comprovat que altes densitats de larves d'*Alytes* baixen el reclutament en *Bufo*, és a dir, moltes menys larves arriben a convertir-se en juvenils, sense que encara quedin clares les causes. El Bd va eradicar *Alytes* de molts punts de reproducció el que va afavorir *B. spinosus* i va provocar la seva expansió geogràfica. Tot i així, el Bd fa disminuir la població de *B. spinosus*. Algunes larves de salamandra poden hivernar per metamorfosar la primavera següent. A les basses on

es produeix un assecament al final de l'estiu la malaltia no té continuïtat, però en les permanents són aquestes larves hivernants les que provoquen la prevalença. *I. alpestris* i *Rana ibèrica* són molt resistents al Bd i podrien ser vectors de la malaltia. Nous factors s'afegeixen al problema. Probablement a causa del canvi climàtic, *Pelophylax perezii*, *Hyla meridionalis* i *Triturus marmoratus* ascendeixen en alçada i poden entrar en contacte amb zones afectades pel Bd el que complicarà encara més les interaccions entre les espècies esmentades i la malaltia.

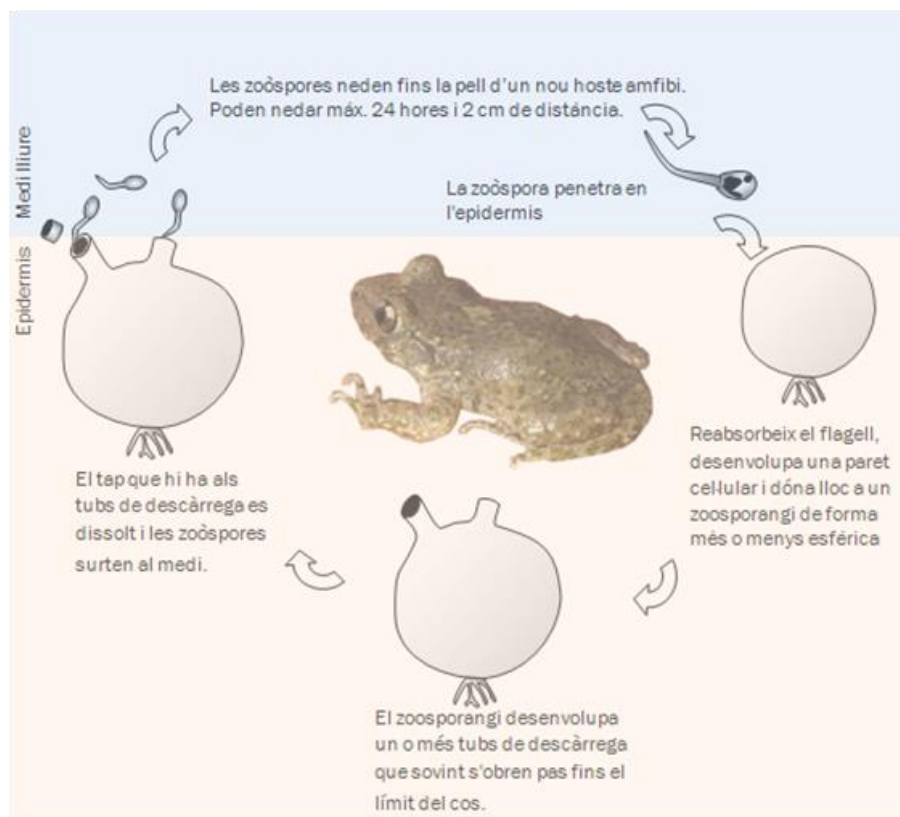
Situació a Catalunya

La primera publicació sobre casos de quitridiomicosi a Catalunya es produeix en l'últim Butlletí de la Societat Catalana d'Herpetologia. Fins i tot els autors d'aquest estudi desconeixien que ja havia estat trobada a Catalunya feia anys, però només s'havia fet pública per un punt al Mapa de distribució de *Batrachochytrium dendrobatidis*, sense referències en articles o notes

científiques. Fins ara se sap de la presència de Bd al Moianès, Vallès Oriental, Ribera d'Ebre i Montsià, segon l'article de la SCH; i La Selva, segons la informació recollida al Mapa. Aquesta distribució tant dispersa de ben segur que suggereix que és força més extensa. No s'han publicat mortalitats massives a Catalunya, però podria ser que, d'haver-se produït, haguessin passat

desapercebudes. En tot cas, s'ha de tenir en compte que donat el relleu i la climatologia del nostre país, es reuneixen condicions per donar-se'n. Es desconeix el grau d'afectació que podrien tenir algunes de les nostres espècies i és especialment preocupant en el cas de les d'alta muntanya i les d'àmbit geogràfic més reduït.

