

JACUMAR

JUNTA NACIONAL ASESORA DE CULTIVOS MARINOS

PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS

INFORME FINAL EXTENSO

Título: GESTIÓN SANITARIA EN ACUICULTURA Y CARACTERIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE CONDICIONES DE SANIDAD ANIMAL EN ACUICULTURA MARINA: CREACIÓN DE MAPAS EPIDEMIOLÓGICOS Y ELABORACIÓN DE ESTRATEGIAS PARA EL DISEÑO DE UNA RED DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA.

Subproyecto: Caracterización y estandarización de condiciones de sanidad animal en acuicultura marina: creación de mapas epidemiológicos y elaboración de estrategias para el diseño de una red de vigilancia epidemiológica.

Coordinación: D.G. Ganadería y Pesca de Murcia

INDICE

| | | |
|--------|---|-----|
| 1 | <i>Datos Administrativos</i> | 4 |
| | <i>Murcia</i> | 5 |
| | <i>Canarias</i> | 8 |
| | <i>Galicia</i> | 10 |
| 2 | <i>Resultados Técnicos del Plan</i> | 15 |
| 2.1. | <i>Objetivos Iniciales</i> | 15 |
| 2.2 | <i>Objetivos Realizados</i> | 17 |
| 2.3 | <i>Metodología</i> | 17 |
| 2.4 | <i>Resultados</i> | 28 |
| 2..4.1 | <i>Desarrollo del Plan Piloto de Vigilancia Epidemiológica en Acuicultura Marina</i> | 28 |
| | <i>Controles Rutinarios</i> | 28 |
| | <i>Seguimientos Específicos</i> | 39 |
| | <i>Focos de Enfermedad</i> | 44 |
| 2.4.2 | <i>Modelo de Programa de Vigilancia Epidemiológica</i> | |
| | <i>Peculiaridades en Murcia</i> | 54 |
| | <i>Peculiaridades en Canarias</i> | 56 |
| | <i>Peculiaridades en Galicia</i> | 57 |
| 2.4.3 | <i>Sistema de Vigilancia Zoonositaria</i> | 59 |
| | <i>S.V.Z. en Murcia</i> | 70 |
| | <i>S.V.Z. en Galicia</i> | 72 |
| | <i>S.V.Z. en Canarias</i> | 75 |
| 2.4.4 | <i>Mejora de Métodos Diagnósticos en Planes de Vigilancia Epidemiológica</i> | 78 |
| | <i>Protocolo Normalizado de Trabajo para Muestreo y Diagnóstico de Betanodavirus, VHSV e IPNV en peces silvestres y cultivados.</i> | 80 |
| 2.4.5 | <i>Prevalencia de Enfermedades Víricas en Acuicultura y Peces Silvestres</i> | 86 |
| | <i>Resultados en Galicia</i> | 86 |
| | <i>Resultados en Canarias</i> | 98 |
| | <i>Resultados en Murcia</i> | 112 |
| 2.4.6 | <i>Mapas de Especies Sensibles y Portadoras</i> | 154 |
| | <i>Mapas en Murcia</i> | 159 |
| | <i>Mapas en Canarias</i> | 165 |
| | <i>Mapas en Galicia</i> | 172 |
| 2.4.7 | <i>Vigilancia Epidemiológica en Carnada de Atunes</i> | 180 |
| 2.4.8 | <i>Enfermedades Parasitarias</i> | 187 |
| | <i>Resultados Murcia</i> | 187 |
| | <i>Resultados Galicia</i> | 210 |
| | <i>Resultados Canarias</i> | 223 |

| | | |
|--------|--|-----|
| 2.4.9 | <i>Protocolo de Actuación ante la aparición de positivos a Enfermedades de Declaración Obligatoria en peces silvestres</i> | 224 |
| 2.4.10 | <i>Formación de personal Técnico de Campo y Laboratorio</i> | 229 |
| 2.5. | <i>Conclusiones</i> | 234 |
| 2.6. | <i>Valoración</i> | 235 |
| 2.7. | <i>Difusión</i> | 239 |
| | <i>Difusión Murcia</i> | 239 |
| | <i>Difusión Galicia</i> | 266 |
| | <i>Difusión Canarias</i> | 272 |
| | <i>Difusión Coordinación</i> | 275 |
| 2.8. | <i>Incidencias Desarrollo</i> | 276 |
| 3. | <i>Anexos con los informes de cada uno de los grupos de trabajo participantes:</i> | 280 |
| | <i>Informe Galicia (Anexo I)</i> | |
| | <i>Informe Canarias (Anexo II)</i> | |
| | <i>Informe Murcia (Anexo III)</i> | |

1.- DATOS ADMINISTRATIVOS

TITULO:

Caracterización y estandarización de condiciones de sanidad animal en acuicultura marina: creación de mapas epidemiológicos y elaboración de estrategias para el diseño de una red de vigilancia epidemiológica

FECHAS DE REALIZACIÓN

Inicio: **2007**

Finalización: **2010**

PRESUPUESTO TOTAL EN EUROS

559.420 EUROS

DATOS DEL COORDINADOR DEL PROYECTO

Nombre y Apellidos: **José Peñalver García**

Organismo/ Centro: **Dirección General de Ganadería y Pesca de la Región de Murcia. Consejería de Agricultura y Agua.**

Departamento: **Servicio de Pesca y Acuicultura**

Teléfono: **968 184518**

Fax: **968 184518**

Correo electrónico: **jose.penalver2@carm.es**

Dirección postal completa: **Centro de Recursos Marinos. Paraje Las Salinas nº7 Puerto de San Pedro. 30740. San Pedro del Pinatar, Murcia.**

PARTICIPANTES por cada Comunidad Autónoma

A. COMUNIDAD AUTÓNOMA DE LA REGIÓN DE MURCIA

CENTROS DE INVESTIGACIÓN

Tipo de centro: Organismo Público
Nombre: Servicio de Pesca y Acuicultura. Dirección General de Ganadería y Pesca. Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia.
CIF: S-3011001-I
Nombre Representante Legal: Adolfo Falagán Prieto

Tipo de centro: Centro Público de Investigación
Nombre: Centro de Investigación en Sanidad Animal. Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria
CIF: Q-2821013-f
Nombre Representante: José María Nieto Martínez

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Apellidos: Peñalver García
Nombre: José
Organismo: Consejería de Agricultura y Agua
Centro: Centro de Recursos Marinos
Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca
Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura
Teléfono: 968 184518 Fax.: 968 184518
Correo electrónico: jose.penalver2@carm.es
Dirección Postal: Centro de Recursos Marinos. Paraje Las Salinas nº7
Puerto de San Pedro. 30740. San Pedro del Pinatar, Murcia.

INVESTIGADORES

Apellidos: María Dolores Pedrero
Nombre: Emilio
Organismo: Consejería de Agricultura y Agua
Centro: Centro de Recursos Marinos
Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca
Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura
Teléfono: 968 326635 Fax.: 968 326644
Correo electrónico: emilio.mariadolores@carm.es

Dirección Postal: Servicio de Pesca y Acuicultura. Edificio Foro. Calle Campos
4. Cartagena, Murcia

Apellidos: Bermúdez Rodríguez

Nombre: Leandro

Organismo: Consejería de Agricultura y Agua

Centro: Centro de Recursos Marinos

Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura

Teléfono: 968 326635

Fax.: 968 326644

Correo electrónico: leandro.bermudez@carm.es

Dirección Postal: Servicio de Pesca y Acuicultura. Edificio Foro. Calle Campos
4. Cartagena, Murcia

Apellidos: Bernal Gómez

Nombre: Obdulía

Organismo: Consejería de Agricultura y Agua

Centro: Centro de Recursos Marinos

Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura

Teléfono: 968 326635 Fax.: 968 326644

Correo electrónico: obdulia.bernal@carm.es

Dirección Postal: Servicio de Pesca y Acuicultura. Edificio Foro. Calle Campos
4. Cartagena, Murcia

Apellidos: Díaz García

Nombre: Rafael

Organismo: Consejería de Agricultura y Agua

Centro: Centro de Recursos Marinos

Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura

Teléfono: 968 326635 Fax.: 968 326644

Correo electrónico: rafael.diaz2@carm.es

Dirección Postal: Servicio de Pesca y Acuicultura. Edificio Foro. Calle Campos
4. Cartagena, Murcia

Apellidos: Mateos Aparicio

Nombre: Antonio

Organismo: Consejería de Agricultura y Agua

Centro: Centro de Recursos Marinos

Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura

Teléfono: 968 326635 Fax.: 968 326644
Correo electrónico: antonio.mateosaparicio@carm.es
Dirección Postal: Servicio de Pesca y Acuicultura. Edificio Foro. Calle Campos
4. Cartagena, Murcia

Apellidos: Viuda Albacete
Nombre: Elvira
Organismo: Consejería de Agricultura y Agua
Centro: Centro de Recursos Marinos
Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca
Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura
Teléfono: 968 326635 Fax.: 968 326644
Correo electrónico: elvira.viuda@carm.es
Dirección Postal: Servicio de Pesca y Acuicultura. Edificio Foro. Calle Campos
4. Cartagena, Murcia

Apellidos: Muñoz Ruiz
Nombre: Pilar
Organismo: Universidad de Murcia
Centro: Facultad de Veterinaria
Departamento: Sanidad Animal
Equipo: Enfermedades Parasitarias
Teléfono: 868 884845
Correo electrónico: pilarmun@um.es
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria, Campus Universitario de Espinardo,
30100, Murcia.

Apellidos: Tafalla Piñeiro
Nombre: Carolina
Organismo: Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y
Alimentaria. Ministerio de Educación y Ciencia.
Centro: Centro de Investigación en Sanidad Animal
Departamento: Sanidad Animal
Equipo: Respuesta Inmune de Peces Teleósteos.
Teléfono: 916 202300
Correo electrónico: tafalla@inia.es
Dirección Postal: Centro de Investigación en Sanidad Animal. Carretera de
Algete a El Casar km 8,1. Valdeolmos, 28130, Madrid.

Apellidos: López Martínez
Nombre: Gines
Organismo: Consejería de Agricultura y Agua
Centro: Laboratorio Agrario y de Sanidad Animal

Departamento: DG Modernización de Explotaciones y Capacitación Agraria
Equipo: Técnicas Moleculares en Sanidad Animal
Teléfono: 968 365591
Correo electrónico: gines.lopez4@carm.es
Dirección Postal: Laboratorio Agrario y de Sanidad Animal. Carretera de Mazarrón s/n, El Palmar, Murcia

Apellidos: Romero Baldonado
Nombre: Emilio
Organismo: Consejería de Agricultura y Agua
Centro: Centro de Recursos Marinos
Departamento: Dirección General de Ganadería y Pesca
Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura
Teléfono: 968 326635 Fax.: 968 326644
Correo electrónico: emilio.romero@carm.es
Dirección Postal: Servicio de Pesca y Acuicultura. Edificio Foro. Calle Campos 4. Cartagena, Murcia

B. COMUNIDAD AUTÓNOMA DE CANARIAS

CENTRO DE INVESTIGACIÓN

Tipo de centro: Instituto de Investigación
Nombre: Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria
CIF: Q-3518001-G.
Nombre Representante Legal: Antonio Fernández Rodríguez

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Apellidos: Real Valcárcel
Nombre: Fernando
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741 Fax.: 928451142
Correo electrónico: vidi@ulpgc.es
Dirección Postal: Vicerrectorado de Investigación. Sede Institucional. Juan de Quesada nº30. 35001. Las Palmas de Gran Canaria

INVESTIGADORES

Apellidos: Padilla Castillo
Nombre: Daniel
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741 Fax.: 928451142
Correo electrónico: dpadilla@dpat.ulpgc.es
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria. Trasmontaña s/n. 35416. Arucas

Apellidos: Acosta Arbelo
Nombre: Félix
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741
Fax.: 928451142
Correo electrónico: fcosta@dpat.ulpgc.es
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria. Trasmontaña s/n. 35416. Arucas

Apellidos: Bravo García
Nombre: Jimena
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741
Fax.: 928451142
Correo electrónico: bravogarciaj@yahoo.es
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria. Trasmontaña s/n. 35416. Arucas

Apellidos: Grasso
Nombre: Valentina
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741
Fax.: 928451142
Correo electrónico: valegra79@hotmail.com
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria. Trasmontaña s/n. 35416. Arucas

Apellidos: Román Fuentes
Nombre: Lorena
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741
Fax.: 928451142
Correo electrónico: ketama_lore@hotmail.com
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria. Trasmontaña s/n. 35416. Arucas

Apellidos: Vega Alonso
Nombre: Judit
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741
Fax.: 928451142
Correo electrónico: judit.vega.alonso@gmail.com
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria. Trasmontaña s/n. 35416. Arucas

Apellidos: Sorroza Ochoa
Nombre: Lita
Organismo: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
Centro: Instituto Universitario de Sanidad Animal
Departamento: Unidad de Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología
Teléfono: 928459741
Fax.: 928451142
Correo electrónico: sorrozalita@yahoo.es
Dirección Postal: Facultad de Veterinaria. Trasmontaña s/n. 35416. Arucas

C. COMUNIDAD AUTÓNOMA DE GALICIA

CENTROS DE INVESTIGACIÓN

Tipo de centro: Admón. Pública de Comunidad Autónoma
Nombre: Xunta de Galicia
CIF: S 1511001-H
Nombre Representante Legal: Susana Rodríguez Carballo, Directora Xeral de Desenvolvemento Pesqueiro de la Consellería do Mar.

Tipo de centro: Admón. Pública de Comunidad Autónoma
Nombre: Xunta de Galicia
CIF: S 1511001-H
Nombre Representante Legal: Pablo Ramón Fernández Asensio, Director Xeral de Ordenación e Xestión dos Recursos Mariños

Tipo de centro: Admón. Pública de Comunidad Autónoma
Nombre: Xunta de Galicia
CIF: S 1511001-H
Nombre Representante Legal: José Álvarez Robledo, Director Xeral de Producción Agropecuaria

Tipo de centro: Ente público
Nombre: Instituto Tecnolóxico de Control do Medio Mariño de Galicia (INTECMAR)
CIF: Q3600376B
Nombre Representante Legal: Covadonga Salgado Blanco

Tipo de centro: Centro Público de Investigación
Nombre: Centro de Investigacións Mariñas (CIMA)
CIF: S 1511001-H
Nombre Representante Legal: Susana Rodríguez Carballo. Directora Xeral de Desenvolvemento Pesqueiro. Consellería do Mar da Xunta de Galicia

Tipo de centro: Universidad
Nombre: Universidad de Santiago de Compostela
CIF: Q-1518001A
Nombre Representante Legal: Juan J. Casares Long

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Apellidos: Areoso Casal
Nombre: Eloy Jesús
Organismo: Xunta de Galicia
Centro: Consellería do Mar
Departamento: Departamento Territorial da Coruña
Teléfono: 981 182 602 / 610 254 747
Fax.: 981 182 027
Correo electrónico: eloy.areoso.casal@xunta.es
Dirección Postal: Alférez Provisional 5-3º 15006 A Coruña

INVESTIGADORES

Apellidos: García Iglesias
Nombre: Basílides
Organismo: Xunta de Galicia
Centro: Consellería do Mar
Departamento: Sección de Seguridade Alimentaria e Sanidade Animal
Teléfono: 981 544 082 Fax.: 981 545 025
Correo electrónico: basilides.garcia.iglesias@xunta.es
Dirección Postal: Valiño 63-65 15703 Santiago de Compostela

Apellidos: Alonso Juste
Nombre: M^a José
Organismo: Xunta de Galicia
Centro: Consellería do Mar
Departamento: Departamento Territorial de Vigo
Teléfono: 986 817 136 Fax.: 986 817 102
Correo electrónico: maria.jose.alonso.juste@xunta.es
Dirección Postal: Concepción Arenal 8 36201 Vigo

Apellidos: Juan
Nombre: Marí Puget
Organismo: Xunta de Galicia
Centro: Consellería do Mar
Departamento: Departamento Territorial de Lugo
Teléfono: 982 555 023
Fax.: 982 555 007
Correo electrónico: juan.mari.puget@xunta.es
Dirección Postal: Avda Ramón Canosa s/n 27863 Celeiro-Viveiro

Apellidos: Hidalgo Cortijo
Nombre: Araceli
Organismo: Xunta de Galicia
Centro: Consellería do Mar
Departamento: Servicio de Innovación Tecnolóxica da Acuicultura
Teléfono: 981 540 108
Fax.: 981 546 290
Correo electrónico: araceli.hidalgo.cortijo@xunta.es
Dirección Postal: Rúa do Sar 75 15702 Santiago de Compostela

Apellidos: Muñoz Barbero
Nombre: Antonio
Organismo: Xunta de Galicia
Centro: Consellería de Medio Rural
Departamento: Servicio de Controis na Cadea Alimentaria
Teléfono: 981 544789
Fax.: 981 545 735
Correo electrónico: antonio.munoz.barbero@xunta.es
Dirección Postal: Edificio administrativo San Caetano s/n
15781 Santiago de Compostela (A Coruña)

Apellidos: Darriba Couñago
Nombre: Susana
Organismo: Consellería do Mar
Centro: INTECMAR
Departamento: Unidade de Patoloxía
Teléfono: 986512320
Fax.: 9865123..
Correo electrónico: sdarriba@intecmar.org
Dirección Postal: Peirao de Vilaxoán s/n – 36611 – Vilagarcía de Arousa –
Pontevedra – Galicia

Apellidos: Iglesias Estepa
Nombre: David
Organismo: Dirección Xeral de Desenvolvemento Pesqueiro (Xunta de Galicia)
Centro: CIMA
Departamento: Area de Recursos Mariños
Teléfono: 886 206348 Fax.: 986 506788
Correo electrónico: iglesias.david@cimacoron.org
Dirección Postal: Pedras de Corón, s/n. Apdo. 13. 36620 Vilanova de Arousa (Pontevedra).

Apellidos: Villalba García
Nombre: Antonio
Organismo: Dirección Xeral de Desenvolvemento Pesqueiro, Consellería do mar da Xunta de Galicia
Centro: Centro de Investigacións Mariñas (CIMA)
Departamento: Área de Patoloxía
Teléfono: 886206331, 886206364
Fax.: 986506788
Correo electrónico: villalba@cimacoron.org
Dirección Postal: Pedras de Corón s/n, Apto.13, 36620 Vilanova de Arousa (Pontevedra)

Apellidos: Carlos
Nombre: Pereira Dopazo
Organismo: Universidad de Santiago de Compostela
Centro: Instituto de Acuicultura
Departamento: Unidad de Ictiopatología-
Equipo: Scc Patología Viral
Teléfono: 881816083 Fax.: 881816047
Correo electrónico: carlos.pereira@usc.es
Dirección Postal: Instituto de Acuicultura, Campus Sur. 15782 Universidad de Santiago de Compostela

Apellidos: Isabel
Nombre: Bandín Matos
Organismo: Universidad de Santiago de Compostela
Centro: Instituto de Acuicultura
Departamento: Unidad de Ictiopatología-
Equipo: Scc Patología Viral
Teléfono: 881816083 Fax.: 881816047
Correo electrónico: carlos.pereira@usc.es
Dirección Postal: Instituto de Acuicultura, Campus Sur. 15782 Universidad de Santiago de Compostela

Apellidos: Bermúdez Pose
Nombre: Roberto
Organismo: Universidad de Santiago de Compostela
Centro: Facultad de Veterinaria de Lugo
Departamento: Anatomía y Producción Animal
Equipo: Unidad de Patología de Peces
Teléfono: 982285900, ext: 22341 -
Fax.: 982285939
Correo electrónico: roberto.bermudez@usc.es
Dirección Postal: Avda. Carballo Calero s/n 27002 Lugo

2.- RESULTADOS TECNICOS DEL PLAN NACIONAL

2.1. OBJETIVOS INICIALES

2.1.1. OBJETIVO GENERAL:

Elaboración de estrategias de actuación para el diseño de una Red de Vigilancia Epidemiológica para las enfermedades de interés en acuicultura marina por parte de las autoridades competentes, donde se controlarán ejemplares procedentes de las granjas y ejemplares procedentes del medio silvestre (especies cultivadas y otras especies centinela).

En el caso de las enfermedades que no están sujetas a programas oficiales de control o vigilancia, la creación de redes de vigilancia epidemiológica.

2.1.2. OBJETIVOS PARCIALES:

Los objetivos parciales iniciales del proyecto eran los siguientes:

- Establecer un modelo teórico/práctico para el establecimiento de una red de vigilancia sanitaria en acuicultura marina. El modelo creado para las enfermedades víricas deberá ser extrapolable, en la medida de posible, al resto de patologías infectocontagiosas.
- La puesta a punto, mejora y optimización de técnicas de diagnóstico sensibles y específicas de respuesta rápida.
- Mejorar el conocimiento sobre los niveles de prevalencia de las principales enfermedades víricas de importancia en acuicultura marina. Creación de bases de datos y mapas epidemiológicos.
- Aportar datos sobre niveles de prevalencia de estas enfermedades víricas en las poblaciones silvestres, tanto de las especies cultivadas como de otras que puedan actuar como monitoras.
- Valorar y establecer los procedimientos prácticos para el diagnóstico de enfermedades víricas en acuicultura de forma rutinaria y su aplicación en situaciones de alerta sanitaria.

- Confeccionar un mapa epidemiológico para las enfermedades víricas en acuicultura marina.
- Mejorar la formación de personal técnico de campo y de laboratorio.

Junto a estos objetivos iniciales, a lo largo del proyecto, y por distintas causas, se han añadido cuatro nuevos objetivos parciales que se describen a continuación:

- La Memoria Científico-Técnica del Proyecto planteaba la posibilidad de realizar controles parasitológicos siguiendo la idea de valorar la interacción entre peces silvestres y cultivados y obtener la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanta incidencia en la acuicultura marina.
- La publicación del Reglamento (CE) 1251/2008 referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y por la que se establece una lista de especies portadoras da mayor importancia a este trabajo. Los resultados de este proyecto aportan nuevos datos científicos y prácticos sobre especies portadoras. Por todo ello, dentro de los objetivos del subproyecto, se ha incorporado un nuevo objetivo, consistente en valorar el papel de las distintas especies analizadas por los grupos participantes como especies portadoras para Septicemia Hemorrágica Vírica en el marco de la nueva normativa sanitaria comunitaria.
- A propuesta de técnicos de la Dirección General de Sanidad Animal del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino se incorpora como otro nuevo objetivo parcial el diseño de un protocolo de actuaciones ante la aparición de una enfermedad listada en ejemplares de peces silvestres.
- El Real Decreto 1614/2008, relativo a los requisitos zoonosarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos (Traspone Directiva 2006/88/CE) establece como uno de los requisitos para la autorización de las instalaciones de acuicultura el establecimiento de un Sistema de Vigilancia Zoonosaria. Este sistema debe ser capaz de detectar la aparición de alguna de las enfermedades listadas, así como mortalidades por encima de una tasa normal que debe establecerse entre la administración y las empresas. Se propone definir un modelo de Sistema de Vigilancia Zoonosaria en piscicultura marina así como establecer valores de referencia en cuanto a niveles de mortalidad en las distintas especies.

2.2. OBJETIVOS REALIZADOS

Todos los objetivos inicialmente expuestos en la memoria del proyecto así como los objetivos parciales posteriormente incorporados han sido realizados satisfactoriamente por los grupos participantes.

2.3. METODOLOGÍA

La metodología se ha basado en la realización de un Proyecto Piloto de Vigilancia Epidemiológica tal y como se propuso en la Memoria Científico-Técnica del Proyecto.

