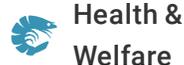




ALLIANCE™

<https://www.globalseafood.org>Health &
Welfare

Examinando la transmisión horizontal de WSSV en camarones blancos del Pacífico

31 July 2023

By Dr. Kwang-Il Kim

Una correlación positiva entre el grado de gravedad de la enfermedad y la tasa de diseminación viral de los camarones infectados sugiere que la transmisión del WSSV a través del agua depende de la carga viral y el período de exposición

El virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV), que causa la enfermedad de la mancha blanca (WSD), es el patógeno más importante de los crustáceos. Al igual que la mayoría de los patógenos en los invertebrados, la ruta de transmisión a través del agua es uno de los mecanismos de transmisión horizontal más importantes para WSSV, junto con el canibalismo. Por lo tanto, comprender el modelo de transmisión a través del agua es crucial para prevenir el brote y la propagación de enfermedades.

En particular, la excreción viral (la expulsión y liberación de la progenie del virus luego de una reproducción exitosa durante una infección de la célula huésped) y la dosis infectiva mínima son



Este estudio investigó el modelo de transmisión horizontal del virus del síndrome de la mancha blanca en función de la correlación entre el grado de gravedad de la enfermedad y la tasa de diseminación viral, y también determinó las dosis infecciosas mínimas de WSSV a través de la vía acuática. Foto de Darryl Jory.

parámetros importantes para estimar y predecir las cargas virales en el agua de mar, determinar los niveles de exposición para individuos ingenuos y comprender el mecanismo de la transmisión a través del agua de las enfermedades de los animales acuáticos. Varios estudios han investigado la transmisión a través del agua de varios virus importantes, y aunque varios estudios han establecido el grado de gravedad del WSSV e investigado la dosis infectiva mínima a través de desafíos de inmersión, ningún estudio ha investigado la transmisión a través del agua en función de la correlación entre el grado de gravedad de la enfermedad y la tasa de eliminación del virus.

Este artículo – resumido de la **publicación original** (<https://doi.org/10.3390/ani13101676>), (Kim, M-J. et al. 2023. Evaluation of the Horizontal Transmission of White Spot Syndrome Virus for Whiteleg Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) Based on the Disease Severity Grade and Viral Shedding Rate. *Animals* 2023, 13(10), 1676 – presenta los resultados de una investigación de las correlaciones entre los cambios clínicos, el grado de gravedad de la enfermedad y las copias virales de camarones infectados con WSSV utilizando camarones blancos del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) infectados con WSSV artificialmente a diferentes temperaturas.

Configuración del estudio

Se obtuvieron camarones *L. vannamei* juveniles ($2,03 \pm 0,85$ gramos) de una granja acuícola en Geoje, Corea, y se confirmó que estaban libres de WSSV mediante PCR anidada. Los camarones se aclimataron en un tanque acuático de 250 litros a $25 \pm 0,5$ grados-C durante una semana y se alimentaron con una dieta comercial una vez al día. El virus utilizado en el presente estudio se extrajo de camarones *L. vannamei* enfermos en Taean, Corea, en 2014.



(<https://events.globalseafood.org/responsible-seafood-summit>).

Para determinar la dosis infectiva mínima de WSSV por vía acuática, realizamos pruebas de inmersión a diferentes dosis de administración y períodos de exposición. Y verificamos la dosis infectiva mínima de WSSV y su dinámica de transmisión a través del agua en función de las cargas virales en camarones y agua de mar a través de un desafío de cohabitación. Para obtener información detallada sobre la configuración experimental, la cría de animales, los desafíos WSSV y los análisis moleculares y estadísticos, consulte la publicación original.

