

El Virus del Síndrome de las Manchas Blancas (WSSV): una revisión y su impacto en la camaronicultura costarricense.

The White Spot Syndrome Virus (WSSV): a review and its impact on Costa Rican shrimp production

Alexander Varela Mejías¹ , Nelson Peña Navarro²

1 Laboratorio de Patologías y Parasitología de Crustáceos. Nicoya, Costa Rica alexander.varela@gmail.com

2 Universidad Técnica Nacional de Costa Rica. Dirección de Investigación, Sede del Pacífico. npena@utn.ac.cr

Recibido: 27 de Mayo de 2013. *Corregido:* 30 de Julio de 2013. *Aceptado:* 27 de Agosto de 2013.

Resumen: A continuación, una breve reseña sobre el Virus del Síndrome de las Manchas Blancas (WSSV), la principal enfermedad que afecta el cultivo de camarones, a nivel mundial, por sus efectos económicos y productivos. Se expone: sus inicios y primeros reportes en cultivos de camarón en Asia y su propagación hacia otras zonas productivas. Se incluye una lista, no exhaustiva, de algunas especies susceptibles a su infección, la descripción ultramicroscópica del agente causal, la sintomatología que presentan los animales y se citan las principales técnicas de diagnóstico. Se describe, además, los principales efectos citopáticos. Finalmente, se presentan algunos factores detonantes de estos eventos patológicos, el impacto de este virus en Costa Rica y su distribución, así como algunas de las alternativas actuales para su mitigación.


Palabras clave: WSSV, efectos, diagnóstico, efecto citopático.

Abstract: A brief review is presented on the White Spot Syndrome Virus (WSSV), the main disease affecting shrimp farming worldwide due to its economic and productive effects. The review describes the beginnings of WSSV as well as early reports on shrimp crops in Asia and how it spread to other productive areas. In addition, it includes a non-exhaustive list of some of the species susceptible to WSSV infection, an ultramicroscopic description of the causal agent, symptomatology shown by infected animals, and the most important diagnostic techniques. The main cytopathic effects are also described. Finally, this paper includes some factors that may trigger WSSV disease outbreaks, the impact of this virus in Costa Rica, its distribution, as well as some of the current alternatives for its mitigation.

Keywords: WSSV, effects, diagnosis, cytopathic effect.

Sus inicios

Antes de la década de los 80s, los virus que afectaban especies marinas y sus efectos eran considerados de poca relevancia y su concentración era subestimada o desconocida (Sánchez,

 *Autor para correspondencia
alexander.varela@gmail.com

2010). No obstante, la primera infección viral documentada, para un invertebrado acuático, fue reportada por Vago en 1966, en el cangrejo braquiuro *Macropipus depurator* (Kinne, 1990).

Por el contrario, actualmente se estima que los virus son las “formas de vida” más abundantes en los océanos. El creciente conocimiento que se genera sobre ellos está relacionado, principalmente, a los efectos adversos que ocasionan sobre especies cultivadas (Sánchez, 2010), donde el 60% de las pérdidas por patógenos en las producciones, son atribuidas a virus, contra un 20% atribuido a enfermedades bacteriales (Flegel et al., 2008).

Bajo este enfoque, sin duda, el virus de mayor interés e importancia en la camaronicultura es el Virus del Síndrome de las Manchas Blancas (WSSV por sus siglas en inglés), considerándose como el principal patógeno para crustáceos en la actualidad (Kou et al., 1998; Wang et al., 1999; Lotz & Soto, 2002; Mathew et al., 2007; Satoh, 2008; Bateman et al., 2012b). Según la Organización Mundial de Salud Animal (Lo, 2012) este virus es capaz de provocar mortalidades masivas en cortos períodos de tiempo. Puede acabar, *fácilmente*, con las poblaciones totales de estanques de cultivo en períodos comprendidos entre tres y siete días, a partir de la aparición de los primeros síntomas (Lightner, 1996; Flegel, 1997; Lo et al., 2005; Li et al., 2006; Bustillo et al., 2009; Bateman et al., 2012b, Lo, 2012).

Los primeros reportes de esta enfermedad, datan de 1991-1992, los brotes ocasionaron fuertes mortalidades en cultivos de camarones en Taiwán, extendiéndose a Japón y, rápidamente, al resto de Asia, donde provocó drásticas reducciones en la producción (Sangamaheswaran & Jeyaseelan, 2001; Mathew et al., 2007; Morales & Cuellar-Anjel, 2008; Rahman et al., 2008).

El primer diagnóstico confirmado de WSSV en el continente americano se realizó en Texas, en noviembre de 1995, en una granja de cultivo de camarones de la especie *Penaeus setiferus*, ubicada cerca de una planta de procesamiento de camarones cultivados importados de Asia, por lo que se considera ésta como la ruta probable de introducción (Lightner & Pantoja, 2001), ya que su infectividad, a partir de tejidos congelados, ha sido demostrada experimentalmente (Soto et al., 2001). Posteriormente, en febrero de 1999, fue detectado en Ecuador y a finales de 1999 se comprobó su presencia en Centro América (Lightner & Pantoja, 2001; Sánchez, 2010). Para ese mismo año se reportó en al menos nueve países de Norte, Centro y Sur América (Bondad et al., 2001; Mijangos et al., 2006; Morales & Cuellar-Anjel, 2008; Morales-Covarrubias, 2010; Sánchez, 2010; Oidtmann & Stentiford, 2011).

Los mecanismos de transmisión de esta enfermedad facilitan su dispersión y contagio, ya que puede ser horizontal, mediante vía oral por canibalismo de individuos muertos o por partículas del virus en el agua a través de las branquias (Lo et al., 2005; Esparza et al., 2009, Lo, 2012), y vertical por vía transovárica (Lo et al., 2005; Lo, 2012). Paralelamente, algunos moluscos marinos, como los poliquetos, y ciertos artrópodos acuáticos no crustáceos, como las cochinillas marinas (*Isopoda*) y larvas de insectos *Euphydradae* pueden ser portadores mecánicos del virus sin signos de infección (Sánchez, 2010; Lo, 2012).