Durante el primer año del proyecto se dedicó el primer semestre a las siguientes actividades:

- Adecuación de un espacio físico en el cual poder realizar las pruebas diagnósticas.
- Obtención del material e infraestructura necesarios.
- Recopilación y búsqueda bibliográfica.
- Preparación del personal técnico.
- Solicitar la colaboración de las empresas de acuicultura y de las cofradías para la obtención de ejemplares. Establecer un acuerdo para la compensación económica por la retirada de ejemplares.
- Elaborar ficha de toma de muestras
- Elaborar un protocolo y una ficha de necropsia.
- Elaborar un sistema de registro de muestras.
- Crear base de datos informática de resultados
- Puesta a punto de las técnicas diagnósticas para enfermedades objetivo: nodavirus (VER), necrosis pancreática infecciosa (NPI) y septicemia vírica hemorrágica (SHV).
- Definir y coordinar la programación de los muestreos a realizar en cada comunidad autónoma.

El segundo semestre del primer año, así como los restantes semestres del segundo y tercer año se realizaron los muestreos y los análisis de laboratorio que han supuesto el mayor peso y esfuerzo en el desarrollo de este trabajo.

Durante el desarrollo del proyecto se han realizado al menos dos reuniones de coordinación anuales en las que, entre otros asuntos, se valoraban los resultados

parciales obtenidos y se analizaban las dificultades técnicas y logísticas presentadas.

De manera paralela, se han creado diversos grupos de trabajo formados por personal especializado, tanto investigadores como responsables sanitarios de la administración competente en sanidad animal con el fin de desarrollar diversos protocolos e informes, los cuales forman una parte esencial de los resultados prácticos del presente proyecto.

El último año del proyecto ha sido dedicado a finalizar estudios y análisis pendientes de la última campaña, dedicándose especialmente al análisis y valoración de la información obtenida, así como a la elaboración de informes, guías y protocolos.

A continuación se va a desarrollar la *Metodología de Trabajo en la realización del Proyecto Piloto de Vigilancia Epidemiológica en Acuicultura Marina*. Para ello se van a exponer en primer lugar las bases epidemiológicas del muestreo, a continuación la programación de los muestreos y por último la obtención y procesado de las muestras

A. Bases epidemiológicas del muestreo:

El plan piloto de vigilancia se ha realizado mediante controles rutinarios, seguimientos específicos y en caso de focos de enfermedad.

1. Controles rutinarios.

Se realizan sobre especies de elevada importancia comercial en acuicultura y sobre especies silvestres que de forma directa o indirecta puedan afectar a su estado sanitario.

Para ello, se planifica el muestreo anualmente, estableciéndose los criterios en base al número de instalaciones de acuicultura y fauna piscícola silvestre. Se realizan dos controles anuales, distribuyéndose las especies y el número de ejemplares entre las distintas zonas marítimas.

Las especies objeto de estudio serán:

- Ejemplares de las especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura.
- Ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural.
- Ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios o sean sensibles a las enfermedades de las especies cultivadas.

1.1. Ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura.

Se realiza el control sobre aquellas especies cultivadas de forma habitual en cada Región. Dicho control se realizará en colaboración con el responsable sanitario de cada explotación. Como resultado del análisis de los peces obtenidos en las granjas se elabora un informe con los resultados obtenidos, una copia del cual es entregada al responsable sanitario. Dichos análisis no suponen un gasto extra para las empresas y la obtención de ejemplares ocasiona el mínimo trastorno sobre las operaciones habituales en las instalaciones.

Se realizan dos controles anuales por explotación. Se obtienen al menos 30 ejemplares en cada control para cada instalación, asumiendo una prevalencia del 10 % con un intervalo de confianza del 95 % (Ossiander y Wedermeyer, 1973). En el caso de más de una especie, el porcentaje de ejemplares es proporcional.

1.2. Ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural.

El objetivo es ver el estado sanitario de las poblaciones silvestres de las especies que habitualmente se cultivan, ya que está demostrado que son especies que frecuentemente pueden ser observadas en los alrededores de las granjas de acuicultura (Dempster y col, 2001). Efectivamente, especies cultivadas como dorada y lubina, y en menor grado el atún, pueden entrar en contacto con las poblaciones silvestres, siendo por ello muy interesante estudiar el potencial peligro de transmisión de enfermedades entre ambos lados de las redes. La distribución de muestras será proporcional para las demarcaciones pesqueras. Cuando se establezcan otras especies de cultivo, serán integradas dentro de este apartado. Se realizarán dos chequeos anuales, si bien, en función de las características de cada zona, podrá establecerse un único control anual.

1.3. Ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios o son sensibles a las enfermedades de las especies cultivadas.

Este estudio se basa en seleccionar las especies que más frecuentemente entran en contacto con las especies de acuicultura así como las especies que en la bibliografía aparecen como sensibles o reservorios de las enfermedades objetivo.

a. Especies silvestres que frecuentan las granjas de acuicultura:

Según diversos estudios, las instalaciones de acuicultura marinas ejercen un efecto de atracción de abundantes peces silvestres, con una gran diversidad biológica. Esta atracción se debe al efecto combinado de la presencia de alimento artificial, atracción química procedente de los peces estabulados y al efecto que ejercen las jaulas como FADs (Fish Attraction Devices). En estudios sobre granjas

del sureste peninsular (Dempster y col, 2001), podemos ver cuales son estas especies y su importancia relativa. Según estos autores, podemos clasificar en tres grupos de especies según su importancia cuantitativa:

| Grupo | Especies | |
|------------------|--|---|
| Mayor frecuencia | Alacha Boga | <i>Sardinella aurita</i> <i>Boops boops</i> |
| Alta frecuencia | Jureles Mújoles Palometa Oblada | <i>Trachurus sp</i> <i>Mugilidae</i> <i>Trachinotus ovatus</i> <i>Oblada melanura</i> |
| Descritos | Aguja Pez limón Chapa Sargo breado Mojarra Sargo Magre Aligote Salpa Lampuga Espetón Dorada Lubina | <i>Belone belone</i> <i>Seriola dumerili</i> <i>Diplodus anularis</i> <i>Diplodus cervinus</i> <i>Diplodus vulgaris</i> <i>Diplodus sargus</i> <i>Lithognathus mormyrus</i> <i>Pagelus acarne</i> <i>Salpa salpa</i> <i>Coryphaena hippurus</i> <i>Sphyraena sphyraena</i> <i>Sparus aurata</i> <i>Dicentrarchus labrax</i> |

La frecuencia y presión de muestreo se realizan en función de la frecuencia de dichas especies en las aguas que rodean las jaulas y que en ocasiones se introducen en el interior de las jaulas, fundamentalmente en el cambio de redes o en el proceso de captación de agua. Se utilizan ejemplares de las dos especies de mayor frecuencia, tres especies de las de alta frecuencia y 5 especies del grupo de descritos. Las especies podrán cambiarse dentro de cada grupo en función de las disponibilidades, respetando el total de ejemplares por grupo. Se intentará, en cualquier caso, el máximo de homogeneidad en las especies muestreadas con el fin de no distorsionar la posterior valoración de los resultados obtenidos.

Los ejemplares procederán de los distintos distritos marítimos, intentando que el porcentaje de ejemplares de cada uno de ellos sea proporcional. Dorada y lubina no se incluyen en estos muestreos, ya que han sido contemplados en el capítulo de especies cultivables procedentes del medio natural.

La selección de las especies silvestres se ha adaptado a las peculiaridades de la fauna ictícola de cada Comunidad Autónoma. En Canarias se tiene en cuenta

la presencia cerca de las jaulas de cultivo de especies como la fula (*Abudefduf luridus*) o la chopo (*Kyphosus sectator*).

b. Especies centinela para las enfermedades objetivo:

Las especies que podrían ser utilizadas como centinela para las enfermedades objetivo en función de los conocimientos científicos actuales para la acuicultura marina mediterránea son los siguientes (FAO-CIHEAM, 2005):

Especies para VER: Lubina, corvina, sargos, mujol, serránidos y lenguado.

Especies para SHV: Lubina, alacha, brótola, lenguado, pescadilla, serránidos, jureles, palometas, mojarra, sargos, aligote, salpa, caballa, gallineta, cabracho, corvina y boga.

Especies para PNI: Dorada, lenguado, anguila, atherinidae, peludas, jureles, cupleiformes y corvina.

De estas especies objetivo, es necesario priorizar entre ellas para poder llevar a la práctica los controles necesarios. Considerando que algunas de las especies ya son chequeadas en base a los apartados comentados anteriormente, se procede a seleccionar 6 especies en función de los siguientes criterios:

- Sensibilidad a las enfermedades
- Disponibilidad y frecuencia de capturas

En base a todo ello, se seleccionan inicialmente determinadas especies, las cuales podrán variarse en función de la experiencia adquirida.

2. Seguimientos específicos

Este grupo de controles, novedosos en su gran mayoría en la acuicultura marina, permitirán diseñar futuros planes de vigilancia epidemiológica por parte de las Autoridades Sanitarias correspondientes:

2.1. Importaciones

Este tipo de controles sanitarios se han realizado en colaboración directa con las Autoridades Sanitarias en materias de sanidad animal de las distintas Comunidades Autónomas.

Se realizan controles sanitarios sobre partidas de peces que procedan de otros países o zonas cuya situación epidemiológica así lo aconseje. Además se realizarán los pertinentes controles de carácter administrativo y documentales.

El control consistirá en un chequeo inicial a la llegada de los animales, y se basará en la inspección visual de un lote de animales (100) y toma de muestras de algunos ejemplares para su análisis, al menos 30 ejemplares. Posteriormente (entre los 3 y los 6 meses) se realizará un control sobre el índice de mortalidad y en su caso se podrán analizar otro lote de ejemplares (bajas de la explotación).

2.2. Nuevas especies de peces en acuicultura

Seguimiento sanitario de todas aquellas especies que se cultiven por primera vez en aguas de nuestra Región.

El control inicial consistirá en la inspección visual de un lote de animales (100) y toma de muestras de algunos ejemplares para su análisis, al menos 30 ejemplares. Posteriormente (entre los 3 y los 6 meses) se realizará un control sobre el índice de mortalidad y en su caso se podrán analizar otro lote de ejemplares (bajas de la explotación). Si la especie pasa a cultivarse de forma habitual, se incluiría dentro de los controles rutinarios.

2.3. Peces de acuicultura de origen desconocido

Cuando el titular de una explotación de acuicultura sea incapaz de demostrar el origen de una partida, esta será considerada como sospechosa y será sometida a un control intensivo. El parte mensual de bajas será remitido mensualmente por el propietario de los animales al Servicio de Pesca y Acuicultura. Sobre los peces se realizará un análisis inicial (30 ejemplares), repitiéndose cada 6 meses.

Lógicamente, este tipo de controles sanitarios se han realizado en colaboración directa con las Autoridades Sanitarias en materias de sanidad animal de las distintas Comunidades Autónomas.

2.4. Control sanitario sobre inmersiones.

Se realizarán controles aleatorios o bien dirigidos sobre un porcentaje de las inmersiones que se realicen en cada Comunidad Autónoma. El criterio variará en función de la situación epidemiológica, del origen de los animales, de la especie, etc. El control consistirá en un chequeo de los peces a su llegada mediante inspección visual y la toma de muestras de 30 peces para su análisis. Con posterioridad, entre los 3 y los 6 meses, se realizará un control del índice de mortalidad del lote.

Este tipo de controles sanitarios se han realizado en colaboración directa con las Autoridades Sanitarias en materias de sanidad animal de las distintas Comunidades Autónomas.

2.5. Peces silvestres sensibles a EDO

En base a los conocimientos sobre epidemiología de las enfermedades EDO, se confeccionará un listado con las especies silvestres sensibles o portadoras, estableciéndose un plan anual de chequeos.

En el caso de Galicia, al tener la costa declarada como zona autorizada de SHV y NHI, realizará controles sobre ambas enfermedades.

2.6. Alimento de atunes

La liberación al medio de peces en su uso como alimento de los atunes enjaulados presenta un potencial riesgo zoonosario, especialmente cuando su origen se sitúa en zonas muy lejanas, pudiendo ser el vehículo de enfermedades para las cuales las poblaciones de peces silvestres de nuestro litoral podrían no estar preparadas inmunológicamente.

Es por ello razonable establecer un programa de monitorización de este tipo de alimento cuando el origen sea distinto al Mediterráneo. En contacto con el responsable sanitario de las instalaciones, se procederá a tomar muestras del alimento presente en cada empresa cada dos meses. El número de ejemplares a analizar será de 60 por especie. Del resultado de los análisis se entregará una copia al responsable sanitario de la explotación.

3. Focos de enfermedad.

Es estos casos se realizará un estudio específico e intensivo como consecuencia de anomalías o mortalidades masivas en las especies marinas. Se realizará en los siguientes supuestos:

a. Cuando exista un foco de enfermedad en acuicultura. A partir de la propia empresa de acuicultura al no poder hacer frente a un proceso o bien de oficio cuando se estime oportuno por los técnicos del Servicio de Pesca y Acuicultura.

b. Cuando exista un foco de mortalidad o cualquier tipo de anomalías en peces silvestres.

El tipo de análisis irá en función de la sintomatología y las lesiones halladas.

B. Programación muestreo

Los niveles de muestreo y las especies a muestrear dependerán de las peculiaridades de cada zona. Se realizará una planificación en función de las especies cultivadas en cada zona así como de las especies silvestres presentes en el medio y de interés para el estudio.

El investigador responsable de cada Comunidad Autónoma informa al coordinador del proyecto, en las reuniones de coordinación, de la planificación del muestreo para cada año. El muestreo diseñado para cada Comunidad Autónoma contemplará, en principio, los siguientes apartados:

1. Controles rutinarios

Grupo 1. Ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura:

Dos controles anuales, con un muestreo mínimo de 30 ejemplares en cada control. Estos controles se realizarán sobre todas las instalaciones de acuicultura marina presentes en cada Comunidad Autónoma.

Grupo 2. Ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural.

La toma de muestras se realizará por semestres. Se chequearán especies pertenecientes a las especies cultivadas en cada Comunidad Autónoma. La frecuencia anual por especies será de al menos 60 ejemplares.

Grupo 3. Ejemplares de especies no cultivadas, ecológicamente relacionadas.

La toma de muestras se realizará por semestres, en verano e invierno. La frecuencia por especies es la siguiente:

| Especies | Número de muestras/ semestre | | Muestreo anual | |
|-------------------|------------------------------|-----------|----------------|-----------|
| | Por especie | Por grupo | Por especies | Por grupo |
| Mayor frecuencia* | 30 | 60 | 60 | 120 |
| Alta frecuencia** | 30 | 90 | 60 | 180 |
| Descritos*** | 15 | 75 | 30 | 150 |

Se seleccionarán dos especies del grupo de mayor frecuencia, tres especies del grupo de alta frecuencia y cinco especies del grupo de descritos.

Grupo 4. Ejemplares de especies no cultivadas, usadas como centinela de enfermedades objetivo:

Las especies preseleccionadas para ser utilizadas como centinelas y la intensidad de muestreo son las que se indican en el cuadro siguiente, si bien se podrán modificar en función de la disponibilidad de ejemplares y de las características pesqueras de cada zona. Las especies que sean muestreadas finalmente serán seleccionadas por el grupo de coordinación.

| Especies | Muestras semestre | Muestreo anual |
|---|-------------------|----------------|
| Lenguado (<i>Solea vulgaris</i>) | 30 | 60 |
| Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) | 30 | 60 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | 30 | 60 |
| Gallineta (<i>Helicolenus dactylopterus</i>) | 30 | 60 |
| Brótola (<i>Phycis spp.</i>) | 30 | 60 |
| Merluza (<i>Merluccius merluccius</i>) | 30 | 60 |

2. Controles específicos

Los controles y análisis sobre importaciones, cultivo de nuevas especies y partidas de peces de origen desconocido no pueden ser planificadas y se realizarán en función de los resultados de las inspecciones realizadas desde los servicios de inspección.

Los controles sobre las inmersiones de alevines serán planificadas anualmente en función de las especies, origen, situación epidemiológica, etc.

Alimentación de atunes

Se controlará la alimentación de los atunes cuando en la comunidad autónoma existan instalaciones para su engorde. Los controles se realizarán durante los meses de noviembre y diciembre. El número de ejemplares a chequear en cada granja autorizada es de 60.

Cronograma estudios sobre carnada de atunes

| Objetivo | Enero/ Febrero | Marzo/ Abril | Mayo/ Junio | Julio/ Agosto | Septiembre/ Octubre | Noviembre/ Diciembre |
|----------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------------|-------------------------|
| Carnada | | | | | | |

Focos de enfermedad

Este tipo de controles no puede ser planificado y se realizará en función de los resultados de las inspecciones realizadas por las Autoridades Sanitarias de las distintas Comunidades Autónomas..

C. Obtención y procesado de las muestras:

1. El origen de los ejemplares analizados será el siguiente:

- Peces de acuicultura, procedentes de los individuos agonizantes o recién muertos de las granjas.
- Peces de pesca extractiva, procedentes de las lonjas o de descartes.
- Peces utilizados como alimento de atunes.
- Chequeos en peces de acuicultura importados.
- Chequeos en peces de acuicultura de origen desconocido.
- Peces silvestres recolectados en el medio natural en brotes de enfermedad o mortalidad.

2. Procesado de las muestras

Cuando se proceda a obtener ejemplares para su posterior análisis, se cumplimentará una ficha con los datos epidemiológicos más relevantes, tanto en los peces de acuicultura como en los de pesca extractiva. Los peces serán transportados rápidamente, en condiciones de frío, al centro donde vayan a ser procesados.

Serán sometidos de forma rutinaria a un análisis morfológico y necropsia lo antes posible anotando cualquier hallazgo significativo, en especial la presencia de lesiones compatibles con linfocitosis. Cuando los ejemplares estén vivos, se obtendrá sangre para su visualización mediante microscopía para el diagnóstico de la necrosis eritrocitaria viral (VEN). Para ello se realizará la tinción de Mc Grunwald-Giemsa. Todos los datos de cada necropsia se reflejarán en la correspondiente hoja de necropsia, la cual podrá tener un diseño colectivo para los ejemplares de una misma partida.

Se extremarán las medidas de higiene y de asepsia, no utilizando el mismo material de disección para más de un ejemplar, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas entre los ejemplares.

Se procederá a extraer muestras de riñón y de encéfalo para cada ejemplar, si bien si se considera oportuno tras la primera reunión de coordinación se podrá extraer también el bazo, el cual sería procesado junto al riñón. Las muestras serán depositadas, en condiciones de frío, en tubos eppendorf. El tamaño de la muestra

será de aproximadamente 0,25 gramos. Las muestras serán procesadas lo antes posible. En caso contrario, se les añadirá un conservante específico (ARN later®) y se mantendrán en frío hasta su análisis. A partir de las muestras de encéfalo se realizará el diagnóstico de encefalopatía y retinopatía viral (VER). Las muestras de riñón serán utilizadas para el diagnóstico de septicemia viral hemorrágica (SHV) y de necrosis pancreática infecciosa (NPI).

Los ejemplares serán convenientemente identificado, introducidos individualmente en bolsas de plástico y conservados en congelación a -60Cº. Dentro de esas bolsas se guardarán en tubos eppendorf muestras de tejido renal y encefálico restante. En el caso de posibles positivos se podrá realizar así un segundo análisis o bien la realización de técnica oficial de confirmación como ocurre en el caso de la SHV, en cuyo caso habría que remitir los ejemplares al laboratorio oficial de referencia que es el de Sanidad Animal y Producción Animal de Algete (Real Decreto 1614/2008). Para el resto de enfermedades, al no ser de declaración obligatoria, podrá ser confirmado por los laboratorios de referencia de cada Comunidad Autónoma.

Respecto a los análisis parasitológicos, la metodología de trabajo es específica para cada uno de las especies estudiadas, por lo que será descrita de forma individualizada en cada uno de los casos.

La información recogida en las fichas de toma de muestras, en las hojas de necropsia y en los boletines analíticos de laboratorio será centralizada en una base de datos informática.

2.4. RESULTADOS

2.4.1. DESARROLLO DE PLAN PILOTO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA EN ACUICULTURA MARINA

La sanidad animal tiene una importancia cada vez mayor en la gestión de las empresas de acuicultura. La administración responsable de la sanidad animal debe tener conocimiento científico sobre la realidad epidemiológica de las poblaciones de peces, tanto cultivadas como silvestres, ya que el estado sanitario de unos puede repercutir en el estado de los otros al ser el medio marino un medio no aislable. Se pretendía realizar un plan piloto de vigilancia epidemiológica que abarcase no sólo a los peces de acuicultura sino también a distintas poblaciones. Este Plan puede ser un indicador del estado de salud piscícola, y además puede evidenciar los efectos patológicos que pueden surgir de las relaciones entre poblaciones silvestres y las domésticas o cultivadas.

Los muestreos del plan de vigilancia experimental se realizaron a tres niveles: a) Controles rutinarios sobre ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura, sobre ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural y sobre ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios a las enfermedades de las especies cultivadas o bien ser usadas como especies centinela. b) Seguimientos específicos sobre: las importaciones, las nuevas especies en acuicultura y sobre los peces usados como alimento de atunes. c) Focos de enfermedad. Cuando exista un foco de enfermedad en acuicultura y cuando exista un foco de mortalidad o cualquier tipo de anomalías en peces silvestres.

a) Controles rutinarios

Controles rutinarios sobre ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura, sobre ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural y sobre ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios a las enfermedades de las especies cultivadas o bien ser usadas como especies centinela.

Los muestreos de los controles rutinarios se detallan en la tabla siguiente:

Muestreos de los controles rutinarios por Comunidades Autónomas

| Año | Origen Peces | Canarias | Galicia | Murcia | Total |
|------------------------|---------------------|-----------------|----------------|---------------|--------------|
| 2007 | Acuicultura | 300 | 930 | 209 | 1.439 |
| | Silvestres | 890 | 201 | 352 | 1.449 |
| | Total año | 1.190 | 1.131 | 561 | 2.888 |
| 2008 | Acuicultura | 265 | 1.920 | 376 | 2.561 |
| | Silvestres | 1.322 | 632 | 685 | 2.694 |
| | Total año | 1.587 | 2.552 | 1.061 | 5.255 |
| 2009 | Acuicultura | 320 | 1.860 | 564 | 2.744 |
| | Silvestres | 1.457 | 354 | 621 | 2.432 |
| | Total año | 1.777 | 2.214 | 1.185 | 5.176 |
| Total Comunidad | | 4.554 | 5.910 | 2.707 | |
| Total proyecto | | 13.271 | | | |

Se han seleccionado las enfermedades: encefalopatía y retinopatía viral (VER), de incidencia y gran potencialidad, septicemia viral hemorrágica (SHV) cuya incidencia se considera nula pero que resulta de gran interés la investigación de posibles portadores, especialmente en peces silvestres, y la necrosis pancreática infecciosa (IPN) cuya presencia y/o prevalencia son desconocidas en acuicultura marina mediterránea.

A continuación se va a reflejar un resumen de muestreos por CCAA en función de las especies de acuicultura, silvestres cultivables, merodeadores y centinelas.

MURCIA

Los muestreos en acuicultura se realizaron con ejemplares procedentes de los polígonos acuícolas de San Pedro del Pinatar y el de El Gorguel de Cartagena, así como de las instalaciones acuícolas de Águilas.

Respecto a los muestreos procedentes de la pesca extractiva se realizaron, básicamente, en las Lonjas pesqueras de Lo Pagán (San Pedro del Pinatar), Cartagena, Mazarrón y Águilas.

