

# INFECCIÓN POR *GYRODACTYLUS SALARIS*

---

## 1. Ámbito de aplicación

La infección por *Gyrodactylus salaris* es una infección por el agente patógeno denominado *Gyrodactylus salaris*, un ectoparásito vivíparo de la familia *Gyrodactylidae*, en la Clase *Monogenea*.

## 2. Información de la enfermedad

### 2.1. Factores del agente

#### 2.1.1. El agente patógeno, cepas del agente

Se han identificado varias cepas de *G. salaris* mediante la genotipificación del marcador de la citocromo oxidasa I (CO1) mitocondrial (Hansen *et al.*, 2003; 2007b; Meinilä *et al.*, 2002; 2004). Aunque no parece haber ninguna correspondencia entre las cepas identificadas mediante la CO1 y la patogenicidad (Hansen *et al.*, 2007a), todas las cepas encontradas en el salmón del Atlántico que se han estudiado hasta la fecha en pruebas de laboratorio son muy patógenas para las cepas de salmón del Atlántico. Se han encontrado cepas que no son patógenas para el salmón en la trucha alpina no migratoria (*Salvelinus alpinus*) en Noruega (Olstad *et al.*, 2007a; Robertsen *et al.*, 2007), y en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en Dinamarca (Jørgensen *et al.*, 2007; Lindenstrøm *et al.*, 2003).

Ha habido un largo debate taxonómico/científico sobre si *Gyrodactylus thymalli*, una especie descrita del timalo (*Thymallus thymallus*), es un sinónimo más reciente de *G. salaris* (véase, por ejemplo, Hansen *et al.*, 2003; 2007a, 2007b; Meinilä *et al.*, 2004, Fromm *et al.*, 2014), y la mayoría de la evidencia favorece tal sinonimización. El *National Center for Biotechnology Information* (NCBI) ha aceptado una sinonimización de *G. salaris* y *G. thymalli* con el resultado de que todas las accesiones de secuencias de ADN previamente asignadas a *G. thymalli* ahora se asignan a *G. salaris*. Independientemente de este debate, nunca se ha encontrado que las cepas aisladas de timalo sean patógenas para el salmón del Atlántico en ensayos experimentales (véase, por ejemplo, Sterud *et al.*, 2002), y no se han observado en el salmón del Atlántico cuando están en simpatria con el timalo (Anttila *et al.*, 2008). A los efectos de este capítulo, *G. salaris* y *G. thymalli* se tratan como dos especies distintas.

#### 2.1.2. Supervivencia y estabilidad fuera del hospedador o en muestras procesadas o conservadas

La supervivencia de parásitos fuera del hospedador depende de la temperatura; así, sobreviven unas 24 horas a 19°C, 54 horas a 13°C, 96 horas a 7°C y 132 horas a 3°C (Olstad *et al.*, 2006). Se sabe que *Gyrodactylus salaris* sobrevive a temperaturas de 0°C hasta 25°C. Se desconoce la tolerancia a temperaturas superiores a 25°C. *Gyrodactylus salaris* es sensible a la congelación y la desecación. Muere a los pocos días a pH ≤ 5. Es más sensible al pH bajo (5,1 < pH < 6,4) en asociación con el aluminio y el zinc que el hospedador salmón del Atlántico (Poleo *et al.*, 2004; Soleng *et al.*, 1999). En el apartado 2.4.5 se pueden consultar los métodos de inactivación.

#### 2.1.3. Supervivencia y estabilidad en los tejidos del hospedador

La supervivencia de *G. salaris* adherido a un hospedador muerto depende de la temperatura: los tiempos máximos de supervivencia de *G. salaris* en salmón del Atlántico muerto son 72, 142 y 365 horas a 18°C, 12°C y 3°C, respectivamente (Olstad *et al.*, 2006).

### 2.2. Factores del hospedador

#### 2.2.1. Especies hospedadoras susceptibles

Las especies que cumplen los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles a la infección por *G. salaris* según el Capítulo 1.5. del *Código Sanitario para los Animales Acuáticos (Código Acuático)* son las siguientes: salvelino (*Salvelinus alpinus*), salmón del Atlántico (*Salmo salar*), timalo común (*Thymallus thymallus*), trucha de manantial (*Salvelinus fontinalis*) y trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*).

### 2.2.2. Especies con evidencia incompleta de susceptibilidad

Las especies con evidencia incompleta para cumplir con los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles a la infección por *G. salaris* según el Capítulo 1.5 del *Código Acuático* son las siguientes: ninguna conocida.

Además, se han obtenido resultado positivos en PCR específica del agente patógeno que han permitido identificar *G. salaris* en los siguientes organismos, aunque no se ha demostrado infección activa a largo plazo: [En estudio].

### 2.2.3. Probabilidad de infección por especie, etapa de vida del hospedador, población o subpoblación

La prevalencia y abundancia de *G. salaris* en cepas atlánticas de *S. salar* son más altas que en otras especies susceptibles y cepas bálticas de *S. salar*. Todas las etapas de la vida son susceptibles, pero la prevalencia y abundancia en el salmón del Atlántico son más altas en las etapas de pintos y alevines, donde también es más probable observar la mortalidad.

A los efectos de la Tabla 4.1, los alevines y pintos de salmón del Atlántico (p. ej., hasta aproximadamente 1 g de peso) pueden considerarse etapas tempranas de vida, los alevines y los esguines pueden considerarse juveniles y todos los peces post-esguinado como adultos.

### 2.2.4. Distribución del agente patógeno en el hospedador

*Gyrodactylus salaris* suele aparecer en las aletas de ejemplares de salmón del Atlántico infectados, pero la distribución del parásito en el hospedador puede variar en función de la intensidad de la infección (Jensen y Johnsen, 1992; Mo, 1992; Paladini *et al.*, 2014). También se hallan parásitos con frecuencia en el cuerpo y menos a menudo en las branquias. En otros hospedadores, la distribución puede ser diferente, pero en general el parásito es relativamente menos abundante en las aletas y relativamente más frecuente en el cuerpo en comparación con el salmón del Atlántico.

### 2.2.5. Infección de reservorios acuáticos

Hay una serie de combinaciones de especies hospedadoras y cepas de *G. salaris* que no dan lugar a signos clínicos de enfermedad y, por lo tanto, pueden actuar como reservorios de infección. Varias poblaciones de salmón del Atlántico de la región del Báltico están infectadas por *G. salaris* pero generalmente no muestran signos clínicos ni sufren mortalidad (Anttila *et al.*, 2008). Se ha encontrado *Gyrodactylus salaris* en el salvelino sin ningún signo observable o mortalidad (Robertsen *et al.*, 2007). La trucha arco iris puede infectarse por algunas cepas de *G. salaris* con una prevalencia y abundancia muy bajas sin signos observables (Paladini *et al.*, 2014).

### 2.2.6. Vectores

Los parásitos *Gyrodactylus salaris* pueden adherirse a cualquier especie de pez aunque no se considere susceptible, durante periodos cortos de tiempo. En algunas especies se produce una reproducción limitada, pero insuficiente para que el parásito mantenga una infección persistente (Paladini *et al.*, 2014). Por lo tanto, mientras que cualquier especie de pez podría actuar como vector, es más probable que aquellas en las que se produce la reproducción actúen como vectores. Sin embargo, no hay evidencia en la literatura publicada de que existan vectores de peces que hayan transmitido *G. salaris*.

## 2.3. Patrón de la enfermedad

### 2.3.1. Mortalidad, morbilidad y prevalencia

La mortalidad puede alcanzar el 100% en los pintos y alevines de salmón del Atlántico de piscifactoría si no se trata. La mortalidad en pintos y alevines de salmón del Atlántico salvaje de ríos de Noruega puede ser de incluso el 98%, con una media de alrededor del 85% (Johnsen *et al.*, 1999). La mortalidad en otras especies hospedadoras susceptibles suele ser baja o pasar desapercibida.