Especies afectadas

El WSSV tiene la particularidad de afectar a gran cantidad de especies de crustáceos (Hossain et al., 2001; Soto et al., 2001; Maldonado et al., 2004; Lo et al., 2005; Bateman et al., 2012a). Ha sido reportado en múltiples especies de decápodos silvestres como *Mysis* sp., *Acetes* sp., *Alpheus* sp., *Callinassa* sp., *Exopalaemon* sp., *Helice* sp., *Hemigrapsus* sp., *Macrophthalmus* sp., *Macrophthel* sp., *Metaplastax* sp., *Orithyia* sp., *Palaemonoidea* sp., *Scylla* sp., *Sesarma* sp., *Stomatopoda* sp., *Matuta planipes*, *Charybdis lucifera*. Ciertos crustáceos no decápodos, como copépodos, rotíferos, *Artemia salina*, *Balanus* sp., y *Tachypleidue* sp., pueden actuar como portadores latentes sin manifestar la enfermedad. Se ha reportado una alta prevalencia de este virus en especies silvestres (Lo et al., 1997; Otta et al., 1999; Mijangos et al., 2006; Morales & Cuellar-Anjel, 2008).

Para especies cultivadas o de importancia en capturas se ha reportado en *Penaeus japonicus*, *P. chinensis*, *P. indicus*, *P. merguensis*, *P. monodon*, *P. setiferus*, *P. stylirostris*, *P. vannamei*, y se ha demostrado la susceptibilidad de *P. aztecus* y *P. duorarum* (Lightner, 1996; Otta et al., 1999; Bondad et al., 2001; Mijangos et al., 2006), *Cherax destructor*, *C. quadricarinatus*, *Procambarus clarkii*, *Solenosera indica* (Unzueta, 2004; Sánchez, 2010), y *Homarus gammarus* (Bateman et al., 2012b).

Con algunas excepciones pocos crustáceos decápodos, de aguas marinas y salobres o dulces, son reportados como resistentes o tolerantes a este virus (Cuéllar-Anjel et al., 2011; Lo, 2012). Lo que dificulta tremendamente su control.

Agente causal

La Enfermedad de las Manchas Blancas es ocasionada por un virus que recibió diferentes nombres durante los primeros años, posteriores a su aparición, tales como Baculovirus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética, Baculovirus de *Penaeus japonicus*, Baculovirus Ectodérmico y Mesodérmico, Baculovirus de las Manchas Blancas; considerados todos, en la actualidad, como parte de un solo complejo, el Virus del Síndrome de las Manchas Blancas (Lightner, 1996; Morales-Covarrubias, 2010; Morales & Cuellar-Anjel, 2008; Oidtmann & Stentiford, 2011).

Se trata de un virus con genoma ADN bicatenario, asignado, por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, a un nuevo género, *Whispovirus*, en la familia *Nimaviridae* (Lo et al., 2012). Los viriones poseen dimensiones de 80 a 120 nm por 250 a 380 nm; forma bacilar y una membrana trilaminar, con un apéndice terminal de función aun desconocida. La envoltura viral posee de 6 a 7 nm de espesor. Las dimensiones de la nucleocápside son 120–205 nm de longitud y 95–165 nm de diámetro. La nucleocápside está compuesta por 15 hélices verticales formadas por 14 capsómeros globulares de 8 nm de diámetro, separados entre ellos por 3 nm (Sánchez, 2010).

El tamaño de su genoma ha sido reportado con algunas diferencias entre las muestras analizadas, presentando 305107 bp, 292967 bp y 307287 bp para virus aislados de China, Tailandia y Taiwán, respectivamente. Solo unos pocos genes WSSV han sido estudiados más allá del análisis de la secuencia (Lo et al., 2005). En su genoma se ha identificado un total

de 531 posibles marcos de lectura abierta (ORFs), de ellos, 181 son capaces de codificar proteínas funcionales (Lightner, 2004).

Sorprendentemente, en contra del comportamiento usual de los virus, que establecen eventualmente una cohabitación con los organismos hospedadores, durante los últimos años, el WSSV ha presentado un aumento en la patogenicidad, acompañado de acortamientos en su genoma, originando diferentes genotipos, principalmente mediante deleciones (Zwart et al., 2010).

Como ocurre con la mayoría de las enfermedades de crustáceos, este virus no posee capacidad para afectar la salud humana, incluso, no se ha demostrado la existencia de virus de camarones que posean capacidad zoonótica, debido a las marcadas diferencias entre los tejidos de éstos y los humanos (Pantoja et al., 2004; Lo et al., 2005). Por lo cual, su presencia no indica riesgos para el consumidor, pero puede facilitar la propagación de material infectado, y eventualmente, llegar a cuerpos de agua en los que estaba ausente mediante tejidos congelados (Soto et al., 2001; Bateman et al., 2012b).

La supervivencia del virus fuera del hospedero es de al menos 30 días a 30°C en agua marina, y es viable en estanques de cultivo durante al menos 3 a 4 días. El virus se inactiva en 120 minutos a 50°C y en 1 minuto a 60°C y su ciclo de replicación dura unas 20 horas a 25°C (Lo, 2012).

Signos clínicos, diagnóstico y efecto citopático

Los eventos infecciosos de WSSV pueden dividirse en etapas secuenciales. Inician con un corto período de latencia asintomático durante el cual se multiplica el virus en los tejidos blanco, causando eventualmente una infección sintomática aguda. Estas infecciones agudas pueden progresar hasta causar la muerte del hospedero, también, es posible que algunos camarones con infecciones agudas sobrevivan con infecciones crónicas e incluso pueden recuperarse completamente de la infección (Lotz & Soto, 2002).

Clínicamente, los camarones enfermos desarrollan anorexia, letargia y los característicos puntos blancos de 0.5 a 2 mm de diámetro, las cuales son más aparentes en la superficie interna del caparazón. Las manchas blancas presentan depósitos anormales de sales de calcio en la epidermis cuticular. Los animales moribundos pueden presentar, además, una coloración rosa a rojiza por expansión de cromatóforos y una drástica reducción en los niveles de consumo de alimento (Gómez, 2001; Rodríguez et al., 2001; MPEDA/NACA, 2003; Varela, 2007; Cavalli et al., 2008). Se presenta, ocasionalmente, un oscurecimiento en el color de la hemolinfa (Maldonado et al., 2004), los camarones infectados presentan nado errático cerca de los bordes de los estanques; finalmente, se van al fondo y mueren (Bustillo et al., 2009).



Figura 1. Los animales de la izquierda presentan coloración rojiza causada por la presencia del WSSV (Foto A. Varela).

Sin embargo, se debe ser cauteloso ante la aparición de los síntomas, pues su presencia no es un indicador infalible de la enfermedad. Se han reportado puntos blancos de origen bacterial (Wang et al., 2000; Bondad et al., 2001), y por cambios de pH (Morales-Covarrubias, 2010), la coloración roja no siempre está presente o puede tener otras causas. La anorexia puede ser causada por múltiples patologías, como infecciones bacterianas, parásitos u otros virus (Lightner, 1996; Morales-Covarrubias, 2010). Adicionalmente, no todos los eventos presentan los signos mencionados. Ante ello, es necesario contar con métodos específicos y confiables de diagnóstico.



