

DETECCIÓN DEL SÍNDROME DEL VIRUS DEL TAURA (TSV) EN *LITOPENAEUS VANNAMEI* (BOONE) DEL OCCIDENTE DE VENEZUELA.

Detection of Taura Syndrome Virus in *Litopenaeus vannamei* (Boone) from Western of Venezuela.

Nieves Aguado García¹, Mélida Boada² y Marco De Donato³

¹ Laboratorio de Patobiología Acuática. Instituto Oceanográfico de Venezuela. Universidad de Oriente, Cumana, estado Sucre, Venezuela. Tlf: 0416-293 0164. E-mail: nievesaguado@yahoo.com. ² Laboratorio de Patología de Organismos Acuáticos. INIA.

³ Laboratorio de Genética Molecular, IIBCAUDO. Cumaná, estado Sucre, Venezuela.

RESUMEN

El virus del Taura afecta a los cultivos de camarones peneidos ocasionando elevadas mortalidades reflejándose en la caída de la producción y elevando considerablemente los costos operacionales. En este trabajo, se describen los signos clínicos de la infección por el virus del síndrome de Taura (TSV) en granjas de cultivo comercial de *Litopenaeus vannamei* ubicadas en el occidente de Venezuela. Las muestras fueron tomadas de granjas afectadas y correspondieron a animales con signos clínicos muy conspicuos y de aquellos que habían superado la enfermedad. El TSV afectó a camarones juveniles, subadultos y adultos. Las granjas ubicadas en la costa del lago de Maracaibo fueron las más afectadas. Los casos agudos y crónicos mostraron esferoides típicos en el órgano linfoidal. Los análisis por transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT - PCR) confirmaron que los signos clínicos mostrados por los camarones afectados fueron debido a la infección con el virus del síndrome del Taura.

Palabras clave: *Litopenaeus vannamei*, virus del síndrome del Taura, RT-PCR, histopatología, Lago de Maracaibo.

ABSTRACT

Taura syndrome virus considerably affects the cultures of penaeid shrimp causing elevated mortalities, reflected on the decrease of the production and the increase of the operational costs. This work describes the clinical signs of an infection with

Taura Syndrome Virus on cultivated *Litopenaeus vannamei* in farms located in Western Venezuela. Shrimp samples with very conspicuous clinical signs and those that had overcome the illness were taken from affected farms. The effects of TSV were observed in juvenile, subadults and adult shrimp. The farms located off the coast of Maracaibo Lake were the most affected. The acute and chronic cases showed typical spheroids in the lymphoid organ. The RT-PCR analysis confirmed that the clinical signs shown by the affected shrimp were due to infection by the Taura virus.

Key words: *Litopenaeus vannamei*, Taura Syndrome Virus, RT-PCR, histopathology, Maracaibo Lake.

INTRODUCCIÓN

El síndrome del Taura (TS) surgió en América del Sur y afecta a la principal especie de cultivo comercial de la región, *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931), constituyendo una epizootia severa en los países que ha alcanzado [7, 12, 17]. Desde su reconocimiento en 1992, proveniente de camarones infectados de granjas camaroneras ubicadas cerca de la desembocadura del río Taura, Ecuador [2, 13], su propagación entre los cultivos comerciales de ambos hemisferios [3, 7, 12] y a otros continentes, ha sido rápida [20, 26, 28].

A pesar de la cercanía con el país de origen, hasta el 2003, Venezuela figuraba como país libre del TSV, siendo detectados en octubre 2004, los primeros casos. La Organización Internacional de Epizootias (OIE) para marzo 2005 informó de ocho granjas infectadas por TSV en el estado Falcón, 14 en el estado Zulia y cuatro en el estado Nueva Esparta, con mortalidades cercanas al 90% [22]. El agente etiológico del TSV es un

virus con una sola cadena de ARN, perteneciente a la familia Dicistroviridae, género *Cripavirus* [6]. La especie más susceptible a TSV es *Litopenaeus vannamei*, en la cual ocasiona mortalidades que alcanzan el 90% [3, 12]. Infecciones menos severas se generan en *L. schmitti* y *L. setiferus*, mientras que las especies: *Farfantepenaeus aztecus*, *F. duorarum* y *L. stylirostris*, muestran mayor resistencia, sin embargo, actúan como portadores del virus [17, 23]. El virus del síndrome del Taura (TSV) invade y se replica en el citoplasma de las células epiteliales de la epidermis del exoesqueleto y epidermis cuticular de branquias, intestino anterior (esófago y estómago) y del intestino posterior. El TSV llega a infectar a la glándula de la antena, órgano hematopoyético, hepatopáncreas, epitelio intestinal, especialmente de las cecas anterior y posterior [8, 14, 16]. Las partículas virales del TSV pueden sobrevivir fuera de la célula hospedera conservando su patogenicidad a temperaturas entre 0° a 120°C [2] y en el agua contaminada puede permanecer activo hasta 14 días [23]. El principal mecanismo de infección es horizontal al comer el camarón sano restos de animales infectados o alimento contaminado [7, 8, 13]. Estas partículas infectivas también pueden proceder de las heces de aves e insectos alimentados con animales infectados [14, 16, 17] o liberadas de células de animales infectados muertos [14, 16, 24]. El mecanismo de infección vertical aún no está comprobado, aunque existen evidencias que hacen sospechar su existencia [14, 17, 23]. El TSV ataca a post-larvas (PI), juveniles y adultos de *L. vannamei* siendo las fases larvarias más afectadas PI 11 a PI 12 y los juveniles en fase de engorde de la producción en el camarón blanco [16, 17] lo que generalmente ocurre entre los 14 a 40 días post siembra, generándose elevadas mortalidades [2, 3, 17]. Otras especies de crustáceos también han sido encontradas como sincerely usceptibles al TSV: *Metapenaeus monocerros*, *Macrobrachium equideus*, *M. lanchesteri*, *Chloridopsis immaculatus*, *Sesarma* spp., *Scylla serrata*, *Acetes* spp. Por su parte en *M. rosenbergii*, las infecciones no registran mortalidad, sin embargo el virus permanece activo 10 días después que el camarón ha superado la enfermedad [26].