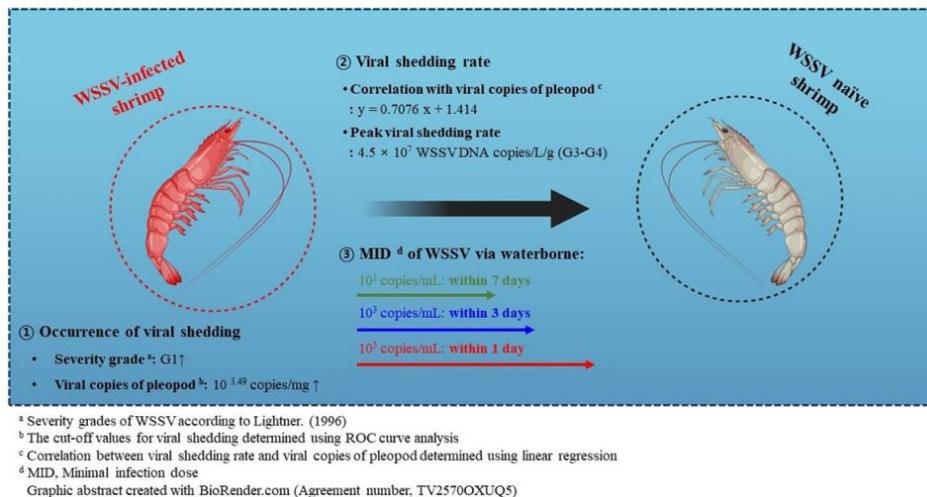


Fig. 1: Modelo de transmisión horizontal del virus del síndrome de la mancha blanca basado en la correlación entre el grado de gravedad de la enfermedad y la tasa de diseminación viral. Adaptado del original.

Resultados y discusión

La tasa de diseminación viral y la dosis infecciosa mínima de WSSV son algunos de los factores más importantes que deben investigarse en los modelos de transmisión de patógenos de animales acuáticos a través del agua. Además, debido a que los camarones infectados con WSSV exhiben

varios cambios clínicos (como excreción viral y mortalidad) que varían según el grado de severidad, es importante comprender la correlación entre la excreción viral y el grado de severidad para evaluar el impacto potencial de los camarones infectados en individuos ingenuos.

Nuestro estudio investigó la correlación entre los grados de severidad, las copias virales en los pleópodos y los cambios clínicos (excreción viral y mortalidad) de los camarones infectados mediante desafíos de inyección en diferentes dosis de administración y condiciones de temperatura (experimentos 1 y 2). Con base en la correlación entre los grados de severidad y las tasas de diseminación viral, verificamos la transmisión del WSSV a través del agua en base a las dosis infecciosas mínimas y las cargas virales en el agua de mar a través de desafíos de inmersión y cohabitación (experimentos 3 a 5).

Como dosis inducibles de infección y mortalidad, los camarones a los que se administraron copias del genoma de 10^5 y 10^3 -WSSV exhibieron una mortalidad acumulada del 100 por ciento a los cuatro y 10 días post-infección (dpi), respectivamente, mostrando diferencias significativas según la dosis inicial administrada (Fig. 2A).

Con base en los resultados del experimento 1, el experimento 2 llevó a cabo una prueba de desafío, administrando dosis de copias del genoma de 10^3 -WSSV en un rango de temperatura del agua de 20 a 30 grados-C, lo que comúnmente se reporta en estanques de cultivo de camarones. Aunque WSSV indujo la infección a temperaturas del agua de 20 y 30 grados-C, se informó que el rango de temperatura óptimo para la propagación de WSSV era de 23 a 28 grados-C. Al igual que en un estudio anterior, la mortalidad acumulada de camarones infectados con WSSV aumentó significativamente en los grupos de cambio hacia arriba (80 por ciento) y cambio hacia abajo (87,5 por ciento) en comparación con los grupos constantes (20 grados-C; 27,5 por ciento) y constantes. (30 grados-C; 47,5 por ciento), que tenían las mismas temperaturas administradas (Fig. 2B).

