

La acuicultura marina basada en el engorde de peces en granjas flotantes cercanas a la costa es una actividad económica en plena expansión en el archipiélago canario

Durante el estudio se realizaron diferentes muestreos de las especies de peces cultivadas en el archipiélago canario (doradas, lubinas y corvinas), así como una serie de especies silvestres que frecuentan las instalaciones de acuicultura

(Consejería de Agricultura, Ganadería y Pesca, 2007), se prevé que para 2010 la producción alcance alrededor de 15000 toneladas.

La acuicultura marina basada en el engorde de peces en granjas flotantes cercanas a la costa es una actividad económica en plena expansión en el archipiélago canario y se estima que alcanzará un mayor desarrollo en las próximas décadas. La Unión Europea, en su estrategia para el desarrollo sostenible de la acuicultura europea (COM, 2002), establece como uno de los objetivos el “garantizar que los consumidores puedan disponer de productos sanos, seguros y de buena calidad, así como fomentar normas en sanidad y bienestar animal. Es imprescindible conocer la realidad sanitaria tanto de las explotaciones marinas de acuicultura, como la de las poblaciones silvestres.

El mayor conocimiento de esta realidad permitirá constituir la base de un futuro Mapa Epidemiológico en la piscicultura marina, tal y como es preceptivo en la Ley de Sanidad Animal (Ley 8/2003). Por tanto, se plantea como prioritario el estudio de las interacciones entre las poblaciones silvestres y cultivadas, valorando el posible flujo de patógenos entre ambas.

La vigilancia epidemiológica se basa en este trabajo en la investigación de enfermedades víricas de mayor importancia (por presencia o por ausencia) en zonas costeras canarias de importancia por la posible interacción entre poblaciones salvajes y la acuicultura marina canaria (Bovo, 2004; OIE, 2005; FAO-CIHEAM, 2005). Dos enfermedades de la normativa de la Unión Europea, la septicemia viral hemorrágica (SHV), que es de declaración obligatoria (RD 1882/94) y la necrosis pancreática infecciosa (NPI), que puede ser sometida a programas (RD 1882/94), junto a la encefalopatía y retinopatía viral (VER) que está en el listado de la OIE y tiene incidencia real en otras Comuni-

dades Autónomas. Esta última enfermedad representa un riesgo potencial para la acuicultura canaria, ya que si bien la especie más sensible es la lubina, se ha demostrado también una gran patogenicidad para la corvina, dorada y el lenguado, así como la existencia de multitud de especies salvajes portadoras de la enfermedad capaces de transmitir la enfermedad a las jaulas comerciales.

A su vez, se realizarán controles sobre la linfocitosis (LIN), la cual sin estar sometida a control oficial, presenta una considerable presencia en la acuicultura canaria, tanto cultivada como silvestre, no existiendo datos normalizados sobre su incidencia en nuestras costas, ni las relaciones existentes entre poblaciones silvestres infectadas y aparición de la enfermedad en las granjas.

Septicemia viral hemorrágica (SHV)

El agente causal de esta enfermedad es un virus ARN del Género *Novirhabdovirus* de la Familia *Rhabdoviridae*. Hasta 1980 la septicemia viral hemorrágica se consideraba una enfermedad que sólo afectaba a peces de agua dulce de la acuicultura continental. En los últimos años SHV ha sido aislado de una gran variedad de peces marinos salvajes, ya sean enfermos o asintomáticos, principalmente en el Atlántico Norte y en el mar Báltico. La septicemia viral hemorrágica se considera una de las enfermedades víricas más peligrosas. En cuanto a las lesiones más importantes podemos destacar: hemorragias en la piel y órbita ocular, así como exoftalmia uni o bilateral. En la necropsia se observa hemorragias generalizadas, especialmente en hígado, grasa y músculo. Es una enfermedad de salmónidos, pero se ha descrito en gran número de especies de las familias Clupeiformes, Gadiformes, Pleuronectiformes, Perciformes, Scorpaeniformes y Anguilliformes. En agosto de 2004, la Organización Internacional de Epizootias (OIE) publicó la primera cita de casos

de SHV en lubina en las costas mediterráneas, en concreto, en Grecia.