Este trabajo presenta los principales aspectos clínicos observados en camarones de piscinas de engorde comercial ubicadas en la región occidental de Venezuela abarcando los estados Falcón y Zulia y los resultados de los análisis histopatológicos y por transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) realizados en camarones con y sin signos clínicos de estar infectados con TSV.

MATERIALES Y MÉTODOS

Toma de muestras

Fueron realizadas observaciones de campo durante una epizootia y se capturaron 132 animales en piscinas de engorde consideradas afectadas en la región de Paraguaná (estado Falcón) y de una región ubicada en la margen sur occidental del lago de Maracaibo (estado Zulia).

La captura de los animales se efectuó empleando las atarrayas propias de la faena diaria de cada camaronera visitada. Fueron capturados animales aparentemente sanos y ejemplares que mostraban signos de estar afectados por el TSV y animales de piscinas de granjas que habían superado la enfermedad (sin signos clínicos manifiestos).

Todos los camarones utilizados en este estudio estuvieron vivos y se les midió la longitud total (Lt) en mm utilizando un pie de rey digital marca MAX CAL (Japón) y el peso en gramos (g) utilizando una balanza electrónica digital portátil marca Ohaus, modelo Scout II. Seguidamente fueron anestesiados colocándolos en agua fría a 7°C aprox. por 30 min. Para ser fijados para análisis histológico se utilizó el líquido de Davidson y para el análisis de transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) se fijaron en etanol 95°.

Se realizaron entrevistas con los encargados de las piscinas de engorde de cada granja visitada, quienes proporcionaron los valores sobrevivencia, de temperatura y de salinidad registrados tres veces al día durante el desarrollo de la epizootia.

Análisis histológico

Se emplearon 10 animales con signos clínicos y 16 sin ellos, para los análisis histológicos. A los animales se les inyectó el líquido de Davidson en el cefalotórax y abdomen [1], y fueron mantenidos en el fijador por 24 horas y luego se los colocó en alcohol etílico al 70%. Para el procedimiento histológico, los animales fueron divididos en dos secciones longitudinales y éstas en tres secciones transversales: cefalotórax, luego los tres primeros segmentos abdominales y los dos últimos segmentos abdominales. Estas secciones fueron deshidratadas en series continuas ascendentes de etanol por una hora en cada concentración. Para la clarificación se empleó xilol y la impregnación en parafina [™]Paraplast. Los cortes fueron de 6 µm de espesor y teñidos con hematoxilina-eosina [14].

Diagnóstico molecular

El ARN total de los camarones fue extraído de muestras de las lesiones epidérmicas de 18 camarones afectados, o a partir de pleópodos de 42 camarones asintomáticos, utilizando el kit de extracción de ARN RNagents (Promega, Madison, Wisconsin, EUA) y siguiendo las indicaciones del fabricante: aproximadamente 50 mg de tejido de cada muestra fueron colocados en un tubo cónico de microcentrifuga de 1,5 mL libre de ARNasas y ADNasas y se le agregó 600 µL de solución desnaturante enfriada, homogeneizando el tejido con pistilos de plástico desechables hasta deshacer completamente el tejido. Seguidamente se agregó 60 µL de acetato de sodio 2M (pH 4,0), mezclando por inversión varias veces y agregando 600 µL de fenol: cloroformo: alcohol isoamílico (25:24:1). La muestra se agitó vigorosamente por 10 segundos en un vortex y se incubó a -20°C por 15 min. Las muestras fueron centrifugadas a 20.000 g por 20 min a 4°C. La fase acuosa superior, que contenía el ARN aislado, fue transferida a un tubo limpio

al que se le había agregado 600 µL de isopropanol, incubándose a -20°C por 10 min. Las muestras se centrifugaron a 20.000 g por 10 min a 4°C, eliminándose luego el isopropanol y agregando 500 µL de etanol al 70%. Las muestras se centrifugaron nuevamente a 20.000 g por 5 min a 4°C, descartándose el etanol y poniéndose a secar en un ambiente estéril. El ARN se rehidrató con 20 µL de buffer TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0) libre de ARNasas.