Figura 2. Caparazón de camarón *L. vannamei* mostrando las concreciones calcáreas que dan el nombre a la enfermedad (Foto A. Varela).

Las técnicas para el diagnóstico de WSSV se basan en la detección del genoma y/o las proteínas virales y a la manifestación de las lesiones en los tejidos de origen ectodérmico y mesodérmico, incluyendo branquias, órgano linfoide, epitelio sub-cuticular, tejidos conectivos, glándula antenal, estómago, esófago, tejido hematopoyético, tejido nervioso, ovarios, testículos, espermátóforos, pedúnculos oculares, tejido conectivo intertubular del hepatopáncreas, músculo estriado, hemolinfa y los fagocitos fijos del corazón (Lightner, 1996; Kou et al., 1998; Otta et al., 1999; Lightner & Pantoja, 2001; Lo, 2012).

Se han desarrollado múltiples métodos diagnósticos, entre ellos, inmunohistoquímica, hibridación *in situ* con el uso de sondas moleculares, reacción en cadena de polimerasa (PCR), pruebas ELISA basadas en anticuerpos monoclonales y policlonales, realización de bioensayos (Lightner, 1996) y procedimientos histológicos de rutina (Bell & Lightner, 1988; Howard et al., 2004; Morales-Covarrubias, 2010), para lo cual se requiere la demostración histológica de los efectos citopáticos en los tejidos blanco (Lightner & Pantoja, 2001; Morales-Covarrubias, 2010).

En estadios tempranos, las lesiones son eosinofílicas centronucleares; presentan halos claros artefactuales, que pueden ser confundidos fácilmente con las lesiones presentadas en infecciones del Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa (Lightner, 1996; Wang et al., 1999; DAFF, 2012; Bateman et al., 2012a). En estos tejidos, los núcleos infectados se hipertrofian, presentan marginación cromatínica y contienen cuerpos de inclusión que se tiñen basofílicamente en infecciones más avanzadas (Lightner, 1996; Morales-Covarrubias, 2010; Bateman et al., 2012a). Se ha reportado también picnosis, cariorrexis y formación de esferoides en órgano linfoide (Rodríguez et al., 2003).

Las técnicas histopatológicas rápidas permiten un diagnóstico en poco tiempo (Lightner, 1996; Morales & Chávez, 1999; Bondad et al., 2001; Lightner & Pantoja, 2001; Varela, 2007; Lo, 2012), para lo cual es necesario estar familiarizado con la apariencia histopatológica de las lesiones (Morales-Covarrubias, 2010).

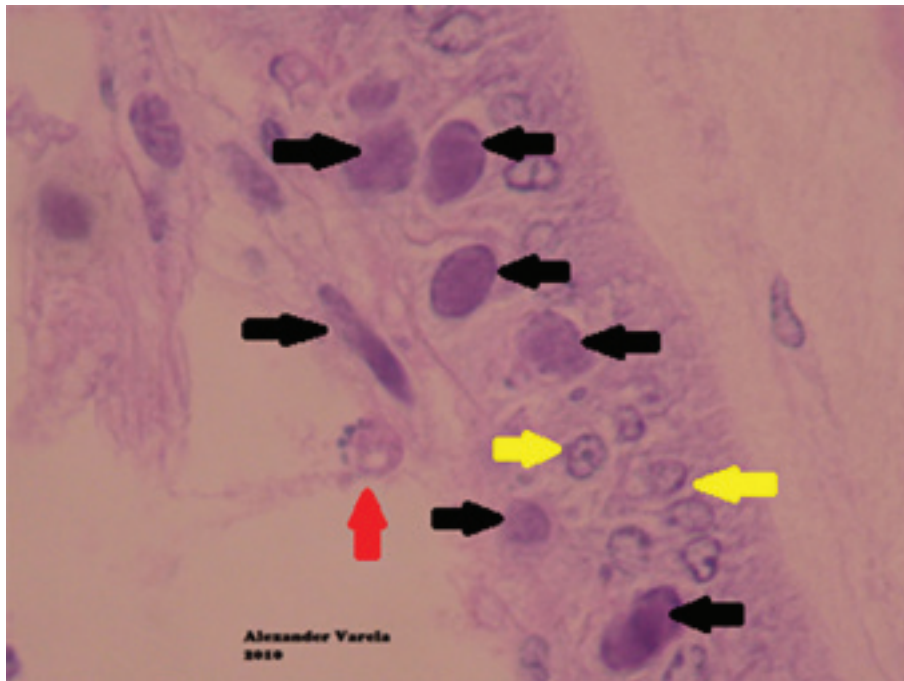


Figura 3. Corte histológico de epitelio subcutáneo que muestra núcleos hipertrofiados y cuerpos de inclusión intranucleares basofílicos (flechas negras), se observa un núcleo fragmentado (flecha roja) y algunos núcleos normales (flechas amarillas) Foto A. Varela.

EL WSSV no afecta las células epiteliales del hepatopáncreas o intestino medio, debido a su origen endodérmico (Alday & Flegel, 1999). La presencia de viriones en vacuolas citoplasmáticas de hemocitos ha sido observada, pero es probablemente debido a fagocitosis, ya que la replicación de este virus es intranuclear (Durand et al., 1997).

Es importante considerar que un resultado positivo mediante la técnica de PCR no confirma, necesariamente, la ocurrencia de enfermedad, dado que la técnica se limita a confirmar la presencia de los elementos del genoma viral. Para determinar si el virus está presente a nivel intracelular o, si por el contrario, está en la superficie o en el contenido intestinal, debe ser realizado un análisis por hibridación *in situ*, histopatología, microscopía electrónica de transmisión o inmunohistoquímica (Oidtmann & Stentiford, 2011).

En los animales infectados, por lo general, el número de células infectadas es alto en camarones moribundos, y se atribuye la muerte del hospedero a la replicación del virus y el daño tisular asociado (Rahman et al., 2008). Estas cargas virales, medidas en los camarones en el inicio de las mortalidades, han sido determinadas y sus resultados son extremadamente altos, en el orden de 10^9 – 10^{10} copias de viriones por gramo del tejido (Oidtmann & Stentiford, 2011). Secciones ultrafinas de la epidermis subcutánea

revelan numerosas partículas virales. También, se observan viriones formando grandes agregaciones paracristalinas en los núcleos de las células infectadas (Chou et al., 1995).