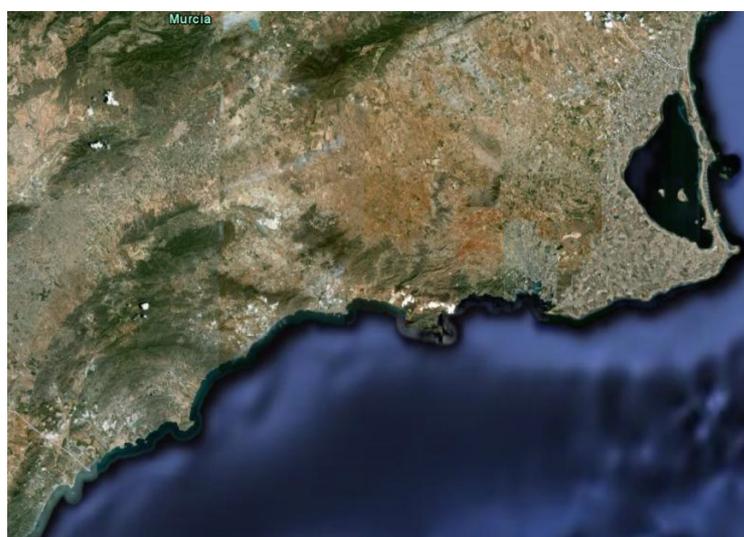


Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 152 | 251 | 192 | 595 |
| | Pesca | 60 | 125 | 79 | 264 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 57 | 105 | 123 | 285 |
| | Pesca | 36 | 12 | 38 | 86 |
| Corvina acuicultura (<i>A. regius</i>) | Acuicultura | 0 | 0 | 70 | 70 |
| Corvina silvestre (<i>S. umbra</i>) | Pesca | 22 | 63 | 22 | 107 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Acuicultura | 0 | 70 | 24 | 94 |
| | Pesca | 30 | 20 | 56 | 106 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Acuicultura | 0 | 148 | 56 | 204 |
| | Pesca | 46 | 0 | 38 | 84 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Acuicultura | 0 | 21 | 44 | 65 |
| | Pesca | 62 | 65 | 51 | 178 |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 30 | 36 | 21 | 87 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 36 | 35 | 32 | 103 |
| Chanquete (<i>Aphia minuta</i>) | Pesca | 0 | 0 | 40 | 40 |
| Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) | Pesca | 0 | 34 | 75 | 109 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | Acuicultura | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | Pesca | 30 | 0 | 36 | 66 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | Acuicultura | 0 | 20 | 55 | 75 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 0 | 0 | 13 | 13 |
| Magre (<i>L. mormyrus</i>) | Pesca | 0 | 33 | 0 | 33 |
| Aligote (<i>Pagellus acarne</i>) | Pesca | 0 | 12 | 0 | 12 |
| Mero (<i>Epinephelus marginatus</i>) | Pesca | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Piche | Pesca | 0 | 0 | 7 | 7 |
| Grisa (<i>Labrus viridis</i>) | Pesca | 0 | 2 | 12 | 14 |
| Salmonete (<i>M. surmuletus</i>) | Pesca | 0 | 3 | 0 | 3 |
| Rascacio (<i>Scorpaena porcus</i>) | Pesca | 0 | 0 | 1 | 1 |
| Caballito (<i>H. guttulatus</i>) | Pesca | 0 | 3 | 0 | 3 |
| Total | | 561 | 1.061 | 1.085 | 2.707 |

Especies de acuicultura

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | 152 | 251 | 192 | 595 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 57 | 105 | 123 | 285 |
| Corvina acuicultura (<i>A. regius</i>) | 0 | 0 | 70 | 70 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | 0 | 70 | 24 | 94 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | 0 | 148 | 56 | 204 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | 0 | 21 | 44 | 65 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | 0 | 20 | 55 | 75 |
| Total | 209 | 616 | 564 | 1389 |

Especies cultivables de origen silvestre

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | 60 | 125 | 79 | 264 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 36 | 12 | 38 | 86 |
| Total | 96 | 137 | 117 | 350 |

Especies merodeadoras

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|-------------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | 30 | 90 | 56 | 176 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | 46 | 148 | 38 | 232 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | 62 | 86 | 51 | 199 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | 30 | 1 | 36 | 67 |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | 36 | 36 | 21 | 93 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | 30 | 35 | 32 | 97 |
| Magre (<i>L. mormyrus</i>) | 0 | 33 | 0 | 33 |
| Total | 234 | 429 | 234 | 897 |

Especies silvestres centinela para enfermedades objetivo

Especies monitoras para VER

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|----------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Lubina | 93 | 117 | 161 | 371 |
| Corvina | 22 | 63 | 92 | 177 |
| Sargo | 36 | 71 | 32 | 139 |
| Mújol | 30 | 0 | 0 | 30 |
| Salpa | 0 | 36 | 21 | 57 |
| Mero | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Total | 181 | 289 | 306 | 776 |

Especies monitoras a VHS

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--------------|------------|------------|------------|--------------|
| Lubina | 93 | 117 | 161 | 371 |
| Alacha | 30 | 90 | 80 | 200 |
| Jurel | 62 | 86 | 95 | 243 |
| Sargo | 36 | 35 | 32 | 103 |
| Corvina | 22 | 63 | 92 | 177 |
| Mújol | 30 | 0 | 0 | 30 |
| Magre | 30 | 0 | 0 | 30 |
| Salpa | 0 | 36 | 21 | 57 |
| Total | 303 | 427 | 481 | 1.211 |

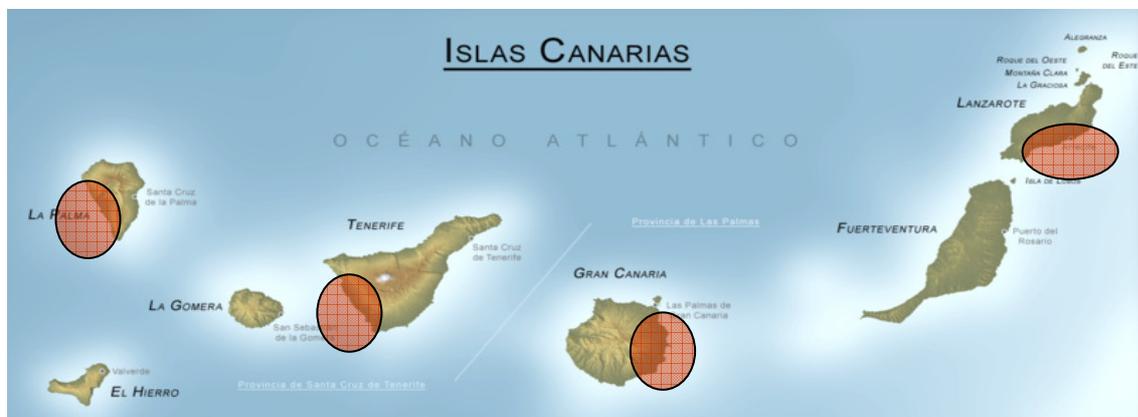
Especies monitoras a IPN

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--------------|------------|------------|------------|-------------|
| Dorada | 212 | 376 | 271 | 859 |
| Alacha | 30 | 90 | 80 | 200 |
| Jurel | 62 | 86 | 95 | 243 |
| Corvina | 22 | 63 | 92 | 177 |
| Total | 326 | 615 | 538 | 1479 |

CANARIAS

En la provincia de Las Palmas, los muestreos se han realizado en las islas de Gran Canaria y Lanzarote, mientras que en la provincia de Santa Cruz, los muestreos se realizaron en las islas de Tenerife y La Palma.

En la isla de Gran Canaria, la zona de muestreo se corresponde con la zona este de la isla, lugar donde se concentran las explotaciones dedicadas a la acuicultura de la isla. La zona de muestreo en Lanzarote se localiza en la zona sur-este de la isla. En la isla de La Palma, el muestreo se realizó en la localidad de Tazacorte. La zona de muestreo de la isla de Tenerife se correspondió con la zona sur-este de la isla.



Los ejemplares objeto de estudio fueron sometidos de forma rutinaria a un análisis morfológico y necropsia en las instalaciones del Instituto Universitario de Sanidad Animal (IUSA). Se procedió a la toma de muestras de riñón, bazo y encéfalo para la realización del diagnóstico de las enfermedades víricas descritas anteriormente.

Se planteó un diseño de muestreos que abarcaba las especies de peces cultivadas en el archipiélago canario (doradas, lubinas, lenguados y corvinas), así como a 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 objeto de estudio.

Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|------|------|------|-------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 120 | 115 | 155 | 390 |
| | Pesca | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 120 | 105 | 150 | 375 |
| | Pesca | 3 | 0 | 0 | 3 |
| Corvina acuicultura (<i>A. regius</i>) | Acuicultura | 60 | 15 | 0 | 75 |
| | Pesca | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Lenguado (<i>Solea solea</i>) | Acuicultura | 0 | 30 | 15 | 45 |
| | Pesca | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Salema (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 53 | 45 | 58 | 156 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 97 | 85 | 71 | 253 |
| Besugo (<i>Pagellus acarne</i>) | Pesca | 72 | 60 | 55 | 187 |
| Bicuda (<i>Sphyræna viridensis</i>) | Pesca | 45 | 18 | 7 | 70 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 94 | 70 | 62 | 226 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Pesca | 90 | 195 | 211 | 496 |
| Fula (<i>Abudefduf luridus</i>) | Pesca | 60 | 70 | 105 | 235 |
| Medregal (<i>Seriola fasciata</i>) | Pesca | 1 | 5 | 0 | 6 |
| Palometa (<i>Trachinotus goodei</i>) | Pesca | 43 | 42 | 47 | 132 |
| Chopa (<i>Spondylisoma cantharus</i>) | Pesca | 40 | 71 | 126 | 237 |
| Sardina (<i>Sardina pilchardus</i>) | Pesca | 107 | 90 | 52 | 249 |
| Mujil (<i>Mujil spp</i>) | Pesca | 66 | 90 | 73 | 229 |
| Cabrilla (<i>Serranus atricauda</i>) | Pesca | 72 | 110 | 86 | 268 |
| Pejeverdes (<i>Thalassoma pavo</i>) | Pesca | 15 | 75 | 92 | 183 |
| Jurel (<i>Pseudocaranx dentex</i>) | Pesca | 0 | 1 | 4 | 5 |
| Pejepeine (<i>Xyrichtys</i>) | Pesca | 0 | 20 | 26 | 46 |

| | | | | | |
|---|--------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| <i>novacula</i>) | | | | | |
| Tamboriles (<i>Chilomycterus atringa</i>) | Pesca | 10 | 50 | 48 | 108 |
| Bocinegros (<i>Pagrus pagrus</i>) | Pesca | 0 | 95 | 145 | 240 |
| Brecas (<i>Pagellus erythrinus</i>) | Pesca | 0 | 95 | 145 | 240 |
| Roncadores (<i>Pomadasyus incisus</i>) | Pesca | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Seifios (<i>Diplodus</i> sp) | Pesca | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Sama de pluma (<i>Dentex gibbosus</i>) | Pesca | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Herrerías (<i>Lithognathus mormyrus</i>) | Pesca | 0 | 5 | 4 | 9 |
| Lagartos (<i>Synodus synodus</i>) | Pesca | 0 | 15 | 21 | 36 |
| Mojarras (<i>Diplodus vulgaris</i>) | Pesca | 0 | 10 | 6 | 16 |
| Galanas (<i>Oblada melanura</i>) | Pesca | 15 | 0 | 13 | 28 |
| Pejerrey (<i>Pomatomus saltatrix</i>) | Pesca | 5 | 0 | 0 | 5 |
| Total | Pesca | 1190 | 1587 | 1777 | 4.554 |

Especies de acuicultura

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | 120 | 115 | 155 | 390 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 120 | 105 | 150 | 375 |
| Corvina acuicultura (<i>A. regius</i>) | 60 | 15 | 0 | 75 |
| Lenguado (<i>Solea solea</i>) | 0 | 30 | 15 | 45 |
| Total | 300 | 265 | 320 | 885 |

Especies cultivables de origen silvestre

Canarias no es zona natural de cría de estas especies, y únicamente podemos encontrar estos ejemplares tras rotura de jaulas de acuicultura. Los 5 ejemplares correspondientes a este grupo de animales, se corresponden con 2 ejemplares de dorada y 3 de lubina capturados en la isla de La Palma en 2007.

Especies merodeadoras

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Salema (<i>Salpa salpa</i>) | 53 | 45 | 58 | 156 |
| Besugo | 72 | 60 | 55 | 187 |
| Bicuda | 45 | 18 | 7 | 70 |
| Boga | 90 | 195 | 211 | 496 |
| Fula | 60 | 70 | 105 | 235 |
| Medregal | 1 | 5 | 0 | 6 |
| Palometa | 43 | 42 | 47 | 132 |

| | | | | |
|---------------|------------|------------|-------------|--------------|
| Chopa | 40 | 71 | 126 | 237 |
| Pejeverdes | 15 | 75 | 92 | 182 |
| Jurel | 0 | 1 | 4 | 5 |
| Pejepeine | 0 | 20 | 26 | 46 |
| Tamboriles | 10 | 50 | 48 | 108 |
| Bocinegros | 0 | 95 | 145 | 240 |
| Brecas | 0 | 95 | 145 | 240 |
| Roncadores | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Seifios | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Sama de pluma | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Herreras | 0 | 5 | 4 | 9 |
| Lagartos | 0 | 15 | 21 | 36 |
| Mojarras | 0 | 10 | 6 | 16 |
| Total | 429 | 877 | 1100 | 2.406 |

Especies silvestres centinela para enfermedades objetivo

Especies monitoras para VER

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|----------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Sargo | 97 | 85 | 71 | 253 |
| Mujil | 66 | 90 | 73 | 229 |
| Cabrilla | 72 | 110 | 86 | 268 |
| Total | 235 | 285 | 230 | 750 |

Especies monitoras a VHS

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|----------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Sargo | 97 | 85 | 71 | 253 |
| Caballa | 94 | 70 | 62 | 226 |
| Cabrilla | 72 | 110 | 86 | 268 |
| Total | 263 | 265 | 219 | 747 |

Especies monitoras a IPN

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|----------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Sardinas | 107 | 90 | 52 | 249 |
| Total | 107 | 90 | 52 | 249 |

GALICIA

Galicia realiza controles semestrales en todas las instalaciones de acuicultura con vistas al mantenimiento de calificación sanitaria de las granjas, por lo que se han realizado muestreos para este proyecto en todas las instalaciones de acuicultura marina.

Los ejemplares de pesca extractiva se obtuvieron de las lonjas pesqueras de Vigo, Celeiro, Burela, Coruña y Ribeira. En el mapa siguiente se reflejan las lonjas pesqueras y las zonas donde se encuentran las instalaciones de acuicultura muestreadas.



En Galicia, las enfermedades seleccionadas fueron: septicemia viral hemorrágica (SHV) y necrosis hematopoyética infecciosa (NHI), respecto de las cuales todas las piscifactorías marinas de Galicia están declaradas como compartimentos indemnes, y también necrosis pancreática infecciosa (IPN) y Betanodavirus.

Además, a partir de los órganos extraídos se realizó siembra en medios de cultivo para aislamiento e identificación de bacterias. En el segundo muestreo anual de 2009, los peces de pesca extractiva además de las analíticas anteriores, fueron sometidos a un estudio anatomopatológico y de detección de parásitos con en fin de completar la información que tendremos de cada uno de ellos.

Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|---|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Rodaballo, (<i>S. maximus</i>) | Acuicultura | 630 | 1.380 | 1.380 | 3.390 |
| | Pesca | 4 | 25 | 25 | 54 |
| Lenguado (<i>Solea spp</i>) | Acuicultura | 180 | 480 | 360 | 1.020 |
| | Pesca | 27 | 60 | 59 | 146 |
| Besugo (<i>Pagellus bogaraveo</i>) | Acuicultura | 60 | 60 | 60 | 180 |
| | Pesca | 12 | 50 | 20 | 82 |
| Abadejo (<i>Pollachius pollachius</i>) | Acuicultura | 30 | 0 | 0 | 30 |
| | Pesca | 13 | 46 | 26 | 85 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 30 | 0 | 0 | 30 |
| | Pesca | 17 | 32 | 37 | 86 |
| Salmón (<i>Salmo salar</i>) | Acuicultura | 0 | 0 | 30 | 30 |
| Trucha (| Acuicultura | 0 | 0 | 30 | 30 |
| Solla (<i>Pleuronectes platessa</i>) | Pesca | 1 | 10 | 9 | 20 |
| Jurel (<i>Trachurus trachurus</i>) | Pesca | 5 | 0 | 7 | 12 |
| Corbina (<i>Argyrosomus regius</i>) | Pesca | 4 | 3 | 7 | 14 |
| Raya (<i>Raja sp; Dasyatis pastinaca</i>) | Pesca | 5 | 12 | 0 | 17 |
| Coruxo (<i>Scophthalmus rombus</i>) | Pesca | 10 | 15 | 16 | 41 |
| Salmonete (<i>Mulus sp.</i>) | Pesca | 21 | 84 | 45 | 150 |
| Peixe agulla (<i>Belone belone</i>) | Pesca | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Palometa (<i>Brama brama</i>) | Pesca | 3 | 0 | 0 | 3 |
| Acedía (<i>Solea lascaris</i>) | Pesca | 11 | 38 | 0 | 49 |
| Sargo (<i>Diplodus sargus</i>) | Pesca | 6 | 57 | 28 | 91 |
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Pesca | 0 | 3 | 0 | 3 |
| Juliana (<i>Lophius piscatorius</i>) | Pesca | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Mero (<i>Epinephelus marginatus</i>) | Pesca | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Rubio | Pesca | 0 | 0 | 14 | 14 |
| Pargo (<i>Pagrus pagrus</i>) | Pesca | 0 | 5 | 10 | 15 |
| Mújel (<i>Chebron labrosus</i>) | Pesca | 58 | 189 | 51 | 298 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Pesca | 15 | 0 | 0 | 15 |
| Total | | 1.144 | 2.552 | 2.214 | 5.910 |

Especies de acuicultura

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Rodaballo, (<i>S. maximus</i>) | 630 | 1380 | 1380 | 3390 |
| Lenguado (<i>Solea spp</i>) | 180 | 480 | 360 | 1020 |
| Besugo (<i>Pagellus bogaraveo</i>) | 60 | 60 | 60 | 180 |
| Abadejo (<i>Pollachius pollachius</i>) | 30 | 0 | 0 | 30 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 30 | 0 | 0 | 30 |
| Salmón | 0 | 0 | 30 | 30 |
| Trucha (<i>Salmo trutta fario</i>) | 0 | 0 | 30 | 30 |
| Total | 930 | 1920 | 1980 | 4710 |

Especies cultivables de origen silvestre

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Rodaballo, (<i>S. maximus</i>) | 4 | 25 | 25 | 54 |
| Lenguado (<i>Solea spp</i>) | 27 | 60 | 59 | 146 |
| Besugo (<i>Pagellus bogaraveo</i>) | 12 | 50 | 20 | 82 |
| Abadejo (<i>Pollachius pollachius</i>) | 13 | 46 | 26 | 85 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 17 | 32 | 37 | 86 |
| Total | 73 | 213 | 167 | 453 |

Especies merodeadoras

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Mújel (<i>Chebron labrosus</i>) | 58 | 189 | 51 | 298 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | 15 | 0 | 0 | 15 |
| Total | 73 | 189 | 51 | 313 |

Especies silvestre centinela para enfermedades objetivo

| Especie | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|---|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Solla (<i>Pleuronectes platessa</i>) | 1 | 10 | 9 | 20 |
| Jurel (<i>Trachurus trachurus</i>) | 5 | 0 | 7 | 12 |
| Corbina (<i>Argyrosomus regius</i>) | 4 | 3 | 7 | 14 |
| Raya (<i>Raja sp; Dasyatis pastinaca</i>) | 5 | 12 | 0 | 17 |
| Coruxo (<i>Scophthalmus rombus</i>) | 10 | 15 | 16 | 41 |
| Salmonete (<i>Mulus sp.</i>) | 21 | 84 | 45 | 150 |
| Peixe agulla (<i>Belone belone</i>) | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Palometa (<i>Brama brama</i>) | 3 | 0 | 0 | 3 |
| Acedía (<i>Solea lascaris</i>) | 11 | 38 | 0 | 49 |
| Sargo (<i>Diplodus sargus</i>) | 6 | 57 | 28 | 91 |
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | 0 | 3 | 0 | 3 |
| Juliana (<i>Lophius piscatorius</i>) | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Mero (<i>Epinephelus marginatus</i>) | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Rubio (<i>Trigloporus lastoviza</i>) | 0 | 0 | 14 | 14 |
| Pargo (<i>Pagrus pagrus</i>) | 0 | 5 | 10 | 15 |
| Total | 68 | 230 | 136 | 434 |

b) Seguimientos específicos

Controles específicos sobre: las importaciones, las nuevas especies en acuicultura, los peces de origen desconocido, control sanitario sobre inmersiones y sobre los peces usados como alimento de atunes.

MURCIA

Muestreo importaciones

Todas las importaciones de alevines procedían de países de la Unión Europea. Por tanto están sometidos a los controles sanitarios en origen a los que obliga la normativa sanitaria. Los estados miembros receptores de los alevines pueden, de forma aleatoria o por sospecha, realizar controles sanitarios sobre estas partidas. Si bien esto es práctica habitual en la ganadería terrestre, no es habitual su realización en acuicultura.

Estos controles se deben realizar sobre los animales y sobre la documentación sanitaria que debe acompañar a los desplazamientos intracomunitarios: Reglamento

1251/2008, por el que se aplica la Directiva 2006/88/CE en lo referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de enfermedades portadoras, modificado por Reglamento 346/2010.

Los chequeos realizados siguiendo las pautas del proyecto se resumen en la tabla siguiente:

| Año | Especie | Ejemplares analizados | País de origen |
|------|---------|-----------------------|----------------|
| 2007 | Dorada | 20 | Italia |
| 2008 | Lubina | 20 | Italia |
| 2008 | Corvina | 20 | Italia |
| 2009 | Lubina | 20 | Grecia |

Los ejemplares muestreados fueron analizados de las enfermedades víricas objetivo del proyecto

Muestreo nuevas especies

Durante los años 2007 y 2008 se ha producido la introducción de gran cantidad de alevines de corvina (*Argirosomus regius*) por parte de varias empresas, y se ha empezado a producir corvina de forma comercial en el 2008, sin embargo no ha sido posible la obtención de muestras al no coincidir los muestreos con la extracción comercial de ejemplares.

Durante el año 2009 se ha producido gran cantidad de corvina (*Argirosomus regius*) por parte de varias empresas, por lo que esta especie ha sido muestreada este año por primera vez (el año 2008 se muestrearon alevines de corvina procedentes de importación, pero no ejemplares engordados en granjas de la Región).

Lotes de origen desconocido

No ha sido detectado ningún lote de peces de origen desconocido, por lo que no ha sido necesario realizar ningún tipo de muestreo en ninguno de los tres años del proyecto

Control Sanitario sobre Inmersiones

Las inmersiones de alevines que se realizan en las explotaciones comerciales de acuicultura requieren autorización previa del Servicio de Pesca y Acuicultura. Para ello se solicita autorización para inmersión con una antelación mínima de 24 horas a la misma, con el fin de poder programar desde dicho Servicio los posibles controles sanitarios y administrativos.

Los datos mínimos de la solicitud son: identificación de la empresa y teléfono de contacto, especie de los alevines, procedencia, número de ejemplares, peso medio, fecha de llegada del camión y hora prevista para la inmersión, así como el lugar de la descarga. Se facilitará desde este Servicio un modelo general de solicitud con estos datos. La comunicación para solicitar autorización de inmersión será realizada mediante fax, y se adjuntará copia de la documentación sanitaria si se dispone de ella antes de la llegada de los animales. En caso contrario, la documentación sanitaria será remitida al Servicio por fax en las 24 horas siguientes a la llegada de los animales.