La prevalencia en cepas de salmón del Atlántico susceptibles alcanza casi un 100% en los pintos de los ríos (Appleby & Mo, 1997); de forma similar, la prevalencia en el salmón del Atlántico de piscifactoría (agua dulce) alcanza casi un 100% en poco tiempo tras la introducción del parásito. La prevalencia en cepas resistentes, ya sean de río o de piscifactoría, probablemente es baja (Bakke *et al.*, 2007) y muy variable en función de la estación, la ubicación y la edad de los peces (Anttila *et al.*, 2008). La prevalencia de otras especies susceptibles suele ser mucho más baja y puede ser inferior al 10% (por ejemplo, en trucha arco iris de piscifactoría; Buchmann & Bresciani, 1997).

### 2.3.2. Signos clínicos, incluidos cambios conductuales

El salmón salvaje del Atlántico con bajas intensidades de infección (una o hasta unas pocas decenas) de parásitos *G. salaris* generalmente no presenta ningún signo clínico. El aumento de la intensidad media del parásito a lo largo del tiempo a menudo conduce a un aumento del parpadeo (los peces se rascan la piel en el sustrato), una mayor producción de moco (que le da al pez un aspecto grisáceo) y la erosión de las aletas.

Las especies susceptibles distintas del salmón del Atlántico normalmente son portadoras de cantidades bajas de *G. salaris* y no presentan signos clínicos.

### 2.3.2. Lesiones anatomopatológicas macroscópicas

El salmón del Atlántico muy infectado puede volverse grisáceo como resultado del aumento de la mucificación y, en una etapa posterior, las aletas dorsal y pectoral pueden volverse blanquecinas como resultado del aumento del grosor (principalmente hiperplasia) de la epidermis. A medida que continúa la infestación, los peces pueden presentar erosión en las aletas, especialmente la dorsal, la caudal y la pectoral, debido a la alimentación del parásito. Las infecciones fúngicas secundarias (*Saprolegnia* spp.) son frecuentes en peces con infección por *G. salaris*.

### 2.3.4. Mecanismos de transmisión y ciclo de vida

*Gyrodactylus salaris* es un parásito obligado con un ciclo de vida directo. Los parásitos dan a luz descendientes vivos y no hay otras etapas de la vida. *Gyrodactylus salaris* puede transferirse a un nuevo hospedador a través del contacto con hospedadores vivos, hospederos muertos, parásitos desprendidos que se desplazan en la columna de agua o parásitos adheridos al sustrato.

*Gyrodactylus salaris* se ha propagado entre ríos y explotaciones principalmente por la translocación de peces vivos. Los peces que migran a través de aguas salobres también pueden propagar el parásito entre los ríos vecinos (véase también la Sección 2.3.5). El riesgo de transmisión es mayor entre ríos ubicados dentro de un mismo sistema de agua salobre.

### 2.3.5. Factores ambientales

*Gyrodactylus salaris* es un parásito adaptado al agua fría y vive principalmente en agua dulce, reproduciéndose normalmente a salinidades de hasta 5-6 ppt (Malmberg, 1973; 1988). El número medio de crías por parásito alcanza un máximo a los 6,5°C–13,0°C (Jansen & Bakke *et al.*, 1991). A temperaturas más bajas, *Gyrodactylus salaris* puede sobrevivir más tiempo en salinidades más altas (Soleng y Bakke, 1997). Por ejemplo, a 1,4°C, *G. salaris* puede sobrevivir durante 240 horas, 78 horas y 42 horas a 10 ppt, 15 ppt y 20 ppt de salinidad, respectivamente, mientras que a 12°C puede sobrevivir durante 72 horas, 24 horas y 12 horas a las mismas tres salinidades, respectivamente (Soleng y Bakke, 1997).

### 2.3.6. Distribución geográfica

Se considera que la distribución original de *Gyrodactylus salaris* se encuentra en las partes orientales de la zona del Báltico, incluidos los drenajes de los lagos rusos Onega y Ladoga (Ergens, 1983; Malmberg y Malmberg, 1993). Desde estas áreas, el parásito se ha propagado y se ha notificado en varios países de Europa (Paladini *et al.*, 2021) tanto en poblaciones silvestres como en piscifactorías. El parásito se ha encontrado en salmónidos salvajes, principalmente alevines del salmón del Atlántico, y en ríos de Finlandia, Noruega, Rusia y Suecia.

Para obtener información reciente sobre la distribución a nivel de país, consulte la interfaz WAHIS (<https://wahis.oie.int/#/home>).

## 2.4. Estrategias de bioseguridad y de control de la enfermedad

### 2.4.1. Vacunación

No se dispone de vacunas.

### 2.4.2. Tratamiento con sustancias químicas, incluidos agentes bloqueantes

No es aplicable.

### 2.4.3. Inmunoestimulación

No se dispone de inmunoestimulación.

#### 2.4.4. Selección genética a favor de la resistencia

En pruebas de laboratorio, la selección genética ha dado lugar a una prolongación de la supervivencia de la descendencia (Salte *et al.*, 2010). Sin embargo, dicha selección no se ha aplicado a poblaciones salvajes de salmón, principalmente porque la población seguiría infectada y de esta forma el parásito se extendería a más ríos. Además, la siembra con cepas resistentes de salmón del Atlántico (por ejemplo, la cepa Baltic Neva) en los ríos afectados no se considera compatible con la gestión de cepas existentes de salmón del Atlántico (es decir, la preservación de la integridad genética de las poblaciones silvestres) (Karlsson *et al.*, 2019).

#### 2.4.5. Métodos de inactivación

*Gyrodactylus salaris* muere por exposición al agua a 40°C durante 5 minutos (Koski *et al.*, 2016) y al desinfectante (por ejemplo, Virkon S al 1% durante 15 minutos) (Koski *et al.*, 2016), que puede usarse para eliminar la transferencia del parásito con el equipo.

#### 2.4.6. Desinfección de huevos y larvas

Los huevos procedentes de piscifactorías infectadas deben desinfectarse (se han utilizado compuestos yodados).

#### 2.4.8. Prácticas generales de manejo

*Gyrodactylus salaris* es sensible a los cambios en la composición química del agua. Muere al quedar expuesto a los productos químicos más utilizados para el tratamiento alevines y huevos de salmón de piscifactoría (por ejemplo, agua salada de alta salinidad, formaldehído y compuestos que contienen cloro o yodo) (Thrush *et al.*, 2019). El tratamiento de las poblaciones de salmónidos de piscifactoría con formaldehído u otros tratamientos de baño reducirá la prevalencia y abundancia de *G. salaris* y, por lo tanto, puede dificultar su detección.

*Gyrodactylus salaris* es sensible a las soluciones ácidas (pH 5,0–6,0) de sulfato de aluminio ( $[Al_2(SO_4)_3]$ ) y zinc (Zn) (Poleo *et al.*, 2004; Soleng *et al.*, 1999). El sulfato de aluminio es menos tóxico para los peces que para *G. salaris* en aguas moderadamente acidificadas y se ha utilizado para erradicar el parásito de un sistema fluvial en Noruega (Pettersen *et al.*, 2007). Recientemente, también se ha observado que *G. salaris* es sensible a dosis bajas de cloro (Hagen *et al.*, 2014).

### 3. Toma de muestras

Este apartado aporta información sobre los apartados 2.2, 2.3 y 2.4 relativa a la identificación de poblaciones, individuos y muestras con alta probabilidad de que estén infectadas.

#### 3.1. Cómo escoger las poblaciones y los ejemplares

El muestreo de poblaciones silvestres sanas debe realizarse a finales del verano o el otoño o cuando se sabe que la prevalencia es máxima. Se debe apuntar al salmón del Atlántico. En las piscifactorías, se deben seleccionar los peces que presenten signos clínicos de infección (como se describe en la Sección 2.3.1). Debe evitarse el muestreo durante cierto período de tiempo después del tratamiento de los ectoparásitos. En ausencia de signos clínicos, el muestreo de las poblaciones de salmón del Atlántico salvaje debe apuntar a los alevines 1+ y 2+, ya que es más probable que estén infectados que los 0+.