Cicle Biològic



La zoòspora penetra en l'epidermis de l'amfibi, reabsorbeix el flagell i desenvolupa una paret cel·lular que dona lloc a un zoosporangi de forma més o menys esfèrica. El zoosporangi es fa més complex i fabrica zoòspores. El zoosporangi desenvolupa un o més tubs de descàrrega que sovint s'obren pas fins el límit del cos. El tap que hi ha als tubs de descàrrega es dissol i les zoòspores surten al medi. Les zoòspores nedan fins la pell d'un nou hoste amfibi. Poden nadar màx. 24 hores i recórrer 2 cm de distància.

Eradicació de la quitridiomicosi a Mallorca

Se sabia que la càrrega infecciosa es troba principalment a les larves i que no cal eliminar totalment el fong per acabar amb la malaltia. Si es redueix prou el seu nombre s'extingeix espontàniament, donat que es requereix un nombre relativament gran de càrrega infectiva per infestar un animal. Tot i que el fong pot continuar al medi com sapròfit, sembla que necessita de la presència d'hostes amfibis per mantenir-se a llarg termini.

Amb aquestes premisses es va decidir capturar totes les larves de ferreret (*Alytes muletensis*), tractar-les amb antifúngics, assecar les

basses, i esperar que la manca d'aigua i les altes temperatures de Mallorca eliminessin el fong. Després es van tornar a alliberar les larves, quan es van tornar a omplir les tolles amb aigua de pluja. Malgrat tot, la malaltia va reapareixer.

En vistes de la situació tant desesperada, amb una espècie endèmica en perill d'extinció, es va decidir repetir el procés, amb la variant de ruixar la llera de les basses amb un fungicida molt potent per garantir l'eliminació del fong. Dos anys després la malaltia no ha reaparegut. Aquest procés no es pot replicar en altres zones donat que algunes

condicions eren especials i favorables per a l'èxit de l'operació. Aquestes circumstàncies favorables eren que només hi havia una espècie a les zones de reproducció, la càrrega infecciosa estava focalitzada en les larves, les condicions climàtiques càlides i seques a l'estiu eren favorables a l'eradicació del Bd, el substrat rocós augmentava l'eficàcia dels tractaments amb fungicides i l'administració va posar tots els mitjans a l'abast d'un equip tècnicament molt qualificat per dur-la a terme. Malgrat tot s'obre un camí per a l'esperança.

Altres formes de lluitar contra la malaltia

Entre les possibles accions sembla que no hi ha investigadors que treballin en la cerca d'una vacuna o de soques d'amfibis resistents al Bd. En canvi molts grups estan treballant en

bioaugmentació, bacteris simbiotes o probiòtics. Sobre la pell dels amfibis hi viuen bacteris simbiotes. Alguns excreten substàncies antimicrobianes que protegeixen els hostes

contra infeccions diverses. La bioaugmentació consistiria en trobar quina espècie o combinació d'espècies simbiotes atorgarien resistència contra Bd. Sobre la pell d'alguns

urodels d'Amèrica del Nord s'han aïllat bacteris molt prometedors. *Janthinobacterium lividum* i *Lyso-bacter gummosus*, produeixen els pèptids antimicrobians violaceïna i 2,4-diacetilfloroglucinol respectivament, que inhibeixen el creixement de Bd *in vitro*. Si es banyen amfibis en cultius d'aquestes espècies els hi confereixen resistència contra Bd en laboratori; però algunes proves fetes en espais

més naturals van donar resultat negatiu. El motiu era que tot i que els bacteris poden viure sobre la pell dels amfibis, amb la muda i per qüestions estocàstiques es perden. Per aconseguir una implantació a llarg termini cal que els bacteris estiguin al sòl i que contínuament hi hagi recolonització de la pell des del medi. La bacteria anti-Bd *Janthinobacterium lividum* es pot introduir amb èxit al sòl natural, i es

transmet a la pell de *Plethodon cinereus* i *Notophthalmus viridescens* i redueix la infecció per Bd. A la vista d'aquests resultats, el que caldria és trobar les espècies bacterianes adients per a cada comunitat d'amfibis.