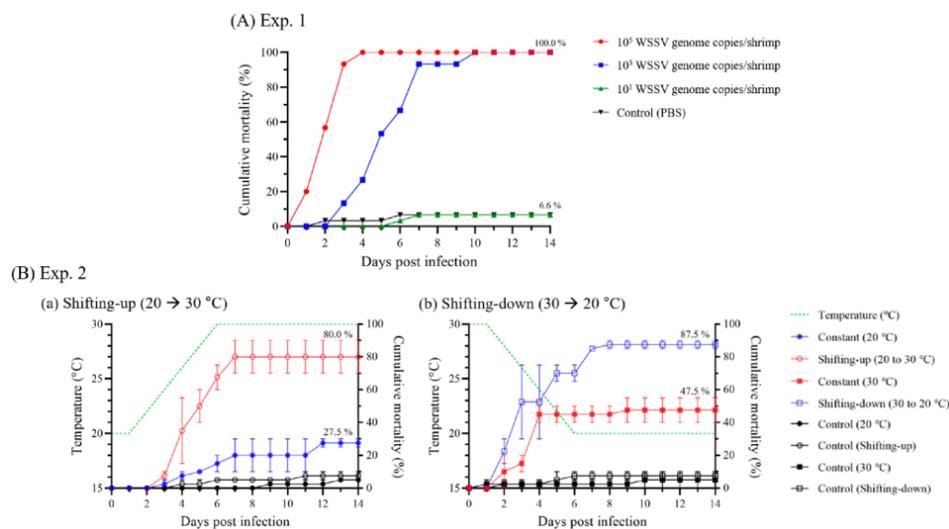


Fig. 2: Mortalidad acumulada por infección experimental de WSSV durante 14 días. (A) Experimento 1 (n = 30/grupo) realizó una inyección intramuscular usando 10^5 , 10^3 o 10^1 copias del genoma WSSV/camarón a 25 grados-C. (B) Experimento 2 (n = 20/grupo) realizó una inyección intramuscular con 10^3 copias del genoma WSSV/camarón en cuatro condiciones de temperatura diferentes: constante (20 grados-C), cambio ascendente (20 a 30 grados-C), constante (30 grados-C) y decreciente (30 a 20 grados-C), con cada

condición probada por duplicado. Las líneas punteadas indicaron la temperatura del agua cada día y el cambio de temperatura se realizó a razón de 1 grado-C/12 horas. A los grupos de control negativo en los experimentos 1 y 2 se les inyectó solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Hay información limitada sobre la excreción de WSSV en camarones, pero varios estudios previos informaron que WSSV se puede detectar en agua de mar, incluso cuando el número de copias virales en camarones es de aproximadamente 10^2 a 10^3 copias por mg. Estos resultados sugieren que el grado de severidad de G1 (umbral: $3,1 \times 10^3$ copias por mg) y G2 (umbral: $8,5 \times 10^4$ copias por mg) en camarones induce suficientemente la diseminación viral y la mortalidad, respectivamente. Dado que no se pudo determinar la viabilidad del virus mediante PCR en tiempo real, se necesitan más estudios para aclarar la correlación entre el análisis histopatológico y los ensayos moleculares, incluida una combinación de hallazgos histopatológicos y viabilidad viral determinada mediante ensayos de PCR de viabilidad.

Protección de una novedosa nanovacuna de ARN contra el Virus del Síndrome de la Mancha Blanca en camarones

Se puede diseñar de manera realista una nanovacuna de ARN segura, eficaz y aplicable en el campo contra enfermedades infecciosas que afectan a la acuicultura.



Global Seafood Alliance

La diseminación viral es esencial para predecir las cargas de virus en el agua de mar y los niveles de exposición de las personas sin experiencia en contacto con personas infectadas (o expuestas a agua contaminada) y podría ser una herramienta útil para comprender la epidemiología de la enfermedad. Los resultados de otros estudios sugieren que la tasa de excreción viral se correlaciona positivamente con la gravedad y viabilidad del huésped. Por lo tanto, los grados de gravedad de los camarones y las cargas virales en el agua de mar podrían ser factores útiles para determinar la gravedad de la enfermedad y rastrear los brotes de enfermedades en estudios epidemiológicos.