#### 3.2. Órganos y tejidos de elección

La detección de *Gyrodactylus* y la identificación de *G. salaris* es un proceso de dos pasos. En primer lugar, las muestras de parásitos de girodactílidos se detectan (por ejemplo, en peces o aletas) utilizando equipo óptico y se recogen. Los parásitos individuales se identifican a nivel de especie utilizando otros equipos y métodos.

Los peces se pueden examinar como ejemplares enteros vivos anestesiados (por ejemplo, con MS222), como ejemplares acabados de sacrificar o como ejemplares conservados. Además, pueden examinarse aletas frescas o conservadas. Cuando se infectan cepas atlánticas de alevín del salmón del Atlántico, casi todos los peces tienen al menos un *G. salaris* en una de las aletas. En algunos peces, las muestras de *G. salaris* pueden aparecer en el cuerpo o la cabeza, incluidas las fosas nasales, las branquias y la cavidad bucal. La distribución de *G. salaris* en las aletas y otras partes del pez varía entre las especies de peces y las cepas de salmón del Atlántico. Para todos los hospedadores, se recomienda el examen del pescado entero, ya que aumentará la probabilidad de detectar infecciones de baja intensidad.

### 3.3. Muestras o tejidos no adecuados para la detección del agente patógeno

Los peces muertos, conservados en hielo, no son aceptables para el examen destinado a hallar *Gyrodactylus*, ni siquiera si los peces se han conservado por separado en bolsas de plástico, etc. Los parásitos mueren rápidamente si no están sumergidos en agua, y se desintegran rápidamente

### 3.4. Muestreo no letal

Los peces se pueden examinar como ejemplares vivos bajo anestesia (por ejemplo, con MS222). Recientemente, se ha elaborado y comprobado en trucha marrón un método no letal para aislar muestras de parásitos girodactílicos de peces (Thrush *et al.*, 2019). Se ha comprobado que el método tiene una tasa de recuperación de parásitos más alta que el examen de cuerpo entero de peces muertos (84,6% y 51,9%, respectivamente). El método aún no se ha utilizado en peces infectados por *G. salaris*, pero es probable que sea eficaz.

Además, se han desarrollado métodos de ADN ambiental (eDNA) para la detección de *G. salaris* y sus dos hospedadores principales, el salmón del Atlántico y la trucha arco iris, en muestras de agua (Rusch *et al.*, 2018). Sin embargo, no se han establecido límites de detección para estos análisis.

### 3.5. Preparación de las muestras para el envío

Los peces deben sacrificarse inmediatamente y no se debe permitir que se sequen antes de su conservación. El ejemplar entero debe conservarse en EtOH al 80-100% en frascos lo suficientemente grandes como para proporcionar espacio y conservantes en exceso. La concentración de EtOH después de la conservación no debe ser inferior al 70%. Por regla general, esta concentración se obtiene si la proporción de tejido del pez respecto al EtOH no excede de 1:9. Si la concentración es menor, la mucosa y la epidermis pueden desintegrarse y puede verse seriamente afectada la recuperación de *Gyrodactylus*, incluso si se conservan. Los frascos deben tener una abertura lo suficientemente amplia para evitar la posibilidad de raspar las muestras de *Gyrodactylus* cuando se introducen peces en el frasco o cuando se sacan para su examen. Los frascos deben conservarse en posición horizontal hasta que el tejido se fije/conserva para evitar que el pescado se encrespe. Una vez finalizada la conservación del pescado, las botellas se pueden conservar en posición vertical.

Dado que *G. salaris* es común en las aletas del salmón del Atlántico, también se pueden enviar las aletas cortadas del cuerpo y conservadas en EtOH como se ha descrito anteriormente. Esto es especialmente adecuado para peces más grandes y en condiciones de campo donde, por ejemplo, el transporte es limitado.

Las muestras de *Gyrodactylus* fijadas con formaldehído son difíciles de identificar morfológicamente y, a menudo, tampoco son adecuadas para el análisis de ADN.

#### 3.5.1. Muestras para el aislamiento del agente patógeno

No es aplicable.

#### 3.5.2. Conservación de muestras para la detección molecular

Las muestras de tejido, es decir, parásitos aislados, pescado entero o aletas, para las pruebas de PCR deben conservarse en etanol (absoluto) analítico/reactivo al 70-90% (v/v). La proporción recomendada de etanol respecto a tejido es de 9:1 según estudios de sanidad animal y humana. No se recomienda el uso de etanol de grado inferior (grado laboratorio o industrial).

El ADN molde debe prepararse a partir de muestras vivas/frescas o conservadas en EtOH utilizando un protocolo de preparación de ADN adecuado. Los kits de extracción de ADN se pueden utilizar de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

#### 3.5.3. Muestras para histopatología, inmunohistoquímica o hibridación *in-situ*

No aplicable.

### 3.5.4. Muestras para otras pruebas

#### *Conservación de muestras para análisis de ADN ambiental (eADN)*

Existen varios métodos para filtrar agua para análisis de eDNA y el método también se ha desarrollado para la detección de *G. salaris* y sus hospedadores, el salmón del Atlántico y la trucha arco iris (Rusch *et al.*, 2018). En este método, se recogen muestras de agua de 5 litros por duplicado (2 × 5 litros) y se filtran *in situ* a través de filtros de fibra de vidrio (47 mm AP25 Millipore, tamaño de poro de 2 µm, Millipore, Billerica, EE.UU.) utilizando una bomba adecuada, tubería y portafiltros. Los filtros deben colocarse en bolsas de plástico con cierre hermético separadas que contengan gel de sílice y conservarse en un lugar seco y oscuro hasta su posterior análisis en el laboratorio.

### 3.6. Combinación de varias muestras

Los peces muestreados pueden agruparse, aunque cada pez debe examinarse y analizarse posteriormente por separado. Las aletas de peces de una piscifactoría o un río pueden agruparse y también deben examinarse y analizarse por separado, pero en este caso, cada aleta no puede relacionarse con peces individuales. De manera similar, si los peces se agrupan para la eliminación de parásitos utilizando métodos de baño no letales (por ejemplo, Thrush *et al.*, 2019), los parásitos recuperados no pueden relacionarse con peces individuales.

El material de los parásitos no debe combinarse para los métodos de diagnóstico molecular, ya que actualmente no se dispone de datos sobre el impacto en la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico.

## 4. Métodos de diagnóstico

Los métodos de diagnóstico actualmente existentes para identificar infección con fines de vigilancia (en poblaciones sanas), así como para fines de diagnóstico preliminar y confirmativo, se indican en la Tabla 4.1 por fase de vida. Las denominaciones empleadas en la Tabla indican:

Clave:

+++ =	Método(s) recomendado(s) validado(s) para el objetivo indicado y normalmente para la fase 3 de la Vía de Validación de la OIE; los método(s) recomendado(s) se mencionarán en el texto;
++ =	Método(s) adecuado(s) pero que necesitan una validación posterior;
+ =	Se pueden utilizar en algunas situaciones, pero el coste, la fiabilidad, la falta de validación u otros factores limitan mucho su aplicación;
Recuadros sombreados =	No adecuado para este fin.

La selección de una prueba para un propósito determinado depende de la sensibilidad, especificidad, repetibilidad y reproducibilidad. Los Laboratorios de Referencia de la OIE agradecen los comentarios sobre el rendimiento diagnóstico de las pruebas, en particular las PCR, referidos a los factores que afectan la sensibilidad o especificidad, como los componentes tisulares que inhiben la amplificación, bandas no específicas o inciertas, etc., así como los relativo a cualquier prueba que se encuentre en la categoría +++.

**Tabla 4.1.** Métodos de diagnóstico recomendados por la OIE y nivel de validación para la vigilancia de animales aparentemente sanos e investigación de animales afectados clínicamente.