Encefalopatía y Retinopatía Viral (VER) o Nodaviriosis

La encefalopatía y retinopatía vírica (VER) se ha descrito como una enfermedad grave de peces marinos jóvenes o en estado larvario y, con menor frecuencia, en adultos, excepto en África (Munday et ál., 2002). Hasta el momento se sabe que la enfermedad ha afectado al menos a 30 especies de peces, siendo las más afectadas la perca gigante (*Lates niloticus*) (Glazebrook et ál., 1990), la lubina (*Dicentrarchus labrax*) (Breuil et ál., 1991) y el mero de pintas rojas (*Epinephelus akaara*) (Mori et ál., 1991), entre otros.

Los virus de esta familia estuvieron hasta hace poco incluidos dentro de la Familia *Picornaviridae* (Renault et ál., 1991). Sin embargo, debido a las diferentes propiedades de sus proteínas y a su ácido nucleico, Munday et ál. (1991) propusieron la inclusión de estos virus dentro de la familia *Nodaviridae*, aunque claramente diferenciados de los nodavirus de insectos (Comps et ál., 1994). Los nodavirus producen distintos tipos de síndromes que, en general, se agrupan dentro de dos tipos de denominación: *encefalopatía y retinopatía vacuolizante (VER)*, o *necrosis nerviosa viral (NNV)*. Los nodavirus provocan grandes pérdidas en larvas y juveniles de lubina, dorada, fletán, rodaballo y otras especies de peces. Algunos de los síntomas observados son alteración de la pigmentación de las larvas y reducción de la alimentación, lo que hace que el intestino aparezca transparente y, en juveniles, la piel oscurecida. Además se observa natación errática y espiral en los primeros estados de la enfermedad y, ya más avanzada, las larvas y juveniles pasan a un estado letárgico con espasmos temporales. Las mortalidades pueden llegar al 100% en las larvas. Histopatológicamente, el virus provoca vacuolización de las

células nerviosas y del tejido retinal. Resulta muy importante chequear, especialmente, las poblaciones silvestres, ya que no existen datos sobre su incidencia en nuestra zona.

Necrosis Pancreática Infecciosa (IPN)

El virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa pertenece al Género *Aquabirnavirus*, dentro de la Familia *Birnaviridae*. Es un virus de gran relevancia para la acuicultura tanto continental como marina. Los birnavirus son virus ARN, icosaédricos, monocapsidales y sin envuelta (Dobos et ál., 1979; Todd y McNulty, 1979).

La necrosis pancreática infecciosa es una enfermedad viral sistémica, aguda y altamente contagiosa, que está extendida por todo el mundo (Tabla 1), y que ha sido detectada en un gran número de países y por numerosos equipos de investigación.

Tradicionalmente se la considera como una infección que afectaba a alevines de peces salmónidos; sin embargo, virus tipo IPNV se han detectado en numerosas especies de peces y, en la actualidad, se considera que posiblemente afecte a prácticamente cualquier especie acuática. Está considerada por la OIE como enfermedad significativa y en la UE está incluida entre aquellas sobre las que las autoridades nacionales o regionales pueden establecer campañas de control. Resulta muy importante chequear, especialmente, las poblaciones silvestres, ya que no existen datos sobre su incidencia en nuestra zona.

Linfocistis (LIN)

El agente causal de la enfermedad linfoquística o linfocistis, es un *Iridovirus* dentro de la Familia *Iridoviridae*. Este virus provoca una infección crónica o benigna caracterizada por hipertrofia de las células de la epidermis y de las aletas (Wolf, 1988). Esta enfermedad está ampliamente distri-

SEROGRUPO I	AISLADO EN	LOCALIZACIÓN
IPNV Sp	Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykies</i>)	Europa
IPNV Ab	Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykies</i>)	Europa
IPNV He	Lucio (<i>Esox lucius</i>)	Europa
IPNV Te	Tellina (<i>Tellina tenuis</i>)	Europa
IPNV Wb	Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykies</i>)	EE.UU.
IPNV Ja	Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykies</i>)	EE.UU.
	Trucha salvelino (<i>Salvelinus fontinalis</i>)	Canadá
IPNV N1	Rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>)	Noruega
IPNV C1	Salmón atlántico (<i>Salmo salar</i>)	Canadá
IPNV C2	Trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykies</i>)	Canadá
IPNV C3	Trucha lacustre (<i>Salmo trutta lacustris</i>)	Canadá

Tabla 1. Serogrupos y serotipos de IPN (Dopazo et ál., 2007)