Para el diagnóstico molecular del Virus del Síndrome del Taura (TSV) en las muestras de ARN extraído se utilizó la transcripción reversa de la reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) por medio de los oligonucleótidos desarrollados como parte del ShrimPCaRe RNA primer kit (Diagxotics, Lawrenceville, New Jersey, EUA) y el kit de RT-PCR Access RT-PCR System (Promega, Madison, Wisconsin, EUA). Para la amplificación se utilizó un volumen final de 50 µL corridos en un termociclador TC-512 (Techne, Ramsey, Minnesota, EUA). A cada tubo de 200 µL se le agregó 2 µL de ARN de muestra, 10 µL de Buffer de AMV/*Tfl* 5X 0,2 mmol/L de cada nucleótido trifosfato (dNTP), 0,5 µmol/L de cada cebador, 1,0 mmol/L de Sulfato de Magnesio (MgSO₄), 5 U de Transcriptasa reversa de AMV y 5 U ADN polimerasa *Tfl*. Además de las muestras a analizar, se utilizaron dos controles negativos: uno sin ARN y otro con ARN de camarones certificados por ser libres de patógenos (SPF) y un control positivo, ARN de TSV, estos últimos provistos con el kit de Diagxotics.

El programa de amplificación utilizado constó de 1 ciclo a 45°C por 45 min para la síntesis de la primera hebra del ADNc 1 ciclo a 95°C por 2 min, para la desnaturalización inicial; 40 ciclos con un paso a 94°C por 30 segundos para la desnaturalización; otro a 55°C por 1 min para la hibridación de los cebadores; y un último a 72°C por 1 min para la extensión de los fragmentos. Se realizó una extensión final a 72°C por 10 min para asegurarse de producir fragmentos completos. Los productos de amplificación fueron corridos por electroforesis en gel de agarosa al 2% con bromuro de etidio (0,5 µg/mL), observándose en un transluminador LUV. Para la corrida se utilizó un marcador molecular de 100 pb (Promega Corp., Madison, Wisconsin, EUA) y el gel se corrió en buffer TBE 1X con 120 V por 45 min.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los animales afectados presentaron Lt entre 65 a 110 mm y peso de 1,85 g a 9,80 g. Los sub-adultos presentaron Lt de 127 a 133 mm y peso entre 17,05 y 21,2 g.

Signos clínicos

Los principales signos clínicos registrados, a nivel de piscina, fueron el incremento de la tasa de mortalidad y anorexia. Estos signos han sido igualmente reconocidos en brotes de TSV en otros países [7, 14, 20]. Se observó la presencia de numerosas gaviotas y otras aves en las orillas de las piscinas.

El incremento de la mortalidad es el primer signo clínico observado a nivel de campo de casi todas las enfermedades de etiología viral, unido a la anorexia [14]. Entre los vectores pasivos propagadores de la enfermedad, las aves juegan un papel muy importante. Al sobrevolar los estanques de producción dispersan sus heces contaminadas con partículas virales activas diseminando la enfermedad en vastas áreas de la región. Han sido encontradas partículas virales activas en las heces de Guanaguana (*Larus atricilla*) [4]. Esta especie de ave conjuntamente con Tin Güin (*Caladris pusilla*), el playerito (*C. mauri*) y otras aves, frecuentan las piscinas de engorde de la región. También fue registrada la presencia del insecto de agua *Trichocorixa* spp., en los estanques afectados. Este insecto, común en aguas estuarinas de América [15], al igual que las aves, cumpliría el papel de propagador de la enfermedad a través de sus heces o al alimentarse, los camarones sanos, de sus restos intestinales. Estudios experimentales han demostrado que *Trichocorixa* spp. no se infecta con TSV, en cambio, en el contenido intestinal se han encontrado partículas virales activas [13, 15].

Los animales observados con signos de TSV en fase aguda y de transición presentaron en promedio 70 ± 5 mm de Lt y 3,2 ± 0,6 g y fueron capturados en las piscinas de engorde (FIGS. 1 y 2). Los ejemplares de ambos sexos con signos de estar en la fase crónica de la enfermedad presentaron 95 ± 5 mm de Lt y 7, 0 ± 3,5 g de peso. Y otro grupo de sub-adultos también con signos de transición y crónicos, que habían aparentemente superado la infección tuvieron 127 ± 6 mm y peso 15, 3 ± 1,2 g de peso (FIG. 2).

Los camarones afectados con signos conspicuos, presentaban una coloración roja intensa en telson, urópodos y pleópodos, en las márgenes del caparazón y el cuerpo algo blando semejantes a animales en etapa de post muda temprana, caracterizada porque la cutícula es resbaladiza y de consistencia membranosa muy suave [5], además presentaron una o dos áreas necrotizadas en el exoesqueleto del abdomen (FIG. 1). Debido a la colocación roja intensa del telson y urópodos, el TSV es también llamado "enfermedad de la cola roja" [16]. Los signos clínicos como cromatóforos distendidos y enrojecimiento del telson, urópodos y pleópodos y áreas necrotizadas del exoesqueleto, caracterizan al TSV.

