

Prevalencia de las Rabdovirus en la Acuicultura Europea

[Coll., J.M.](#)

INIA - Centro de Investigación en Sanidad Animal.
CISA - Valdeolmos
28130 - Madrid (España)
Tel: (34) 1 6202300 Fax: (34) 1 6202247

Resumen

Entre los virus de peces que mayor impacto económico causan en la piscicultura europea destacan los rabdovirus. Los rabdovirus afectan, tanto a especies de peces tradicionalmente cultivadas (trucha, salmón, carpa), como a especies con perspectivas de incipiente cultivo y futuro desarrollo (lubina, rodaballo, anguila) y también a especies silvestres (carpa, lucio) incluidos incluso algunos crustáceos cultivados (langostinos). En este breve informe se revisa y analiza el estado actual de las rabdovirus de peces en Europa según los datos publicados de la última reunión de Laboratorios Nacionales de Referencia de enfermedades de peces de la UE.

Summary

Among the fish viruses which cause the highest economic impact in the european aquaculture, the rhabdoviruses are the most important. The rhabdoviruses infect fish species traditionally cultured (trout, salmon, carp), species with a bright future (sea bass, turbot, eel) and also wild species (perch, carp) even including some cultured crustaceans (shrimp). In this brief work, a review of the actual state of the rhabdovirus of fishes in Europe according to the published data from the last meeting of the National Reference Laboratories of fish diseases of the UE are presented.

Rabdovirus en Acuicultura

De todos los virus de peces actualmente conocidos, los rabdovirus (Leong *et al.*, 1995) junto con los birnavirus (McAllister *et al.*, 1991) constituyen el grupo más numeroso y más extendido por todo el mundo. De estos dos grupos, los rabdovirus tienen una mayor incidencia económica porque causan altas mortalidades en adultos. Aunque ya se han descrito más de 10 tipos de rabdovirus de peces (Tabla 1), la mayoría no han sido caracterizados todavía. Entre los rabdovirus de peces que se han aislado e identificado en Europa destacan los que afectan a peces de agua fría como el virus de la Septicemia Hemorrágica Vírica (SHV) y el virus de la Necrosis Hematopoyética Infecciosa (NHI) y los que afectan a peces de aguas templadas como el virus de la viremia primaveral de la carpa (VPC) y el de la anguila (EVX).

Tabla 1: Rabdovirus de peces

Virus	Origen	Tamaño (nm)	Temp. (°C)	Células
VHSV Viral Haemorrhagic Septicaemia	Trucha Arco iris <i>Oncorhynchus mykiss</i>	198x68	6-18	R,F,E,C
IHN	Salmón Sockeye	156x82	13-18	R,F,E,C

Infectious Haematopoietic Necrosis	<i>Oncorhynchus nerka</i>			
SVC Spring Viraemia Carp	Carpa común <i>Cyprinus carpio</i>	140x77	4-32	R,F,E,C
PFRV Pike Fry RhabdoVirus	Lucio <i>Exos lucius</i>	125x80	21-28	R,F,E
EVA Eel Virus A	<i>Anguila americana</i> <i>Anguilla rostrata</i>	134x79	10-29	R,F,E,B
EVEX Eel Virus Europe X	<i>Anguila europea</i> <i>Anguilla anguilla</i>	134x79	10-29	R,F,E,B
CUSR Cod Ulcus-Syndrome Rhabdo	Bacalao Atlántico <i>Gadus morhua</i>	155x65	14-16	PS (R,F,B)
RGPR Río Grande Perca	Perca Río Grande <i>Cichlasoma cyanogutatum</i>	-	23-33	R,F,B
EVB Eel Virus B ₁₂	<i>Anguila europea</i> <i>Anguilla anguilla</i>	185x75	10-20	E (R)
RS Rhabdovirus Salmonis	Trucha Arco iris <i>Oncorhynchus mykiss</i>	135x65	18-20	R,F,E
PR Perch Rhabdovirus	Perca <i>Perca fluviatilis</i>	200x100	13-15	R (E)
HRV Hirame RhabdoVirus (<i>R. olivaceus</i>)	Platija Japonesa <i>Paralichthys olivaceus</i>	190x80	5-20	R,F,E,B (C)
UDRV Ulcerative Disease RhabdoVirus	Striped snakehead <i>Ophicephalus striatus</i>	120x80	25-30	B (C,E)

Los tamaños se dan como medias de varios autores según datos recopilados por Frerichs (Frerichs, 1989).
 Líneas celulares que son susceptibles sin paréntesis, las que son refractarias en paréntesis. R = RTG2. E = EPC. F = FHM. C = CHSE. B = BF2. (Estepa et al,1997)