Las enfermedades investigadas son enfermedades víricas de mayor importancia en zonas costeras canarias por la posible interacción entre poblaciones salvajes y la acuicultura marina. Entre ellas la septicemia viral hemorrágica, necrosis pancreática infecciosa, encefalopatía y retinopatía viral y la enfermedad linfoquística

buida por todo el mundo y afecta a una gran variedad de especies de peces, tanto marinos como de agua dulce. Los peces afectados muestran nódulos visibles en la superficie del cuerpo, pasando posteriormente a los órganos y tejidos internos; no presentan un comportamiento especial aunque, en estados avanzados de la infección, se puede observar cierta dificultad en la actividad natatoria. Aunque la enfermedad no es mortal, el deterioro de los peces, fundamentalmente de su aspecto, reduce su comerciabilidad. La transmisión del virus del linfocistis se produce a través de las aguas contaminadas y de las heridas de la piel. Es frecuente en dorada y aunque no produce mortalidad, las lesiones pueden ser vía de entrada para otros patógenos. Además el pescado pierde valor comer-

cial y es una enfermedad con marcada estacionalidad, ya que suele aparecer en juveniles en épocas estivales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante un año, se planteó un diseño de muestreos que abarcaba las especies de peces cultivadas en el archipiélago canario (doradas, lubinas y corvinas), así como una serie de especies silvestres que frecuentan las inmediaciones de las instalaciones de acuicultura o bien son especies que pueden utilizarse como centinelas para las enfermedades víricas objeto de estudio. Durante el año 2008, se procedió a la toma de muestras de las diferentes especies en las localizaciones que aparecen señaladas en la figura 1.

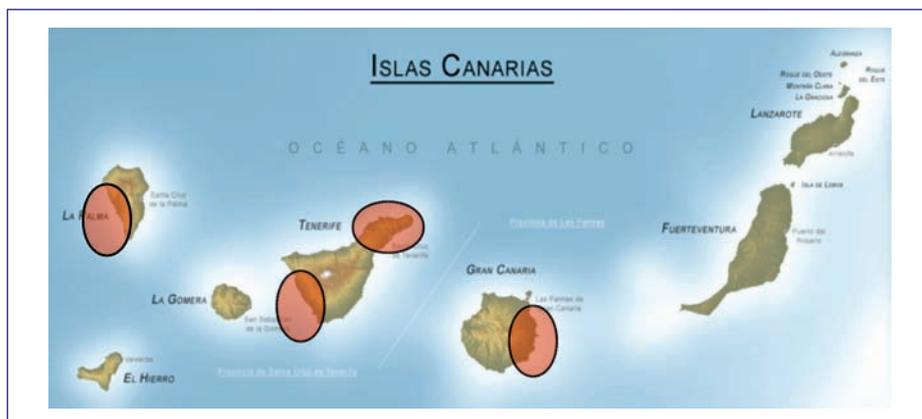


Figura 1. Diferentes zonas de Muestreos en archipiélago canario en 2008



Figura 6. Necropsia reglada de los peces llegados al Laboratorio de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología

Tras la necropsia reglada se procede a la extracción de diferentes muestras como encéfalo, bazo y riñón anterior para su posterior conservación a -80°C . De estas mismas muestras se deja una pequeña cantidad guardada en tubos con tampón virológico (Fig. 7) para realizar si fuera necesario, el cultivo celular. A partir de las muestras de encéfalo se procederá al estudio de encefalopatía y retinopatía viral (VER), las muestras de riñón anterior y bazo se utilizarán para el diagnóstico de la septicemia viral hemorrágica (SHV) así como para la necrosis pancreática infecciosa (IPN).

Procesado de las muestras

Con las muestras conservadas a -80°C se procedió a la extracción del RNA, y realización de una RT-PCR para el diagnóstico de las enfermedades virales mencionadas.

EXTRACCIÓN DE RNA

Se realizó mediante un kit comercial de extracción de RNA (Quiagen, Biosigma).

PASO A cDNA

El RNA se pasó a cDNA utilizando un primer oligodT que pasa a cDNA to-

dos los RNAs mensajeros con cola polyA. Para ello se utilizó la enzima Superscript II reverso transcriptasa (Invitrogen) siguiendo las instrucciones del fabricante.

DIAGNÓSTICO DE SHV

Se utilizaron los primers F: 5'GGG GAC CCC AGA CTG T 3' y R: 5' TCT CTG TCA CCT TGA TCC 3' que se encuentran conservados entre distintos aislados de SHV y amplifican un fragmento del gen de la proteína N de 811 pb.