En esta fase fueron registradas las mortalidades más altas. Estas características corresponden a la fase aguda de la enfermedad [8]. Los camarones en fase de transición, además de presentar las mismas características de la fase aguda, mostraron mayor número de áreas de exoesqueleto necrosadas de color negro en el cefalotórax y abdomen y habían superado los días de mayor mortalidad. Las lesiones necróticas del exoesqueleto difieren ligeramente de las ocasionadas por la vibriosis, en que presentan los bordes muy irregulares mientras que las de vibriosis tienen los bordes redondeados.

El TSV, aunque afecta a todos los grupos etarios por igual, ocasiona mayores mortalidades en PI 11 a PI 12 y en



FIGURA 1. JUVENILES MORIBUNDOS DE *L. VANNAMEI* CON TSV EN FASE AGUDA MOSTRANDO EL TELSON Y URÓPODOS DE COLOR ROJO INTENSO Y CON LESIONES NECRÓTICAS. BARRA 10 MM / MORIBUND JUVENILES OF *L. VANNAMEI* IN ACUTE PHASE OF TSV SHOWING INTENSE RED COLOR IN TELSON AND UROPODS AND WITH NECROTIC LESIONS. BAR 10 MM.

ejemplares en engorde de 1 g a 5 g [13, 16, 17]. Los ejemplares pre-adultos y adultos son atacados con menor frecuencia. [8, 13]. Sin embargo fueron encontrados animales pre-adultos y adultos con muchas áreas necrotizadas en fase de transición que indicaría que estos grupos son susceptibles de infectarse [19] o que la infección la adquirieron en condición de juveniles, superando la fase aguda del TSV en donde ocurre mayor mortalidad [7, 8] debido a que abarca la muda o ecdisis del camarón. Los animales recuperados o sobrevivientes no mostraron ningún signo clínico ni morfológico, incluso presentaron peso y tamaño esperados. Sin embargo constituyen portadores asintomáticos [3, 4, 24].

Animales en la fase de transición mostraron múltiples lesiones necróticas del exoesqueleto del cefalotórax y abdomen. El telson, urópodos y pleópodos color rojo más intenso. Estas características fueron observadas en juveniles y sub-adultos (FIG. 2). Las manchas necróticas del exoesqueleto tienden a ser confundidas con las manchas propias de la “enfermedad del caparazón” ocasionadas por bacterias generalmente del género *Vibrio*. La vibriosis o “síndrome de la gaviota” también atrae a las aves [14], debido a esto, los camareros de la región, pensaron, en un primer momento, que las mortalidades registradas eran debidas a una infección bacteriana.

Los animales en fase crónica, no presentaron lesiones externas.

Examen histológico

Los animales en fase aguda de la enfermedad mostraron lesiones o áreas con desorganización y necrosis del epitelio que constituye la epidermis del exoesqueleto. Algunos casos mostraron áreas necrotizadas más conspicuas en la capa epitelial de la cutícula del esófago y estómago. Los animales



FIGURA 2. *L. VANNAMEI* CON TSV EN FASE DE TRANSICIÓN MOSTRANDO COLORACIÓN ROJO INTENSO EN COLA Y CUERPO Y LESIONES NECRÓTICAS EN CEFALOTÓRAX Y ABDOMEN. BARRA 10 MM/ JUVENILES OF *L. VANNAMEI* IN TRANSITION PHASE OF TSV SHOWING INTENSE RED COLORATION IN TAIL AND BODY AND NECROTIC LESIONS IN CEPHALOTHORAX AND ABDOMEN. BAR. 10 MM.

en la fase de transición mostraron lesiones necróticas características de TSV en el epitelio del exoesqueleto y en la del esófago y estómago. Las capas estructurales del exoesqueleto mostraron desorganización (FIG. 3). Las lesiones de la epidermis mostraron discontinuidad y focos de algunas células con núcleos picnóticos y otras cariorrécticos (FIG. 4). Las capas de la endocutícula, exocutícula y epicutícula discontinuas con prominentes depósitos de melanina. Estas lesiones del exoesqueleto con compromiso de las cuatro capas del mismo son registradas en todos los casos de TSV informados y reconocidas en animales infectados por TSV en fase aguda y de transición [8, 9]. Por otro lado, en el órgano linfoide, el número de esferoides (Lymphoid Organ Spheroids = LOS), fue de 3 a 6 en distintos grados de desarrollo. Los casos agudos mostraron prominentes lesiones necróticas en la cutícula y LOS poco conspicuos. En la mayoría de los camarones sobrevivientes, los esferoides fueron tipo B y muy escasos y poco conspicuos LOS tipo C. En camarones analizados cuatro meses después del brote, los esferoides tipo B estuvieron ausentes, localizándose LOS tipo C caracterizados por su tamaño relativamente más pequeño, en cuyo centro puede observarse depósitos de melanina. LOS tipo A son observados en casos de infecciones agudas, estos esferoides aunque no presentan coloración diferente su configuración característica denuncia su formación en el estroma del órgano linfoide [9]. Los LOS tipo B característicos de casos crónicos de la enfermedad fueron muy conspicuos por su configuración y coloración marcadamente diferente (FIG. 5). Los LOS tipo C, son acúmulos de células apoptóticas correspondientes a hemocitos cuya destrucción conlleva la destrucción del virus. Esto se debe a que los LOS presentes en el estroma del órgano linfoide surgen debido a que los cordones linfoides capturan y van acumulando partículas virales y hemocitos en acción fagocítica [9].