Ultraestructuralmente, utilizando microscopía electrónica de transmisión Wang et al (1999), describieron el curso de la virogénesis y su relación con el efecto citopático, según describen. Inicialmente, los núcleos de las células infectadas son ligeramente hipertrofiados, la cromatina es marginada y presionada contra la membrana nuclear formando masas interrumpidas. El nucleolo y la cromatina se funden, ocasionando que el área central luzca homogénea. En esta etapa no se observan viriones pero el material de la membrana viral aparece como fragmentos fibrilares. En el citoplasma, el retículo endoplasmático muestra abundantes ribosomas libres.

Al avanzar la lesión, los núcleos crecen debido a una severa hipertrofia. La cromatina marginada forma una capa continua y oscura adyacente a la membrana nuclear y se forma el estroma virogénico central con la aparición de numerosas partículas virales. Una zona transparente se forma entre el estroma y la cromatina, y esto probablemente da lugar a las inclusiones tipo Cowdry A, vistas por microscopía fotónica. En esta etapa hay muchos viriones presentes. El deterioro de las mitocondrias es evidenciado por la transformación de éstas en gránulos amorfos. Además, comúnmente aparecen laberintos membranosos formados por redes vacuolizadas que cubren grandes áreas y deforman el citoplasma.

Se desarrollan nucleosomas que dan lugar a la formación de los cápsides virales. Finalmente, posterior al ensamblaje, la citólisis da lugar a la liberación de las inclusiones virales y componentes celulares, originando "espacios vacíos" en los tejidos lesionados. Las secciones de tejido de camarón moribundo demuestran necrosis severa multifocal, y esta muerte masiva de células individuales conducen a la disfunción de los órganos afectados; por lo tanto, a la muerte del hospedero.

Adicionalmente, unido al daño tisular, se han determinado diversos efectos fisiológicos, como diferencias significativas en las actividades de las enzimas antioxidantes en los tejidos afectados; mostrando, además, una disminución significativa en la actividad de las enzimas antioxidantes a través del curso de la infección (Mohankumar & Ramasamy, 2006), y la existencia de alteraciones en el metabolismo de la glucosa (Mathew et al., 2007).

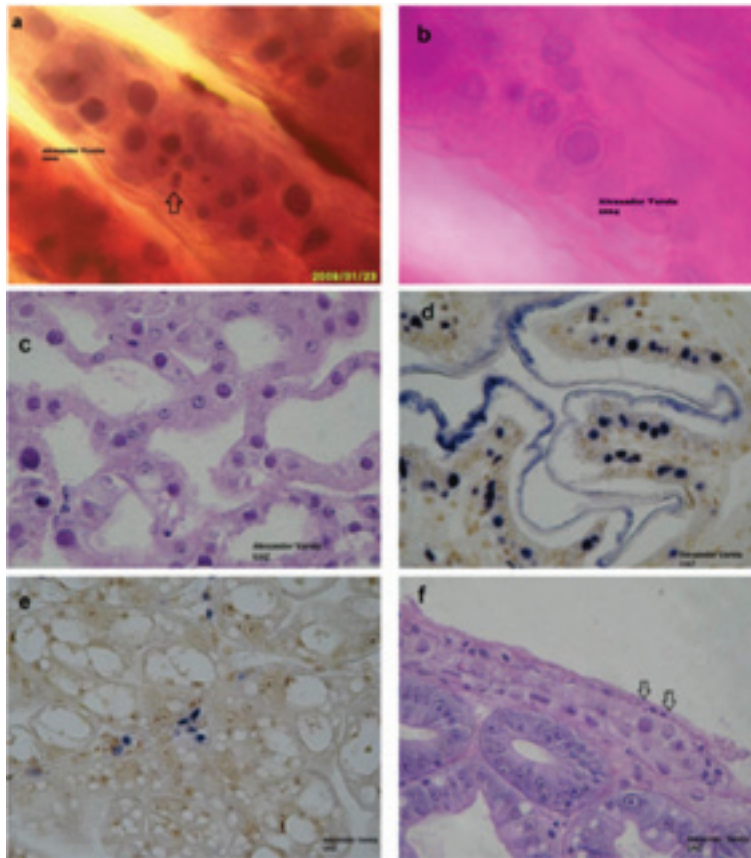


Figura 4. Cortes histológicos de diferentes tejidos afectados por el WSSV. **a.** Lámelas branquiales con cuerpos de inclusión múltiples, se observan células hipertrofiadas y algunos núcleos fragmentados (flecha). **b.** Lámelas branquiales presentando un cuerpo de inclusión centronuclear, se presenta un halo claro entre el cuerpo de inclusión y la membrana nuclear, fácilmente confundible con el virus IHNV. **c.** Glándula antenal en un animal fuertemente infectado, la mayoría de las células presentan cuerpo de inclusión en núcleos hipertrofiados. **d.** Epitelio estomacal, corte sometido a hibridación *in situ* con sondas específicas para el virus. Los núcleos oscuros presentan señal positiva al virus. **e.** Corte de hepatopáncreas, sometido a hibridación *in situ*, este órgano no presenta afinidad por el virus, en casos severos de infección, se observan células positivas en los espacios intertubulares. Las células epiteliales no se afectan. **f.** Cápsula del hepatopáncreas, se observan núcleos hipertrofiados, con sendos cuerpos de inclusión (Fotos A. Varela).

Factores detonantes de los eventos infecciosos

Resulta de gran importancia conocer los factores que influyen en el inicio de los eventos virales. Esto permitiría prever los lapsos de mayor riesgo para los cultivos y desarrollar programas de manejo y bioseguridad diseñados para disminuir los riesgos de infección.

Existe numerosa información para correlacionar el estrés causado por cambios ambientales y enfermedades secundarias y una disminución en la eficacia del sistema inmune (Mathew et al., 2007), facilitando la aparición de infecciones por el WSSV. Entre estos factores se encuentran los cambios bruscos en la salinidad del agua de los estanques

(Lo, 2012), la calidad de la dieta (Rodríguez et al., 2000), descensos de oxígeno disuelto (Bondad et al., 2001).

Se considera de gran relevancia, el estrés causado por el proceso de muda (Maldonado et al., 2004; Rahman et al., 2008). Durante la muda, los cambios bioquímicos y biológicos, así como las modificaciones morfológicas en la epidermis, influyen fuertemente en la aparición de los eventos de WSSV. Los resultados encontrados en estudios de campo y en infecciones experimentales, indican que los camarones que no logran controlar la infección durante la premuda desarrollan una fuerte infección, posiblemente beneficiada por las modificaciones asociadas a la muda, como la disminución de la tasa de ingestión del alimento, momento en que el animal comienza a utilizar sus reservas energéticas, unido a un incremento de la actividad de las células epiteliales, provocando mortalidades en postmuda (Echeverría et al., 2002).