Método	A. Vigilancia de animales aparentemente sanos				B. Diagnóstico preliminar de animales afectados clínicamente				C. Diagnóstico confirmativo <sup>1</sup> de un resultado sospechoso en la vigilancia o de un diagnóstico preliminar			
	Etapas de vida tempranas <sup>2</sup>	Juveniles <sup>2</sup>	Adultos	LV	Etapas de vida tempranas <sup>2</sup>	Juveniles <sup>2</sup>	Adultos	LV	Etapas de vida tempranas <sup>2</sup>	Juveniles <sup>2</sup>	Adultos	LV
Examen morfológico		+	+	1		+	+	1				
Histopatología <sup>3</sup>												
Citopatología <sup>3</sup>												
Cultivo celular												
PCR en tiempo real (usando muestra de parásito)		+	+	1		+	+	1				
ddPCR/ PCR en tiempo real (usando muestra ambiental)		+		1								
PCR convencional		+	+	1		+	+	1		++	++	2
Secuenciación del amplicón <sup>4</sup>										++	++	2
Hibridación <i>in-situ</i>												
Bioensayo												
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												

LV = nivel de validación, referido al estadio de validación en la Vía de la OIE (Capítulo 1.1.2); PCR = reacción en cadena de la polimerasa; ddPCR = PCR digital en gotas; LAMP = amplificación isotérmica mediada por bucle; Ab-ELISA- o Ag-ELISA = enzimoimmunoanálisis de detección de anticuerpo o de detección de antígeno, respectivamente;

<sup>1</sup>Para un diagnóstico confirmativo, los métodos deben utilizarse combinados (véase el apartado 6). <sup>2</sup>Las fases tempranas y juveniles están definidas en el apartado 2.2.3.

<sup>3</sup>La histopatología y la citopatología pueden validarse si se han comparado estadísticamente resultados de distintos operadores. <sup>4</sup>Secuenciación del producto de la PCR. El sombreado indica que la prueba no es adecuada o que no debe utilizarse para este fin.

#### 4.1. Detección del parásito

Los peces vivos anestesiados, las aletas recién cortadas o los peces o aletas conservados con EtOH deben examinarse con un microscopio de disección binocular con buena iluminación. El ejemplar debe colocarse en una caja y cubrirse completamente con agua dulce. Los ejemplares conservados también se puede examinar en EtOH. Los parásitos vivos se detectan más fácilmente por sus movimientos, por lo que debe evitarse la perturbadora refracción de la luz en la piel de los peces. El parásito *Gyrodactylus* vivo es incoloro, mientras que *Gyrodactylus* conservado en EtOH suele ser ligeramente opaco. La microscopía de iluminación de campo oscuro aumentará el contraste y los parásitos se detectarán más fácilmente. Debe examinarse toda la superficie del pez, incluidas las branquias y la cavidad bucal. Es mejor utilizar dos pinzas para este proceso. Las aletas de peces relativamente pequeños, generalmente de menos de 10 cm, también se pueden estudiar mediante la iluminación a través de la parte inferior de la platina del microscopio, lo que hace que *Gyrodactylus* sean fácil de observar.

Un método no letal (Thrush *et al.*, 2019) da como resultado la recogida de ectoparásitos de los peces tratados en papel de filtro. A continuación, se puede examinar el papel de filtro para detectar la presencia de parásitos utilizando un microscopio estereoscópico.

Una vez que se han visualizado parásitos girodactílicos individuales, se pueden retirar del pescado, las aletas o el papel de filtro con una pipeta. La especie de girodactílico se puede determinar mediante una de las pruebas descritas en este apartado.

#### 4.2. Examen morfológico

La identificación morfológica de *Gyrodactylus* se basa en la morfología y morfometría de los ganchos marginales, anclas (hamuli) y barras del haptor (el órgano de unión). Una buena preparación de las muestras es un requisito previo para la identificación a nivel de especie. La identificación morfológica solo se recomienda para el diagnóstico preliminar de *G. salaris* y no debe usarse para la confirmación, para lo cual se recomiendan los métodos moleculares.

Se recomienda la digestión del tejido blando, dejando solo las partes duras, cuando se requiere una morfometría de alta resolución para un diagnóstico morfométrico fiable. El tejido blando se puede digerir en una solución (aprox. 1 µl) de Tris 75 mM, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 10 mM, SDS al 5% (dodecilsulfato de sodio) y 100 mg/ml de proteinasa K, a pH 8.0. Después de agregar la solución de digestión, la reacción debe controlarse microscópicamente hasta que se complete y luego finalizar agregando una solución de parada (glicerol 1:1 y formalina tamponada neutra al 10%). El procedimiento para la digestión se describe en detalle en Harris *et al.*, 1999. La identificación de *G. salaris* debe concordar con las referencias: Cunningham *et al.*, 2001; Malmberg, 1957; 1970; McHugh *et al.*, 2000; Olstad *et al.*, 2007b; Shinn *et al.*, 2004.

El tamaño de las partes duras haptorales en *Gyrodactylus* varía mucho, por ejemplo, con la temperatura, mientras que la forma es más estable (ver, por ejemplo, Mo, 1991a). Por lo tanto, la capacidad de las mediciones lineales de determinar la morfología podría no ser siempre suficiente para un diagnóstico fiable (Olstad *et al.*, 2007b).

Los morfólogos capacitados pueden diferenciar *Gyrodactylus salaris* de otras especies de *Gyrodactylus* a partir de la morfología, pero no de *G. thymalli* (Olstad *et al.*, 2007b; véase también el apartado 2.1.1). Además, *G. salaris* es morfológicamente similar a *Gyrodactylus teuchis* de la trucha marrón, el salmón del Atlántico y la trucha arco iris, pero los morfólogos capacitados pueden diferenciarlo a partir de la forma de la hoz del gancho marginal. *Gyrodactylus teuchis* tiene una hoja del gancho más larga y curvada de manera más constante (véase Cunningham *et al.*, 2001).

#### 4.3. Histopatología y citopatología

No aplicable.

#### 4.4. Cultivo celular para el aislamiento

No aplicable.

#### 4.5. Amplificación de ácido nucleico

En todas las pruebas moleculares descritas a continuación, el ADN se puede extraer empleando kits estándar de extracción de ADN.



#### 4.5.1. PCR en tiempo real

Para el diagnóstico de *G. salaris* existe tanto PCR en tiempo real (Collins *et al.*, 2010) como PCR digital en gotas (dd) (Rusch *et al.*, 2018). La PCR en tiempo real no se ha aplicado demasiado para el diagnóstico de *G. salaris*, y la ddPCR está desarrollada para su uso en combinación con métodos de eDNA. Ambos métodos se dirigen a la región de los espaciadores transcritos internos del ribosoma (ITS) y tienen las mismas limitaciones de diagnóstico (véase más abajo y el apartado 4.5.2). Sin embargo, la PCR en tiempo real es más rápida que la PCR convencional y la secuenciación de ADN (apartado 4.4.2) y se puede aplicar como un medio rápido para excluir especies distintas de *G. salaris*/*G. thymalli*, por lo que el método se menciona brevemente aquí. La PCR convencional y la secuenciación del gen de la citocromo oxidasa 1 (CO1) mitocondrial (apartados 4.4.2 y 4.5.2) se pueden realizar en especies con un resultado positivo de la PCR en tiempo real para la identificación de haplotipos, lo que permitirá diferenciar *G. salaris* de *G. thymalli* (4.6.2).