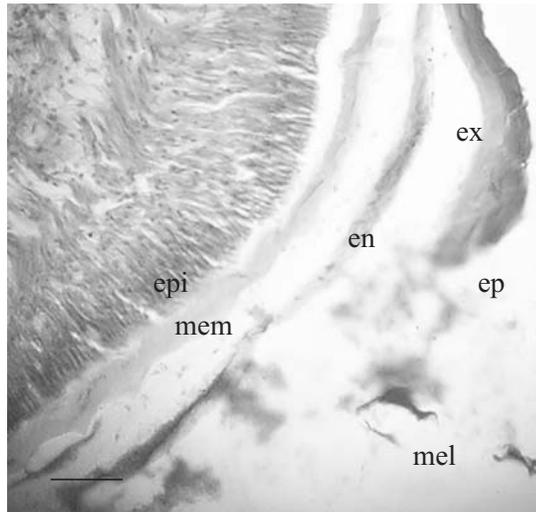


FIGURA 3. CORTE HISTOLÓGICO MOSTRANDO UNA LESIÓN NECRÓTICA TÍPICA DE TSV EN EL EXOSQUELETO DE *L. VANNAMEI*: EPICUTÍCULA (EP), EXOCUTÍCULA (EX) ENDOCUTÍCULA (EN). LA CAPA MEMBRANOSA (MEM) NO CALCIFICADA CONTINUA REVELA UNA LIGERA INFLAMACIÓN EN LA EPIDERMIS (EPI). DEPÓSITOS DE MELANINA (MEL). BARRA 60 μ M/ A HISTOLOGICAL SECTION SHOWING TYPICAL NECROTIC LESION OF TSV IN EXOSKELETON OF *L. VANNAMEI*: EPICUTICLE (EP), EXOCUTICLE AND ENDOCUTICLE (EN). THE CONTINUOUS MEMBRANOUS LAYER (MEM) NOT CALCIFIED REVEALS A LIGHT INFLAMMATION PROCESS IN EPIDERMIS (EPI). MELANIN FOCI (MEL). BAR 50 μ M.



FIGURA 4. FOTO DE UNA LESIÓN CARACTERÍSTICA DE TSV EN *L. VANNAMEI*, EL EXOSQUELETO (EXQ) Y EL TEJIDO EPITELIAL DEL TEGUMENTO (EPI TEG), MUESTRAN DESORGANIZACIÓN. BARRA 60 μ M/ PHOTO OF LESION TYPICAL OF TSV, IN JUVENILE OF *L. VANNAMEI* THE EXOSKELETON (EXQ) AND EPITELIAL TISSUE OF TEGUMENT SHOW DISORGANIZATION (EPI TEG). BAR. 50 μ M.

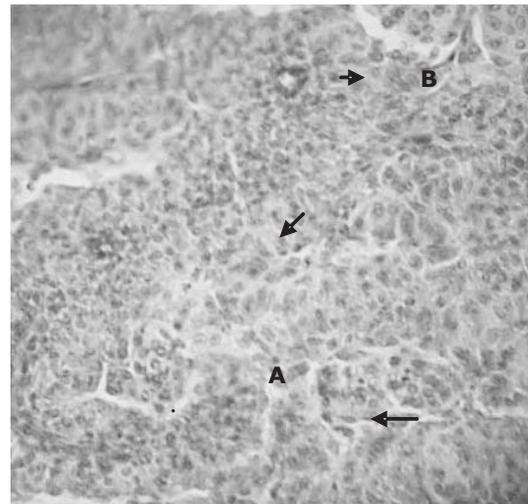


FIGURA 5. FOTO DEL ÓRGANO LINFOIDE DE *L. VANNAMEI* MOSTRANDO LYMPHOD ORGAN SPHEROIDS (LOS) A Y B (FLECHA) TÍPICOS DE TSV. SE OBSERVÓ QUE LOS TÚBULOS CARECEN DE LUMEN. BARRA 60 μ M/ PHOTO OF LYMPHOID ORGAN OF *L. VANNAMEI* SHOWING LOS A AND B (ARROW) TYPICAL OF TSV. THE TUBULES WERE OBSERVED WITHOUT LUMEN LACKS LUMEN. BAR. 60 μ M.

Diagnóstico molecular

El ARN extraído de las muestras resultó de buena calidad y con una cantidad de al menos 300 ng, según lo reveló la cuantificación relativa comparando el ARN con patrones de concentración conocida, luego de corridos en el gel de agarosa al 2%. La técnica de RT-PCR permitió la detección del virus del síndrome del Taura en todas las muestras de los camarones analizados (FIG. 6), que se encontraban tanto en fase aguda como en la fase crónica, observándose en todos el amplificado esperado de 230 pares de bases correspondiente al virus del Taura. Los controles positivos y negativos funcionaron a la perfección. De esta forma la técnica de RT-PCR confirmó el resultado de los análisis por histopatología.