DIAGNÓSTICO DE VER

Se utilizaron los primers descritos para aislados de lubina en el Mediterráneo, cuyas secuencias son las siguientes: 5'-ACACTGGAGTTTGAA ATTCA-3' y 5'GTCTTGTTGAAGTT GTCCCA-3' que amplifican una región de 605 pares de bases. Ciclo: 95° 5 min, 40 ciclos de 30 segundos a 95° , 30 segundos a 57° y 45 segundos a 72° . Finalmente 10 minutos a 72° .

Posteriormente se hace una PCR sobre ésta (nested) con los siguientes primers: VNNV3:5'ATTGTGCCCGCAAACAC-3' y VNNV4:5'-GACA CGTTGACCACATCAGT-3' que amplifican un producto de 255 pares de

Mediante PCR no se han encontrado resultados positivos para ninguno de los virus IPN (Figura 9), SHV (Figura 10) y para VER (Figura 11) en todas las especies tanto las de acuicultura marina como las especies salvajes muestreadas en las aguas de las Islas Canarias.

Como puede apreciarse en la imagen, se observa a la izquierda el marcador de peso molecular seguido de las diferentes muestras negativas, ya que no aparece banda. La última muestra de la izquierda se corresponde con el control positivo de la técnica.

- 1. Marcador de peso molecular
- 2. Control positivo para IPN
- 3. Control negativo
- 4-11. Muestras de peces



Figura 9. Muestras negativas para IPN en especies salvajes de Gran Canaria

- 1. Marcador de peso molecular
- 2. Control positivo para VHS
- 3. Control negativo
- 4-11. Muestras de peces

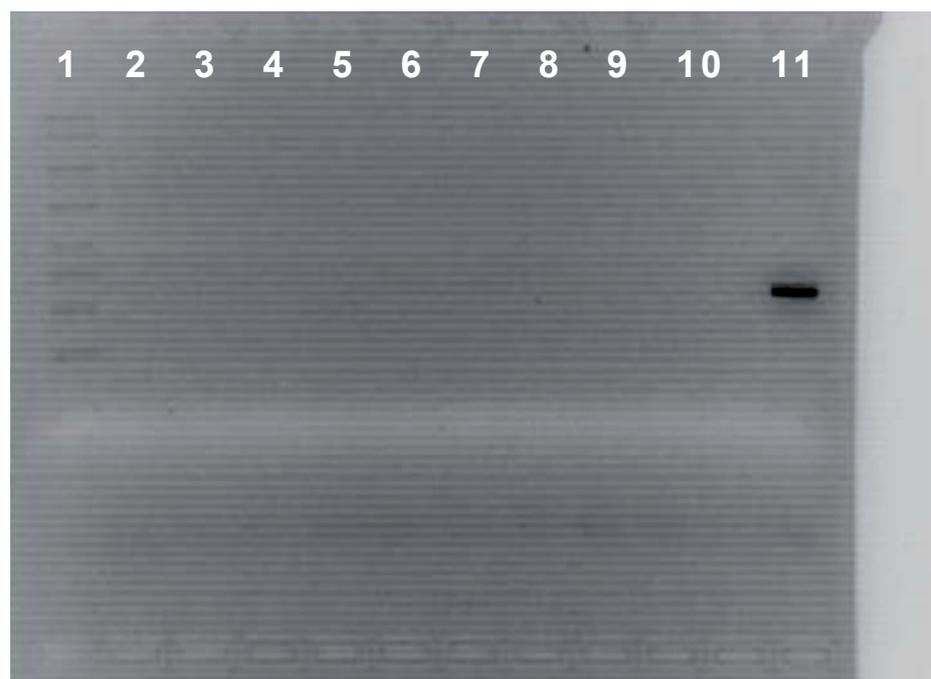


Figura 10. Muestras negativas para VHS en especies salvajes de Tenerife

Durante este año de estudio no se ha detectado ninguna enfermedad vírica en los peces tanto de acuicultura marina como en los peces salvajes, pudiendo considerar hasta el momento al archipiélago canario como “zona libre” de las enfermedades víricas estudiadas

cuentan los alrededores de las instalaciones de acuicultura marina canaria. Este estudio sobre ejemplares salvajes supone un trabajo pionero en Canarias, permitiendo valorar las potenciales interacciones sanitarias entre las instalaciones de acuicultura y la fauna ictícola local.