Asimismo, se ha establecido una alta correlación en la aparición de los eventos virales con los descensos de la temperatura, en el agua de los estanques (Lo et al., 2005; Morales & Cuellar-Anjel, 2008; Sánchez, 2010).



Figura 5. Borde de un estanque con camarones muertos a causa de un evento del Virus del Síndrome de las Manchas Blancas (Foto A. Varela).

Alternativas de control

Los problemas virales, tales como el WSSV, que han afectado la producción camaronera y para los cuales no existe la opción de los antibióticos, han planteado una reorientación de los objetivos a corto plazo, incrementando el interés en la inmunomodulación como estrategia preventiva para disminuir los brotes (Rodríguez et al., 2000; Peña et al., 2013).

En la actualidad, la profilaxis y el control de enfermedades virales aplicables a camarones, se limitan prácticamente al manejo adecuado de los cultivos y a la disminución de las fuentes de estrés, dado que otras opciones ensayadas, tales como la inmunoestimulación y quimioterapias, aunque prometedoras, requieren de tiempo e investigaciones adicionales (Barracco et al., 2008; Sánchez, 2010).

Algunas pruebas realizadas indican que es posible desarrollar una protección parcial mediante inmunización con proteínas virales. Pero se desconoce el período de protección de estos métodos y se requiere de investigaciones adicionales (Satoh et al., 2008; Lo, 2012). Se han descrito respuestas inmunes contra este virus, indicadas por la aparición de apoptosis, infiltración de hemocitos y esferoides (Blake, 2004). Asimismo, existen evidencias de que el pigmento respiratorio hemocianina puede tener actividad antimicrobiana, antifúngica y antiviral (Scholnick et al., 2006).

Recientemente, se han realizado interesantes investigaciones basadas en la utilización de iRNA con secuencias complementarias a genes virales (Bustillo et al., 2009; Lo, 2012).

Sin embargo, muchas de estas respuestas no constituyen sistemas efectivos de defensa con memoria inmune sino sistemas de respuesta inespecífica (Jiravanichpaisal et al., 2006). Así, por ejemplo, la formación de esferoides se asocia con un mecanismo de respuesta contra infecciones bacteriales (van de Braak, 2002; van de Braak et al., 2002) y virales (Hasson et al., 1999; Anggraeni & Owens, 2000; Vidal et al., 2001; Duangsuwan et al., 2008; Lightner, 2010a).

Esta formación de esferoides, en infecciones de WSSV reportados por Maldonado (2003), Rodríguez *et al.* (2003) y Blake (2004), no ha sido hasta ahora, observada o reportada en Costa Rica, concordando con las observaciones de D.V. Lightner (comunicación personal).

Cabe mencionar, en forma alentadora, que se ha logrado interesantes avances en mejora genética (Cuellar-Anjel et al., 2011) y el desarrollo de familia resistentes o tolerantes; parece ser una de las opciones de mitigación de los efectos de este virus, al menos, a mediano plazo.

La bioseguridad en las granjas de cultivo continúa siendo de gran relevancia, se debe disponer de todo el material contaminado en forma adecuada, dada la estabilidad de virus. Devivaraprasad et al. (2011), han reportado muestras de camarón infectado que generaron resultados positivos a PCR de un solo paso, aun después de cocción. Estos tejidos fueron utilizados para inocular animales libres del virus, causando la infección post inoculación. En contra de lo reportado para la estabilidad del virus (Lo, 2012).

Impacto en Costa Rica.

La presencia de la enfermedad se confirmó en el 2000, en fincas camaroneras ubicadas en el Golfo de Nicoya, donde provocó mortalidades severas, entre un 60 a 70% de los estanques. La medida implementada en ese momento fue la eliminación de todo el lote de los estanques afectados y la desinfección de los camiones y personal que laboraba en las granjas; así como evitar el movimiento de los animales de una finca a otra. Esta medida no



logró evitar la propagación de la enfermedad. Su presencia, en la actualidad, se considera endémica (SENASA, 2010).

El 13 de agosto del 2008, se publicó el decreto N° 34699-MAG, según el cual la Enfermedad de las Manchas Blancas pasó a ser de declaración obligatoria ante la autoridad competente, el SENASA, y decreta que toda persona está obligada a denunciar cualquier sospecha o diagnóstico de las enfermedades listadas en dicho decreto (La Gaceta N° 156, 2008).

Para Costa Rica, sin embargo, han sido pocos los esfuerzos para establecer programas de monitoreo sanitario por parte de los productores, y en muchas ocasiones no se confirma la presencia del virus o ésta no es reportada a la autoridad competente, lo cual expone a riesgos de ingreso de enfermedades exóticas que pueden pasar desapercibidas.

El método de diagnóstico más utilizado en Costa Rica es el de histología rápida, recurriendo, ocasionalmente, a la confirmación por PCR. Concordando con los reportes, en años recientes, basándose en más de 1400 lecturas de temperatura, se observó una fuerte correlación entre los enfriamientos del agua y los eventos virales; tornando, especialmente, riesgosos los meses fríos, con tendencias aparentes a picos de infecciones en los meses de abril y diciembre. Lo cual requiere de investigaciones futuras.

Según los registros del Laboratorio de Patologías y Parasitología de Crustáceos, la incidencia del virus, para el segundo semestre del 2012, fue de 30 casos diagnosticados y reportados a SENASA; para el primer semestre del 2013, se han diagnosticado 15 casos (datos no publicados), con el consecuente impacto en las producciones.

Recomendaciones finales

Para establecer nuevos cultivos, se debe adquirir post larvas certificadas, mediante análisis de PCR, como libres del patógeno; además, contar con los respectivos certificados zoonosanitarios.

Se debe establecer mecanismos sanitarios que excluyan la fauna silvestre en los estanques; la presencia de otros animales expone los cultivos a portadores potenciales de la enfermedad; actuando, además, como fuentes de estrés, el cual, como se mencionó, puede ser detonante de epidemias.

Debe existir protocolos eficaces de desinfección de vehículos, equipos, insumos y personal que entran en contacto con los estanques y sus poblaciones. Dados los riesgos de contaminación por material contaminado.

Se debe establecer las épocas del año que presentan mayor riesgo para los cultivos, basados en datos históricos e investigaciones, y, siempre que sea posible, evitar estas épocas para no exponer los cultivos a fuentes de estrés que actúen como detonantes del virus.