La detección de patógenos por técnicas moleculares en camarones es empleada con mucha eficacia en las enfermedades más importantes para las especies de camarón, tal como el TSV y el virus de la mancha blanca (white spot syndrome virus, WSSV) [11, 18, 21]. La PCR y RT-PCR han demostrado tener una alta sensibilidad y especificidad como técnicas diagnósticas, por lo que se han propuesto como las técnicas de referencia según la Organización Internacional de Epizootias (OIE) [23]. En este estudio se demostró su utilidad y eficacia para la detección del virus del síndrome del Taura.

Factores abióticos

Durante el desarrollo del brote del TSV, en toda la región la temperatura fue de $27 \pm 3,2^{\circ}\text{C}$. En Paraguaná, la salinidad estuvo $35\text{‰} \pm 3$ y en el lago de Maracaibo varió de 3‰ hasta

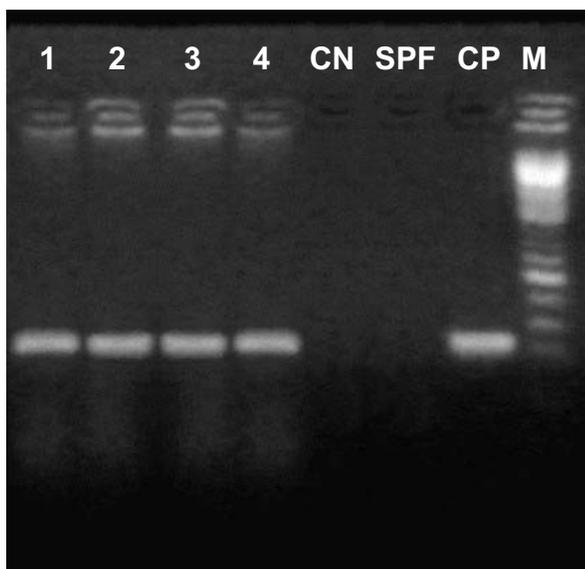


FIGURA 6. GEL DE AGAROSE MOSTRANDO LOS FRAGMENTOS AMPLIFICADOS DEL TSV PROVENIENTE DE *L. VANNAMEI*. LÍNEAS 1 A 4 REPRESENTAN MUESTRAS ANALIZADAS, CN: CONTROL NEGATIVO (SIN ARN), SPF: ARN DE CAMARÓN NO INFECTADO, CP: CONTROL POSITIVO (ARN DEL VIRUS) Y M: MARCADOR DE PESO MOLECULAR DE 100 PB/ AGAROSE GEL SHOWING AMPLIFIED FRAGMENTS OF THE TSV FROM *L. VANNAMEI*. LINES 1 TO 4 REPRESENT ANALYZED SAMPLES, CN: NEGATIVE CONTROL (WITHOUT RNA), SPF: RNA OF NOT INFECTED SHRIMP, CP: POSITIVE CONTROL (RNA OF THE VIRUS) AND M: MARKER OF MOLECULAR WEIGHT OF 100 PB.

11%. Los brotes más severos de TSV fueron los correspondientes a meses fríos del año, caracterizados por abundantes lluvias y temperatura relativamente baja. La temperatura óptima para el crecimiento de *L. vannamei* se encuentra en el rango de 25 – 30°C [25, 29]. En brotes periódicos del TSV en Ecuador, la temperatura mostró una correlación negativa con la prevalencia del TSV [10].

Durante el desarrollo de la epizootia en la región hubo abundantes precipitaciones. La caída de la salinidad por efecto de las lluvias coincidió con las épocas de mayor mortalidad registrada y apunta a que éstas habrían incrementado la mortalidad de animales afectados y principalmente de aquellos animales con infección crónica. Lotz y col. [19] indican que los animales en fase crónica no toleran los cambios de salinidad, tanto como los no infectados. Esta intolerancia podría deberse a que los cambios ambientales derivados por las precipitaciones pluviales que alteran, tanto a la temperatura como a la salinidad, generan en los animales estrés ambiental a la par que favorecen el brote de enfermedades infecciosas [27].

En Paraguaná, la sobrevivencia estuvo entre el 70 al 80%, mientras que en el Lago de Maracaibo se ubicó en el 30%. En otras regiones, piscinas afectadas con TSV registraron el 5% de sobrevivencia [13, 14]. La mortalidad está direc-

tamente relacionada a la densidad de siembra, en cultivos intensivos la mortalidad es más alta [2].

Así mismo, los valores bajos de salinidad actuarían como factor estresante bajando la capacidad de respuesta inmunológica del hospedero. *L. vannamei* en fase de engorde y no infectados pueden soportar salinidades de 3‰, mientras que animales con infecciones crónicas no son capaces de hacerlo [8]. Por otro lado, la salinidad baja y temperatura de 30°C afectan negativamente la sobre-vivencia y el crecimiento de animales no infectados [24], posiblemente disminuyendo la sobrevivencia de animales infectados. Jiménez y col. [10] manifiestan que los brotes de TSV estarían relacionados más con los cambios rápidos (bruscos), tanto de temperatura como de salinidad, como ocurren en época de lluvia, y no con los valores constantes en sí.