Desde el Servicio de Pesca y Acuicultura se realizan inspecciones periódicas para comprobar las condiciones del transporte de los alevines (camiones y barcos) y de su inmersión.

El número de controles realizados ha sido el siguiente

| Año | 2007 | 2008 | 2009 |
|-----------------|------|------|------|
| Nº de controles | 9 | 10 | 8 |

Así mismo se ha realizado un control estadístico sobre las inmersiones realizadas cada uno de los años del proyecto:

Histórico inmersiones alevines

| | 2007 | 2008 | 2009 |
|---------|------------|------------|------------|
| Dorada | 11.792.500 | 15.409.000 | 9.795.000 |
| Lubina | 5.170.000 | 6.478.000 | 9.248.000 |
| Corvina | 1.409.500 | 2.575.000 | 320.000 |
| Seriola | 0 | 11.000 | 18.500 |
| Total | 18.372.000 | 24.473.000 | 19.381.500 |

Histórico enjaulamientos de atún rojo:

| | 2007 | 2008 | 2009 |
|------------|---------|-------|-------|
| Ejemplares | 35.131 | 9.783 | 8.620 |
| Toneladas | 1.984,7 | 416,7 | 578 |

Carnada atunes

Al inicio del proyecto había cuatro instalaciones de engorde de atún muestreándose todas ellas, tanto en San Pedro del Pinatar como en el Gorguel. Sin embargo, las dos últimas campañas sólo una granja ha tenido de forma comercial atunes más una instalación que mantiene atunes con fines científicos. Se han muestreado ambas

granjas, con 30 ejemplares en cada una de ellas, obteniéndose un total de 60 ejemplares. Las dos instalaciones se encuentran situadas en el Gorguel (Cartagena).

| Especie | Nº peces 2006/2007 | Nº peces 2007/2008 | Nº peces 2008/2009 | Nº peces 2009/2010 | Total |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| Estornino (<i>Scomber japonicus</i>) | 106 | 95 | -- | -- | 201 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | 30 | 60 | 60 | -- | 150 |
| Sardina (<i>Cuplea pilchartus</i>) | 14 | -- | -- | -- | 14 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | 30 | 15 | -- | 60 | 105 |
| Total | 180 | 170 | 60 | 60 | 470 |

CANARIAS

Muestreo nuevas especies

Desde el primer año de muestreos hemos incluido a la corvina (*Argirosomus regius*) como parte de las especies de acuicultura, al ser incorporada al sector por varias empresas canarias.

Lotes de origen desconocido

No ha sido detectado ningún lote de peces de origen desconocido, por lo que no ha sido necesario realizar ningún tipo de muestreo en ninguno de los tres años del proyecto

GALICIA

Muestreo importaciones

Cada uno de los muestreos realizados en Galicia abarca el 100% de las explotaciones de acuicultura activas en el momento de su realización. Dada la alta frecuencia de los muestreos, cada seis meses, todas las importaciones de alevines que tuvieron lugar en Galicia durante la duración del estudio fueron muestreadas.

| Año | Especie | Ejemplares analizados | País de origen |
|------|-----------|-----------------------|----------------|
| 2007 | | 0 | 0 |
| 2008 | Rodaballo | 15 | Dinamarca |
| 2008 | Rodaballo | 15 | Francia |
| 2008 | Rodaballo | 15 | Francia |
| 2009 | Salmones | 30 | Escocia |
| 2009 | Rodaballo | 30 | Dinamarca |
| 2009 | Lenguado | 10 | Portugal |

Muestreo nuevas especies

La única especie nueva que se ha introducido en el periodo que duró este estudio fueron los mencionados salmones procedentes de Escocia, retomándose de manera experimental el cultivo de esta especie que ya se había intentado en el pasado, aunque no consiguió consolidarse.

Lotes de origen desconocido

No se ha detectado ningún lote de peces de origen desconocido.

Control sanitario sobre inmersiones

La autorización de las inmersiones en Galicia le corresponde a los Xefes Territoriales de la Consellería do Mar en cada una de las provincias en que radique la explotación de destino, a la vista de la documentación sanitaria que acompaña a la solicitud inmersión. En los tres años de duración del Plan no nos consta que se haya realizado alguna inspección para comprobar las condiciones del transporte de los alevines (Camiones y barcos) y de su inmersión.

c) Focos de enfermedad.

Cuando exista un foco de mortalidad o cualquier tipo de anomalías en peces silvestres.

MURCIA

Durante el desarrollo del proyecto de investigación, se han comunicado en Murcia dos episodios de aparición masiva de ejemplares de peces muertos en las costas. En ambos casos, tras el análisis de los ejemplares y de las circunstancias de los hallazgos se descartó un origen patológico.

El primero de los casos acaeció en noviembre de 2007. Se informó de la presencia de gran número de ejemplares de peces muertos en la Playa de Porman (La Unión). Se comprobó que los peces eran principalmente caballas y su origen era un manejo

erróneo durante la alimentación de los atunes de alguna de las instalaciones próximas de engorde de esta especie en El Gorguel (Cartagena).

El segundo caso ocurrió en julio de 2008, con la aparición de un gran número de salpas (*Salpa salpa*) en las playas de Santiago de la Ribera (San Javier) en zona de gran afluencia de bañistas con la consecuente alarma por la posible etiología del proceso. En este caso se determinó como causa del suceso una mal práctica por parte de pescadores profesionales que habían arrojado al mar los peces por ni considerarlos adecuados para su venta.

CANARIAS

Durante el desarrollo de este proyecto, la administración no ha informado acerca de foco de enfermedad en las costas canarias, por lo que no presentamos datos en este apartado

GALICIA

Durante el desarrollo del proyecto de investigación, no se ha producido en Galicia ningún episodio de aparición masiva de ejemplares de peces muertos en las costas.

2.4.2. MODELO DE PROGRAMA DE VIGILANCIA SANITARIA (PVE)

En la memoria inicial del proyecto se proponía la realización de un programa piloto de vigilancia epidemiológica para una serie de enfermedades de acuicultura marina. El desarrollo de dicho programa debía permitir detectar las ventajas y los inconvenientes de su puesta en práctica con el fin de poder diseñar un plan de vigilancia eficaz y operativo y ponerlo a disposición de los gestores en sanidad animal de las distintas administraciones públicas implicadas.

Modelo de Programa de Vigilancia Epidemiológica

Resulta de gran importancia el establecimiento de los criterios para la realización de un Plan de Vigilancia Epidemiológico con la finalidad de disponer de estudios sobre prevalencia de distintos agentes patógenos que afectan a las producciones animales. La acuicultura, y especialmente la marina, presenta una serie de peculiaridades que provocan que el diseño sea bastante distinto al de otras producciones, especialmente por la inevitable interacción permanente entre los peces cultivados y la fauna ictícola local y/o migratoria.

El modelo que se presenta a continuación no es aplicable a los programas nacionales de obtención y/o mantenimiento de calificación sanitaria frente a enfermedades de declaración obligatoria (Real Decreto 1614/2008), ya que aquí lo que se define es un programa de vigilancia integral, aplicable a cualquier tipo de patología infecciosa que por interés oficial o de las propias empresas, se estimase conveniente realizar. En cualquier caso, el modelo propuesto puede ser fácilmente adaptado para poder ser utilizado como base para los programas oficiales de muestreo y vigilancia de las enfermedades de los peces.

En el capítulo siguiente de resultados se propondrá un Sistema de Vigilancia Zoonosológica, orientado a dar cumplimiento a este requisito exigido en el Real Decreto 1614/2008 a las empresas de acuicultura y que tampoco se corresponde con un Plan de Vigilancia Epidemiológica. Mientras que el Sistema de Vigilancia Zoonosológica es un requisito sobre el estado sanitario de cada granja, el Programa de Vigilancia Epidemiológica estudia la situación de una zona respecto a una o varias enfermedades. El campo de acción del Sistema de Vigilancia Zoonosológica es exclusivamente la acuicultura, sin embargo un Programa de Vigilancia Epidemiológica engloba a la acuicultura y a las poblaciones silvestres de peces.

En el siguiente esquema se refleja la interacción entre las granjas de acuicultura y los peces de silvestres y las autoridades en materia de sanidad animal:

| Control | Legislación | Carácter | Autoridad Responsable | Población Objeto de Estudio | Objetivos |
|--|---|-------------------------|---|---|--|
| Plan de Controles Oficiales | RD 1614/2008 Reglamento (CE) 882/2004 | Obligatorio | Autoridad Sanitaria | Granjas acuicultura | Realización de controles oficiales para garantizar el cumplimiento de lo exigido en la legislación comunitaria en materia de alimentación, sanidad y bienestar animal. |
| Sistema de Vigilancia Zoonosológica | RD 1614/2008 Decisión 2008/896/CE | Obligatorio | Autoridad Sanitaria y/o Asociación de Defensa Sanitaria | Granjas acuicultura | Detectar: <ul style="list-style-type: none"> a. Cualquier aumento de mortalidad en todas las explotaciones, según tipo de producción. b. Las enfermedades listadas (exóticas y no exóticas) en las explotaciones con especies sensibles. |
| Calificación Sanitaria | RD 1614/2008 Decisión 2009/177/CE | Según estatus sanitario | Autoridad Sanitaria y/o Asociación de Defensa Sanitaria | Granjas acuicultura | Obtención, mantenimiento o recuperación de Calificación Sanitaria de Libre a una o varias de las enfermedades listadas del RD 1614/2008 |
| Plan de Vigilancia Epidemiológica | --- | Voluntario | Autoridad Sanitaria y/o Asociación de Defensa Sanitaria | Granjas acuicultura Peces silvestres | Estudiar la situación epidemiológica de una determinada zona frente a cualquier tipo de enfermedad de interés para las empresas o administración. |
| Plan de contingencia | RD 1614/2008 | Obligatorio | RASVE Autoridad Sanitaria | Granjas acuicultura Peces silvestres | Protocolos de actuación coordinados por el Ministerio para actuación en el caso de aparición de enfermedades listadas, emergentes u otras crisis sanitarias. |

La administración sanitaria debe organizar controles oficiales en todas las explotaciones de acuicultura, las cuales estarán registradas y en su caso autorizadas. Las instalaciones calificadas deben además realizar los controles necesarios para el mantenimiento de dicha calificación. La administración puede, además, realizar un Plan de Vigilancia Epidemiológica para el estudio y seguimiento de enfermedades que por cualquier razón sea conveniente valorar y estudiar. Esos Planes de Vigilancia engloban tanto a los ejemplares procedentes de la acuicultura como ejemplares silvestres. La base de este Plan de Vigilancia es la que se va a describir posteriormente.

Para las enfermedades de declaración obligatoria la Administración General del Estado tiene que tener desarrollados Planes de Contingencia. El Plan de Contingencia de enfermedades de los peces se puede consultar en la página web del RASVE del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino.

Las empresas de producción, que tienen que estar autorizadas, deben de disponer de un Manual de Buenas Prácticas de Higiene, un sistema de trazabilidad reflejado en un Libro de Explotación Acuícola así como tener implementado un Sistema de Vigilancia Zoonosanitario. Todos estos elementos serán controlados en los Planes de Controles Oficiales, pero el Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria debe ser dinámico, manteniéndose una comunicación dinámica y eficaz entre las empresas y la administración con el fin de cumplir con sus objetivos: detectar de forma precoz la aparición de enfermedades listadas y detectar la aparición de mortalidades por encima de un umbral consensuado.

En base a los satisfactorios resultados obtenidos con la puesta en práctica del modelo propuesto inicialmente, el modelo que se finalmente se establece desde este proyecto es el siguiente:

El plan de vigilancia epidemiológica se basa en la realización de controles rutinarios, seguimientos específicos y seguimiento en caso de focos de enfermedad en peces silvestres.

1. Controles rutinarios.

Se realizan sobre las especies de acuicultura y sobre especies silvestres que de forma directa o indirecta puedan afectar a su estado sanitario.

Se planifica el muestreo estableciéndose los criterios en base al número de instalaciones de acuicultura y fauna piscícola silvestre, distribuyéndose las especies y el número de ejemplares entre las distintas zonas marítimas.

La periodicidad de los muestreos se establecerá en función de la enfermedad objeto de estudio, teniendo en cuenta las características epidemiológicas de la misma: estacionalidad, temperatura, especies sensibles, especies portadoras, etc.

Las especies objeto de estudio serán:

- Ejemplares de las especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura.
- Ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural.
- Ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios o sean sensibles a las enfermedades de las especies cultivadas.

1.1. Ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura.

Se realiza el control sobre aquellas especies cultivadas de forma habitual en cada Región. Dicho control se realizará en colaboración con el responsable sanitario de cada explotación. Como resultado del análisis de los peces obtenidos en las granjas se elaborará un informe con los resultados obtenidos, una copia del cual es entregada al responsable sanitario. Dichos análisis no deben suponer un gasto extra para las empresas y la obtención de ejemplares ocasionará el mínimo trastorno sobre las operaciones normales en las instalaciones.

El número de ejemplares a analizar en los muestreos será de 30 ejemplares en cada control para cada instalación, asumiendo una prevalencia del 10 % con un intervalo de confianza del 95 % (Ossiander y Wedermeyer, 1973). En el caso de más de una especie, el porcentaje de ejemplares es proporcional. El número de ejemplares a muestrear puede variar en función de las características de las enfermedades a estudiar.

La unidad epidemiológica a considerar en la realización de los muestreos será la explotación acuícola en su conjunto. En función de la enfermedad o enfermedades a investigar se seleccionarán las especies así como la edad y/o tamaño de los ejemplares.

Respecto a la frecuencia de los muestreos, a menos que la situación epidemiológica aconseje lo contrario, se realizará un único chequeo anual en función de las características propias de cada patógeno.

1.2. Ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural.

El objetivo es verificar el estado sanitario de las poblaciones silvestres de las especies que habitualmente se cultivan, ya que su estado sanitario puede ser un reflejo directo o indirecto del estado sanitario de la acuicultura, aunque también en sentido contrario ya que está demostrado que son especies que frecuentemente

pueden ser observadas en los alrededores de las granjas de acuicultura (Dempster y col, 2001).

Especies cultivadas como dorada, lubina y el atún, pueden entrar en contacto con las poblaciones silvestres, siendo por ello muy interesante estudiar el potencial peligro de transmisión de enfermedades en ambos lados de las redes. La distribución de muestras será proporcional entre las demarcaciones pesqueras.

Cuando se establezcan nuevas especies de cultivo, serán integradas dentro de este apartado. Se realizará un único control anual, aunque puede intensificarse si las condiciones epidemiológicas así lo aconsejan.

1.3. Ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios o son sensibles a las enfermedades de las especies cultivadas.

Este estudio se basa en seleccionar las especies que más frecuentemente entran en contacto con las especies de acuicultura así como las especies que en la bibliografía aparecen como sensibles o reservorios de las enfermedades objetivo.

a. Especies silvestres que frecuentan las granjas de acuicultura:

Según diversos estudios, las instalaciones de acuicultura marinas ejercen un efecto de atracción de abundantes peces silvestres, con una gran diversidad biológica. Esta atracción se debe al efecto combinado de la presencia de alimento artificial, atracción química procedente de los peces estabulados y al efecto que ejercen las jaulas como FADs (Fish Attraction Devices).

La presión de muestreo para estas especies merodeadoras se realiza en función de la frecuencia de dichas especies en las aguas que rodean las jaulas y que en ocasiones se introducen en el interior de las instalaciones, fundamentalmente en el cambio de redes o en el proceso de captación de agua. Se utilizan ejemplares de las especies de mayor frecuencia, si bien es necesario considerar que muchas especies tienen variación estacional, de tal forma que pueden ser muy frecuentes en los alrededores de las jaulas en determinadas épocas y escasas en otras. Las especies podrán cambiarse dentro de cada grupo de frecuencia en función de las disponibilidades, respetando el total de ejemplares por grupo. Se intentará, en cualquier caso, el máximo de homogeneidad en las especies muestreadas con el fin de no distorsionar la posterior valoración de los resultados obtenidos.

Los ejemplares procederán de los distintos distritos marítimos, intentando que el porcentaje de ejemplares de cada uno de ellos sea proporcional. Las especies merodeadoras que además son especies cultivables no se incluyen en estos muestreos, ya que han sido contemplados en capítulos anteriores.

b. Especies centinela para las enfermedades objetivo:

Las especies centinelas son específicas para cada enfermedad. Como modelo se van a exponer especies siguiendo el ejemplo de las enfermedades objetivo utilizadas en este proyecto.

Las especies que podrían ser utilizadas como centinela para las enfermedades objetivo del presente estudio, en función de los conocimientos científicos actuales para la acuicultura marina mediterránea son los siguientes (FAO-CIHEAM, 2005):

Especies centinela para VER: Bovo (2007), define las siguientes especies sensibles:

| PECES INFECTADOS QUE MUESTRAN SÍNTOMAS Y MORTALIDAD | |
|---|------------------------------------|
| <i>Epinephelus akaara</i> | <i>Lateolabrax japonicus</i> |
| <i>E. taurina</i> | <i>Parasilus asotus</i> |
| <i>E. coioides</i> | <i>Poecilia reticulata</i> |
| <i>E. malabaricus</i> | <i>Sebastes oblungus</i> |
| <i>E. moara</i> | <i>Anguilla anguilla</i> |
| <i>E. lanceolatus</i> | <i>Latris lineada</i> |
| <i>E. awoara</i> | <i>Tandanus tandanus</i> |
| <i>E. fuscoguttatus</i> | <i>Oxyleotrix lineolatus</i> |
| <i>E. septemfasciatus</i> | <i>Pseudopleuroctes americanus</i> |
| <i>Cromileptes altivelis</i> | <i>Atractoscion nobilis</i> |
| <i>Pseudocaranx dentex</i> | <i>Gadus morhua</i> |
| <i>Seriola dumerili</i> | <i>Melanogrammus aeglefinus</i> |
| <i>Trachinotus blochii</i> | <i>Dicentrarchus labrax</i> |
| <i>Trachinotus falcatus</i> | <i>Umbrina cirrosa</i> |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> | <i>Diplodus puntazzo</i> |
| <i>Oplegnathus fasciatus</i> | <i>Sciaena umbra</i> |
| <i>Rachycentron canadum</i> | <i>Epinephelus marginatus</i> |
| <i>Liza auratus</i> | <i>Epinephelus aeneus</i> |
| <i>Lutjanus erythroterus</i> | <i>Epinephelus alexandrinus</i> |
| <i>Verasper moseri</i> | <i>Hippoglossus hippoglossus</i> |
| <i>Paralichthys olivaceus</i> | <i>Solea solea</i> |
| <i>Takifugu rubripes</i> | <i>Acipenser gueldestaedi</i> |
| <i>Lates calcarifer</i> | <i>Scolophthalmus maximus</i> |

| PECES QUE SE INFECTAN | |
|---------------------------|--------------------------|
| <i>Pagellus acarne</i> | <i>Mullus barbatus</i> |
| <i>Gobius jozo</i> | <i>Mullus surmuletus</i> |
| <i>Argyrosomus regius</i> | <i>Scorpaena sp</i> |

| | |
|--|--------------------|
| <i>Sparus aurata</i> <i>Trisopterus minutus</i> | <i>Liza ramada</i> |
|--|--------------------|

| PECES INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE | |
|------------------------------------|-----------------------|
| <i>Oreochromis mossambicus</i> | <i>Anarchis minor</i> |

Especies centinela para VHS: Esta es una enfermedad listada en el Real Decreto 1614/2008, existiendo una relación de especies sensibles publicadas en dicho real decreto, así como una lista de especies potencialmente portadoras descritas en el reglamento comunitario 1251/2008:

- Especies sensibles (Real Decreto 1614/2008):

Arenque (*Clupea spp.*), coregonos (*Coregonus sp.*), lucio (*Esox lucius*), eglefino (*Gadus aeglefinus*), bacalao del Pacífico (*Gadus macrocephalus*), bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*), salmones del Pacífico (*Oncorhynchus spp.*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), mollareta (*Onos mustelus*), trucha común (*Salmo trutta*), rodaballo (*Scophthalmus maximus*), espadín (*Sprattus sprattus*) y timalo (*Thymallus thymallus*).

- Especies portadoras marinas de VHS (Reglamento 1251/2008):

Lubina o robalo (*Dicentrarchus labrax*), lubina blanca, lubina americana (*Morone chrysops x M. saxatilis*), mugil (*Mugil cephalus*), corvinón ocelado (*Sciaenops ocellatus*), corvina (*Argyrosomus regius*), verrugato (*Umbrina cirrosa*), atunes (*Thunnus spp.*), atún rojo o de aleta azul (*Thunnus thynnus*), mero (*Epinephelus marginatus*), lenguado senegalés o lenguado rubio (*Solea senegalensis*), lenguado europeo (*Solea solea*), breca (*Pagellus erythrinus*), dentón o dentón europeo (*Dentex dentex*), dorada (*Sparus aurata*), sargo (*Diplodus sargus*), besugo (*Pagellus bogaraveo*), dorada gigante (*Pagrus major*), sargo picudo (*Diplodus puntazzo*), mojarra (*Diplodus vulgaris*), pargo (*Pagrus pagrus*).

Especies centinela para IPN (FAO-CIHEAM, 2005):

Dorada, lenguado, anguila, atherinidae, peludas, jureles, cupleiformes y corvina.

De estas especies potencialmente considerables como centinelas es necesario priorizar entre ellas para poder llevar a la práctica los controles. Considerando que algunas de las especies ya son chequeadas en base a los apartados comentados anteriormente, se procede a seleccionar especies en función de los siguientes criterios:

- Sensibilidad a las enfermedades
- Disponibilidad y frecuencia de capturas

2. Seguimientos específicos

Este grupo de controles, novedosos en su gran mayoría en la acuicultura marina, permitirán diseñar futuros planes de vigilancia epidemiológica por parte de las Autoridades Sanitarias correspondientes. En su mayoría son controles difíciles de planificar y que derivan de la propia actividad comercial del sector. En cualquier caso, este tipo de controles debe ser incorporados en los diseños de programas de vigilancia epidemiológica por las Autoridades Sanitarias:

2.1. Importaciones

Este tipo de controles sanitarios se realizarán de forma rutinaria por las Autoridades Sanitarias en materias de sanidad animal de las distintas Comunidades Autónomas.

Se realizan controles sanitarios sobre partidas de peces que procedan de otros países o zonas cuya situación epidemiológica así lo aconseje. Además se realizarán los pertinentes controles de carácter administrativo y documentales.

El control consistirá en un chequeo inicial a la llegada de los animales, y se basará en la inspección visual de un lote de animales y toma de muestras de algunos ejemplares para su análisis, cuando se considere oportuno. Cuando se decida realizar muestro se tomarán al menos 30 ejemplares.

2.2. Nuevas especies de peces en acuicultura

Seguimiento sanitario de todas aquellas especies que se cultiven por primera vez en aguas de nuestra Región.

El control inicial consistirá en la inspección visual de un lote de animales y toma de muestras de algunos ejemplares para su análisis, si se considera oportuno, de al menos 30 ejemplares. Posteriormente (entre los 3 y los 6 meses) se realizará un control de seguimiento sobre el índice de mortalidad y el resto de parámetros que permitan valorar su grado de adaptación. Si la especie pasa a cultivarse de forma habitual, se incluiría dentro de los controles rutinarios.

2.3. Peces de acuicultura de origen desconocido

Cuando el titular de una explotación de acuicultura sea incapaz de demostrar el origen de una partida, esta será considerada como sospechosa y será sometida a un control intensivo. El parte mensual de bajas será remitido mensualmente por el

propietario de los animales a la Autoridad Sanitaria competente. Sobre los peces se realizará un análisis inicial (30 ejemplares), repitiéndose cada 6 meses si se considera oportuno. Los gastos de estos análisis deben correr por parte de la empresa.