Las granjas deben contar con programas de monitoreo de rutina y diagnóstico sanitario; así como establecer protocolos, manejo y alerta temprana. Para ello, deben establecerse laboratorios internos de patología, o el envío de muestras a laboratorios externos calificados.

Una vez confirmada la infección, se debe notificar a la autoridad competente; asimismo, se recomienda dar aviso a las granjas cercanas para evitar incurrir en riesgos de contagio. La comunicación es de gran importancia en la prevención de propagaciones mediante vectores bióticos o abióticos.

En caso de tener conocimiento de infecciones confirmadas o sospechosas, en granjas o centros de producción cercanos, se debe tratar de evitar introducir aguas en los estanques, ante el riesgo de presentar altas cargas virales.

Si el camarón tiene un tamaño comercial, ha dejado de alimentarse y empieza a detectarse mortalidad debido a la enfermedad, se recomienda cosechar inmediatamente para minimizar los riesgos sanitarios y financieros (MAG, 2005), caso contrario, se debe considerar su destrucción.

Es necesario mantener la comunicación entre productores y las autoridades oficiales; crear mecanismos de comunicación sobre los nuevos descubrimientos y avances sobre ésta y otras enfermedades y establecer comisiones sanitarias permanentes.

Finalmente, el WSSV tiene más de dos décadas impactando las producciones mundiales, en Costa Rica, se convive con él desde el 2000 y su solución no parece inmediata; es necesario aprender a producir con él, caso contrario, la camaronicultura nacional no logrará superar esta crisis.

Agradecimientos

Al Dr. D.V. Lightner y a la Universidad de Arizona, por facilitar parte del material histopatológico utilizado para ilustrar este artículo.

Referencias

- Alday, V. & T. W. Flegel. 1999. Diagnosis of shrimp diseases: with emphasis on the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). FAO and Multimedia Asia Co. Ltd. (Interactive CD-ROM format).
- Anggraeni, M. S. & L. Owens. 2000. The haemocytic origin of lymphoid organ spheroid cells in the penaeid prawn *Penaeus monodon*. Dis. Aquat. Org. 40: 85-92.
- Barracco, M., A. Perazzolo, R. D. Rosa. 2008. Inmunología del camarón. Pág. 171-224. In: Guía técnica patología e inmunología de camarones penaeidos. Morales, V. y J. Cuéllar-Anjel. Eds. Programa CYTED Red II-D Vannamei, Panamá, Rep. de Panamá.
- Bateman, K. S., J. Munro, B. Uglow, H. J. Small, G. D. Stentiford. 2012a. Susceptibility of juvenile European lobster *Homarus gammarus* to shrimp products infected with high and low doses of white spot syndrome virus. Dis. Aquat. Org. 100: 169-184.
- Bateman, K. S., I. Tew, C. French, R. J. Hicks, P. Martin, J. Munro, G. D. Stentiford. 2012b. Susceptibility to infection and pathogenicity of White Spot Disease (WSD) in non-model crustacean host taxa from temperate regions. J. Invertebr. Pathol. 110: 340-351.



- Bell, T. A. & Lightner, D. V. 1988. *A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA.
- Blake, S. C. 2004. Contribución al estudio de los mecanismos celulares empleados por el camarón *Litopenaeus vannamei* para eliminar el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV). Tesis M. Sc. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar. Guayaquil, Ecuador.
- Bondad, M. G., S. E. McGladdery, I. East, R. P. Subasinghe. 2001. Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. *FAO Fisheries Technical Paper No. 402, Supplement 2*. Rome.
- Bustillo, M. I., C. M. Escobedo, R. R. Sotelo. 2009. Revisión de patogénesis y estrategias moleculares contra el virus del síndrome de la mancha blanca en camarones peneidos. *Rev. Biol. Mar. Oceanog.* 44(1): 1-11.
- Cavalli, L. S., L. F. Marins, S. Netto, P. C. Abreu. 2008. Evaluation of White Spot Syndrome Virus (WSSV) in wild shrimp after a major outbreak in shrimp farms at Laguna, Southern Brazil. *Atlántica Rio Grande.* 30(1): 45-52.
- Chou, H. Y., C.Y. Huang, C. H. Wang, H. C. Chiang, C. F. Lo. 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.* 23: 165-173.
- Cuéllar-Anjel, J., R. Chamorro, B. White, P. Schofield, D. V. Lightner. 2011. Testing finds resistance to WSSV in shrimp from panamanian breeding program. *Global Aquaculture Advocate*. July/August.
- Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, DAFF. 2012. White spot disease. Aquatic Animal Diseases Significant to Australia: Identification Field Guide. 4th ed. Australian Government.
- Devivaraprasad, R., G. Jeyasekaran, R. JeyaShakila. 2011. White Spot Syndrome Virus (WSSV) Transmission risk through infected cooked shrimp products assessed by polymerase chain reaction (PCR) and bio-inoculation studies. *Continent. J. Fish. Aquat. Sci.* 5 (1): 16-23.
- Duangsuwan, P., Y. Tinikul, C. Chotwiwatthanakun, R. Vanichviriyakit, P. Sobhon. 2008. Changes in the histological organization and spheroid formation in lymphoid organ of *Penaeus monodon* infected with yellow head virus. *Fish & Shellfish Immunol.* 25: 560-569.
- Durand, S., D. V. Lightner, R. Redman, J. N. Bonami. 1997. Ultrastructure and morphogenesis of White Spot Syndrome Baculovirus (WSSV). *Dis. Aquat. Org.* 29: 205-211.
- Echeverría-Otero, V., F. Cornejo, J. Rodríguez. 2002. WSSV y ciclo de muda en el camarón blanco *Litopenaeus vannamei*. *Mundo Acuicola* 48 (1): 43-46.
- Esparza, H. M., C. M. Escobedo, R. Casillas, P. Álvarez, G. Portillo, R. C. Valerio, J. Hernandez, J. Mendez, N. Vibanco, F. Magallón. 2009. Detection of White Spot Syndrome Virus in filtered shrimp-farm water fractions and experimental evaluation of its infectivity in

- Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. Aquaculture. 292: 16-22.
- Flegel, T. W. 1997. Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. World J. Microbiol. Biotech. 13 (4): 433-442.
- Flegel, T. W., Lightner, D. V., Lo, C. F. and Owens, L. 2008. Shrimp disease control: past, present and future, pp. 355-378. In Bondad-Reantaso, M.G., Mohan, C.V., Crumlish, M. and Subasinghe, R.P. (eds.). Diseases in Asian Aquaculture VI. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines.
- Gómez, B., A. Roque, A. Guerra. 2001. Enfermedades infecciosas más comunes en la camaronicultura en México y el impacto del uso de antimicrobianos. In: Paez-Osuna F. (ed.). Camaronicultura y medio ambiente. ICMYL-UNAM, México. 448 p.
- Hasson K. W., D. V. Lightner, L. L. Mohney, R. Redman, B. M. White. 1999. Role of lymphoid organ spheroids in chronic Taura syndrome virus (TSV) infections in *Penaeus vannamei*. Dis. Aquat. Org. 38: 93-105.
- Hossain, S., A. Chakraborty, B. Joseph, S. K. Otta, I. Karunasagar. 2001. Detection of new hosts for white spot syndrome virus of shrimp using nested polymerase chain reaction. Aquaculture 198: 1-11.
- Howard, D. W., E. J. Lewis, B. J. Keller, C. S. Smith. 2004. Histological techniques for marine bivalve mollusks and crustaceans. 2nd. ed. NOAA, Technical Memorandum. 234 p.
- Jiravanichpaisal, P., B. L. Lee, K. Söderhäll. 2006. Cell-mediated immunity in arthropods: Hematopoiesis, coagulation, melanization and opsonization. Immunobiology 211: 213-236.
- Kinne, O. 1990. *Diseases of Marine animals, Volume III*. Ecology Institute Nordbiinte, Germany. Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg, Germany.
- Kou G.H., S. E. Peng, Y. L. Chiu, C. F. Lo. 1998. Tissue distribution of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp and crabs. 267-271 p. In Advances in shrimp biotechnology. Flegel T. W. (ed.). National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- La Gaceta (2008). Decreto sobre el Listado de enfermedades animales de declaración obligatoria. Diario Oficial La Gaceta No. 156: 3-5.
- Li, L. J., J. F. Yuan, C. A. Cai, W. G. Gu, Z. L. Shi. 2006. Multiple envelope proteins are involved in white spot syndrome virus (WSSV) infection in crayfish. Arch. Virol. 151:1309-1317.
- Lightner, D. V. 2004. The Penaeid Shrimp Viral Pandemics due to IHHNV, WSSV, TSV and YHV: History in the Americas and Current Status. J. Invertebr. Pathol. 110:174-183.
- Lightner, D. V. 1996. A Handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Louisiana, USA. (Interactive CD-ROM format).
- Lightner, D. V. 2010a. Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): a review. J. Invertebr. Pathol. 106 (1): 110-130.

- Lightner, D. V. 2010b. Shrimp pathology short course. Department of Veterinary Science, University of Arizona, Tucson, Arizona. U.S.A.
- Lightner, D. V., C. Pantoja. 2001. Manual para el Diagnóstico de Enfermedades del Camarón. United States Department of Agriculture-Programa de Reconstrucción Huracán Mitch. USDA/CSREES/USAID/UAZ).
- Lo, C. F., C. H. Ho, C. H. Chen, K. F. Liu, Y. L. Chiu, P. Y. Yeh; S. E. Peng, H. C. Hsu, H. C. Liu, C. F. Chang, M. S. Su, C. H. Wang, G. H. Koul. 1997. Detection and tissue tropism of white spot syndrome baculovirus (WSBV) in captured brooders of *Penaeus monodon* with a special emphasis on reproductive organs. Dis. Aquat. Org. 30: 53-72.
- Lo, C.F; S. E. Peng, Y. S. Chang, G. H. Kou. 2005. White Spot Syndrome-What we have learned about the virus and the disease. p. 421-433. In: Diseases in Asian Aquaculture V. P. Walker, R. Lester and M. G. Bondad-Reantaso (eds). Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila.
- Lo, C. F. 2012. Enfermedad de las Manchas Blancas. Pp. 1-15. In: Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), Paris, Francia.
- Lo C.F., T. Aoki, J. R. Bonami, T. W. Flegel, J. H. Leu, D. V. Lightner, G. Stentiford, K. Söderhäll, P. W. Walker, H. C. Wang, X. Xun, F. Yang & J. M. Vlcek. 2012. *Nimaviridae*. Pp. 229-234. In: Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, King A. M. Q., M. J. Adams, E. B. Carstens, & E. J. Lefkowitz (eds.). Elsevier Academic Press, San Diego, CA. USA.
- Lotz, J. M., A. Soto. 2002. Model of white spot syndrome virus (WSSV) epidemics in *Litopenaeus vannamei*. Dis. Aquat. Org. 50: 199-209.
- Maldonado, M. 2003. Respuesta inmunitaria en familias de *Litopenaeus vannamei*, bajo condiciones de infección con WSSV y el efecto de la adición de -1,3 glucanos. Tesis M. Sc. Escuela Superior Politécnica del Litoral, Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar, Guayaquil, Ecuador. p.106.
- Maldonado, M., J. Rodríguez, I. de Blas. 2004. El camarón de cultivo frente al WSSV, su principal patógeno. Rev. AquaTIC. 21: 78-91.
- Mathew, S., A. K. Kesavan Nair, R. Anandan, P. G. Viswanathan, K. Devadasan. 2007. Biochemical studies on changes associated with enzymes of glucose metabolism in white spot syndrome virus (WSSV) infected with *Penaeus monodon* (Fabricius). Afr. J. Biotechnol. 6(16): 1944-1948.
- MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2005. Dirección de Salud Animal, Depto. de Servicios Zoonosarios Nacionales. Programa Nacional de Salud Acuícola, Manual de Buenas Prácticas Pecuarias en Acuicultura. San José, Costa Rica.
- Mijangos, Z., N. Quintero, R. Castro, J. M. Grijalva, J. Ramos. 2006. White spot syndrome virus (WSSV) in *Litopenaeus vannamei* captured from the Gulf of California near an area of