La PCR en tiempo real de Collins *et al.* (2010) es una PCR en tiempo real de unión al surco menor (MGB) TaqMan que se dirige a un motivo de secuencia única de 60 pb en la región ITS1 de *G. salaris*/*G. thymalli*. Es aplicable el cebador directo F (5'-CGA-TCG-TCA-CTC-GGA-ATC-G-3'), el cebador inverso R (5'-GGT-GGC-GCA-CCT-ATT-CTA-CA-3') y la sonda TaqMan MGB Gsal2 (5'-FAM-TCT-TAT-TAA-CCA-GTT-CTG-C-3') marcadas con la tinción indicadora fluorescente FAM en el extremo 5' y un desactivador no fluorescente MGBNFQ en el extremo 3'. Las amplificaciones se realizaron en un volumen total de 20 µl que contenía mezcla máster TaqMan Universal para PCR (con UNG; Applied Biosystems), cada cebador directo e inverso a una concentración de 0,9 µM, cada sonda a una concentración de 0,25 µM y dH<sub>2</sub>O (Sigma) hasta un volumen final de 20 µl. Se añadió 1 µl de lisado de una muestra de parásito a cada tubo de ensayo. Las condiciones de los ciclos fueron 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos seguidos de 35 ciclos de 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto y se ejecutaron en un sistema de detección de secuencias ABI 7000 (Applied Biosystems). Se observó que la eficacia del ensayo singleplex oscilaba entre el 93,1% y el 101,1% y el límite de detección (dilución del lisado crudo de *Gyrodactylus* spp.) era de 10<sup>-4</sup>. Se pueden encontrar más detalles en Collins *et al.* (2010).

#### 4.5.2. PCR convencional

##### *Análisis del espaciador transcrito interno (ITS) del gen ARN ribosómico*

Para la amplificación de un producto de 1300 pares de bases de la región ITS, que cubre ITS1, 5.8S e ITS2, se pueden utilizar cebadores como 5'-TTT-CCG-TAG-GTG-AAC-CT-3' y 5'-TCC-TCC-GCT-TAG-TGA-TA-3'. Las condiciones de ciclo para la PCR son las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos; 30 ciclos de 94°C durante 1 minuto, 50°C durante 1 minuto, 72°C durante 2 minutos; extensión final a 72°C durante 7 minutos (Cunningham, 1997). Si se analiza material parcialmente degradado o si la PCR anterior no da un resultado positivo, los espaciadores ITS1 e ITS2 se pueden amplificar en dos reacciones separadas utilizando los conjuntos de cebadores y condiciones de PCR descritas en Matejusová *et al.*, 2001. La amplificación de ITS2 solo, utilizando los cebadores 5'-CAT-CGG-TCT-CTC-GAA-CG-3' y 5'-TCC-TCC-GCT-TAG-TGA-TA-3' y utilizando el mismo protocolo que arriba es suficiente.

Los cebadores para la amplificación de ITS no son específicos de *G. salaris* y amplificarán todas o la mayoría de las especies de *Gyrodactylus*. Por lo tanto, los productos de la PCR positivos deben secuenciarse para identificar el haplotipo, que puede usarse para la confirmación de especies (ver apartado 4.5).

##### *Análisis del gen de la citocromo oxidasa I (CO1) mitocondrial*

Para la amplificación del gen CO1, se puede utilizar los cebadores 5'-ATA-TAG-ACG-ATT-TGT-TTT-CA-3' y 5'-ACA-GAT-TAC-TTG-GTA-TTA-CA-3' (Kuusela *et al.*, 2009) para amplificar el gen de longitud completa (1600 pares de bases) que se recomienda. Los cebadores 5'-TAA-TCG-GCG-GGT-TCG-GTA-A-3' y 5'-GAA-CCA-TGT-ATC-GTG-TAG-CA-3' (Meinilä *et al.*, 2002) pueden usarse para amplificar un fragmento de 800 pares de bases si la primera PCR no funciona. Las condiciones de ciclo para ambas PCR son las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos; 35 ciclos de 95°C durante 1 minuto, 50°C durante 1 minuto, 72°C durante 2 minutos; extensión final a 72°C durante 7 minutos. Se pueden encontrar otros conjuntos de cebadores para la amplificación de CO1 en las siguientes referencias: Hansen *et al.*, 2003; Kuusela *et al.*, 2009; Meinilä *et al.*, 2002; 2004.

Es posible que los cebadores recomendados para la amplificación de CO1 no sean específicos de *G. salaris* y no amplifiquen todas las cepas. Por lo tanto, los productos de la PCR positivos deben secuenciarse para identificar el haplotipo (apartado 4.6).

En cada prueba deben incluirse los siguientes controles: control de extracción negativo; control positivo; control sin plantilla.

#### 4.5.3. Otros métodos de amplificación de ácido nucleico

No aplicable.

### 4.6. Secuenciación del amplicón

#### 4.6.1. Secuenciación y análisis de la secuencia del ITS

Los fragmentos de ITS amplificados preparados como en la Sección 4.4.2 deben secuenciarse usando los cebadores de PCR y, además, deben usarse cebadores de secuenciación interna (Cunningham, 1997; Matejusová *et al.*, 2001) para obtener lecturas superpuestas de cada nucleótido. Las secuencias de ITS resultantes deben someterse a una búsqueda BLAST en GenBank/EMBL para establecer la identidad con secuencias conocidas. Varias secuencias de otras especies que infectan a los salmónidos, como *G. derjavini*, *G. derjavinoides*, *G. truttae* y *G. teuchis* pueden consultarse en GenBank/EMBL. *G. thymalli* no se puede distinguir de *G. salaris* por este método, pero las secuencias de ITS distinguen a *G. salaris* de todas las demás especies conocidas. Por lo tanto, siempre debe comprobarse la identidad del hospedador de las secuencias en GenBank/EMBL, sin embargo, GenBank ha sinonimizado *G. salaris* y *G. thymalli*. Por lo tanto, si la búsqueda BLAST de las secuencias ITS identifica al parásito como *G. salaris*, se recomienda la secuenciación de la CO1 y el análisis de secuencia correspondiente para identificar el haplotipo en cuestión (apartado 4.6.2).

#### 4.6.2. Secuenciación y análisis de la secuencia de la CO1

Los fragmentos de CO1 amplificados preparados como se describe en el apartado 4.5.2 deben secuenciarse utilizando los cebadores de PCR y, además, deben usarse cebadores de secuenciación interna (Kuusela *et al.*, 2009; Meinilä *et al.*, 2002) para obtener lecturas superpuestas de cada nucleótido. Las secuencias de CO1 resultantes deben someterse a una búsqueda BLAST en GenBank/EMBL para identificar el haplotipo.

Si la secuencia obtenida no tiene una coincidencia del 100% en GenBank/EMBL, se puede realizar un análisis filogenético para establecer la relación con otras secuencias disponibles. Con este método se pueden distinguir diferentes haplotipos y clados de *G. salaris* y *G. thymalli*. Las secuencias de CO1 se pueden utilizar para asignar muestras a un haplotipo o clado y así inferir la identidad como *G. salaris* o *G. thymalli*. Los clados (haplogrupos, es decir, grupos de haplotipos con un ancestro común) de *G. salaris* generalmente se corresponden bien con las preferencias del hospedador o la distribución geográfica de los parásitos, con algunas excepciones, y algunas cepas, según se definen por secuencias de CO1 (haplotipos), son conocidas por ser patógenas para el salmón del Atlántico.

GenBank ha sinonimizado *G. salaris* y *G. thymalli*, con el resultado de que todas las accesiones anteriormente enumeradas como *G. thymalli* ahora son *G. salaris*; los haplotipos de la Tabla 4.6.2 se pueden recuperar de GenBank. La Tabla 4.6.2 asigna los haplotipos a *G. salaris* o *G. thymalli*, para respaldar la identificación de *G. salaris* basada en la secuenciación de CO1 (los nuevos haplotipos deben compararse con el pariente conocido más cercano). En los ríos donde se encuentran tanto el timalo como el salmón del Atlántico, el establecimiento de los haplotipos de *G. thymalli* presentes en el timalo ayudará al posible seguimiento posterior de *G. salaris* en el salmón del Atlántico.