A Peñalara es treballa amb *Pseudomonas fluorescens* extretes de la pell d'*Alytes obstetricans* i es fan proves de camp per comprovar l'efectivitat del tractament.

Bioseguretat

Els investigadors, aficionats a l'herpetologia, naturalistes, pescadors, esportistes i qualsevol persona que visiti zones afectades pot convertir-se involuntàriament en vector de la malaltia. Per evitar-ho caldria complir unes normes mínimes de prevenció. Tot i que la sequedat absoluta elimina totalment el fong, el replecs d'un salabre, els racons

humits a la roba o el calçat bastarien per portar el fong d'un lloc a un altre. Es recomana rentar la roba a 60°C un mínim de 30 minuts i desinfectar el calçat i material de camp amb lleixiu un mínim de 5 minuts.

En cas de mantenir exemplars en captivitat sospitosos de patir la malaltia les precaucions hauran de ser

encara més estrictes. L'aigua dels aquaterraris així com la de rentar les instal·lacions haurà de ser bullida o tractada amb lleixiu, Vircon o algun altre desinfectant de contrastada eficàcia contra el fong abans de llençar-la al clavegueram. Tanmateix s'haurà de desinfectar tot el material sòlid que hagi estat en contacte amb els animals.

Bibliografia

- I Convocatoria de ayudas a la investigación en biología de la conservación (2003): Enfermedades emergentes en anfibios: la gran amenaza de la biodiversidad.
- BECKER, M. H.; BRUCKER, R. M.; SCHWANTES, C. R.; HARRIS, R. N. & MINBIOLE, K. P. C. (2009): The Bacterially Produced Metabolite Violacein Is Associated with Survival of Amphibians Infected with a Lethal Fungus. *Applied and environmental microbiology*. Vol. 75, No. 21: 6635–6638pp. 0099-2240/09/\$12.00 doi:10.1128/AEM.01294-09
- BERGER, L.; HYATT, A. D.; SPEARE, R.; LONGCORE, J. E. (2005): Life cycle stages of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of aquatic organisms*. 68: 51–63.
- BERGER, L., R. SPEARE, P. DASZAK, D. E. GREEN, A. A. CUNNINGHAM *et al.*, (1998): Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 9031–9036.
- BERGER, L.; SPEARE, R. & KENT, A. (2000): Diagnosis of chytridiomycosis in amphibian by histologic examination. *Zoos' Print Journal* 15(1):184-190.
- BOSCH, J., I. MARTÍNEZ-SOLANO, & M. GARCÍA-PARÍS (2001): Evidence of a chytrid fungus infection involved in the decline of the common midwife toad (*Alytes obstetricans*) in protected areas of central Spain. *Biol. Conserv.* 97: 331–337.
- BOSCH, J.; SÁNCHEZ-TOMÉ, E. FERNÁNDEZ, A. & GARNER, T. W. J. (2016): Successful elimination of a lethal wildlife infectious disease in nature. ResearchGates. DOI: 10.1098/rsbl.2015.0874. <https://www.researchgate.net/publication/284185336>