El virus de la SHV, también llamado virus de Egtved, es endémico en Europa. Se han demostrado infecciones experimentales en lubina y rodaballo (Brañas, Coll y Estepa, 1994), y se ha aislado en cultivos de las especies: rodaballo (Schlotfeldt *et al.*, 1991), anguila, lenguado y langostino (Liu, Hilleman y Kurth, 1995). Recientemente también se ha aislado en Norteamérica a partir de salmón, bacalao y arenque (Brunson, True y Yancey, 1989; Hopper, 1989; Winton *et al.*, 1991). El VHSV (DeKinkelin, 1972) originario de Europa es similar al VNHI (Koener *et al.*, 1987) originario de Norteamérica, pero no tienen reacciones cruzadas de seroneutralización.

Hace 12 años se detectó por primera vez NHI en Francia (Baudin, 1987) y en Italia (Bovo *et al.*, 1987), y se ha ido extendiendo por Europa desde entonces.

Importancia económica actual de las rabdovirosis de peces

Entre un 20-40% del tonelaje anual se pierde por rabdovirosis a nivel mundial (Europa, Estados Unidos y Japón). Ninguna otra patología infecciosa o no, vírica, bacteriana o parasitaria, causa semejantes pérdidas en Acuicultura. No existen vacunas (DeKinkelin *et al.*, 1995), ni métodos terapéuticos para las rabdovirosis y no es posible o muy difícil, la detección de los portadores asintomáticos (Leong *et al.*, 1995; Leong and Fryer, 1993). La amenaza de todos los rabdovirus sobre la producción piscícola europea estimada en 734710 Tm/año (Olesen, Ariel y Slierendrecht, 1998) es tal que hace unos años se puso en marcha un programa de erradicación en la UE (Doc. 90/495/EF) (Hattenberg-Baudoy *et al.*, 1995).

Desde entonces, el Laboratorio de Referencia para enfermedades de peces de la UE (localizado en Dinamarca, Aarhus) ya ha tenido 2 talleres y 2 reuniones anuales de Laboratorios Nacionales de Referencia en los 2 últimos años. En la última, en 1998, participaron 12 de los 15 Estados miembros, puesto que Austria, Grecia y Luxemburgo no enviaron representantes. Además fueron invitados Noruega, Islandia, República Checa, Eslovenia y Suiza.

Debido a que las medidas sanitarias han de tomarse por granjas, de la envergadura del problema sanitario con el que nos enfrentamos nos da una idea la distribución de granjas de engorde según el conocimiento más actualizado del que se dispone en la UE (Olesen, Ariel y Slierendrecht, 1998) (Tabla 2).

Tabla 2: Número de granjas dedicadas a la Acuicultura en la UE, por país y por especies según el informe del NRL (Olesen, Ariel y Slierendrecht, 1998).

Países	Trucha	Salmón	Carpa	Anguila	Otras
Austria	170	-	170	-	-
Bélgica	62	-	-	-	5
Dinamarca	445	4	-	25	15
Finlandia	326	-	-	-	-
Francia	1033	-	-	-	-
Alemania	2133	-	5590	-	-
Irlanda	20	52	-	-	-
Italia	589	-	-	58	117
Portugal	21	-	1	2	5
España	214	-	-	-	-
Suecia	121	25	-	-	68
Holanda	30	-	-	35	10
Inglaterra	324	473	-	-	51
Rep. Checa	30	-	-	-	45
Islandia	4	22	-	-	15
Noruega*	120*	700*	-	-	337
Eslovenia	120	-	-	-	-
Suiza	800	-	-	-	-
Total	6562	1276	5761	120	668

* Calculado por aproximación según datos de producción en Tonelaje.

Del total de las 14387 granjas declaradas en esta reunión en la UE, el 45.6% son de trucha (Alemania con el 14.8% y Francia con el 7.1% son las mayores productoras), el 40% son de carpa (la mayoría, el 38.8% de Alemania), el 8.8% de salmón (Noruega con el 4.8% e Inglaterra-Escocia con el 3.2% son las mayores productoras) y 0.8% son de anguilas (0.4% Italia y 0.2% Holanda) (Tabla 2).

Estimaciones de prevalencia de las rabdovirus en Europa.