Todo ello va a redundar en una protección activa sobre el medio natural, un descenso del riesgo sanitario para las explotaciones y para sus propietarios, así como un incremento de confianza de la población y de los consumidores de pescado en especial.

Durante este año de estudio no se ha detectado ninguna enfermedad vírica en los peces tanto de acuicultura marina como en los peces salvajes, pudiendo considerar hasta el momento al archipiélago canario como “zona libre” de las enfermedades víricas estudiadas.

La elaboración de un mapa epidemiológico para la acuicultura y para las especies de pesca extractiva relacionadas ecológicamente con ellas, se requiere la obtención de información epidemiológica de todas las fuentes relacionadas con el mundo de la acuicultura y la comunidad científica. Se consideran básicas las siguientes fuentes de información:

1. La información sanitaria aportada por las empresas de acuicultura ubicadas en las distintas zonas costeras.
2. Información aportada por la administración y centros de investigación: Centro de Recursos Marinos, Instituto Español de Oceanografía, Universidades y por la Subdirección General de Sanidad Animal del MAPYA.
3. Información obtenida en la realización de un muestreo tanto en las granjas de acuicultura como en las especies silvestres epidemiológicamente relacionadas. Este muestreo y su posterior análisis forman la base fundamental del presente trabajo, ya que no existen estudios previos para es-

tas enfermedades en la mayor parte de estas especies y menos aún en las costas canarias.

Por tanto, tenemos que seguir trabajando en un futuro para poder obtener durante un periodo mayor de tiempo la suficiente información epidemiológica con el fin de poder elaborar un mapa epidemiológico de las enfermedades víricas en la acuicultura marina canaria, que será un instrumento científico para la gestión y aplicación de medidas de policía sanitaria por parte de la administración. Y además servirá de base para la planificación de futuras redes de vigilancia.

BIBLIOGRAFÍA

- Bovo, G (2004). Viral diseases affecting mediterranean aquaculture. Actas de “Diagnóstico y control de enfermedades de peces de acuicultura marina mediterránea”. CIHEAM, Santiago de Compostela.
- Breuil G., Bonami J.R., Pepin J.F. y Pichot Y. (1991). Viral infection (picorna-like virus) associated with mass mortalities in hatchery-reared sea-bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae and juveniles. *Aquaculture*, 97, 109-116.
- Comisión europea (2002). Estrategia para el desarrollo sostenible de la acuicultura europea. COM (2002) 511 final, Bruselas.
- Comps, M., Pepin, J.F. and Bonami, J.R. (1994). Purification and characterization of two fish encephalitis virus (FEV) infecting *Lates calcarifer* and *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture* 123: 1-10.
- Dempster (2001). Efecto de agregación de las jaulas de cultivos marinos sobre la comunidad íctica en el SE Ibérico. Informe de la Universidad de Alicante.
- Dobos, P., Hill, B.J., Hallett, R., Kells, D.T.C., Becht, H. y Teninges, D.