- CHATFIELD, M. H.; RICHARDS-ZAWACKI, C. L. (2011): Elevated temperature as a treatment for *Batrachochytrium dendrobatidis* infection in captive frogs. *Diseases of aquatic organisms*. Vol: 94: 235–238.
- CONVENTION ON THE CONSERVATION OF EUROPEAN WILDLIFE AND NATURAL habitats (2015): Recommendation no. 176 (2015) on the prevention and control of the *Batrachochytrium salamandrivorans* chytrid fungus. Council of Europe. Strasbourg.
- FARRER, R.A.; WEINERT, L. A., BIELBY, J.; GARNER, T. W. J.; BALLOUX, F.; CLARE, F.; BOSCH, J.; CUNNINGHAM, A. A.; WELDON, C.; DU PREEZ, L. H.; ANDERSON, L.; KOSAKOVSKY POND, S. L.; SHAHAR-GOLAN, R.; HENK, D. A., & FERNÁNDEZ-BEASKOETXEA S.; CARRASCAL L. M.; FERNÁNDEZ-LORAS A.; FISHER M.C.; BOSCH J. (2015): Short Term Minimum Water Temperatures Determine Levels of Infection by the Amphibian Chytrid Fungus in *Alytes obstetricans* Tadpoles. *PLoS ONE* 10(3): e0120237. doi:10.1371/journal.pone.0120237
- FISHER, M. C. (2011): Multiple emergences of genetically diverse amphibian infecting chytrids include a globalized hypervirulent recombinant lineage. University of California, Berkeley, CA.
- FLECHAS, S.V.; SARMIENTO, C.; CÁRDENAS, M. E.; MEDINA, E. M.; RESTREPO, S., *et al.* (2012): Surviving Chytridiomycosis: Differential Anti-*Batrachochytrium dendrobatidis* Activity in Bacterial Isolates from Three Lowland Species of *Atelopus*. *PLoS ONE* 7(9): e44832. doi:10.1371/journal.pone.0044832
- GABOR, C. R.; FISHER, M. C. & BOSCH, J. (2015): Elevated Corticosterone Levels and Changes in Amphibian Behavior Are Associated with *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) Infection and Bd Lineage. *PLoS ONE* 10(4): e0122685. doi:10.1371/journal.pone.0122685
- KÜNG, D.; BIGLER, L.; DAVIS, L. R.; GRATWICKE, B.; GRIFFITH, E. *et al.* (2014): Stability of Microbiota Facilitated by Host Immune Regulation: Informing Probiotic Strategies to Manage Amphibian Disease. *PLoS ONE* 9(1): e87101. doi:10.1371/journal.pone.0087101
- LONGCORE JE, PESSIER AP, NICHOLS DK (1999): *Batrachochytrium dendrobatidis* gen. et sp. nov., a chytrid pathogenic to amphibians. *Mycologia* 91:219-227
- LOUDON, A. H.; HOLLAND, J. A., UMILE, T. P.; BURZYNSKI, E. A.; MINBIOLE, K. P. C. & HARRIS, R. N. (2014): Interactions between amphibians' symbiotic bacteria cause the production of emergent anti-fungal metabolites. *Frontiers in microbiology*. Volume 5.
- MADRILEJOS, A. (2016): El fong invasor que delma els amfibis s'estén per Catalunya. El Periódico.
- MANUAL ACUÁTICO DE LA OIE. (2012): Capítulo 2.1.1.: Infección por *Batrachochytrium dendrobatidis*. http://www.oie.int/esp/normes/fmanual/2.01.01_INF_BATRACHOCHYRIUM_7.3.11.pdf
- PHILLOTT, A. D.; SPEARE, R.; HINES, H. B.; SKERRATT, L. F.; MEYER, E.; MCDONALD, K. R.; CASHINS, S. D.; MENDEZ, D.; BERGER, L. (2010): Minimising exposure of amphibians to pathogens during field studies. *Diseases of aquatic organisms*. Contribution to DAO Special 4: 'Chytridiomycosis: an emerging disease'
- PIOTROWSKI, J. S.; ANNIS, S. L. & LONGCORE, J. E. (2004): Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia*, 96(1), 2004, pp. 9–15.
- WOODHAMS, D. C.; ARDIPRADJA, K.; ALFORD, R. A.; MARANTELLI, G.; REINERT, L. K. & ROLLINS-SMITH, L. A. (2007): Resistance to chytridiomycosis varies among amphibian species and is correlated with skin peptide defenses. *Animal Conservation* 10 (2007) 409–417.
- WOODHAMS, D. C.; BRANDT, H.; BAUMGARTNER, S.; KIELGAST, J., KÜPFER, E.; TOBLER, U.; DAVIS, L. R.; SCHMIDT, B. R.; BEL, C.; HODEL, S.; KNIGHT, R. & MCKENZIE, V. (2014): Interacting Symbionts and Immunity in the Amphibian Skin Mucosome Predict Disease Risk and Probiotic Effectiveness. *PLoS ONE* 9(4): e96375. doi:10.1371/journal.pone.0096375.