En la interpretación de los datos suministrados hay dificultades debidas, principalmente, a la poca

experiencia con que cuenta este programa de la UE. Algunas veces, no coincide el número de muestras positivas con el número de granjas muestreadas, o se dan producciones en toneladas de una especie y no hay número de granjas declaradas dedicadas a su producción. Existen dificultades adicionales en la clasificación de una granja respecto a una sola especie de peces cultivados, ya que muchas de ellas mantienen varias especies simultáneamente o cambian de especie según las épocas del año. Además, es de suponer la existencia de granjas todavía no declaradas o que no participan del programa de la UE. La obtención de datos se hizo por encuestas mandadas a los Laboratorios Nacionales de Referencia y aunque las preguntas eran iguales para todos los países, no todos los países responden a todas las preguntas, ni todos lo hacen de la misma manera (por ejemplo, unos consideran trucha y salmón como salmónidos, otros los consideran separados, y algunos distinguen entre granjas de agua dulce o salada, o entre granjas de engorde y hatcheries, etc., etc.).

En el aspecto técnico, es decir, en cuanto a la experimentación, realización y evaluación de los resultados de aislamientos de virus, son difíciles de comparar entre países puesto que no se hace el muestreo de la misma manera, hay diferencias grandes entre los títulos obtenidos para virus de referencia entre laboratorios, se utilizan líneas celulares distintas, etc. Se está trabajando en estos temas para decidir si se deben cambiar los protocolos actualmente en uso según las últimas directivas (EU Commission Decision 96/240/EEC).

Es por las razones apuntadas, que los datos y sus correspondientes análisis de prevalencia deben considerarse muy preliminares. Sin embargo no por eso son menos valiosos, pues dan una visión que aunque incompleta (el número de granjas del total de la UE de las que se ha obtenido información en este programa es hasta ahora de solo el 48.4%), nos da idea del estado actual del problema.

Desde 1995 a 1997, la producción piscícola en la UE se ha caracterizado por:

- Un aumento de la producción del salmón.
- Una estabilización de la producción de trucha.
- Un progreso en el control y erradicación de VHS e IHN y en la declaración de un mayor número de zonas libres (Council Directive 91/67/EEC).
- La aparición de una nueva enfermedad vírica en salmón en Noruega y en Escocia ISA (Infectious Salmon Anemia).
- El aislamiento por primera vez de VHSV en Irlanda, Suecia y Noruega en granjas marinas. En Irlanda se aisló VHSV marino en una granja de rodaballo.

Hay países en los que no se han detectado granjas infectadas por rabdovirus en los últimos 3 años, tales como Finlandia, Portugal, España, Suecia, Inglaterra, Islandia y Noruega (Tabla 3). Aún en estos casos se detectan infecciones ocasionales, tales como las que se han detectado por VHSV en Irlanda, Suecia y Noruega durante 1998.

Tabla 3: Porcentaje de muestras positivas a virus por países relativo al total de granjas muestreadas (Olesen, Ariel y Slierendrecht, 1998).

País	%	VHSV	IHN	SVCV	EVX	IPNV
Austria	10.5	27.7	5.5	25	-	5.5
Bélgica	50.7	2.9	20.5	-	-	-
Dinamarca*	100.0	4.0	-	-	-	6.5
Finlandia	29.7	-	-	-	-	-
Francia	40.1	1.4	1.4	-	-	23.1
Alemania	6.0	9.5	2.3	7.9	-	42.1
Irlanda*	100.0	1.2	-	-	-	-
	26.7	6.3	13.7	-	0.5	11.2

Italia						
Portugal	72.4	-	-	-	-	-
España	86.9	-	-	-	-	11.8
Suecia	39.2	-	-	-	-	-
Holanda +	1.3	-	-	+	+	+
Inglaterra	55.1	-	-	-	-	22.4
Rep. Checa	84.0	-	-	3.1	-	1.5
Islandia	51.2	-	-	-	-	-
Noruega	50.2	-	-	-	-	38.5
Eslovenia	66.6	3.7	13.7	-	-	-
Suiza +	0.6	+	+	-	-	-
Media	48.4					

-: no se detectaron muestras positivas.