2.4. Control sanitario sobre inmersiones.

Se realizarán controles aleatorios o bien dirigidos sobre un porcentaje de las inmersiones que se realicen en cada Comunidad Autónoma. El criterio variará en función de la situación epidemiológica, del origen de los animales, de la especie, etc. El control consistirá en un chequeo de los peces a su llegada mediante inspección visual y la toma de muestras de 30 peces para su análisis en caso de considerarse necesario.

2.5. Peces silvestres sensibles a EDO

En base a los conocimientos sobre epidemiología de las enfermedades EDO, se confeccionará un listado, el cual se mantendrá actualizado, con las especies silvestres sensibles o portadoras.

En un apartado posterior se describe estos listados para cada una de las Comunidades Autónomas participantes en el proyecto.

2.6. Alimento de atunes

La liberación al medio de peces en su uso como alimento de los atunes enjaulados presenta un potencial riesgo zoonosológico, especialmente cuando su origen se sitúa en zonas muy lejanas, pudiendo ser el vehículo de enfermedades para las cuales las poblaciones de peces silvestres de nuestro litoral podrían no estar preparadas inmunológicamente.

Es por ello razonable establecer un programa de monitorización de este tipo de carnaza cuando el origen sea distinto al Mediterráneo. En contacto con el responsable sanitario de las instalaciones, se procederá a tomar muestras del alimento presente en cada empresa cada dos meses. El número de ejemplares a analizar será de 30 por especie. Del resultado de los análisis se entregará una copia al responsable sanitario de la explotación.

3. Focos de enfermedad.

Es estos casos se realizará un estudio específico e intensivo como consecuencia de anomalías o mortalidades masivas en las especies marinas. Se realizará en los siguientes supuestos:

a. Cuando exista un foco de enfermedad en acuicultura. A partir de la propia empresa de acuicultura al no poder hacer frente a un proceso o bien de oficio cuando se estime oportuno por los técnicos de la Autoridad Sanitaria responsable.

b. Cuando exista un foco de mortalidad o cualquier tipo de anomalías en peces silvestres.

El tipo de análisis irá en función de la sintomatología y las lesiones halladas.

PECULIARIDADES PVE MURCIA

Descripción del sector

En la Comunidad Autónoma de Murcia hay 14 empresas dedicadas a la acuicultura, las cuales explotan un total de 15 instalaciones. A excepción de una instalación que se encuentra en tierra, las instalaciones consisten en jaulas flotantes que se sitúan en concesiones marinas. También existen dos centros de investigación con instalaciones de acuicultura, uno dependiente de Gobierno Regional de Murcia (Estación de Acuicultura Marina, IMIDA) y otro dependiente del Estado (Centro Oceanográfico de Murcia, IEO).

Ocho de las empresas de producción están ubicadas en polígonos acuícolas, uno situado en San Pedro del Pinatar, frente a la playa de la Llana, y otro situado en Cartagena, frente a la Cala del Gorguel. En cada polígono se localizan 4 explotaciones de acuicultura. Este tipo de instalaciones presenta una serie de ventajas, entre ellas una gestión medioambiental compartida y un descenso en la presencia de obstáculos para la navegación.

De las explotaciones de engorde, 5 se dedican exclusivamente al engorde de atún rojo (*Thunnus thynnus*), 6 se dedican al engorde de dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*) y corvina (*Argyrosomus regius*), mientras que las dos restantes tienen una producción mixta de atún, dorada y lubina.

Unidades epidemiológicas:

En Murcia, la unidad epidemiológica es la explotación acuícola, ya que cada una de las instalaciones tiene su código REGA (Registro de Explotaciones Ganaderas), teniendo cada empresa barcos y personal distintos, siendo a todos los efectos independientes epidemiológicamente.

Sin embargo, como se ha comentado, en Murcia existe la figura de los Polígonos Acuícolas, los cuales en programas de muestreo rutinarios, y sólo para

enfermedades no listadas, podrían considerarse como una unidad epidemiológica cada uno de los polígonos existentes.

Especies silvestres que frecuentan las granjas de acuicultura:

En estudios sobre granjas del sureste peninsular (Dempster y col, 2001), podemos ver cuales son estas especies y su importancia relativa. Según estos autores, podemos clasificar en tres grupos de especies según su importancia cuantitativa:

| Grupo | Especies | |
|------------------|--|---|
| Mayor frecuencia | Alacha Boga | <i>Sardinella aurita</i> <i>Boops boops</i> |
| Alta frecuencia | Jureles Mújoles Palometa Oblada | <i>Trachurus sp</i> <i>Mugilidae</i> <i>Trachinotus ovatus</i> <i>Oblada melanura</i> |
| Descritos | Aguja Pez limón Chapa Sargo breado Mojarra Sargo Magre Aligote Salpa Lampuga Espetón Dorada Lubina | <i>Belone belone</i> <i>Seriola dumerili</i> <i>Diplodus anularis</i> <i>Diplodus cervinus</i> <i>Diplodus vulgaris</i> <i>Diplodus sargus</i> <i>Lithognathus mormyrus</i> <i>Pagelus acarne</i> <i>Salpa salpa</i> <i>Coryphaena hippurus</i> <i>Sphyraena sphyraena</i> <i>Sparus aurata</i> <i>Dicentrarchus labrax</i> |

En nuestro estudio hemos comprobado que la especie silvestre con la que más interaccionan los peces en las jaulas marinas es con la boga, seguida por el jurel y en un tercer lugar la alacha.

PECULIARIDADES PVE CANARIAS

Descripción del sector

En la Comunidad Autónoma de Canarias hay 21 empresas dedicadas a la acuicultura, de las cuales 12 se encuentran en la isla de Tenerife, 4 en Gran Canaria, 3 en la Palma y 2 en la isla de Lanzarote. Su producción es fundamentalmente de doradas y lubinas, si bien es cierto, en los últimos años se ha incorporado el cultivo del lenguado, corvina y bocinegro. A excepción de una instalación que se encuentra en tierra en la isla de Gran Canaria, las demás instalaciones consisten en jaulas flotantes que se sitúan en concesiones marinas. También existen dos centros de investigación con instalaciones de acuicultura, uno dependiente del Gobierno de Canarias (Instituto Canario de Ciencias Marinas, ICCM) y otro dependiente del Estado (Planta experimental de cultivos marinos del Centro Oceanográfico de Canarias).

Las doce empresas ubicadas en la isla de Tenerife se encuentran concentradas en 4 polígonos: San Andrés (norte), Los Gigantes (suroeste), Las Galletas (sur) y Los Cristianos (suroeste). En la isla de Gran Canaria, las empresas se encuentran concentradas en el polígono de La Melenara. En La Palma, las explotaciones se encuentran en la zona de Tazacorte, y en Lanzarote en la zona de Playa Quemada.

De las explotaciones de engorde, 17 se dedican exclusivamente al engorde de doradas (*Sparus aurata*) y lubinas (*Dicentrarchus labrax*). Dos poseen también instalaciones con corvina (*Argyrosomus regius*), lenguados (*Solea solea*) y bocinegros (*Pagrus pagrus*).

Unidades epidemiológicas:

En Canarias, debido al elevado número de explotaciones, la unidad epidemiológica quedó establecida en los polígonos acuícolas.

Especies que frecuentan las granjas de acuicultura:

Tras nuestra experiencia en los muestreos realizados durante estos años, así como los datos obtenidos en las encuestas y entrevistas a los pescadores de la zona, las especies que frecuentan las granjas de acuicultura en las Islas Canarias se describen en la tabla siguiente, clasificadas en tres grupos de especies según su importancia cuantitativa:

| Grupo | Especies | |
|------------------|--|---|
| Mayor frecuencia | Boga Bocinegros (Pargos) | <i>Boops boops</i> <i>Pagrus pagrus</i> |
| Alta frecuencia | Cabrilla Pejeverdes Brecas Fulas Sargos Tamboriles | <i>Serranus atricauda</i> <i>Thalassoma pavo</i> <i>Pagellus erythrinus</i> <i>Abudefduf luridus</i> <i>Diplodus spp.</i> <i>Chilomycterus atringa</i> |
| Descritos | Chopa Mojarra Lebranco (Mugil) Besugo Salemas Palometas Caballas Sardinas Galanas Bicudas Pejepeines | <i>Spondyliosoma</i> <i>cantharus</i> <i>Diplodus vulgaris</i> <i>Mugil cephalus</i> <i>Pagellus acarne</i> <i>Salpa salpa</i> <i>Trachinotus goodei</i> <i>Scomber scombrus</i> <i>Sardina pilchartus</i> <i>Oblada melanura</i> <i>Sphyræna viridensis</i> <i>Xyrichtys novacula</i> |

En nuestro estudio hemos comprobado que la especie silvestre con la que más interaccionan los peces en las jaulas marinas es la boga, seguida por el bocinegro.

PECULIARIDADES PVE GALICIA

En Galicia la especie de cultivo que predomina en piscifactorías marinas, abrumadoramente sobre las demás, es el rodaballo (*Scothalmus maximus*). Y el sistema de cultivo empleado es en depósitos de agua en tierra firme.

Tan solo unas pocas piscifactorías de rodaballo empleaban el sistema de cultivo en jaulas en el mar, pero a lo largo del periodo de desarrollo del presente Plan JACUMAR su escaso número se han ido reduciendo paulatinamente aun más, hasta desaparecer por completo en el último muestreo realizado.

Por especies, después del rodaballo, le sigue a considerable distancia tanto en volumen de producción como en número de explotaciones, el lenguado: *Solea solea* y sobre todo *Solea senegalensis*.

Como especie testimonial, pues solo hay una explotación de engorde, aunque también hay un criadero de alevines, está el besugo (*Pagellus bogaraveo*), que se cultiva en jaulas flotantes en el mar.

A lo largo de estos tres años también se tomaron muestras de algunos lotes de cultivo experimentales de salmón atlántico, trucha y lubina en jaulas.

En resumen, actualmente hay en Galicia:

- 9 plantas dedicadas solo al engorde de rodaballo
- 3 plantas dedicadas al engorde de rodaballo y de lenguado
- 1 planta dedicada al engorde de besugo en jaulas

- 2 plantas dedicadas solo a la producción de alevines de rodaballo
- 1 planta dedicada a la producción de alevines de rodaballo y de lenguado

- 1 planta dedicada al engorde y a la producción de alevines de rodaballo
- 1 planta dedicada al engorde y a la producción de alevines de rodaballo y a la producción de alevines de lenguado
- 1 planta dedicada al engorde y a la producción de alevines de rodaballo y a la producción de alevines de besugo

- 1 centro de investigación en acuicultura
- 1 centro de formación en acuicultura

Unidades epidemiológicas

En Galicia la unidad epidemiológica en piscifactorías marinas es la explotación acuícola. Cada una de las explotaciones que hay actualmente en Galicia tiene su código REGA y el estatus sanitario oficial de compartimento libre de VHS y NHI, de acuerdo con la Decisión de la Comisión 2009/177/CE por la que se establecen disposiciones de aplicación de la Directiva 2006/88/CE del Consejo en lo que respecta a la vigilancia, los programas de erradicación y la calificación de “libre de enfermedad” de Estados Miembros, zonas y compartimentos. Anteriormente a esta Decisión y desde 1996 Galicia estaba declarada en su totalidad como zona autorizada para las enfermedades mencionadas.

Las especies silvestres que frecuentan las jaulas de acuicultura

Son casi en exclusiva el mugel (mújol), y en primavera-verano alguna que otra boga, pero muy escasas en comparación con el número de múgeles.

2.4.3. SISTEMA VIGILANCIA ZOOSANITARA

El Real Decreto 1614/2008, relativo a los requisitos zoonosanitarios de los animales y de los productos de acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos, que traspone la Directiva 2006/88/CE, establece la necesidad de la implantación de un Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria en las instalaciones de acuicultura autorizadas. Este programa que la autoridad sanitaria competente velará por que se aplique, se basará en el riesgo que presenten las instalaciones.

El Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria puede encomendarse a las agrupaciones de defensa sanitaria o a otras entidades u organismos siempre que cuenten, al menos, con un veterinario habilitado o autorizado que dirija su realización. En este caso la autoridad competente debe aprobar previamente el sistema de vigilancia.

El objetivo del Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria es detectar:

- Cualquier aumento de mortalidad en las explotaciones por encima del considerado como normal según el tipo de producción.
- Las enfermedades de declaración obligatoria en las explotaciones que presenten especies sensibles a las mismas.

Por tanto, el Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria se refiere a la explotación acuícola exclusivamente, sin entrar en valoraciones sobre situación de zonas o estatus de especies silvestres. Los resultados del Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria serán evaluados anualmente y el resultado será reflejado en el correspondiente apartado del Libro de Explotación Acuícola.

Se plantea la necesidad de establecer un nivel de mortalidad “normal” por encima del cual el responsable de la instalación tenga que comunicarlo a la autoridad sanitaria competente. Esta tarea será abordada al final de este capítulo, de forma independiente. En primer lugar se va a establecer las bases para el diseño de un Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria en Acuicultura Marina.

La naturaleza y características de estos controles se reflejan en el artículo 10 del Real Decreto 1614/2008 y se especifican en la Decisión 2008/896/CE, por la que se establecen directrices para los Sistemas Vigilancia Zoonosanitaria basados en el riesgo que dispone la Directiva 2006/88/CE

En cualquier caso, la autoridad competente debe realizar controles sobre las instalaciones en el marco de lo dispuesto en el artículo 3 del Reglamento (CE) 882/2004. Estos controles oficiales consistirán en inspecciones, visitas y auditorías periódicas, así como muestreos cuando fuese necesario. Estas inspecciones se especifican en el artículo 7 del Real Decreto 1614/2008. En la tabla siguiente se recogen los niveles recomendados de inspección.

| Especies presentes | Situación sanitaria según se indica en la parte A | Nivel de riesgo | Vigilancia | Frecuencia de inspección recomendada por los organismos competentes (artículo 7) | Frecuencia de inspección recomendada por servicios cualificados de sanidad de los animales acuáticos (artículo 10) | Requisitos específicos de inspección, toma de muestras y vigilancia necesarias para mantener la situación sanitaria | Comentarios |
|--|---|-----------------|-----------------------------|--|--|---|---|
| Ninguna especie sensible a las enfermedades enumeradas en el anexo IV | Categoría I Declaradas «libres de enfermedades» de conformidad con las letras a) o b) del artículo 49.1 o del artículo 50.1 | Bajo | Pasiva | 1 cada 4 años | 1 cada 4 años | Requisitos específicos para mantener la calificación de «libre de enfermedades» conforme al artículo 52 | Las frecuencias de inspección recomendadas se aplicarán sin perjuicio de los requisitos específicos mencionados para cada situación sanitaria. |
| Especies sensibles a una o varias de las enfermedades enumeradas en el anexo IV | Categoría I Declaradas «libres de enfermedades» de conformidad con el artículo 49.1, letra c), o con el artículo 50.1, letra c) | Elevado | Activa, específica o pasiva | 1 cada año | 1 cada año | | |
| | | Medio | | 1 cada 2 años | 1 cada 2 años | | |
| | | Bajo | | 1 cada 4 años | 1 cada 2 años | | |
| | Categoría II No declarada «libre de enfermedades» pero objeto de un programa de vigilancia aprobado con arreglo al artículo 44.1 | Elevado | Específica | 1 cada año | 1 cada año | Requisitos específicos con arreglo al artículo 44.1 | El objetivo de las inspecciones efectuadas por los organismos competentes es verificar el cumplimiento de la presente Directiva y llevar a cabo la vigilancia conforme al artículo 7. |
| | | Medio | | 1 cada 2 años | 1 cada 2 años | | |
| | | Bajo | | 1 cada 4 años | 1 cada 2 años | | |
| | Categoría III Sin infección conocida pero no sometida a un programa de vigilancia para alcanzar la calificación de «libre de enfermedades» | Elevado | Activa | 1 cada año | 3 cada año | | |
| | | Medio | | 1 cada año | 2 cada año | | |
| | | Bajo | | 1 cada 2 años | 1 cada año | | |
| | Categoría IV Declarada infectada pero sujeta a un programa de erradicación aprobado con arreglo al artículo 44.2 | Elevado | Específica | 1 cada año | 1 cada año | Requisitos específicos con arreglo al artículo 44.2 | |
| | | Medio | | 1 cada 2 años | 1 cada 2 años | | |
| | | Bajo | | 1 cada 4 años | 1 cada 2 años | | |
| Categoría V Declarada infectada. Sujeta a las medidas de control mínimo tal como se establecen en el capítulo V | Elevado | Pasiva | 1 cada 4 años | 1 cada año | Requisitos específicos con arreglo al capítulo V | | |
| | Medio | | 1 cada 4 años | 1 cada 2 años | | | |
| | Bajo | | 1 cada 4 años | 1 cada 4 años | | | |

Niveles de riesgo

Una explotación o zona de cría de moluscos *de riesgo elevado* es una explotación o zona de cría de moluscos que:

- presenta un riesgo elevado de propagar enfermedades a otras explotaciones o poblaciones salvajes, o de contraer enfermedades procedentes de las mismas;
- ejerce su actividad en condiciones de cría que podrían aumentar el riesgo de focos de enfermedades (biomasa elevada, baja calidad del agua), habida cuenta de las especies presentes;
- vende animales acuáticos vivos para explotación o repoblación complementarias.

Una explotación o zona de cría de moluscos *de riesgo medio* es una explotación o zona de cría de moluscos que:

- presenta un riesgo medio de propagar enfermedades a otras explotaciones o poblaciones salvajes, o de contraer enfermedades procedentes de las mismas;
- ejerce su actividad en condiciones de cría que no aumentan necesariamente el riesgo de focos de enfermedades (biomasa media y calidad del agua), habida cuenta de las especies presentes;
- vende animales acuáticos vivos principalmente para el consumo humano.

Una explotación o zona de cría de moluscos *de riesgo bajo* es una explotación o zona de cría de moluscos que:

- presenta un riesgo bajo de propagar enfermedades a otras explotaciones o poblaciones salvajes, o de contraer enfermedades procedentes de las mismas;
- ejerce su actividad en condiciones de cría que no aumentan el riesgo de focos de enfermedades (biomasa baja, buena calidad del agua), habida cuenta de las especies presentes;
- vende animales acuáticos vivos solo para el consumo humano.

Tipos de vigilancia sanitaria

La *vigilancia pasiva* comprenderá una notificación obligatoria inmediata de la aparición o la sospecha de enfermedades específicas o de cualquier aumento de mortalidad. En tales casos, se exigirá una investigación conforme a la sección 2 del capítulo V.

La *vigilancia activa* comprenderá:

- inspecciones regulares efectuadas por el organismo competente o por otros servicios sanitarios cualificados en nombre de los organismos competentes;
- examen de la población de animales de acuicultura en la explotación o en la zona de cría de moluscos para detectar enfermedades clínicas;
- recogida de muestras para diagnóstico cuando se sospeche la existencia de una enfermedad enumerada, o se observe un aumento de mortalidad durante la inspección;
- notificación obligatoria e inmediata de la aparición o la sospecha de enfermedades específicas o de cualquier aumento de mortalidad.

La *vigilancia específica* comprenderá:

- inspecciones regulares efectuadas por el organismo competente o por otros servicios sanitarios cualificados en nombre de los organismos competentes;
- muestras prescritas de animales de acuicultura que deberán tomarse y probarse para detectar uno o varios agentes patógenos mediante métodos específicos;
- notificación obligatoria e inmediata de la aparición o la sospecha de enfermedades específicas o de cualquier aumento de mortalidad.

1. VALORACIÓN DEL RIESGO EN SANIDAD ANIMAL DE LAS INSTALACIONES DE ACUICULTURA MARINA

La Decisión 2008/896/CE, especifica las directrices para los Sistemas Vigilancia Zoonosanitaria basados en el riesgo que dispone la Directiva 2006/88/CE. En lo referente a la frecuencia de las inspecciones, establece que se programarán en base a criterios de riesgo. Para su determinación, se tendrán en cuenta los siguientes criterios:

Fase I. Estimación del riesgo de CONTRACCIÓN de enfermedad

| <i>Riesgo por agua o proximidad</i> | <i>Riesgo por movimientos</i> | <i>Nivel</i> |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------|
| Alto | Alto | Alto |
| Alto | Bajo | Medio |
| Bajo | Alto | Medio |
| Bajo | Bajo | Bajo |

Fase II. Estimación del riesgo de PROPAGACIÓN de una enfermedad

| <i>Riesgo por agua o proximidad</i> | <i>Riesgo por movimientos</i> | <i>Nivel</i> |
|-------------------------------------|-------------------------------|--------------|
| Alto | Alto | Alto |
| Alto | Bajo | Medio |
| Bajo | Alto | Medio |
| Bajo | Bajo | Bajo |

Fase III. COMBINACIÓN de riesgos de contracción y propagación

| | | | |
|--------------|-------------|--------------|-------------|
| Alto | Medio | Alto | Alto |
| Medio | Bajo | Medio | Alto |
| Bajo | Bajo | Bajo | Medio |
| | Bajo | Medio | Alto |

2. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA DE VIGILANCIA ZOOSANITARIA

El sistema propuesto consta de los siguientes apartados:

- Inspecciones sanitarias
- Libro de Explotación Acuícola
- Comunicaciones sanitarias de las empresas
- Responsable sanitario explotación
- Formación sanitaria de los trabajadores

A. Inspecciones sanitarias

La Decisión 2008/896/CE, establece las directrices para los Sistemas Vigilancia Zoonosaria basados en el riesgo que dispone la Directiva 2006/88/CE. La Autoridad Competente en Sanidad Animal de los animales acuáticos velará por que se aplique un sistema de vigilancia basado en el riesgo en todas las explotaciones, que podrá realizarse por las agrupaciones de defensa sanitaria o otras entidades u organismos, siempre que cuenten, al menos con un veterinario habilitado o autorizado que dirija dichas tareas. . En este último caso, el programa y sistemática de las inspecciones debe ser aprobado por la autoridad competente que realizará los controles oficiales.

La Decisión 2008/896/CE establece unas directrices orientativas sobre el contenido que deben recoger las inspecciones para cumplir con los fines previstos en la Directiva 2006/88/CE: Las inspecciones efectuadas como parte de los sistemas de vigilancia zoonosarias han de tener también por objeto asesorar a los agentes económicos de la producción acuícola sobre cuestiones sanitarias de los animales acuáticos (considerando 3 de la Decisión 2008/896)

- Control sobre Registros

Toda inspección que se realice en una explotación procederá a analizar los datos registrados en el Libro de Explotación Acuícola y en especial, los de mortalidad, con el fin de poder evaluar el historial sanitario.

- Selección de Unidades Epidemiológicas

La inspección deberá centrarse en una selección que sea representativa de todas las unidades epidemiológicas presentes en la granja.

- Estudio de muertos y/o moribundos

Si es posible disponer de una selección representativa de los animales de acuicultura que estén moribundos o hayan muerto recientemente, deberá procederse a su examen clínico, tanto externo como interno, para comprobar si se han producido cambios patológicos importantes en esos animales. Dicho examen habrá de atender especialmente a la detección de cualquier caso de infección por alguna de las enfermedades que se enumeran en el anexo IV del RD 1614/2008 (enfermedades listadas, de declaración obligatoria).

- Muestreo y análisis de laboratorio

Si los resultados de ese examen hicieren sospechar la presencia de una de esas enfermedades, los animales de acuicultura de la explotación o de la zona de cría de moluscos deberán someterse a un análisis de laboratorio.

El capítulo V del RD 1614/2008 regula las medidas que han de adoptarse en caso de que se sospeche y/o se confirme la presencia de una enfermedad listada.