**Tabla 4.6.2** Números de acceso de *Gyrodactylus salaris* y *G. thymalli* en GenBank para las secuencias de nucleótidos del gen de la CO1

<i>G. salaris</i> *							<i>G. thymalli</i> *		
AF479750	AY146602	AY258354	AY486492	AY486517	AY486542	EU186166	AF540893	AY486545	DQ159928
AF540891	AY146603	AY258355	AY486493	AY486518	AY486543	EU186167	AF540894	AY486546	DQ180333
AF540892	AY146604	AY258356	AY486494	AY486519	AY840222	EU186168	AF540895	AY486547	DQ993195
AF540904	AY146605	AY258357	AY486495	AY486520	AY840223	EU186169	AF540896	AY486548	EF495063
AF540905	AY146606	AY258358	AY486496	AY486521	DQ468128	EU186170	AF540897	AY486549	EF527269
AF540906	AY146607	AY258359	AY486497	AY486522	DQ517533	EU186171	AF540898	AY486550	EF612464
AF542161	AY146614	AY258360	AY486498	AY486523	DQ778628	EU186172	AF540899	AY486551	MG273445
AF542162	AY258336	AY258361	AY486499	AY486524	DQ923578	EU186173	AF540900	AY486552	MG273446
AF542163	AY258337	AY258362	AY486500	AY486525	DQ988931	EU186174	AF540901	AY486553	MG273447
AF542164	AY258338	AY258363	AY486501	AY486526	DQ993189	EU186175	AF540902	AY840224	MG273448

<i>G. salaris</i> *							<i>G. thymalli</i> *		
AF542165	AY258339	AY258364	AY486502	AY486527	DQ993190	EU186176	AF540903	DQ159913	
AF542166	AY258340	AY258365	AY486503	AY486528	DQ993191	EU186177	AF542167	DQ159914	
AY146589	AY258341	AY258366	AY486504	AY486529	DQ993192	EU223246	AF542168	DQ159915	
AY146590	AY258342	AY258367	AY486505	AY486530	DQ993193	EU304825	AF542169	DQ159916	
AY146591	AY258343	AY258368	AY486506	AY486531	DQ993194	GQ129460	AF542170	DQ159917	
AY146592	AY258344	AY258369	AY486507	AY486532	EF117889	GQ129461	AF542171	DQ159918	
AY146593	AY258345	AY258370	AY486508	AY486533	EF524576	GQ129462	AY146608	DQ159919	
AY146594	AY258346	AY258371	AY486509	AY486534	EF524577	GQ129463	AY146609	DQ159920	
AY146595	AY258347	AY258372	AY486510	AY486535	EF524578	GQ370816	AY146610	DQ159921	
AY146596	AY258348	AY258373	AY486511	AY486536	EF570120	GU187354	AY146611	DQ159922	
AY146597	AY258349	AY258374	AY486512	AY486537	EU186161	KJ941020	AY146612	DQ159923	
AY146598	AY258350	AY486488	AY486513	AY486538	EU186162	KT344124	AY146613	DQ159924	
AY146599	AY258351	AY486489	AY486514	AY486539	EU186163	KT344125	AY472084	DQ159925	
AY146600	AY258352	AY486490	AY486515	AY486540	EU186164	KT344126	AY472085	DQ159926	
AY146601	AY258353	AY486491	AY486516	AY486541	EU186165	KT344127	AY486544	DQ159927	
						KT344128			

\*Nota: *G. salaris* y *G. thymalli* han sido sinonimizados por el GenBank del NCBI, es decir, todos los accesos previamente listados como *G. thymalli* ahora son *G. salaris*.

Cuando la secuencia no esté asignada a uno de los haplotipos reconocidos (secuencias CO1) de *G. salaris* o *G. thymalli*, deberá solicitarse asesoramiento al Laboratorio de Referencia de la OIE. El Laboratorio de Referencia de la OIE mantendrá una base de datos actualizada de secuencias del gen de la CO1 y ayudará en el diagnóstico. Se recomienda que se informe al Laboratorio de Referencia de la OIE de cualquier detección significativa de *G. salaris* y *G. thymalli* para confirmar los casos.

#### 4.7. Hibridación *in-situ*

No aplicable.

#### 4.8. Inmunohistoquímica

No aplicable.

#### 4.9. Bioensayo

No aplicable.

#### 4.10. Métodos de detección basados en la detección de anticuerpos o de antígeno

No aplicable.

#### 4.11. Otros métodos

No aplicable.

### 5. Prueba(s) recomendada(s) para la vigilancia para demostrar ausencia en poblaciones aparentemente sanas

La PCR en tiempo real es la prueba recomendada de vigilancia para demostrar la ausencia de enfermedad en poblaciones aparentemente sanas. Se requiere la secuenciación del amplicón de la CO1 amplificado para confirmar la infección en cualquier parásito identificado como positivo por PCR.

### 6. Criterios de diagnóstico confirmativo

Todas las muestras sospechosas que resultan ser positivas para *G. salaris* en un país, zona o compartimento considerados libres de infección por *G. salaris* deben remitirse inmediatamente al Laboratorio de Referencia de la

OIE para identificar definitivamente el parásito basándose en la información más actualizada (véase el apartado 4.6). Tal acción debe realizarse independientemente de que se hayan observado signos clínicos o no.

Esta sección solo aborda los resultados de las pruebas de diagnóstico para la detección de infección en ausencia (sección 6.1) o presencia de signos clínicos (sección 6.2), pero no evalúa si el agente infeccioso es la causa del episodio clínico.

Se han establecido definiciones de caso sospechoso y caso confirmado para respaldar la toma de decisiones relacionadas con el comercio y la confirmación del estado de la enfermedad a nivel de país, zona o compartimento. Las definiciones de caso para la confirmación de la enfermedad en áreas endémicamente afectadas pueden ser menos estrictas

## **6.1. Detección en animales aparentemente sanos o animales de estado sanitario desconocido<sup>1</sup>**

Puede sospecharse de poblaciones sanas, en cuyo caso se muestrearán si existe un vínculo epidemiológico con una población infectada. La proximidad geográfica o el movimiento de animales o productos o equipos de origen animal, etc., de una población que se sabe que está infectada equivale a un vínculo epidemiológico. Como alternativa, las poblaciones sanas se pueden muestrear en estudios destinados a demostrar la ausencia de enfermedades.

### **6.1.1. Definición de caso sospechoso en animales aparentemente sanos**

La presencia de infección por *G. salaris* deberá sospecharse si se cumple al menos uno de los siguientes criterios:

- i) Identificación de *G. salaris* mediante examen morfológico;
- ii) Un resultado positivo por PCR en tiempo real;
- iii) Un resultado positivo por ddPCR o PCR en tiempo real utilizando una muestra medioambiental.

### **6.1.2. Definición de caso confirmado en animales aparentemente sanos**

La presencia de infección por *G. salaris* se considera confirmada si se cumplen los siguientes criterios:

- i) Un resultado positivo por PCR convencional al analizar muestras del parásito y secuenciar uno o ambos fragmentos del ITS y el fragmento de la CO1. Las secuencias del ITS obtenidas se analizarán según lo descrito en el apartado 4.6.1 y las secuencias de la CO1 según la Tabla 4.6.2 (véase el apartado 4.6.2).

## **6.2. Animales afectados clínicamente**

Los signos clínicos no son patognomónicos de una sola enfermedad, pero pueden acotar la lista de posibles diagnósticos.

### **6.2.1. Definición de casos sospechosos en animales afectados clínicamente**

La presencia de infección por *G. salaris* debe sospecharse si se cumple al menos uno de los siguientes criterios:

- i) Signos anatomopatológicos o clínicos macroscópicos asociados a la enfermedad, según lo descrito en este capítulo
- ii) Identificación de *G. salaris* mediante examen morfológico;
- iii) Un resultado positivo mediante PCR convencional;
- iv) Un resultado positivo mediante PCR en tiempo real.

---

<sup>1</sup> Por ejemplo, productos transfronterizos.

### 6.2.2. Definición de caso confirmado en animales afectados clínicamente

La presencia de infección por *G. salaris* se considera confirmada si se cumple el siguiente criterio:

- i) Un resultado positivo mediante PCR convencional al analizar muestras del parásito y secuenciar uno o ambos fragmentos amplificados del ITS y el fragmento de la CO1. Las secuencias del ITS obtenidas se analizarán según lo descrito en el apartado 4.6.1 y las secuencias de la CO1 según la Tabla 4.6.2 (véase el apartado 4.6.2).