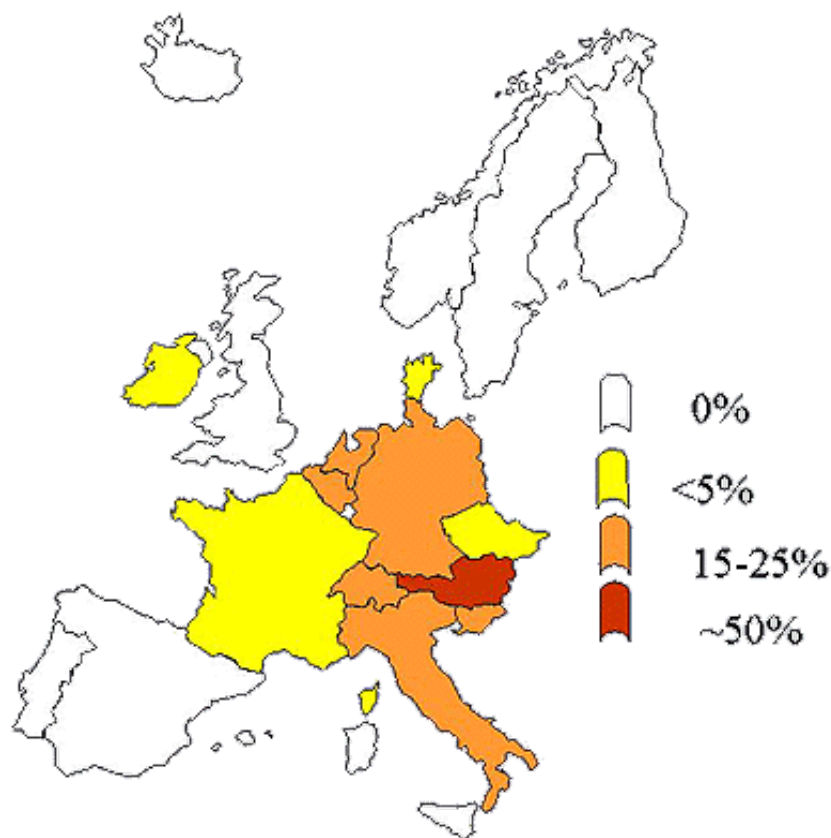
+: Los porcentajes de Holanda y Suiza son excepcionalmente altos (no significativos) debido al número de granjas tan bajo que se ha muestreado.

?: número de granjas muestreadas para la encuesta VHS/IHN y para diagnóstico durante 1997 respecto al número total de granjas. % porcentaje de granjas muestreadas = número de granjas muestreadas/número total de granjas x100 (Tabla 1).

*: según los datos suministrados, el número de granjas ensayadas era mayor que el número total de granjas (?).

En los países actualmente infectados por rabdovirus, los porcentajes de granjas positivas a rabdovirus calculado sobre el total de las granjas examinadas, varían de 0.5% a 27.7% para cada tipo de rabdovirus. Una situación similar a la estimada para el birnavirus IPNV que se considera prácticamente ubicuo. Si tenemos en cuenta para calcular los porcentajes la suma de todos los principales rabdovirus (VHSV + IHNV + SVCV + EVX), países del Centro de Europa como Austria, tienen más de un 50% de las granjas examinadas infectadas por algún rabdovirus (Figura 1). Los países limítrofes con Austria tales como Alemania, Holanda, Bélgica, Suiza, Eslovenia e Italia, tienen un valor medio de porcentaje de granjas infectadas entre el 15-25%, y otros países más alejados como Finlandia, Francia, República Checa o Irlanda, tienen valores < 5%. Los países libres de rabdovirus están mas alejados del foco principal, que según estos datos parece ubicado en Centro Europa.

Figura 1: Mapa que esquematiza el grado de infección por rabdovirus de los Países participantes en el informe.



Se han clasificado los países según el porcentaje de muestras positivas a rabdovirus calculado en Tabla 3 (VHSV + IHN + SVCV + EVX) en cuatro colores: blanco (0%), amarillo (<5%), naranja (15-25%) y rojo (~ 50%). Holanda y Suiza se han incluido entre las de 15-25% aunque según los datos manejados en el informe serían > 50%.

Futuro de las líneas generales de la investigación actual sobre rabdovirus.

Debido a las variaciones de título entre laboratorios que se han experimentado utilizando controles comunes, se van a continuar investigando la influencia de las líneas celulares utilizadas para los ensayos y los métodos de preservación de las muestras. Se ha demostrado una mayor sensibilidad del método RT-PCR respecto al de los cultivos celulares, por lo que se seguirá investigando en su posible estandarización y quizá en su utilización como método de referencia.

El único método que actualmente se está aplicando en la UE para el control de las rabdovirosis, es el diagnóstico basado en cultivos celulares y el vaciado y la desinfección en el caso de las granjas positivas. No existen otros métodos de prevención, excepto los derivados de evitar entradas no controladas y desinfecciones parciales periódicas. Las investigaciones actuales se centran principalmente en estandarizar los nuevos métodos de detección más sensibles (RT-PCR), en la secuenciación completa del genoma de varios rabdovirus, en la obtención de DNA infectivo de rabdovirus para genética reversa con objeto de atenuarlos (un proyecto financiado por la UE), en estudios filogenéticos comparando secuencias de diversos aislados, en estudios de los mecanismos de entrada vírica, en estudios sobre las respuestas inmunológicas a la infección rabdoviral, en vacunas por subunidades recombinantes, en vacunación DNA (3 proyectos independientes financiados actualmente por la UE) y en peces seleccionados genéticamente o transgénicos resistentes a las rabdovirosis.