El brote de TSV ocurrido en el occidente de Venezuela, por el ciclo manifestado y por los signos clínicos mostrados, así como por las condiciones climáticas que enmarcaron su desarrollo conducen a recomendar que, deben considerarse medidas de urgente erradicación del TSV, mediante el empleo de semillas o reproductores resistentes a patógenos específicos SPR (Specific Pathogen Resistant), en este caso al TSV, establecer medidas de bioseguridad que conlleven a mejorar los sistemas de toma y descarga de agua para garantizar que el agua no sea reutilizada y prácticas de manejo tendientes a reforzar la bioseguridad en toda las instalaciones y operaciones de producción.

CONCLUSIONES

La epizootia del síndrome del taura (TSV) ocurrido en el occidente de Venezuela fue rápidamente extendida en toda la región occidental presentando signos clínicos y lesiones internas que la caracterizaron como severa.

Los brotes más severos ocurrieron en la etapa de engorde o producción de *L. vannamei*.

Animales procedentes de piscinas infectadas y sin ninguna manifestación clínica resultaron positivos a TSV, remarcando la utilidad de análisis por RT PCR por su sensibilidad y eficacia como prueba de diagnóstico.

La falta de medidas de bioseguridad contribuyó a la propagación del TSV en la región.

AGRADECIMIENTO

A la Dirección del Instituto Oceanográfico de Venezuela (IOV-UDO) y al laboratorio de Patobiología Acuática del Dpto. de Biología Pesquera del IOV; al Instituto Nacional de investigaciones Agrícolas (INIA), Cumaná, Sucre y al Consejo de Investigación de la UDO.

Esta investigación ha sido parcialmente financiada por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente a través del proyecto CI-2-0404-1369 / 07.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BELL, T. A.; LIGHTNER, D. V. Techniques. In: **A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology**. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. 2-6 pp. 1988.
- [2] BROCK, J.A.; GOSE, R.; LIGHTNER, D.V.; HASSON, K. An Overview on Taura Syndrome, an Important Disease of Farmed *Penaeus vannamei*. In: **Swimming Through Troubled Water. Proceedings Special Session Shrimp Farming, Aquaculture '95** - C.L. Browdy & J.S. Hopkins (Eds). World Aquaculture Society, Baton Rouge, February 15-19, Louisiana, USA: 84-94 pp. 1995.
- [3] BROCK, J.A. Special Topic Review: Taura Syndrome, A Disease Important To Shrimp Farms In The Americas. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 13:415-418. 1997.
- [4] GARZA, J.R.; HASSON, K.W.; POULOS, B.T.; REDMAN, R.M.; WHITE, B.L.; LIGHTNER, D.V. Demonstration of infectious taura syndrome virus in the feces of sea gulls collected during an epizootic in Texas. **J. Aquat. Anim. Health** 9: 156-159. 1997.
- [5] DALL, W.; HILL, J.B.; ROTHLSBERG, P.C.; STAPLES, D.J. Moulting and growth. In *The Biology of the Penaeidae*. **Adv. Mar Biol.** 27: 213-240. 1990.
- [6] FAUQUET, C.M.; MAYO, M.A.; MANILOFF, J.; DESSELBERGER, U.; BALL, L.A. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. **Eighth Report International Committee on Taxonomy of Viruses**. Elsevier Academic Press. 1259 pp. 2005.
- [7] HASSON, K.W.; LIGHTNER, D.V.; MARI, J.; BONAMI, J.R.; POULOS, B.T. MOHNEY, L.L.; REDMAN, R.M.; BROCK, J.A. The geographic distribution of taura syndrome virus (TSV) in the Americas: determination by histopathology and in situ hybridization using TSV-specific cDNA probes. **Aquac.** 171: 13-26. 1999.
- [8] HASSON, K.W.; LIGHTNER, D.V.; MOHNEY L.L.; REDMAN, R.M.; POULOS, B.T.; WHITE, B.L. Taura syndrome virus (TSV) lesion development and the disease cycle in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. **Dis. Aquat. Org.** 36 (2): 81-93. 1999.
- [9] HASSON, K.W.; LIGHTNER, D.V.; MOHNEY, L.L.; REDMAN, R.M.; WHITE, B.L. Role of lymphoid organ spheroids in chronic Taura syndrome virus (TSV) infections in *Penaeus vannamei*. **Dis. Aquat. Org.** 38: 93-105. 1999.
- [10] JIMENEZ, R.; BARNIOL, R.; BERNIOL, L. DE; MACHUCA, M. Periodic occurrence of epithelial necrosis outbreak in *Penaeus vannamei* in Ecuador. **Dis. Aquat. Org.** 42: 91-99. 2000.
- [11] KIM, J. S.; KIM, P. K.; SOHN, S. G.; SIM, D. S.; PARK, M. A.; HEO, M. S.; LEE, T. H.; LEE, J. D.; JUN, H. K.; JANG, K. L. Development of a PCR procedure for the detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in shrimp. **J. Fish Dis.** 21: 11-17. 1998.
- [12] LIGHTNER, D.V. The penaeid shrimp viral pandemics due to IHHNV, WSSV, STV and YHV: history in the Americas and current status. 1995. **Proc. Special Session on Shrimp Farming. Aquaculture '95** San Diego. World Aquatic Soc., On Line: <http://www.Lib.noaa.gov/japan/aquaculture/proceedings/report32/lightner/corrected.pdf>. Septiembre 2006.
- [13] LIGHTNER, D. V. Taura Syndrome: An Economically Important Viral Disease Impacting the Shrimp Farming Industries of the Americas Including the United States. In: **Proceedings of the Ninety-ninth Annual Meeting USAHA**. Reno, October 28 - November 3, Nevada, Virginia, USA. 36-52 pp. 1995.
- [14] LIGHTNER, D.V. Taura syndrome virus (TSV). In: **A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp**. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. Section 3. 1-9 pp. 1996.
- [15] LIGHTNER, D. V. Epizootiology, distribution and the impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Épizoot.** 15(2): 579-601. 1996.
- [16] LIGHTNER, D.V.; REDMAN, R.M.; HASSON, K.W.; PANTOJA, C.R. Taura syndrome in *Penaeus vannamei* (Crustacean: Decapoda) gross signs, histopathology and ultrastructure. **Dis. Aquat. Org.** 21: 53-59. 1995.
- [17] LIGHTNER, D.V.; REDMAN, R.M.; POULOS, B.T.; NUNAN, L.M.; MARI, J.L.; HASSON, K.W.; BONAMI, J.R. Taura syndrome: etiology, pathology, hosts and geographic distribution, and detection methods. **New approaches to viral diseases of aquatic animals**. National Research Institute of Aquaculture, Japan. 190 -225 pp. 1997.
- [18] LO, C. F.; LEU, J. H.; HO, C. H.; CHEN, C. H.; PENG, S. E.; CHEN, Y. T.; CHOU, C. M.; YEY, P. H.; HUANG, C. J.; CHOU, H. Y.; WANG, C. H.; KOU, G. H. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. **Dis. Aquat. Org.** 25:133-141. 1996.
- [19] LOTZ, J.M.; ANTON, L.S.; SOTO, M.A. Effect of chronic Taura syndrome virus infection on salinity tolerance of *Litopenaeus vannamei*. **Dis. Aquat. Org.** 65: 75-78. 2005.
- [20] NIELSEN, L.; SANH-OUM, W.; CHEEVADHANERAK, S.; FLEGEL, T.W. Taura syndrome virus (TSV) in Thailand and its relationship to TSV in China and the Americas. **Dis. Aquat. Org.** 63 (1/2): 101-106. 2005.