No será necesario en todos los casos tomar muestras para un análisis de laboratorio. Al determinar si es o no preciso un muestreo, deberá tenerse en cuenta toda la información pertinente, incluida la que se haya obtenido al controlar los registros de la explotación y al inspeccionar los animales de acuicultura.

La frecuencia de inspecciones será la reflejada en el análisis de riesgos. Las inspecciones realizadas sobre las instalaciones de acuicultura serán adecuadamente reflejadas en el apartado correspondiente del Libro de Explotación Acuícola.

B. Libro de explotación acuícola.

El Real Decreto 1614/2008 establece que los titulares de las explotaciones de acuicultura deberán llevar, de manera actualizada, un registro libro de explotación.

En el caso de la Región de Murcia, esta figura fue abordada de forma general en el artículo 77 de la Ley 2/2007 de Pesca y Acuicultura de la Región de Murcia es desarrollada mediante la Orden de 28 de mayo de 2010, de la Consejería de Agricultura y Agua por la que se regula el libro de Explotación Acuícola de la Región de Murcia:

Tiene por objeto la regulación del Libro de Explotación Acuícola, en el que se reflejarán los datos administrativos, técnicos, sanitarios y medioambientales de las instalaciones acuícolas que desarrollen su actividad productiva en la Región de Murcia, estableciendo el formato oficial en su Anexo I.

Todo titular de explotación de acuicultura, con independencia de la propiedad o no del establecimiento donde se alojan los animales, está obligado a poseer y cumplimentar adecuadamente el libro de Explotación Acuícola.

El libro de Explotación Acuícola será único por explotación, con independencia de la presencia de más de una especie, así como de la existencia de más de una unidad de producción. La existencia de varias explotaciones con idéntico titular exigirá la tenencia de un número equivalente de libros de Explotación Acuícola. La obligación de cumplimentar el libro de Explotación Acuícola no exime a los titulares de las explotaciones de otras obligaciones que, conforme a la legislación vigente, ordenen los organismos competentes en materia de sanidad y medio ambiente.

En el caso de Galicia ya el Decreto 423/1993, de 17 de diciembre que refunde la normativa vigente en materia de marisqueo, extracción de algas y cultivos marinos, estableció que los titulares de establecimientos estarán obligados a llevar un libro de registro debidamente foliado y certificado por la entonces Dirección Xeral de Marisqueo. Y actualmente se está preparando la publicación de una Orden legislativa de la Consellería del Mar en la que se regula el libro de explotación

acuícola y los registros obligatorios que deben llevar las explotaciones de acuicultura, en términos similares al desarrollado en la región de Murcia.

C. Comunicaciones obligatorias de empresas a autoridades competentes en Sanidad Animal.

Las comunicaciones de carácter sanitario que las empresas de acuicultura deben realizar a la Autoridad Competente en Sanidad de la Acuicultura son las siguientes:

- Solicitud autorización de inmersiones.
- Comunicación de movimiento
- Parte semestral de patologías
- Parte de comunicación urgente de patologías.
- Parte de liberación accidental.
- Parte de bajas en transporte.

Para homogenización de datos y su incorporación a bases de datos, las autoridades deben confeccionar modelos de todos estos documentos.

c.1. Solicitud de autorización de inmersiones

Las inmersiones de alevines (o en su caso ejemplares adultos o procedentes del medio silvestre) que se realicen en las explotaciones comerciales de acuicultura requerirán autorización previa de la Autoridad competente en Sanidad Animal. Para ello se solicitará autorización para inmersión con una antelación mínima de 24 horas a la misma, con el fin de poder programar desde el Servicio responsable los posibles controles sanitarios y administrativos.

Los datos mínimos de la solicitud serán: identificación de la empresa y teléfono de contacto, especie de los alevines, procedencia, número de ejemplares, peso medio, fecha de llegada y hora prevista para la inmersión, así como el lugar de la descarga.

La comunicación para solicitar autorización de inmersión será realizada mediante fax, y se adjuntará copia de la documentación sanitaria si se dispone de ella antes de la llegada de los animales. En caso contrario, la documentación sanitaria será remitida al Servicio por fax en las 24 horas siguientes a la llegada de los animales.

c.2. Comunicación de movimiento de animales vivos y documentación que los acompaña:

La ley 8/2003 de sanidad animal, establece dos obligaciones fundamentales en cuanto al movimiento de animales: la de comunicar a la administración las entradas y salidas de animales (art 7.1). Y la de emisión por parte de un veterinario oficial de un Certificado Sanitario de origen que los acompañe durante el transporte, con la

única excepción para el caso del certificado de que el traslado tenga lugar entre explotaciones del mismo municipio y sean del mismo titular (art. 50).

El RD 728/2007 que regula el registro general de movimientos de ganado, establece que con el fin de permitir el seguimiento de los animales en sus desplazamientos, estos deben de ir acompañados de un documento de movimiento, especificando los datos que debe contener, y estableciendo que además será el instrumento utilizado por los poseedores de animales para la comunicación de los movimientos a la autoridad competente.

Es por lo tanto un documento relacionado con la trazabilidad y registros de los movimientos, que no certifica nada sobre el estado sanitario de los animales puesto que lo puede emitir el propietario de los animales.

El RD 1614/2008 al establecer los requisitos zoonosanitarios aplicables a la puesta en el mercado y al tránsito de animales, en su artículo 8 (obligaciones de mantenimiento de registros y trazabilidad) aplica para la acuicultura el documento de movimiento en los términos del RD 728/2007. Y en el artículo 14 (certificación sanitaria) dice que sin perjuicio del art 8 (es decir además del documento de movimiento y de la comunicación del mismo a la autoridad), la puesta en el mercado de animales de la acuicultura precisará certificación sanitaria en todo caso.

c.3. Parte semestral de patologías

Establecimiento de un mecanismo a través del cual las empresas informen de las patologías de cualquier naturaleza detectadas en sus instalaciones a la Autoridad competente en Sanidad Animal. Se comunicará cualquier patología diagnosticada en sus instalaciones.

Esta información es necesaria para la Autoridad competente en Sanidad Animal a fin de dar cumplimiento a las obligaciones derivadas de la comunicación al Ministerio sobre enfermedades en su territorio (enfermedades de declaración obligatoria de declaración semestral), así como otras estadísticas sanitarias.

c.4. Parte de comunicación urgente de patologías

El parte de comunicación urgente de patologías es el mecanismo a través del cual las empresas pueden informar de la sospecha o presencia de enfermedades listadas en el Real Decreto relativo a los requisitos zoonosanitarios de los animales y de los productos de acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos, que traspone la Directiva 2006/88/CE. En cualquier caso, la obligatoriedad de esta comunicación, así como los mecanismos para su realización se recogen en el Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación.

Esta comunicación deberá también enviarse con carácter urgente en el caso de mortalidades elevadas, que serían aquellas que ocasionen una mortalidad superior a un nivel considerado como límite y que debe ser consensuado entre la administración y el sector. Más adelante se trata este tema con mayor profundidad, estableciéndose dos límites asumibles de mortalidad: mortalidad diaria y mortalidad mensual.

En ocasiones, la inmensa mayoría, estas mortalidades podrán deberse a causas no infecciosas (p.e. muerte súbita en lubina) o bien a patologías suficientemente descritas y habituales en acuicultura marina (p.e. pasteurelisis, mixosporidiosis u otros parásitos en rodaballos). En estos casos, es decir cuando se conozca adecuadamente la etiología de la mortalidad, se deberá acompañar un informe al respecto, con lo que el expediente quedará cerrado por parte de la Autoridad competente en Sanidad Animal.

En caso contrario, y siempre que se considere oportuno, como consecuencia de estas comunicaciones, se podrá girar visita de inspección y en su caso hacer las encuestas epidemiológicas y toma de muestras que se consideren necesarias.

c.5. Parte de liberación accidental

La liberación accidental de peces provocar diversos efectos, entre los que cabe destacar: la interacción genética con las poblaciones silvestres, la posible transmisión de patógenos hacia el medio natural así como implicaciones en la economía de los pescadores por la presencia súbita de peces. Además puede haber consecuencias sobre la salud de los consumidores, ya que en el caso de que los peces liberados estén en tratamiento medicamentoso, podrían no respetarse los periodos de supresión preceptivos en el supuesto de que se comercialicen.

Por todo ello es necesario que el titular de las instalaciones informe, en un plazo no superior a las 24 horas, de las liberaciones accidentales acaecidas en sus instalaciones.

Cuando exista la posibilidad técnica de la recuperación total o parcial de los ejemplares escapados, esta se podrá realizar mediante una autorización expresa de la autoridad competente en materia de pesca y acuicultura, siempre en los 5 días posteriores a la fecha de la liberación. Una vez realizada la recaptura, se comunicará a la autoridad competente en número de ejemplares recuperados y su destino.

c.6. Parte de bajas en transporte

La presencia de un número elevado de bajas durante el transporte de peces, además de las implicaciones derivadas del bienestar animal, puede suponer una distorsión importante sobre los controles productivos que la administración ejerce sobre las producciones de las instalaciones de acuicultura.

Se deben comunicar las mortalidades superiores al 3% del total del vehículo o bien superior al 10% en uno de los compartimentos. La responsabilidad de la realización de la comunicación será la empresa que receptora de los animales y el plazo para su comunicación será de 48 horas como máximo desde la recepción de los animales.

D. Responsable Sanitario de la Explotación

Las empresas designarán un responsable sanitario de las instalaciones e informaran de posibles cambios. Sus funciones, de cara a la administración será velar por el cumplimiento de todos los requisitos del presente sistema de vigilancia zoonosaria y será el interlocutor válido para la administración en cuestiones de carácter sanitario de las instalaciones de la empresa.

Dicho responsable, así como los posteriores cambios que se produzcan en la designación del mismo se comunicarán a la Autoridad competente en Sanidad Animal.

E. Formación sanitaria de los responsables técnicos de la empresa

La empresa debe velar por que el Responsable Sanitario de la Explotación, así como el personal encargado de la supervisión de la salud de los animales y los encargados de la recolección de cadáveres conozcan las características básicas y la sintomatología de las enfermedades de declaración obligatoria.

3. DEFINICIÓN DE UMBRAL DE MORTALIDAD “NORMAL”

El artículo 10 del Real Decreto 1614/2008, establece que el Sistema de Vigilancia Zoonosaria debe ser capaz de detectar cualquier aumento de mortalidad en las explotaciones, según convenga para el tipo de producción.

Los porcentajes de mortalidad habitual en las explotaciones de acuicultura dependen de diversos factores:

- Especie animal
- Sistema de producción: hatchery, preengorde y cebo.
- Época del año en la que se realiza la siembra.
- Tamaño y edad de los animales

La observancia de tantos factores en la definición de niveles máximos de mortalidad a partir del cual se comunique a la Autoridad Sanitaria plantea diversos problemas, pero conllevaría establecer multitud de niveles en función de las variables que lo harían engorroso y poco operativo.

Se propone, para cada CCAA, unos niveles para cada especie cultivada en función de la experiencia adquirida y previa consulta y realización de encuestas en el sector.

4. GESTIÓN DEL SISTEMA DE VIGILANCIA ZOOSANITARIA POR ASOCIACIÓN DE DEFENSA SANITARIA (ADS) O ENTIDAD SIMILAR

El Sistema de Vigilancia Zoonositaria puede encomendarse a las agrupaciones de defensa sanitaria o a otras entidades u organismos siempre que cuenten, al menos, con un veterinario habilitado o autorizado que dirija su realización. En este caso la autoridad competente debe aprobar previamente el sistema de vigilancia.

De los distintos elementos que componen el Sistema de Vigilancia Zoonositaria propuesto, la transferencia de funciones a un ADS o similar quedaría tal y como se refleja en la tabla siguiente. En función de la competencia, se deberá informar de forma urgente o bien periódica a la Autoridad Competente.

| Componentes del SVZ | | Competencias | | Periodicidad Información a Autoridad Competente |
|----------------------------------|----------------------------|---------------------------|-----|---|
| | | Autoridad Competente | ADS | |
| Controles Sanitarios | | ADS | | Anual |
| Libro Explotación Acuícola | | AC Control ADS gestión | | |
| Comunicaciones de la empresa | Autorización Inmersiones | AC | | |
| | Comunicación de movimiento | ADS | | Urgente |
| | Semestral Patologías | ADS | | Semestral |
| | Urgentes Patologías | ADS | | Urgente |
| | Liberación Accidental | ADS | | Urgente |
| | Bajas Transporte | ADS | | Urgente |
| Responsable Sanitario | | ADS | | Semestral |
| Plan Formación Sanitaria | | ADS | | Anual |
| Emisión de certificado sanitario | | AC/ADS | | Semestral |

5. SISTEMA DE VIGILANCIA ZOOSANITARIA EN MURCIA

Al no criarse en las granjas comerciales de la Región de Murcia ninguna especie sensible a las enfermedades listadas, el nivel de riesgo debe considerarse como bajo, siendo la frecuencia de inspección recomendada de una cada 4 años. Sin embargo, atendiendo exclusivamente a los criterios de los niveles de riesgo, podríamos clasificar a las instalaciones de nuestro litoral como de riesgo medio o bajo, ya que la gran mayoría venden su producción para consumo humano, las densidades de cría son elevadas y existe alto riesgo de propagación de enfermedades especialmente en los polígonos acuícolas.

Sólo hay una granja, cuya finalidad es la suelta para pesca deportiva y cuya titularidad pertenece a la Administración Regional que presenta una especie, la trucha arco iris, sensible a enfermedades listadas. En lo concerniente a esta granja de truchas, si aplicamos los criterios de los cuadros anteriores el nivel de riesgo también sería bajo por los siguientes motivos:

El riesgo de contracción de enfermedades es bajo, ya que se encuentra muy alejada de cualquier otra instalación de acuicultura y las compras de alevines se realizan de forma puntual y siempre al mismo suministrador. El riesgo de propagación, por las mismas causas también es bajo, por lo que el riesgo total es bajo. Como la granja sería de categoría III, con un nivel de riesgo bajo precisa de al menos un control sanitario anual en lo referente en exclusiva al Sistema de Vigilancia Zoosanitaria y de al menos un control cada dos años en las inspecciones oficiales. Al existir una sola granja se propone la frecuencia de al menos un control al año.

En la tabla siguiente se refleja un resumen:

| Clase de instalación | Nivel de Riesgo | Clase de Vigilancia | Frecuencia de controles SVZ |
|---|-----------------|---------------------|-----------------------------|
| MARINA (Sin especies sensibles) | Bajo/Medio | Activa | 1 cada dos años |
| CONTINENTAL (Con especies sensibles) | Bajo | Activa | 1 cada año |

Por todo ello, los planes de muestro se planificarán con criterios de vigilancia activa, realizándose al menos una inspección sanitaria cada dos años. La granja de truchas se establece una periodicidad anual en los controles. Este nivel de control se justifica en el apartado referente al análisis de riesgos. Sin embargo, y dado el escaso número de instalaciones de acuicultura en el Litoral de la Región de Murcia, se considera asumible y factible la realización de un control anual por explotación.

Además de las inspecciones, el Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria se basa en comunicaciones obligatorias de las empresas al Servicio de Pesca y Acuicultura de determinados datos sanitarios, la correcta cumplimentación del Libro de Explotación Acuícola así como la realización por parte de dicho Servicio del Pesca y Acuicultura o del organismo en el que delegue, de un Programa de Vigilancia Epidemiológica para enfermedades importantes para la acuicultura de nuestra Región.

Por tanto, la Gestión de la Sanidad Animal en Acuicultura en la Región de Murcia se basa en los siguiente elementos:

- Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria.
- Registro de explotaciones acuícolas (REGA)
- Libro Explotación Acuícola
- Plan anual de inspecciones oficiales (artículo 7 del Real Decreto 1614/2008)
- Programa de Vigilancia Epidemiológica (PVE)

En Murcia, además de la legislación general, hay dos normativas directamente relacionadas con este tema:

Ley 2/2.007 de Pesca Marítima y Acuicultura de la Región de Murcia.

Orden de 28 de mayo de 2010, de la Consejería de Agricultura y Agua por la que se regula el libro de Explotación Acuícola de la Región de Murcia

Definición de umbral de mortalidad en Murcia:

En base a las características de la acuicultura marina en Nuestra Región se proponen los siguientes niveles:

- a. Dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*) y corvina (*Argyrosomus regius*)

1. Engorde

| Frecuencia | % de mortalidad en jaula | |
|------------|--------------------------|-------------------|
| | Ejemplares ≤100 g | Ejemplares >100 g |
| Mensual | 6 | 4 |
| Semanal | 3 | 2 |

2. Reproductores

Mortalidades superiores al 10 % de los ejemplares de un tanque.

3. Preengorde

| | |
|-------------------------------|-------------|
| 2 primeras semanas preengorde | 8 % semanal |
| Resto preengode | 3% semanal |

b. Atún (*Thunnus thynnus*)

| Frecuencia | % de mortalidad en jaula |
|------------|--------------------------|
| Mensual | 2 |
| Semanal | 1 |

6. SISTEMA DE VIGILANCIA ZOOSANITARIA EN GALICIA

El Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria en Galicia, con sus requisitos concretos en cuanto a la frecuencia de sus inspecciones y demás particularidades, se ha de combinar con las tareas de vigilancia específica que la autoridad competente habrá de continuar realizando para mantener la situación sanitaria declarada de acuerdo con el artículo 50.1.c de la Directiva 88/2006/CE: de Categoría I, “compartimentos libres de VHS y NHI”, de todas y cada una de las piscifactorías marinas de Galicia. (Tras haber desaparecido el concepto de zona litoral tal y como se recoge en el considerando 17 de la Decisión de la Comisión 2009/177/CE que establece disposiciones de aplicación de la Directiva 2006/88/CE).

Link con las explotaciones de Galicia declaradas compartimentos libres:

http://ec.europa.eu/food/animal/liveanimals/aquaculture/renovacion_declaracion_compartimentos_libres_shv_shv_nhi_en_piscifactorias_marinas.pdf

Dentro del Sistema de Vigilancia Zoonosanitaria, para la determinación de los niveles de riesgo de las explotaciones de Galicia, aun siendo todas ellas compartimentos libres de, hay que tener en cuenta que el nivel de riesgo individual de cada una de ellas puede variar en función de sus múltiples factores específicos: tipo de producción, especies presentes, enfermedades de que se trate, sistema de bioseguridad, nivel de competencia del personal, historial sanitario, etc.

Tal y como recomienda la Decisión 2008/896/CE, para evitar un sistema demasiado complicado, que requeriría mucho tiempo y sería poco rentable, además de hacer harto compleja la ponderación de todos y cada uno de estos factores de riesgo, aquí resultará mas oportuno centrarse únicamente en dos factores de riesgo:

1. La propagación de enfermedades a través del agua por causa de la proximidad geográfica de otras explotaciones.
2. Los movimientos de animales de acuicultura.

Así pues para determinar, de forma general, el nivel de riesgo de las explotaciones aplicaremos el modelo propuesto a los distintos modelos de explotación que hay en Galicia:

- Plantas de engorde que además producen sus propios juveniles.
- Plantas de engorde que compra sus juveniles a un proveedor.
- Criaderos de juveniles.

El riesgo de contracción y de propagación de enfermedades por PROXIMIDAD, a través del agua y por la proximidad geográfica de las explotaciones, es ciertamente bajo en las explotaciones de Galicia, dado el sistema de cultivo predominante en depósitos de agua en tierra firme, que posibilita que sus fuentes y sus salidas de agua ofrezcan un considerable nivel de protección contra la introducción y propagación de agentes patógenos.

Además, la baja densidad de explotaciones, unas 22 ampliamente distribuidas a lo largo de los 1500 km de costa de Galicia, posibilita que estén separadas por una distancia de seguridad en algunos casos muy amplia entre ellas. Aunque esta distancia de seguridad oficialmente ha de ser establecida por la autoridad competente.

Esto se refuerza aun mas en el caso de los criaderos que emplean sistemas de recirculación de agua y de desinfección/tratamiento de esta para impedir la introducción de agentes patógenos.

El riesgo de contracción y de propagación de enfermedades con los MOVIMIENTOS de entrada y salida de peces vivos en las explotaciones de Galicia, teniendo en cuenta si recibe o entrega animales vivos y en caso afirmativo, cual es el origen de esos animales vivos, en general también puede considerarse bajo.

Dada la calificación sanitaria de las plantas gallegas, esto impide que reciban peces procedentes de otras explotaciones con un nivel sanitario inferior, pues han de proceder exclusivamente de un lugar de origen también libre de estas enfermedades, que mayoritariamente es desde criaderos también situados en Galicia y casi siempre del mismo, con lo que el número de proveedores es muy limitado, reduciendo aun mas el nivel de riesgo.

Las plantas de cultivo que poseen criadero son autosuficientes en cuanto a sus necesidades de reposición de juveniles y por tanto con riesgo bajo en este aspecto. Los criaderos, aunque entregan peces con fines de reinstalación y esporádicamente renuevan los reproductores del medio salvaje, se constituyeron mayoritariamente estando vigente la Directiva 91/67/CE, que establecía una cuarentena oficial de los peces salvajes cuando se capturaban con finalidad de emplearlos como reproductores y continúan haciendo controles patológicos cuando renuevan alguno de ellos. Las pruebas científicas y la experiencia demuestran que con estos

controles la posibilidad de transmisión de las enfermedades listadas a las que son sensibles los rodaballos es muy limitada.

En resumen, la calificación sanitaria de las piscifactorías marinas de Galicia, junto con el análisis de sus factores específicos de riesgo, hace que el nivel de riesgo pueda considerarse en términos generales como bajo. Siendo la frecuencia de inspecciones recomendada para este nivel de una cada dos años, tanto en lo referente al Sistema de Vigilancia Zoonosológica como en lo referente a las inspecciones oficiales.

| Clase de instalación | de | Nivel de Riesgo | Clase de Vigilancia | de | Frecuencia controles SVZ |
|-------------------------|--------|-----------------|---------------------|----|--------------------------|
| Planta engorde criadero | de sin | Bajo/Medio | Activa | | 1 cada dos años |
| Planta engorde criadero | de con | Bajo | Activa | | 1 cada dos años |
| Criadero | | Bajo | Activa | | 1 cada dos años |

El hecho de que a día de hoy, todas las piscifactorías de Galicia activas estén autorizadas de acuerdo con el artículo 4 de la Directiva 2006/88/CE y normativa concordante que la traspone, Real Decreto 1614/2008.

Link del Ministerio con información de las explotaciones autorizadas:

http://www.mapa.es/ganaderia/pags/rega/emp_acu.pdf

Esta autorización desde el punto de vista de la sanidad animal, nos permite afirmar que la Gestión de la Sanidad Animal de las piscifactorías de la Comunidad Autónoma de Galicia se basa en los siguientes elementos:

1. Cumplimiento correcto de las obligaciones de registro y trazabilidad con el libro de explotación acuícola.
2. Aplicación de las guías de buenas prácticas en materia de higiene a fin de evitar la introducción y propagación de enfermedades.
3. Aplicación efectiva de un sistema de vigilancia zoonosológica basado en el riesgo por parte de las empresas autorizadas y las que quieran ser autorizadas, que podrán realizar incluso en base a un análisis de riesgos que tenga en cuenta mas factores de riesgo específicos de cada una de ellas que los aquí contemplados.
4. Implementación del Plan anual de inspecciones oficiales (artículo 7 del Real Decreto 1614/2008), que están definidos en el artículo 3 del Reglamento 882/2004, según el cual la autoridad competente habrá de hacer un análisis de riesgos para determinar que porcentaje de empresas tendrá que verificar anualmente que cumplen con los requisitos normativos. Independientemente

de las inspecciones con toma de muestras requeridas para el mantenimiento del estatus sanitario y que viene especificadas en la Decisión 2001/183/CE que establece los planes de muestreo y métodos diagnósticos para detección y confirmación de determinadas enfermedades de los peces.