Similar a los resultados de los desafíos de inyección, la infección progresó más rápidamente a 25 grados-C. En los grupos de 20 y 30 grados-C, la mortalidad masiva de los grupos receptores ocurrió a partir de los 7 días post-infección (dpi), con más de 10^5 copias del genoma del WSSV por mg de copias virales en pleópodos (patas abdominales). En los grupos a los que se administró 10^3 copias del genoma de WSSV por camarón, se observó una mortalidad acumulada del 100 por ciento a 25 grados-C tanto en el grupo de donantes como en el de receptores. Para el grupo de 20 grados-C, la infección del grupo receptor se confirmó a los 9 dpi, mientras que las cargas virales en el agua de mar se

exhibieron como 10^2 a 10^3 copias del genoma WSSV por ml. Además, el máximo de copias virales de pleópodos exhibidas en los grupos receptores coincidió con la observación de mortalidad masiva (30 y 25 grados-C: 9 dpi; 20 grados-C: 11 dpi; Fig. 3).

Fig. 3: Copias virales medias de pleópodos en receptores (n = 3) y cargas virales de agua de mar en el experimento 5 (desafío de cohabitación) a lo largo del tiempo. Los valores en cada gráfico indican las copias virales medias/mg (la prevalencia de cada camarón muestreado) y las copias virales medias por ml. El bloque gris indica valores por debajo del valor del 95 por ciento del límite de detección (LOD), y el cuadro marcado con una "x" blanca indica puntos de tiempo en los que no se realizaron mediciones debido a que todos los camarones estaban muertos. Adaptado del original.

Con base en estos resultados, encontramos que a pesar de la influencia de la temperatura del agua en la transmisión del WSSV a través del agua, 10^5 , 10^3 y 10^1 copias del genoma del WSSV por ml en el agua de mar podrían inducir infecciones transmitidas por el agua en aproximadamente uno, tres y siete días, respectivamente. Estos resultados sugieren que la transmisión del WSSV a través del agua se ve afectada no solo por la carga viral en el agua de mar, sino también por la duración de la exposición. Por lo tanto, para comprender mejor la transmisión del WSSV a través del agua, es importante analizar la diseminación viral para estimar su impacto en individuos ingenuos.

En los sistemas de cultivo de camarones en estanques, la interacción entre los huéspedes infectados y los no infectados podría ser crucial para mantener la viabilidad del WSSV. Un estudio anterior investigó la viabilidad de WSSV en agua de mar e informó que WSSV podría conservarse hasta 14 días en agua de mar en condiciones de laboratorio. Según este y otros estudios, las cargas virales en el agua de mar podrían mantenerse a través de interacciones con huéspedes o vectores, y estas interacciones ayudaron a que el WSSV permaneciera viable durante un período prolongado. Para aclarar el mecanismo de transmisión horizontal del WSSV en los sistemas de cultivo en estanques, se necesitan más estudios para investigar las interacciones más complejas, como la influencia del canibalismo y la dinámica del WSSV entre especies huésped, vectores y reservorios.

Perspectivas

Investigamos la correlación entre el grado de gravedad de la enfermedad y los cambios clínicos en los camarones infectados con WSSV. Nuestros resultados revelaron que un grado de gravedad de G2 (valor de corte: $10^{4,9}$ copias por mg) fue suficiente para inducir la mortalidad en los camarones *L. vannamei* y los camarones infectados con un grado de gravedad de G1 (valor de corte: $10^{3,5}$ copias por mg) fue capaz de eliminar el virus.

Sobre la base de la correlación entre el grado de gravedad de la enfermedad y la tasa de excreción viral, determinamos una correlación positiva entre las copias virales de los pleópodos y la tasa de excreción viral ($y = 0,7076x + 1,414$; $p < 0,001$). Además, las pruebas de desafío que imitan las condiciones naturales (desafíos de inmersión y cohabitación) revelaron que 10^5 , 10^3 y 10^1 copias del genoma de WSSV por ml de agua de mar podrían inducir una infección transmitida por el agua en 1, 3 y 7 días, respectivamente.

Nuestros hallazgos sobre el modelo de transmisión por agua del WSSV pueden ayudar a comprender la dinámica del WSSV en un sistema de cultivo en estanques. Además, nuestros resultados se pueden utilizar para dilucidar aún más las interacciones entre las especies durante los brotes de enfermedades y la propagación de WSD en los sistemas de cultivo en estanques.

Author



DR. KWANG-IL KIM

Corresponding author

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Republic of Korea

kimki@pknu.ac.kr (mailto:kimki@pknu.ac.kr)

All rights reserved.