- (1979). Biophysical and biochemical characterization of five animal viruses with bisegmented double-stranded RNA genomes. *The Journal of Virology* 32: 593-605.
- Dopazo C.P., Bandín I., López-Vázquez C., Lamas J., Noya M. y Barja J.L. (2002). Isolation of viral hemorrhagic septicemia from Greenland halibut *Reinhardtius hippoglossoides* caught at Flemish Cap. *Diseases of Aquatic Organisms* 50, 171-179.
- Eiras (2003). Métodos de Estudio y Técnicas Laboratoriales en Parasitología de Peces. Ed. Acribia.
- Fao-Ciheim (2005). Mediterranean Aquaculture Diagnostic Laboratories. Options méditerranéennes. Serie B: Etudes et Recherches, 49.
- Gilbello (2001). Utilización de la PCR para el diagnóstico en ictiopatología. Revista AcuaTIC, nº 15.
- Glazebrook J.S., Heasman M.P. & De beer S.W. (1990). Picorna-like viral particles associated with mass mortalities in larval barramundi, *Lates calcarifer* Bloch. *Journal of Fish Diseases*, 13, 245-249.
- Ley 8/2003, de 24 de abril, de Sanidad Animal. BOE nº 99 (25-04-2003)
- Mori, K.I., Nakai, T., Nagahara, M., mu-roga, K., Mekuchi, T. and Kanno, T. (1991). A viral disease in hatchery-reared larvae and juveniles of redspotted grouper. *Fish Pathology*. 26: 209-210.
- Munday, B.L., Langdon, J.S., Hyatt, A. and Humphrey, J.D. (1991). Mass mortalities associated with a viral-induced vacuolating encephalopathy and retinopathy of larval and juvenile Barraundi, *Lates calcarifer* Bloch. *Aquaculture* 103: 197-211.
- Munday B.L., Kwang J. & Moody N. (2002). Betanodavirus infections of teleost fish: a review. *Journal of Fish Diseases*: 25, 127-142.
- OIE (2005). Código Sanitario para los Animales Acuáticos.
- Ossiander y Wedermeyer (1973). Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish populations. *Journal of the Fisheries Research board of Canada*. 30: 1383-1384.
- Real decreto 1488/1994, de 1 de julio, por el que se establecen medidas mínimas de lucha contra determinadas enfermedades de los peces.
- Real decreto 1882/1994, de 16 de septiembre, por el que se establecen las condiciones de sanidad animal aplicables a la puesta en el mercado de animales y productos de la acuicultura.
- Real decreto 2459/1996, de 2 de diciembre, por el que se establece la lista de enfermedades de animales de declaración obligatoria y da la normativa para su notificación. BOE nº 3 (3-1-97).
- Renault, T., Haffner, P., Baudin Laurencin, F., Breuil, G. and Bonami, J.R. (1991). Mass mortalities in hatchery-reared sea bass (*Lates calcarifer*) larvae associated with the presence in the brain and retina of virus-like particles. *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.* 11: 68-73.
- Ross K., McCarthy U., Huntly P.J., Wood B.P., Stuart D., Rough E.I., Smail D.A. & Bruno D.W. (1994). An outbreak of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in turbot (*Scophthalmus maximus*) in Scotland. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 14, 213-214.
- Secretaría general de pesca marítima (2001) "Libro blanco de la acui-

cultura en España". Centro de Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Tomos I y II: 521 p.

Skall H.F., Olesen N.J & Møllgaard S. (2005). Viral haemorrhagic septicaemia virus in marine fish and its implications for fish farming – a review. *Journal of Fish Diseases* 28, 509-529

Snow M., Bain N., Black J., Taupin V., Cunningham C.O., King J.A., Skall H.F. & Raynard R.S. (2004). Genetic population structure of marine viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV). *Diseases of Aquatic Organisms* 61, 11-21.

Snow M. & Smail D.A. (1999). Experimental susceptibility of turbot *Scophthalmus maximus* to viral haemorrhagic septicaemia virus isolated from cultivated turbot. *Diseases of Aquatic Organisms* 38, 163-168.

Stone D.M., Way K. & Dixon P.F. (1997). Nucleotide sequence of the glycoprotein gene of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from different geographical areas: a link between VHS in farmed fish species and viruses isolated from North Sea cod (*Gadus morhua* L.). *Journal of General Virology*, 78, 1319-1326.

Todd, D. y McNulty, M.S. (1979). Biochemical studies with infectious bursal disease virus: Comparison of Some of its properties with infectious pancreatic necrosis virus. *Archives of Virology*. 60: 265-277.

Wwf (2005). Risk on local fish populations and ecosystems posed by the use of imported feel fish by the tuna farming industry in the Me-

diterranean. WWF Mediterranean Programme, april 2005.

Las enfermedades investigadas son enfermedades víricas de mayor importancia en zonas costeras canarias por la posible interacción entre poblaciones salvajes y la acuicultura marina. Entre ellas la septicemia viral hemorrágica, necrosis pancreática infecciosa, encefalopatía y retinopatía viral y la enfermedad linfocítica.

BIOGRAFÍA

LORENA ROMÁN FUENTES nació en Ibiza (Baleares) en 1982, es licenciada en Veterinaria por la Universidad de Extremadura y ha cursado un máster Internacional en Acuicultura en la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria en colaboración con el Instituto Canario de Ciencias Marinas (ICCM) y el Centro Internacional de Altos Estudios Agronómicos Mediterráneos de Zaragoza (CIHEAM).

En la actualidad realiza su Tesis Doctoral en el grupo de investigación de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, bajo la dirección de Fernando Real Valcárcel.

Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria (IUSA). Avda Trasmontaña S/N, 35413.

E-mail: Lorena.roman102@doctorandos.ulpgc.es
Teléfono: 928 459741

Patrocinador de esta investigación:

HARINERA CANARIA (HARICANA) Y MEDIFONSA