5. Y el cumplimiento correcto de los requisitos documentales preceptivos para la puesta en el mercado de animales y productos de la acuicultura que la normativa sobre sanidad animal establece: comunicación y certificación sanitaria. Que reducen considerablemente el riesgo de contracción y propagación de enfermedades por los movimientos de entrada y salida de peces vivos de las explotaciones.

En cuanto a la definición de los umbrales de mortalidad en Galicia, dadas las características del cultivo de rodaballos, se podrían proponer unos niveles similares a los propuestos por la Región de Murcia. Pero definitivamente, tal y como establece el Real Decreto 1614/2008 en el Anexo I de definiciones técnicas, lo que se considerará un aumento de la mortalidad deberá ser decidido en todo caso por el responsable de la explotación conjuntamente con la autoridad competente. Lo cual es importante, porque cada vez que se supere ese umbral, se deben desarrollar actuaciones.

7. SISTEMA DE VIGILANCIA ZOOSANITARIA EN CANARIAS

En Canarias no se comercializan especies de peces sensibles a las enfermedades listadas, ya que la producción se limita a las especies marinas dorada, lubina, bocinegro, lenguado, siendo inexistente la acuicultura continental por las particularidades intrínsecas del archipiélago canario, por lo que el nivel de riesgo debe considerarse como bajo. Bajo estas condiciones, atendiendo a las recomendaciones que establece la autoridad competente, la periodicidad de las inspecciones debería quedar establecida en una cada cuatro años. Sin embargo, debido a la gran cantidad de explotaciones existentes en Canarias, su concentración

en polígonos de explotaciones acuícolas y por ello densidades de cría elevadas, el nivel de riesgo de propagación de enfermedades es elevado, por lo que podríamos considerar que las instalaciones existentes en el litoral del archipiélago canario presentan un nivel de riesgo medio-bajo en lugar de bajo.

Por todo ello, los planes de muestro se planificarán con criterios de vigilancia activa, realizándose al menos una inspección sanitaria cada dos años, atendiendo al nivel de riesgo justificado en el párrafo anterior. Sin embargo, dado la gran importancia económica que presenta esta actividad en el archipiélago canario, unida a la inexistencia de hatcheries en funcionamiento situadas en la Comunidad Autónoma lo cual conlleva la obligatoriedad de realizar importaciones de alevines desde otras comunidades autónomas, consideramos apropiado, factible y asumible la realización de un control anual por explotación.

Además de las inspecciones, el Sistema de Vigilancia Zoonosológica se basa en comunicaciones obligatorias de las empresas al Servicio de Estructuras Pesqueras de la Viceconsejería de Pesca de determinados datos sanitarios, la realización por parte de dicho Servicio de Estructuras Pesqueras de un Programa de Vigilancia Epidemiológica para enfermedades importantes para la acuicultura de la Comunidad Autónoma de Canarias.

Por tanto, la Gestión de la Sanidad Animal en Acuicultura en la Comunidad Autónoma de Canarias se basa:

- Registro de explotaciones (REGA)
- Plan anual de inspecciones oficiales (artículo 7 del Real Decreto 1614/2008)
- Programa de Vigilancia Epidemiológica (PVE)

En Canarias, además de la legislación general, hay dos normativas directamente relacionadas con este tema:

Ley 7/2.003 de Pesca de Canarias de 10 de abril de 2003

DECRETO 182/2004, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de la Ley de Pesca de Canarias.

Definición de umbral de mortalidad en Canarias:

En base a las características de la acuicultura marina en nuestra Comunidad Autónoma se proponen los siguientes niveles:

- a. Dorada (*Sparus aurata*), lubina (*Dicentrarchus labrax*), lenguado (*Solea senegalensis*) y corvina (*Argyrosomus regius*)

1. Engorde

| Frecuencia | % de mortalidad en jaula | |
|------------|--------------------------|-------------------|
| | Ejemplares ≤100 g | Ejemplares >100 g |
| Mensual | 6 | 4 |
| Semanal | 3 | 2 |

2. Preengorde

| | |
|-------------------------------|-------------|
| 2 primeras semanas preengorde | 8 % semanal |
| Resto preengorde | 3% semanal |

8. NORMATIVA APLICABLE

- Decisión 2008/896/CE, por la que se establecen directrices para los Sistemas Vigilancia Zoonositaria basados en el riesgo que dispone la Directiva 2006/88/CE.

- Ley 8/2003, de Sanidad Animal.

- Ley 2/2007 de Pesca Marítima y Acuicultura de la Región de Murcia.

- Orden de 28 de mayo de 2010, de la Consejería de Agricultura y Agua por la que se regula el libro de Explotación Acuícola de la Región de Murcia.

- Real Decreto 1614/2008, relativo a los requisitos zoonositarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos (Traspone Directiva 2006/88/CE).

- Reglamento (CE) 882/2004, DEL Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales.

-Decisión 2008/896/CE, por la que se establecen directrices para los Sistemas Vigilancia Zoonositaria basados en el riesgo que dispone la Directiva 2006/88/CE.

- Ley 8/2003, de Sanidad Animal.

- Real Decreto 1614/2008, relativo a los requisitos zoonositarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos (Traspone Directiva 2006/88/CE).

- Reglamento (CE) 882/2004, DEL Parlamento Europeo y del Consejo, de 29 de abril de 2004, sobre los controles oficiales efectuados para garantizar la verificación del cumplimiento de la legislación en materia de piensos y alimentos y la normativa sobre salud animal y bienestar de los animales.

- Ley 7/2.003 de Pesca de Canarias de 10 de abril de 2003

- DECRETO 182/2004, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de la Ley de Pesca de Canarias.

2.4.4. MEJORA DE MÉTODOS DIAGNÓSTICOS EN PLANES DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

Durante el curso de este proyecto, como uno de los principales objetivos, se obtuvo un protocolo común para los trabajos de muestreo y diagnóstico de nodavirus, VHSV e IPNV. Este protocolo se consensó entre todos los implicados en el análisis de muestras de cada comunidad (Murcia, Galicia y Canarias) y se recoge en el documento adjunto Protocolo JACUMAR 2009.

Por lo tanto, y a partir del documento consensado, todas las Comunidades Autónomas realizaban sus metodologías de acuerdo a este protocolo, si bien en determinados casos se han realizado metodologías complementarias en función de distintas líneas de investigación de cada grupo. Es importante que los aspectos principales de este protocolo tales como las secuencias de los cebadores a utilizar estuvieran consensadas de tal forma que se pudieran comparar resultados entre comunidades.

Debido a su alta sensibilidad se acordó que la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) sería el método de diagnóstico en el cual se basaban estos protocolos. Se eligieron aquellos cebadores con una mayor tasa de sensibilidad, especificidad y capacidad para reconocer virus de distintas serotipos en base a la experiencia previa de los laboratorios implicados.

Con el fin de aumentar la sensibilidad del método, al finalizar una primera ronda de PCR se optó por efectuar una segunda ronda de PCR interna sobre la primera, lo que se viene a llamar una “nested PCR”. Es cierto que la introducción de este paso aumenta de forma significativa la sensibilidad del diagnóstico, pero también es cierto que este paso plantea bastantes problemas.

Cada positivo que se obtiene por PCR, se secuencian para confirmar el resultado y a la vez, se inocula una muestra gemela en cultivo celular para verificar la presencia de virus vivo. De esta forma pudimos comprobar que la mayoría de los casos los positivos por PCR no se correspondían luego con positivos en cultivo celular. A pesar de que la PCR tiene una sensibilidad muy alta también hay que tener cuidado con los falsos positivos que se puedan obtener. Una PCR positiva con cultivo negativo puede significar que el virus está latente y no activo, o que se encuentra en unas concentraciones tan bajas que no se puede aislar en cultivo. Sin embargo para poder realizar estas conclusiones tenemos que estar completamente seguros de nuestro resultado de PCR y por lo tanto es esencial tener un método de comprobación como es la secuenciación. Cuando el fragmento amplificado que vamos a amplificar es lo suficientemente grande como para poder comparar entre aislados, podemos estar seguros de que el virus de campo amplificado es distinto a nuestro control interno de PCR.

Sin embargo en el caso de la nested PCR, los problemas aumentan. En nuestra experiencia, el número falsos positivos al introducir este paso aumenta considerablemente, y debido además a que el fragmento interno amplificado es mucho menor, su secuenciación no nos permite distinguir entre los aislados de campo y nuestro virus de laboratorio. Por lo tanto, una de las conclusiones de nuestro trabajo es que **desaconsejamos la utilización de la nested PCR como método de diagnóstico para programas de vigilancia epidemiológica.**

Sin embargo, teniendo en cuenta que información nos está suministrando, si que consideramos positivo el uso de la PCR normal como método de diagnóstico primario para programas de vigilancia epidemiológica, siempre que estas PCRs se confirmen por secuenciación y que se puedan distinguir los aislados de campo del virus de referencia del laboratorio. Este método permite el análisis de un gran número de muestras en un tiempo relativamente corto en comparación con otros métodos, y no va a producir nunca falsos negativos. Sin embargo, no siempre que detecte virus va implicar que exista una infección activa en marcha, y por lo tanto este es el siguiente paso necesario para poder declarar la presencia de un virus en una zona. Es decir, a pesar que se utilice la PCR como un método de “screening” de alto número de muestras, no se debe declarar un aislamiento positivo sin un positivo en cultivo celular.

Una de las consecuencias principales de la reunión de seguimiento del plan fue la necesidad de mejorar y homogenizar el *Protocolo Normalizado de Trabajo para Muestreo y diagnóstico de betanodavirus, VHSV e IPNV en peces salvajes y cultivados* Celebrada el 8 de mayo, en la Dirección General de Ganadería en Madrid. El objetivo era coordinar la metodología de trabajo por parte de los laboratorios designados por cada una de la CC.AA. participantes, con el fin de homogenizar los métodos de diagnóstico para las enfermedades objetivo del proyecto. Para este fin se convocó a los técnicos de dichos laboratorios, así como a los representantes del proyecto es cada comunidad, a los representantes de Sanidad Animal de Ministerio y a representantes del laboratorio de nacional de referencia para las enfermedades de los peces (Algete).

El documento final consensuado es el siguiente:

Protocolo Normalizado de Trabajo para Muestreo y diagnóstico de betanodavirus, VHSV e IPNV en peces salvajes y cultivados

1. Toma y transporte de muestras

- a. Las muestras se obtendrán, cuando sea posible, a partir de peces vivos, y en todo caso se hará a partir de peces muertos o moribundos [Nota: evitar los que estén en fase de "rigor mortis"].*
- b. Los órganos a muestrear en cada pez serán:*
 - i. Para el diagnóstico de beta-nodavirus: cerebro*
 - ii. Para el diagnóstico de VHSV e IPNV: riñón anterior y bazo*
- c. Toma de la muestra*
 - i. Los órganos se extraerán asépticamente*
 - ii. En el caso de alevines o peces de un tamaño superior a 5 cm, se extraerán los órganos indicados arriba. En el caso de alevines de un tamaño entre 3 y 5 cm, se separan la cabeza y las vísceras (desechando en la medida de posible los intestinos) del resto de la musculatura, y se procesan por separado. En el caso de peces de un tamaño inferior, los individuos se procesan enteros.*
 - iii. La mitad (al menos 0,3-0,5 gr) de cada órgano se introducirá en viales estériles de 1,5 – 5 ml*
 - 1. Cuando el transporte de la muestra vaya a durar más de 4 h, la porción de órgano citada en el apartado anterior se introducirá en tubos con 1,0 ml de RNAlater (Ambion) [Nota: De éste modo, el ácido nucleico de las muestras será estable durante 1 día a 37°C, o durante 1 semana a Tª ambiente].*
 - iv. La otra mitad del órgano se mantendrá a 4°C el mínimo tiempo posible, procediendo cuanto antes a su almacenamiento a -80°C (sin ningún aditivo), durante no más de 2 años. [Nota: En caso de detectar una muestra positiva por PCR, se utilizaría su homóloga congelada para proceder a la aplicación de la técnica de aislamiento en cultivo celular, para aislar el virus].*
- d. Transporte de las muestras al laboratorio de análisis:*
 - i. El sistema de transporte debe asegurar, en cualquier caso, la estabilidad de la muestra, y será distinto en cada Comunidad Autónoma, debido a la distancia entre el punto de toma de muestra y el laboratorio de análisis.*

- ii. *Larga distancia entre zona de muestreo y laboratorio (> 4 horas): En este caso, las muestras en RNAlater se enviarán refrigeradas al laboratorio, donde se procederá a la extracción de RNA, paso a cDNA y PCR para diagnóstico.*
- iii. *Proximidad entre zona muestreo y laboratorio: En estos casos, la distancia entre el los puntos de muestreo y el laboratorio de diagnóstico asegura el transporte de la muestra, bajo refrigeración, en menos de 4 h, por lo que no es necesario el uso de RNAlater.*
 1. *Los órganos podrán ser obtenidos in situ, en el propio punto de muestreo, en cuyo caso, las muestras se prepararán como se indica en los apartados 1.c III y IV, y se enviarán refrigeradas,*
 2. *Los órganos podrán ser extraídos en el laboratorio de diagnóstico, en cuyo caso, los peces muestreados en los puntos de muestreo deberán ser enviados refrigerados.*

2. Extracción del RNA

a. Reagrupación de muestras:

- i. *En el caso de los peces salvajes, cada pez se analizará individualmente [en casos concretos, este apartado podrá ser modificado, en función del volumen de peces implicado, pasando a la realización de pools, como se indica a continuación].*
- ii. *En el caso de los peces cultivados, se llevará a cabo reagrupación, dentro de cada planta de cultivo y lote, en pools de 5 individuos, siendo esta la unidad de análisis de diagnóstico [Nota: en este caso, la homogenización de los órganos se realizará de modo conjunto, para tener una única extracción de RNA por pool].*

b. *Extracción de RNA.- La extracción de RNA a partir de los tejidos se realiza mediante el sistema RNeasy® Mini Kit (Qiagen), de la siguiente forma: Hasta un máximo de 200 mg de tejido se homogenizan en 360 µl de tampón RLT [Nota: si es necesario, se utilizarán sistemas mecánicos, tipo OMNI o similares]. El resto del proceso se realiza siguiendo las indicaciones del fabricante. Finalmente el RNA se eluye en 75 µl de agua libre de nucleasas, y se conserva, en el caso de que no se vaya a utilizar de inmediato, a – 80°C.*

3. Síntesis de cDNA.-

Para obtener el cDNA, las muestras de RNA viral (0,25-5 µg totales) se incuban tal como indica el protocolo de la SuperScript™ III RT (Invitrogen) en presencia de random primers durante 5 min a 95°C, y a continuación se transfieren inmediatamente a 4°C. Seguidamente se añaden el resto de

los componentes de la reacción: 4 μ l de “5X First Strand buffer”, 1 μ l de DTT 0,1 M, 1 μ l de dNTP mix (10 mM cada unos de ellos), 50 U de SuperScript™ III RT, y agua libre de nucleasas hasta un volumen final de 20 μ l. Esta solución se incubaba a 25°C durante 10 min seguidos de otra incubación de 50°C durante 50 min (síntesis del cDNA). Finalmente la mezcla de reacción se somete a 85°C durante 5 min para inactivar la reversotranscriptasa. Opcionalmente se puede incubar la mezcla durante 20 min a 37°C en presencia de RNasa H para degradar los restos de RNA presentes. El cDNA obtenido se conserva a -80°C en el caso de que no vaya a ser utilizado de inmediato.

4. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

- a. Para la reacción de PCR se podrá utilizar el sistema HotMaster® Mix (2,5X), de Eppendorf, la GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega) o la Taq polimerasa de Invitrogen, según los laboratorios y la disponibilidad en cada momento, sin que esto afecte a las condiciones posteriores de amplificación para cada uno de los virus, las cuales se detallan en el anexo I. Se seguirán en todo momento las condiciones del fabricante.

Todas las PCRs llevarán los siguientes pasos:

1. 95°C durante 3-5 min
2. 95°C durante 30 seg
3. Tª específica de hibridación durante 30 seg
4. 68 °C-72°C durante 30 seg 35-40 ciclos de paso 2 a 4
5. 68 °C-72°C durante 10 min
6. 4°C hasta recoger

Los protocolos de amplificación acordados para los 3 virus son de “nested PCR” es decir, dos PCRs encadenadas, por lo que se realiza la primera PCR utilizando 4 μ l del cDNA en la muestra y en la segunda PCR interna se utiliza 2,5 μ l del producto de amplificación de la primera reacción.

El resultado de ambas reacciones de PCR se carga en un gel de agarosa 2% y las bandas específicas se visualizan en un transiluminador de UV.

5. *Actuaciones ante resultados positivos para cualquiera de los virus,*
- a. *El fragmento de PCR amplificado de la segunda PCR se secuenciará con el fin de corroborar el resultado positivo y tener indicios del tipo viral.*
 - b. *A partir de la réplica de la muestra correspondiente (bajo custodia, congelada, en las Consejerías), se procederá al aislamiento del virus, siguiendo para ello las normativas europeas y OIE.*

| virus | cebador | Secuencia (5'-3') | Posición | Cepa/zona | Producto | Tª hibridación |
|-------------|------------|-----------------------|----------|----------------------|----------|----------------|
| VHSV | VHSCM3A | CAGGCGTTGTCCGTGCTTCT | 352-371 | VHSV F1 strain gen N | 358 pb | 58°C |
| | VHSCM3B | ACCCTGCGAGTTTCCTGATGG | 689-709 | | | |
| VHSV nested | VHSCM3Aint | CTATGTAAGTCCAAGGGAAC | 375-395 | VHSV F1 strain gen N | 301 pb | 58°C |
| | VHSCM3Bint | CGGTGAAGTGCTGCAGTTC | 656-676 | | | |

PCR para VHSV

PCR para IPNV

| virus | cebador | Secuencia (5'-3') | Posición | Cepa/zona | Producto | Tª hibridación |
|-------|---------------------------|---------------------------|-----------|--------------------|----------|----------------|
| IPNV | Heppel U | AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC | 1403-1427 | IPNV Jaspe Segm. A | 358 pb | 58°C |
| | Heppel L | TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC | 1746-1761 | | | |
| | Heppel-intu (nested PCR) | AAAGGCATGGGGCTGGAGAG | 220-239 | IPNV Jaspe Segm.A | 210 pb | 58°C |
| | heppel_intl (nested PCR) | CTCCGCTTGCCCAGGACTC | 524-509 | | | |
| | Heppel L (seminested PCR) | TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC) | | IPNV Jaspe Segm.A | 322 pb | 58°C |

PCR para nodavirus

| virus | cebador | Secuencia (5'-3') | Posición | Cepa/zona | Producto amplificación | Tª hibridación |
|---------------|-----------|----------------------|-----------|------------|------------------------|----------------|
| Betanodavirus | NODAF2 | CGTGTCAGTCATGTGTCGCT | 604-623 | SJNNV/RNA2 | 427 pb | 58°C |
| | NODAR3 | CGAGTCAACACGGGTGAAGA | 1011-1030 | | | |
| | noda F2.2 | GATTCGTTCCATTCTCTTG | 644-663 | SJNNV/RNA2 | 180 pb | 58°C |
| | noda F3.2 | AGTGTCTCCAGCTTTCTTCT | 806-824 | | | |

Finalmente y como parte del trabajo desarrollado en este proyecto, el grupo de Galicia ha diseñado una nueva estrategia de diagnóstico para nodavirus en la que se combinan los primers NODA F2 y NODA R3 en primera PCR con una PCR nested interna utilizando primers degenerados, la cual asegura una mayor sensibilidad. Debido a falta de tiempo, los otros grupos participantes (Murcia y Canarias) no han comprobado todavía la efectividad real de esta variante.

| | | | | | |
|-----------|---------------------|---------|------------|--------|------|
| noda F2.2 | CRTCYCTYGAGACACCTGA | 644-663 | SJNNV/RNA2 | 180 pb | 58°C |
| noda F3.2 | TGTARTCAATGGRCARCGG | 806-824 | | | |

2.4.5. PREVALENCIA ENFERMEDADES VÍRICAS EN ACUICULTURA Y SILVESTRES

PREVALENCIA DE ENFERMEDADES VÍRICAS EN ACUICULTURA Y PECES SILVESTRES EN GALICIA

Resultados en Acuicultura

Muestreos

Durante el periodo 2007-2010 se muestrearon semestralmente 28 plantas de cultivo, de diversas especies de peces, distribuidas por las costas oeste y norte de la Comunidad Autónoma (Fig 1). Los muestreos fueron estacionales: el primero entre los meses de abril y julio, coincidiendo con las temperaturas del agua más altas, y el segundo entre octubre y diciembre, para hacerlo coincidir con la temporada de aguas frías.

Las especies y tamaños muestreados dependieron de la planta y de los lotes existentes en el momento del muestreo. La especie mayoritaria fue rodaballo, *Scophthalmus maximus* (en todas las fases del cultivo; 25 plantas), seguida de lenguado (*Solea solea* y *S. senegalensis*) (10 plantas) y, muy por detrás, besugo (*Pagellus bogaraveo*) (3 plantas), abadejo (*Pollachius pollachius*) (2 plantas), salmón (*Salmo salar*) (1 planta) y lubina (*Dicentrarchus labrax*) (1 planta) (Tabla 1)

En cada planta se muestrearon 30 individuos representativos de todos los lotes, excepto en el caso de los lotes de alevines de menor tamaño (en estos casos, se muestrearon aproximadamente 30 individuos del lote), huevos y esperma (en que la muestra correspondiente a estos lotes se calculó volumétricamente).

Procedimiento de análisis.- La metodología empleada fue la de aislamiento en cultivo celular, siguiendo el manual de diagnóstico de VHSV e IHNV de la UE, disponible en la web del Laboratorio Europeo de Referencia de Aarhus (http://www.crl-fish.eu/Diagnostic_Manuals/VHS.aspx) o el manual de diagnóstico de

la Organización Internacional de Epizootias (OIE)
(http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A_summry.htm).

Resultados

A lo largo del período indicado no se detectó ningún virus de declaración obligatoria según directiva 2006/88/EC; sí se detectó, por aislamiento, virus de la necrosis pancreática infecciosa en una empresa de rodaballo en el primer semestre de 2009, y en dos plantas, de rodaballo y de lenguado, en el primer semestre de 2010.

Resultados en Peces Silvestres

Muestras

En el período 2007-2009 se realizaron muestreos de peces merodeadores, limitándonos a dos especies: múgel (*Mugil labrorus*) y boga (*Boops boops*); además, se muestrearon numerosas especies (más de 20) salvajes capturadas para consumo humano. Los merodeadores se capturaron en la inmediaciones de jaulas flotantes en Moaña, Esteiro, Oleiros y Ortigueira, mientras que las especies salvajes de consumo humano se muestrearon en lonjas (Vigo, Ribeira, A Coruña y Celeiro-Burela).

Los muestreos se realizaron en dos estaciones del año (excepto en 2007, aunque sólo se llevó a cabo en otoño-invierno), con el fin de incrementar la probabilidad de detectar cepas adaptadas a mayores o menores temperaturas.

En cualquiera de ambos casos, los peces fueron trasladados en neveras en frío, en un máximo de 3 h de transporte, al laboratorio de análisis donde fueron procesados inmediatamente.