Agradecimientos

Se agradece la ayuda en la mecanografía de J.P. Coll. Este trabajo se ha efectuado durante la financiación por los proyectos AGF97-297 de la CICYT, España y CT98-4398 y CT98-4003 del programa FAIR de la UE.

Bibliografía

- **Baudin, F. L.** (1987). IHN in France. *Bulletin European Association Fish Pathology* 7, 104.
- **Bovo, G., Giorgetti, G., Jorgensen, P. E. V. y Olesen, N. J.** (1987). Infectious haematopoietic necrosis: first detection in Italy. *Bulletin European Association Fish Pathology* 7, 62-63.
- **Brañas, M. V., Coll, J. M. y Estepa, A.** (1994). A sandwich ELISA to detect VHSV and IPNV in turbot. *Aquaculture International* 2, 206-217.
- **Brunson, R., True, K. y Yancey, J.** (1989). VHS virus isolated at Makah National Fish Hatchery. *Am.Fish Soc.Fish Health Newsletter* 17, 3.
- **DeKinkelin, P.** (1972). Le virus D'Egtved.II-Purification. *Annals Recherche Vétérinaire* 3, 199-208.
- **DeKinkelin, P., Bearzotti, M., Castric, J., Nougayrede, P., Lecocq-Xhonneux, F. y Thiry, M.** (1995). Eighteen years of vaccination against viral haemorrhagic septicemia in France. *Veterinary Research* 26, 379-387.
- **Estepa, P., Basurco, B. y Coll, J.M.** (1997) Los rabdovirus de peces. *Pub.Of.Soc.Esp.Virologia* 5, 16-27
- **Frerichs, G. N.** (1989). Rhabdoviruses of fishes. *Viruses of lower vertebrates. Ahne, W. & Kurstak, E. eds. Springer, Berlin* 1, 27-32.
- **Hattenberg-Baudoy, A. M., Danton, M., Merle, G. y DeKinkelin, P.** (1995). Serum neutralization test for epidemiological studies of salmonid rhabdoviruses in France. *Veterinary Research* 26, 512-520.
- **Hopper, K.** (1989). The isolation of VHSV from salmon at Glenwood Springs, Orcas Island, Washington. *Am.Fish Soc.Fish Health Newsletter* 17, 1.
- **Koener, J. F., Passavant, C. W., Kurath, G. y Leong, J.** (1987). Nucleotide sequence of a cDNA clone carrying the glycoprotein gene of Infectious Haematopoietic Necrosis virus, a fish rhabdovirus. *J.Virol.* 61, 1342-1349.
- **Leong, J. C., Bootland, L. yerson, E., Chiou, P. W., Drolet, B., Kim, C., Lorz, H., Mourich, D., Ormonde, P., Perez, L. y Trobridge, G.** (1995). Viral vaccines for aquaculture. *Journal Marine Biotechnology* 3, 16-23.
- **Leong, J. C. y Fryer, J. L.** (1993). Viral vaccines for aquaculture. *Ann.Rev.Fish Dis.* -, 225-240.
- **Liu, M. A., Hilleman, M. R. y Kurth, R.** (1995). DNA vaccines. A new era in vaccinology. *Annals New York Academy Sciences* 772, 1-294.
- **McAllister, P. E., Schill, W. B., Owens, W. J. y Hodge, D. L.** (1991). Infectious pancreatic necrosis virus: a comparison of methods used to detect and identify virus in fluids and tissues of fish. In proceedings of II International Symposium on Viruses of Lower Vertebrates. *Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.* -, 191-201.
- **Olesen, N. J., Ariel, E. y Slierendrecht, W.** (1998). Report of the second annual meeting of EU National Reference Laboratories for Fish Diseases. *Bruxelles, Belgium.* Sept 15-16, 21.
- **Schlotfeldt, H. J., Ahne, W., Vestergaard-Jorgensen, P. E. y Glende, W.** (1991). Occurrence of viral haemorrhagic septicemia in turbot (*Scophthalmus maximus*)-A natural outbreak. *Bulletin European Association Fish Pathology* 11, 105-107.
- **Winton, J., Batts, W., Deering, R., Brunson, R., Hopper, K., Nishizawa, T. y Stehr, C.** (1991). Characteristics of the first North American isolations of viral hemorrhagic septicemia virus. *Proceedings second international symposium on viruses of lower vertebrates. Oregon State Univ.Press. Corvallis.* 1, 43-50.