### 6.3. Sensibilidad y especificidad diagnóstica de las pruebas de diagnóstico: en estudio

El rendimiento diagnóstico de las pruebas recomendadas para la vigilancia o el diagnóstico de la infección por *G. salaris* se proporciona en la Tabla 6.3. (Nota: actualmente no hay datos disponibles). Esta información se puede utilizar para el diseño de estudios relativos a la infección por *G. salaris*, sin embargo, debe tenerse en cuenta que el rendimiento diagnóstico es específico de las circunstancias de cada estudio de exactitud diagnóstica (como el propósito de la prueba, la población de origen, los tipos de muestras tisulares y la especie del hospedador) y que puede variar según las condiciones. Solo se dispone de los datos obtenidos con pruebas validadas al menos al nivel dos de la vía de validación descrita en el Capítulo 1.1.2, y pueden consultarse en los estudios de precisión diagnóstica publicados.

**Tabla 6.3.1.** Rendimiento diagnóstico de las pruebas recomendadas para la vigilancia o el diagnóstico

Tipo de prueba	Propósito de la prueba	Población de origen	Tipo de tejido/muestra	Especie	DSe (n)	DSp (n)	Prueba de referencia	Cita
PCR en tiempo real	Vigilancia	–	Parásitos	–	Todavía no está disponible	Todavía no está disponible	–	–
Secuenciación del amplicón	Diagnóstico	–	Parásitos	–	Todavía no está disponible	Todavía no está disponible	–	–
Examen morfológico	Diagnóstico	–	Parásitos	–	Todavía no está disponible	Todavía no está disponible	–	–

DSe = sensibilidad diagnóstica; DSp = especificidad diagnóstica; n = número de muestras utilizadas en el estudio.

## 8. Bibliografía

- ANTTILA P., ROMA KANIEMI A., KUUSELA J. & KOSKI P. (2008). Epidemiology of *G. salaris* (Monogenea) in the River Tornionjoki, a Baltic wild salmon river. *J. Fish Dis.*, **31**, 373–382.
- APPLEBY C. & MO T.A. (1997). Population Dynamics of *G. salaris* (Monogenea) Infecting Atlantic salmon, *Salmo salar*, parr in the River Batnfjordselva, Norway. *J. Parasitol.*, **83**, 23–30
- BAKKE T.A., CABLE J. & HARRIS P.D. (2007) The biology of gyrodactylid monogeneans: The “Russian-Doll Killers”. *Adv. Parasitol.*, **64**, 161–460.
- BUCHMANN K. & BRESCIANI J. (1997). Parasitic infections in pond-reared rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in Denmark. *Dis. Aquat. Org.*, **28**, 125–138.
- COLLINS C.M., KERR R., MCINTOSH R. & SNOW M. (2010). Development of a real-time PCR assay for the identification of *Gyrodactylus* parasites infecting salmonids in northern Europe. *Dis. Aquat. Org.*, **90**, 135–142.
- CUNNINGHAM C.O. (1997). Species variation within the internal transcribed spacer (ITS) region of *Gyrodactylus* (Monogenea: Gyrodactylidae) ribosomal RNA genes. *J. Parasitol.*, **83**, 215–219.
- CUNNINGHAM C.O., MO T.A., COLLINS C.M., BUCHMANN K., THIERY R., BLANC G. & LAUTRAITE A. (2001). Redescription of *Gyrodactylus teuchis* Lautraite, Blanc, Thiery, Daniel & Vigneulle, 1999 (Monogenea: Gyrodactylidae), a species identified by ribosomal RNA sequence. *Syst. Parasitol.*, **48**, 141–150.
- ERGENS R. (1983). *Gyrodactylus* from Eurasian freshwater Salmonidae and Thymallidae. *Folia Parasitol.*, **30**, 15–26.

- HAGEN A.G., HYTTERØD S. & OLSTAD K. (2014). Low concentrations of sodium hypochlorite affect population dynamics in *Gyrodactylus salaris* (Malmberg, 1957): practical guidelines for the treatment of the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. parasite. *J. Fish Dis.*, **37**, 1003–1011. <https://doi.org/10.1111/jfd.12218>
- HANSEN H., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2003). Mitochondrial DNA variation of *Gyrodactylus* spp. (Monogenea, Gyrodactylidae) populations infecting Atlantic salmon, grayling, and rainbow trout in Norway and Sweden. *Int. J. Parasitol.*, **33**, 1471–1478.
- HANSEN H., BAKKE T.A. & BACHMANN L. (2007a). DNA taxonomy and barcoding of monogenean parasites: lessons from *Gyrodactylus*. *Trends Parasitol.*, **23**, 363–367.
- HANSEN H., BAKKE T.A. & BACHMANN L. (2007b). Mitochondrial haplotype diversity of *Gyrodactylus thymalli* (Platyhelminthes; Monogenea): extended geographic sampling in United Kingdom, Poland, and Norway reveals further lineages. *Parasitol. Res.*, **100**, 1389–1394.
- HARRIS P.D., CABLE J., TINSLEY R.C. & LAZARUS C.M. (1999). Combined ribosomal DNA and morphological analysis of individual gyrodactylid monogeneans. *J. Parasitol.*, **85**, 188–191.
- JANSEN P.A. & BAKKE T.A. (1991). Temperature-dependent reproduction and survival of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Platyhelminthes: Monogenea) on Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Parasitology*, **102**, 105–112.
- JENSEN A.J. & JOHNSEN B.O. (1992). Site specificity of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea) on Atlantic Salmon (*Salmo salar* L.) in the River Lakselva, northern Norway. *Can. J. Zool.*, **41**, 264–267.
- JOHNSEN B.O., MØKKELGJERD P. & JENSEN A.J. (1999). The parasite *Gyrodactylus salaris* on salmon parr in Norwegian rivers, status report at the beginning of year 2000. In: NINA Oppdragsmelding, p. 1–129 (In Norwegian with English summary).
- JØRGENSEN T.R., LARSEN T.B., JØRGENSEN L.G., BRESCIANI J., KANIA P. & BUCHMANN K. (2007). Characterisation of a low pathogenic strain of *Gyrodactylus salaris* from rainbow trout. *Dis. Aquat. Org.*, **73**, 235–244.
- KARLSSON S., BOLSTAD G.H., HANSEN H., JANSEN P.A., MOEN T. & NOBLE LR. (2019). The potential for evolution of resistance to *Gyrodactylus salaris* in Norwegian Atlantic salmon. Norwegian Institute for Nature Research (NINA) Report 1812. Norwegian Institute for Nature Research. ISSN: 1504-3312 ISBN: 978-82-426-4570-8.
- KOSKI P., ANTTILA P. & KUUSELA J. (2016). Killing of *Gyrodactylus salaris* by heat and chemical disinfection. *Acta Vet. Scand.*, **58**, 21.
- KUUSELA J., ZIETARA M.S. & LUMME J. (2009). Description of three new European cryptic species of *Gyrodactylus* Nordmann, 1832 supported by nuclear and mitochondrial phylogenetic characterization. *Acta Parasitol.*, **53**, 120–126.
- LINDENSTRØM T., COLLINS C.M., BRESCIANI J., CUNNINGHAM C.O. & BUCHMANN K. (2003). Characterization of a *Gyrodactylus salaris* variant: infection biology, morphology and molecular genetics. *Parasitology*, **127**, 165–177.
- MALMBERG G. (1957). Om förekomsten av *Gyrodactylus* på svenska fiskar. *Skr. söd. Sver. Fisk För.*, (Årsskr.) 1956, 19–76. (In Swedish, species descriptions and summary in English).
- MALMBERG G. (1970). The excretory systems and the marginal hooks as a basis for the systematics of *Gyrodactylus* (Trematoda, Monogenea). *Ark. Zool. [Ser. 2]*, **23**, 1–235.
- MALMBERG G. (1973). *Gyrodactylus* infestations on species of *Salmo* in Danish and Swedish hatcheries. Norwegian *J. Zool.*, **21**, 325–326.
- MALMBERG G. (1988). *Gyrodactylus salaris*-infektioner, laxfisk-transporter och odling i Norden. *Vattenbruk*, **2**, 22–29
- MALMBERG G. & MALMBERG M. (1993). Species of *Gyrodactylus* (Platyhelminthes, Monogenea) on salmonids in Sweden. *Fish. Res.*, **17**, 59–68.
- MATEJUSOVÁ I., GELNAR M., McBEATH A.J.A., COLLINS C.M. & CUNNINGHAM C.O. (2001). Molecular markers for gyrodactylids (Gyrodactylidae: Monogenea) from five fish families (Teleostei). *Int. J. Parasitol.*, **31**, 738–745.