- [21] NUNAN, L.M.; POULOS, B.T.; LIGHTNER, DV. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) used for the detection of Taura syndrome virus (TSV) in experimentally infected shrimp. **Dis. Aquat. Org.** 34(2): 87-91. 1998.
- [22] ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE). Síndrome de Taura en Venezuela. **Informaciones Sanitarias de La Organización Internacional de Epizootias, Francia**. Marzo de 2005. 18 (10). On Line: http://www.oie.int/esp/info/hebdo/EIS_02.HTM#Sec1. Septiembre 2006.
- [23] ORGANIZACIÓN INTERNACIONAL DE EPIZOOTIAS (OIE). Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals. **Manual de Enfermedades de Animales Acuáticos de la Organización Internacional de Epizootias (OIE), Francia**. On Line: <http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/Asummyr.htm>. Septiembre 2006.
- [24] OVERSTREET, R.M.; LIGHTNER, D.V.; HASSON, K.W.; MCILWAIN, S.; LOTZ, J. M. Susceptibility to Taura syndrome virus of some penaeid shrimp species native to the Gulf of Mexico, the southeastern United States. **J. Invert. Path.** 69:165-176. 1997.
- [25] PONCE-PALAFOX, J.; MARTINEZ-PALACIOS, C.A.; ROSS, L.G. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp *Penaeus vannamei*, Boone, 1931. **Aquac.** 157: 107-115. 1997.
- [26] RUANGSRI, J.; KIRIRATNIKOM, S.; SUKRACHANA, N.; ARUNRAT, S.; SUKASEM, N.; KLOWKLING, T.; KASORNCHANDRA, J.; SUPAMATTAYA, K. Prevalence of Taura syndrome virus (TSV) and Infectious hypodermal and haematopoietic necrosis virus (IHHNV) in white shrimp (*Penaeus vannamei*) populations and susceptibility to infection of some aquatic species native to Thailand. Songklanakarin. **J. Sci. Technol.** 27 (Suppl. 1): 215-224. 2005.
- [27] SNIESZCO, S.F. The effect of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. **J. Fish. Biol.** 6: 197-208. 1974.
- [28] TU, C.; HUANG, H.T.; CHUANG, S.H.; HSU, S.T.; KUO, S.T. LI, N.J.; HSU, T.L. LI, M.C.; LIN, S.Y. Taura syndrome in Pacific white shrimp *Penaeus vannamei* cultured in Taiwan. **Dis. Aquat. Org.** 38 (2): 159-161. 1999.
- [29] WYBAN, J.A.; SWEENEY, J.N. **Intensive shrimp production technology**. The Oceanic Institute Shrimp Manual. The Oceanic Institute, Honolulu, Hawaii, 158 pp. 1991.