- extensive aquaculture activity. *Dis. Aquat. Org.* 71: 87–90.
- Mohankumar, K., P. Ramasamy. 2006. White spot syndrome virus infection decreases the activity of antioxidant enzymes in *Fenneropenaeus indicus*. *Virus Res.* 115: 69–75.
- Morales-Covarrubias, M. S. 2010. Enfermedades del camarón: detección mediante análisis en fresco e histopatología. Editorial Trillas. México, D.F. 130 p.
- Morales-Covarrubias, M. S., M. C. Chávez. 1999. Manual para la detección de enfermedades de camarones peneidos utilizando análisis en fresco. Centro de Investigaciones en Alimentación y Desarrollo. México. 68 p.
- Morales, V., J. Cuéllar-Anjel. 2008. Guía técnica-patología e inmunología de camarones penaeidos. Programa CYTED. Red II-D Vannamei, Panamá, Rep. de Panamá. 274 p.
- MPEDA/NACA. 2003. Shrimp Health Management Extension Manual. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific and Marine Products Export Development Authority, India, in cooperation with the Aquatic Animal Health Research Institute, Bangkok, Thailand; Siam Natural Resources Ltd., and Australian Vet. Animal Health Services, Australia. Published by the MPEDA, Cochin, India.
- Oidtmann, B. & Stentiford G. D. 2011. Review: White Spot Syndrome Virus (WSSV) Concentrations in Crustacean Tissues—A Review of Data Relevant to Assess the Risk Associated with Commodity Trade. *Transbound. Emerg. Dis.* 58(6):469-482.
- Otta, S. K., G. Shubha, B. Joseph, A. Chakraborty, I. Karunasagar, I. Karunasagar. 1999. Polymerase chain reaction (PCR) detection of white spot syndrome virus (WSSV) in cultured and wild crustaceans in India. *Dis. Aquat. Org.* 38: 67-70.
- Pantoja C.R., S. A. Navarro, J. Naranjo, D. V. Lightner, C. P. Gerba 2004. Nonsusceptibility of primate cells to Taura syndrome virus. *Emerg. Infect. Dis.* 10 (12): 2106-2112.
- Peña, N., R. Vargas, A. Varela 2013. Productos naturales como estimuladores del sistema inmunológico de *Litopenaeus vannamei*, infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Rev. Agron. Mesoam.* 24 (1):133-147.
- Rahman, M. M., M. Corteel, C. M. Escobedo-Bonilla, M. Wille, V. Alday-Sanz, M. B. Pensaert, P. Sorgeloos, H. J. Nauwynck. 2007. Virulence of white spot syndrome virus (WSSV) isolates may be determined by the degree of replication in gills of *Penaeus vannamei* juveniles. *Dis. Aquat. Org.* 79: 191–198.
- Rodríguez, J., R. Cedeño, C. Molina, V. Otero, E. Valenzuela, M. A. Sotomayor. 2000. Efecto de la calidad de la dieta sobre la respuesta inmune del camarón *Penaeus vannamei*. In: Cruz-Suárez, L. E., D. Ricque-Marie, M. Tapia-Salazar, M. A. Olvera-Novoa, y R. Civera-Cerecedo (Eds.). *Avances en Nutrición Acuícola V. Memorias del V Simposium Internacional de Nutrición Acuícola*. Mexico.
- Rodríguez, M., M. Linné, D. Gerzon, Y. Monroy, J. Mata. 2001. Manual de enfermedades de camarones peneidos en México. Boletín programa nacional de sanidad acuícola y la

red de diagnóstico. Conapesca. 2:14.

- Rodríguez, J., B. Bayot, Y. Amano, F. Panchana, I. de Blas, V. Alday, J. Calderón 2003. White spot syndrome virus infection in cultured *Penaeus vannamei* (Boone) in Ecuador with emphasis on histopathology and ultrastructure. J. Fish Dis. 26: 439-450.
- Sánchez, A. 2010. White spot syndrome virus: an overview on an emergent concern Review article Vet. Res. 41:43.
- Sangamaheswaran, A. P.; M.J.P. Jeyaseelan. 2001. White Spot Viral disease in penaeid shrimp: a review. Naga the ICLARM Quarterly. 24 (3-4): 16-22.
- Satoh, J., T. Nishizawa, M. Yoshimizu. 2008. Protection against white spot syndrome virus (WSSV) infection in kuruma shrimp orally vaccinated with WSSV rVP26 and rVP28. Dis. Aquat. Org. 82: 89-96.
- Scholnick, D. A., K. G. Burnett, L. E. Burnett. 2006. Impact of Exposure to Bacteria on Metabolism in the Penaeid Shrimp *Litopenaeus vannamei* Biol. Bull. 211: 44-49.
- SENASA. 2010. Protocolo de Vigilancia Epidemiológica para La Enfermedad de las Manchas Blancas. Programa nacional sanidad acuicola. Recuperado en internet de: www.senasa.go.cr/senasa/sitio/files/141211080925.doc
- Soto, M, A., V. R. Shervette, J. M. Lotz. 2001. Transmission of white spot syndrome virus (WSSV) to *Litopenaeus vannamei* from infected cephalothorax, abdomen, or whole shrimp cadaver. Dis. Aquat. Org. 45: 81-87.
- Unzueta, M, L., R. Silveira, A. Prieto, G. Aguirre, R. Vázquez. 2004. Susceptibilidad de *Litopenaeus schmitti* y *Cherax quadricarinatus* al virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV). Cienc. Marinas. 30(4): 537-545.
- Vago, C. 1966. A virus disease in crustacea (*Portunus depurator* L.). Nature 209: 1290.
- Van de Braak, K. 2002. Haemocytic defence in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). Ph.D. Thesis, Wageningen University. Wageningen Institute of Animal Sciences, The Netherlands. 159 p.
- Van de Braak, C. B., M. H. Botterblom, N. Taverne, W. B. van Muiswinkel, J. H. Rombout, W. P. van der Knaap. 2002. The roles of haemocytes and the lymphoid organ in the clearance of injected *Vibrio* bacteria in *Penaeus monodon* shrimp. Fish Shellfish Immunol. 13(4):293-309.
- Varela, A. 2007. Manual para la interpretación de resultados de laboratorio. Alicorp, Publicis-Asociados, Perú. 24 p.
- Vidal, O., C. Granja, F. Aranguren, J. A. Brock, M. Salazar. 2001. A profound effect of hyperthermia on survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles infected with White Spot Syndrome Virus. J. World Aquac. Soc. 32(4):364-372.

- Wang, Y. G., M. D. Hassan, M. Shariff, S. M. Zamri, X. Chen. 1999. Histopathology and cytopathology of white spot syndrome virus (WSSV) in cultured *Penaeus monodon* from peninsular Malaysia with emphasis on pathogenesis and the mechanism of white spot formation. *Dis. Aquat. Org.* 39:1–11.
- Wang, Y. G., K. L. Lee, M. Najiah, M. Shariff, M. D. Hassa. 2000. New bacterial white spot syndrome (BWSS) in cultured tiger shrimp *Penaeus monodon* and its comparison with white spot syndrome (WSS) caused by virus. *Dis. Aquat. Org.* 41: 9–18.
- Zwart, M. P., B. T. Minh, L. Hemerik, J. M. Viak. 2010. Evolutionary Trajectory of White Spot Syndrome Virus (WSSV) Genome Shrinkage during Spread in Asia. *Plos One.* 5 (10): 1-11.