- McHUGH E.S., SHINN A.P. & KAY J.W. (2000). Discrimination of the notifiable pathogen *Gyrodactylus salaris* from *G. thymalli* (Monogenea) using statistical classifiers applied to morphometric data. *Parasitology*, **121**, 315–323.
- Meinilä M., KUUSELA J., ZIĘTARA M. & LUMME J. (2002) Primers for amplifying approximately 820 bp of highly polymorphic mitochondrial COI gene of *Gyrodactylus salaris*. *Hereditas*, **137**, 72–74.
- Meinilä M., KUUSELA J., ZIĘTARA M.S. & LUMME J. (2004). Initial steps of speciation by geographic isolation and host switch in salmonid pathogen *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae). *Int. J. Parasitol.*, **34**, 515–526.
- MIESZKOWSKA A., GORNIAN M., JURCZAK-KUREK A. & ZIĘTARA M.S. (2018). Revision of *Gyrodactylus salaris* phylogeny inspired by new evidence for Eemian crossing between lineages living on grayling in Baltic and White sea basins. *PeerJ.*, 6:e5167. doi:10.7717/peerj.5167
- MO T.A. (1991). Variations of opisthaptor hard parts of *Gyrodactylus salaris* Malmberg 1957 Monogenea Gyrodactylidae on parr of Atlantic salmon *Salmo salar* L. in laboratory experiments. *Syst. Parasitol.*, **20**, 11–19.
- MO T.A. (1992). Seasonal variations in the prevalence and infestation intensity of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea: Gyrodactylidae) on Atlantic salmon parr, *Salmo salar* L., in the River Batnfjordselva, Norway. *J. Fish Biol.*, **41**, 697–707.
- OLSTAD K., CABLE J., ROBERTSEN G. & BAKKE T. A. (2006). Unpredicted transmission strategy of *Gyrodactylus salaris* (Monogenea: Gyrodactylidae): survival and infectivity of parasites on dead hosts. *Parasitology*, **133**, 33–41.
- OLSTAD K., ROBERTSEN G., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2007a). Variation in host preference within *Gyrodactylus salaris* (Monogenea): an experimental approach. *Parasitology*, **134**, 589–597.
- OLSTAD K., SHINN A.P., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2007b). Host-based identification is not supported by morphometrics in natural populations of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Platyhelminthes, Monogenea). *Parasitology*, **134**, 2041–2052.
- PALADINI G., GUSTINELLI A., FIORAVANTI M.L., HANSEN H. & SHINN A.P. (2009). The first report of *Gyrodactylus salaris* Malmberg 1957 (Platyhelminthes, Monogenea) on Italian cultured stocks of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Vet. Parasitol.*, **165**, 290–297.
- PALADINI G., HANSEN H., WILLIAMS C.F., TAYLOR N.G.H., RUBIO-MEJÍA O.L., DENHOLM S., HYTTERØD S., BRON J.E. & SHINN A.P. (2014). Reservoir hosts for *Gyrodactylus salaris* may play a more significant role in epidemics than previously thought. *Parasit. Vectors*, **7**, 576.
- PALADINI G., SHINN A.P., TAYLOR N.G.H., BRON J.E. & HANSEN H. (2021). Geographical distribution of *Gyrodactylus salaris* Malmberg, 1957 (Monogenea, Gyrodactylidae) throughout Europe. *Parasite Vector*, **14**, 34.
- PETTERSEN R.T., HYTTERØD S., MO T.A., HAGEN A.G., FLODMARK L.E.W., HØGBERGET R., OLSEN N., KJØSNES A.J., ØXNEVAD S., HÅVARDSTUN J., KRISTENSEN T., SANDODDEN R., MOEN A. & LYDER-SEN E. (2007). Kjemisk behandling mot *G. salaris* i Lærdalselva 2005/2006 – Sluttrapport. NIVA-rapport 5349-2007. 27 pp. (in Norwegian).
- POLEO A.B.S., SCHJOLDEN J., HANSEN H., BAKKE T.A., MO T.A., ROSSELAND B.O. & LYDERSEN E. (2004). The effect of various metals on *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) infections in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Parasitology*, **128**, 169–177.
- ROBERTSEN G., HANSEN H., BACHMANN L. & BAKKE T. A. (2007). Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) is a suitable host for *Gyrodactylus salaris* (Monogenea, Gyrodactylidae) in Norway. *Parasitology*, **134**, 257–267.
- RUSCH J.C., HANSEN H., STRAND D.A., MARKUSSEN T., HYTTERØD S. & VRÅLSTAD T. (2018). Catching the fish with the worm: a case study on eDNA detection of the monogenean parasite *G. salaris* and two of its hosts, Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Parasit. Vectors*, **11**, 333. doi:10.1186/s13071-018-2916-3
- SALTE R., BENTSEN H.B., MOEN T., TRIPATHY S., BAKKE T.A., ØDEGÅRD J., OMHOLT S. HANSEN L.P. (2010). Prospects for a genetic management strategy to control *Gyrodactylus salaris* infection in wild Atlantic salmon (*Salmo salar*) stocks. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **67**, 121–129.
- SHINN A.P., HANSEN H., OLSTAD K., BACHMANN L. & BAKKE T.A. (2004). The use of morphometric characters to discriminate specimens of laboratory-reared and wild populations of *Gyrodactylus salaris* and *G. thymalli* (Monogenea). *Folia Parasitol.*, **51**, 239–252.

SOLENG A. & BAKKE T.A. (1997). Salinity tolerance of *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea): laboratory studies. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **55**, 1837–1845.

SOLENG A., POLEO A.B.S., ALSTAD N.E.W. & BAKKE T. A. (1999). Aqueous aluminium eliminates *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea) infections in Atlantic salmon. *Parasitology*, **119**, 19–25.

STERUD E., MO T.A., COLLINS C. M. & CUNNINGHAM C.O. (2002). The use of host specificity, pathogenicity, and molecular markers to differentiate between *G. salaris* Malmberg, 1957 and *G. thymalli* Žitňan, 1960 (Monogenea: Gyrodactylidae). *Parasitology*, **124**, 203–213.

THRUSH M.A., HILL T. & TAYLOR N.G.H. (2019). Development of a non-lethal hydrogen peroxide treatment for surveillance of *Gyrodactylus salaris* on trout farms and its application to testing wild salmon populations. *Transbound. Emerg. Dis.*, doi:10.1111/tbed.13263.

\*  
\* \*

**NB:** Existe un Laboratorio de Referencia de la OIE para la infección por *Gyrodactylus salaris* (puede consultarse en la Tabla del final de este *Manual Acuático* o en la página web de la OIE:

<https://www.oie.int/es/que-ofrecemos/red-de-expertos/laboratorios-de-referencia/#ui-id-3>).

Para más información sobre la infección por *Gyrodactylus salaris*, por favor contactar con el Laboratorio de Referencia de la OIE.

**NB:** ADOPTADO POR PRIMERA VEZ EN 1997 COMO GIRODACTILOSIS DEL SALMÓN DEL ATLÁNTICO (*GYRODACTYLUS F*).  
ÚLTIMAS ACTUALIZACIONES ADOPTADAS EN 2021.