Las especies analizadas y el número de individuos muestreados en cada caso son los indicados en la Tabla 1. Como se observa, el número total de individuos analizados en los 3 años fue de cerca de 1200, con una cifra mayor en 2008,

aunque debido al gran número de individuos de múgel muestreados en ese año. Las especies más representadas fueron lenguado (*Solea* spp.) y salmonete (*Mullus barbatus*), seguidas por abadejo (*Pollachius pollachius*), besugo (*Pagellus bogaraveo*), lubina (*Dicentrarchus labrax*), rodaballo (*S. maximus*) y sargo (*Diplodus sargus*).

Procedimiento de análisis

La metodología empleada para el análisis virológico fue la descrita en el manual de diagnóstico diseñado expresamente para este proyecto. Se empleó RT-PCR/Nested PCR y aislamiento en cultivo celular. Los virus objeto del estudio fueron el virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) y virus tipo-IPNV, el virus de la septicemia hemorrágica viral (VHSV), virus de la necrosis hematopoyética infecciosa (IHNV) y el virus de la necrosis nerviosa viral (VNNV) o betanodavirus.

Resultados

Virus detectados por RT-PCR/Nested.- Con el fin de asegurar la fiabilidad de la interpretación de los resultados, se aplicaron dos criterios de rechazo: especies con un número total de muestras inferior a 5 y especies con muestreos en un único año. Por ello, de las 23 especies se eliminaron, por el primer criterio, *aguja*, y por el segundo, *boga*, *caballa*, *dorada*, *wrasse*, *mero* y *beryx*, quedando finalmente con 16 especies con resultados interpretables.

En el diagrama de barras de la figura 2 se muestran los resultados de prevalencia de los 3 virus objeto de estudio en los 3 años de muestreos. En los años 2007 y 2008 se observó, en general, una mayor prevalencia de virus VHSV en la mayor parte de las especies analizadas. Sin embargo, la prevalencia de este virus pareció caer drásticamente en el tercer año de muestreo a favor del virus IPNV.

Un dato importante es que, a pesar de que inicialmente se presuponía que se podría usar múgel como especie centinela, en realidad fueron besugo, lenguado y rodaballo, es decir, las mismas especies prioritarias en cultivo, las que se fueron portadoras de los 3 virus en todos los muestreos, por lo que sería idóneo su

muestreo periódico para prever probables riesgos ambientales en cualquier momento.

En la figura 3 se muestra la evolución de la prevalencia de cada uno de los 3 virus a lo largo de los 3 años del estudio. Como ya se indicó antes, la baja prevalencia de IPNV en 2007 contrasta con los altos niveles de VHSV en ese mismo período, cambiando la relación de prevalencia entre ambos virus en el último año. Sin embargo, el resultado más interesante se obtuvo con VNNV, puesto que se demostró un incremento gradual de su prevalencia a lo largo del período del estudio.

La interpretación de estos resultados podría sacarse de la siguiente figura (Fig 4), en la que se muestra la prevalencia de cada virus a lo largo de las diversas estaciones, asociada a la temperatura media del agua en cada estación (según datos de Meteo Galicia). Como se observa, la caída de VHSV y aumento de la prevalencia de IPNV podría estar asociada al incremento de la temperatura de las aguas en 2009; esto podría, además, ser la causa del incremento paulatino de la prevalencia de VNNV.

Finalmente, también se aplicó RT-PCR para detección de IHNV (virus de la necrosis hematopoyética infecciosa) en estas especies salvajes. Sin embargo, con este virus sólo se trabajó en 2008, por lo que no se puede aplicar una interpretación científica rigurosa de resultados. Simplemente podemos indicar que en ningún caso se detectó el virus en primera fase de RT-PCR, siempre tras reamplificación por Nested PCR, lo que indica claramente que los peces detectados como portadores (alrededor del 50%) lo eran en muy baja carga viral. Por especies, raya, pargo, besugo, salmonete, sargo, lenguado, rodaballo y múgel mostraron las mayores prevalencias, desde 33% en raya, hasta 11% en múgel.

Virus detectados por aislamiento en cultivo celular.- Para este apartado se empleó el protocolo oficial de la UE y una variante consistente en triplicar el tiempo de incubación de los tapices inoculados, tanto en primer como en segundo pase. Además, siguiendo el protocolo oficial se emplearon las células BF-2 y EPC,

mientras que en la modificación del mismo se incluyó, además, la célula CHSE-214, por su demostrada sensibilidad a una gran variedad de virus, no sólo los de declaración obligatoria.

Es necesario destacar que, aplicando el protocolo oficial empleado en todos los análisis (con 7-10d de incubación) no se detectó más que virus IPNV; sin embargo, cuando se aplicó (en la campaña del 2007) la variante del protocolo (con 1 mes de incubación, e incluyendo CHSE-214) se aisló, además de un mayor número de cepas de IPNV, alguna de VHSV en diversas especies (Tabla 2), incluyendo besugo, lenguado y rodaballo.

PREVALENCIA DE ENFERMEDADES BACTERIANAS EN ACUICULTURA

Muestreos

Los muestreos corresponden a los indicados en el apartado anterior.

Procedimiento de análisis

La toma de muestras se tomó, de modo aséptico, a partir de riñón, bazo e hígado, sembrando en diversos medios de cultivo para el aislamiento. Para la identificación se emplearon pruebas bioquímicas rutinarias y, cuando fue necesario, se empleó el sistema API y/o el MIDI Sherlock.

Resultados (Ordenados por semestre)

1^{er} semestre-2007: Presencia de *Photobacterium damsela* subespecie *damsela* en jaulas flotantes, y de numerosos miembros del genero *Vibrio*: (*V. fisheri*, *V. costicola*, *V. marinus*, *V. mediterranei*, *V. nereis*, *V. pelagius* biotipo I y II) y en especial de *Vibrio scophthalmi*.

2^o semestre-2007: Presencia de numerosos miembros del genero *Vibrio*: (*V. fisheri*, *V. costicola*, *V. pelagius* biotipo I y II) y en especial de *Vibrio scophthalmi*. Además se ha detectado la presencia de *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Pasteurella*, *Photobacterium* y *Tenacibaculum* en diferentes plantas.

1^{er} semestre-2008: Presencia de numerosos miembros del genero *Vibrio*: (*V. fisheri*, , *V. nereis*, , *V. pacinii*,, *V. splendidus* biotipo I, *V. pelagius* biotipo I y II) y en especial de *Vibrio scophthalmi*.

2^o semestre-2008: Presencia de numerosos miembros del genero *Vibrio* como *V. fisheri*, *V. pelagius* biotipo I y II y en especial de *Vibrio scophthalmi*.

1^{er} semestre- 2009: Presencia de numerosos miembros del genero *Vibrio* como *V. fisheri*, *V. harveyi*, *V. pelagius* biotipo I y II y en especial de *Vibrio scophthalmi*.

2^o semestre-2009: Presencia de un importante patógeno bacteriano como *Edwardsiella tarda*, de una especie del antiguo género *Flexibacter* como es *Tenacibaculum mesophilum* y la dispersión de *Vibrio scophthalmi* de manera preocupante.

1^{er} semestre 2010: Es destacable la presencia, en diversas plantas, de gran número de especies bacterianas del genero *Vibrio*, como *V. pelagius*, *V. splendidus*, *V. fisheri* y *V. scophthalmi*.

Fig 1.- Distribución de los puntos de muestreo oficial en Acuicultura Marina

- 1.- *Acuidoro*
- 2.- *Airogal*
- 3.- *Allesa*
- 4.- *Aquacría*
- 5.- *Cluster*
- 6.- *IGAFÁ*
- 7.- *Insuiña SL, Chapela*
- 8.- *Insuiña SL, Ch Jaulas*
- 9.- *Insuiña SL, Grove*
- 10.- *Insuiña SL, Mougás*
- 11.- *Insuiña SL, Xove*
- 12.- *Isidro de la Cal, Barqueiro*
- 13.- *Isidro de la Cal, Lorbé,*
- 14.- *Isidro de la Cal, Valdoviño*
- 15.- *Loitamar*
- 16.- *Marcultura, Esteiro*
- 17.- *Marcultura, Sismundi*
- 18.- *North West Food*
- 19.- *Piscícola del Morrazo*
- 20.- *Projoscar*
- 21.- *Punta Moreiras*
- 22.- *Sea Solf, Nastos*
- 23.- *Stolt Sea Farm, Cabo Vilano*
- 24.- *Stolt Sea Farm, Couso*
- 25.- *Stolt Sea Farm, Lira*
- 26.- *Stolt Sea Farm, Merexo*
- 27.- *Stolt Sea Farm, Palmeira*
- 28.- *Stolt Sea Farm, Quilmas*

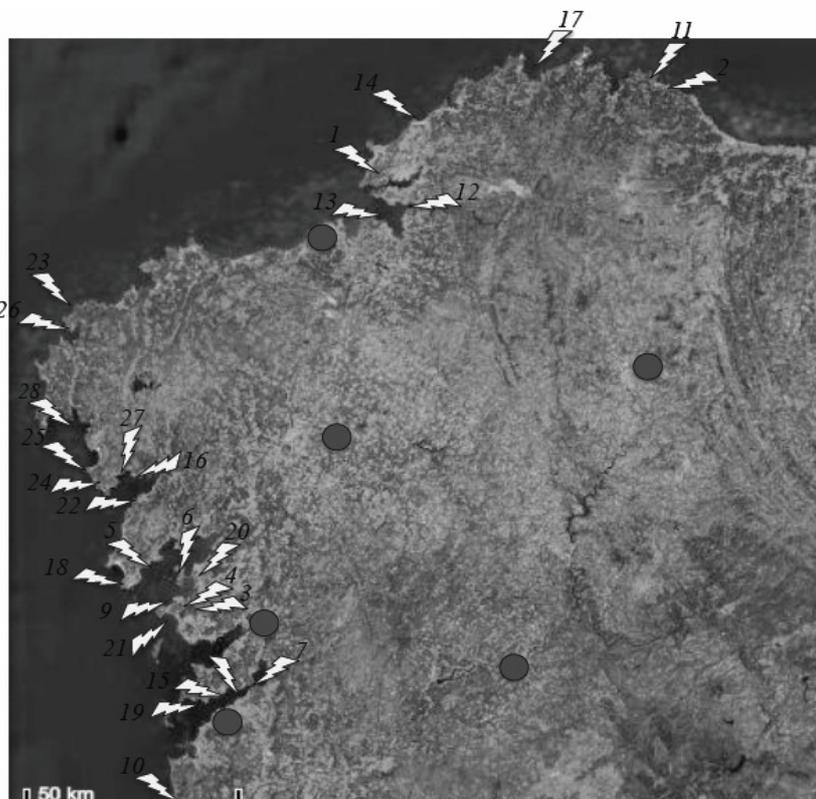


Tabla 1.- Especies silvestres objeto de estudio

| | | 2007 | 2008 | 2009 | Total Ind |
|-----------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|-----------|
| | | nº Ind | nº Ind | nº Ind | |
| Abadejo | <i>Pollachius pollachius</i> | 13 | 46 | 27 | 86 |
| Acedía | <i>Solea lascaris</i> | 11 | 38 | 0 | 49 |
| Besugo | <i>Pagellus bogaraveo</i> | 12 | 51 | 20 | 83 |
| Boga | <i>Boops boops</i> | 12 | 0 | 0 | 12 |
| Caballa | <i>Scomber scombrus</i> | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Corbina | <i>Argyrosomus regius</i> | 4 | 2 | 7 | 13 |
| Coruxo | <i>Scophthalmus rhombus</i> | 10 | 15 | 16 | 41 |
| Dorada | <i>Sparus aurata</i> | 0 | 3 | 0 | 3 |
| Wrasse | <i>Coris sp.</i> | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Jurel | <i>Trachurus trachurus</i> | 5 | 0 | 7 | 12 |
| Lenguado | <i>Solea solea</i> | 27 | 60 | 59 | 146 |
| Lubina | <i>Dicentrarchus labrax</i> | 17 | 32 | 37 | 86 |
| Mero | <i>Epinephelus marginatus</i> | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Múgel | <i>Mugil labrosus</i> | 57 | 188 | 51 | 296 |
| Beryx (Palometa roja) | <i>Beryx splendis</i> | 3 | 0 | 0 | 3 |
| Pargo | <i>Pagrus pagrus</i> | 0 | 5 | 10 | 15 |
| Aguja | <i>Belone belone</i> | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Raya | <i>Raja sp</i> | 5 | 12 | 0 | 17 |
| Rodaballo | <i>Scophthalmus maximus</i> | 4 | 25 | 25 | 54 |
| Rubio | <i>Trigloporus lastoviza</i> | 0 | 0 | 14 | 14 |
| Salmonete | <i>Mullus barbatus</i> | 21 | 84 | 45 | 150 |

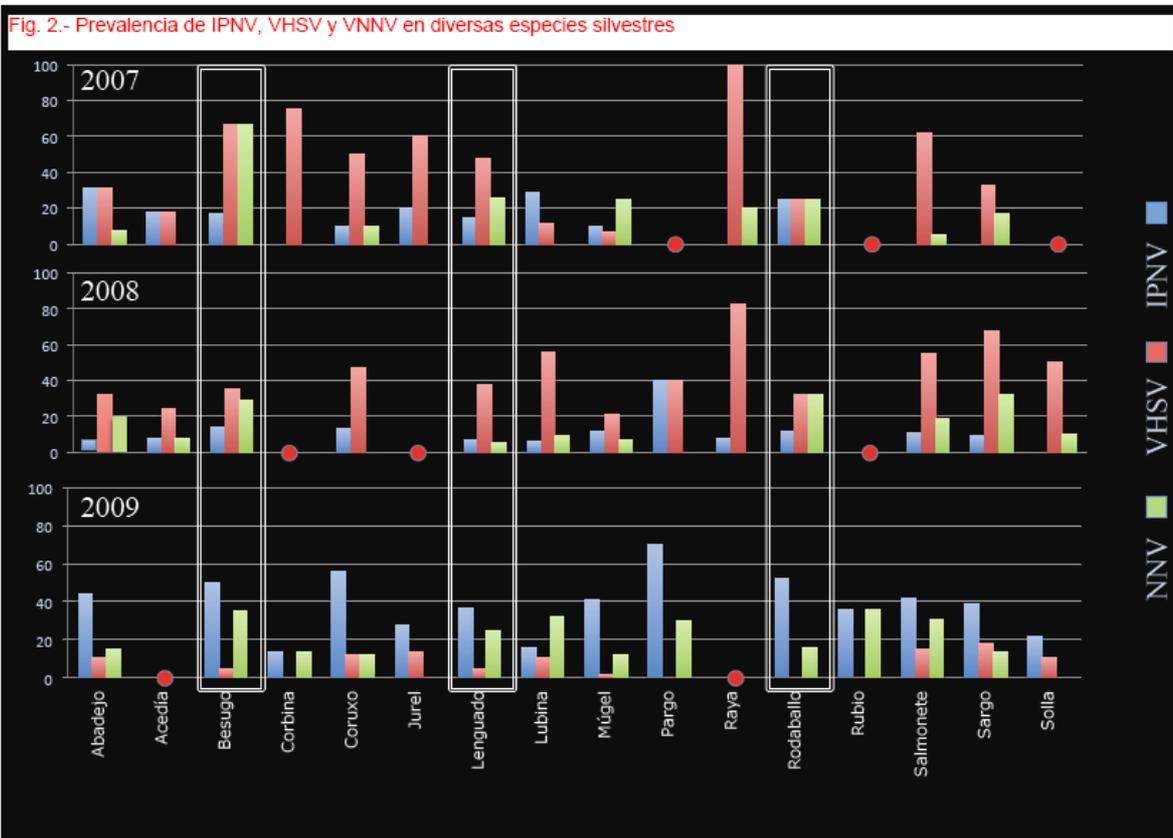
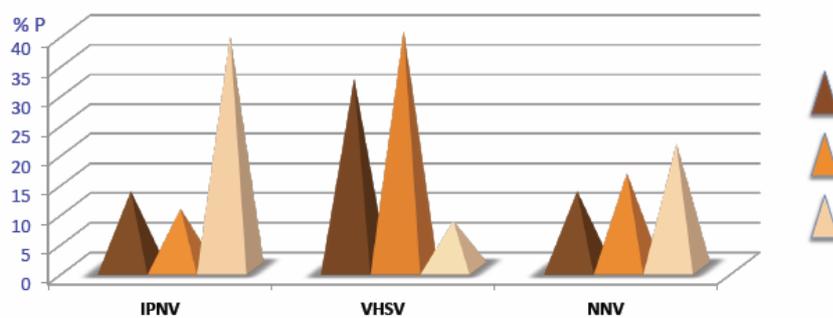


Fig 3.- Evolución de la prevalencia de 3 virus en peces silvestres de 2007 a 2009



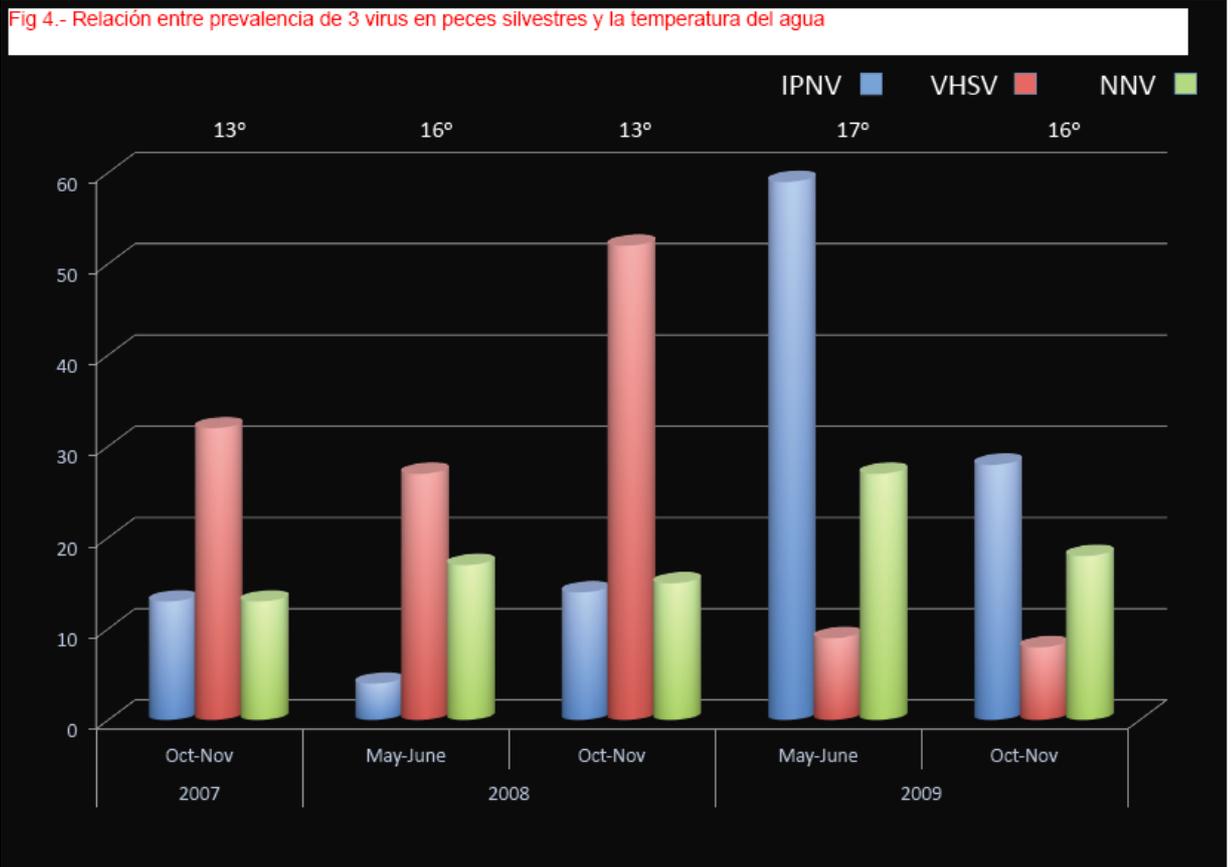


Tabla 2.- Resultados de aislamiento en cultivo celular
(datos en número de individuos; entre paréntesis: porcentaje de prevalencia)

| | | 2007 | | | | | 2008 | | | | 2009 | | | | | Total Ind | |
|-----------------------|-------------------------------|----------|----------|----------|-------|----------|--------|-----------|-------|-------|--------|---------|-------|---------|---------|-----------|--------|
| | | IPNV | VHSV* | IP/VH | NNV | No Id | nº Ind | IPNV | VHSV | NNV | nº Ind | IPNV | VHSV | NNV | No Id | | nº Ind |
| Abadejo | <i>Pollachius pollachius</i> | | 1 (7,7) | | | | 13 | 10 (21,8) | | | 46 | | | | | 27 | 86 |
| Acedia | <i>Solea lascaris</i> | 3 (27,3) | | | | 2 (18,2) | 11 | 3 (7,9) | | | 38 | | | | | 0 | 49 |
| Besugo | <i>Pagellus bogaraveo</i> | 3 (25,0) | | | | | 12 | 13 (25,5) | | | 51 | | | | 20 | | 83 |
| Boga | <i>Boops boops</i> | 1 (8,3) | 3 (25,0) | | | 4 (33,3) | 12 | | | | 0 | | | | | 0 | 12 |
| Caballa | <i>Scomber scombrus</i> | | | | | | 1 | | | | 0 | | | | | 0 | 1 |
| Corbina | <i>Argyrosomus regius</i> | | | | | 1 (25,0) | 4 | | | | 2 | | | | | 7 | 13 |
| Coruxo | <i>Scophthalmus rhombus</i> | | 1 (10,0) | 1 (10,0) | | 2 (20,0) | 10 | 6 (40,0) | | | 15 | | | | 16 | | 41 |
| Dorada | <i>Sparus aurata</i> | | | | | | 0 | | | | 3 | | | | | 0 | 3 |
| Wrasse | <i>Coris sp.</i> | | | | | | 0 | | | | 2 | | | | | 0 | 2 |
| Jurel | <i>Trachurus trachurus</i> | | | | | | 5 | | | | 0 | | | | 7 | | 12 |
| Lenguado | <i>Solea solea</i> | 1 (3,7) | | | | 4 (18,8) | 27 | 11 (18,3) | | | 60 | | | | 59 | | 146 |
| Lubina | <i>Dicentrarchus labrax</i> | | | | | | 17 | | | | 32 | | | | 37 | | 86 |
| Mero | <i>Epinephelus marginatus</i> | | | | | | 0 | | | | 1 | | | | | 0 | 1 |
| Múgel | <i>Mugil labrosus</i> | | 1 (1,8) | 1 (1,8) | | | 57 | 25 (13,3) | | | 188 | 3 (5,9) | | 3 (5,9) | 51 | | 296 |
| Beryx (Palometa roja) | <i>Beryx splendis</i> | 1 (33,3) | 1 (33,3) | | | 1 (33,3) | 3 | | | | 0 | | | | | 0 | 3 |
| Pargo | <i>Pagrus pagrus</i> | | | | | | 0 | | | | 5 | | | | 10 | | 15 |
| Águja | <i>Belone belone</i> | | | | | | 1 | | | | 0 | | | | | 0 | 1 |
| Raya | <i>Raja sp</i> | | | | | 1 (20,0) | 5 | | | | 12 | | | | | 0 | 17 |
| Rodaballo | <i>Scophthalmus maximus</i> | | 1 (25,0) | | | 1 (25,0) | 4 | 4 (16,0) | | | 25 | | | | 25 | | 54 |
| Rubio | <i>Trigloporus lastoviza</i> | | | | | | 0 | | | | 0 | | | | 14 | | 14 |
| Salmonete | <i>Mullus barbatus</i> | 2 (9,5) | 1 (4,8) | | | 1 (4,8) | 21 | 14 (16,7) | | | 84 | 1 (2,2) | | | 45 | | 150 |
| Sargo | <i>Diplodus sargus</i> | 1 (16,7) | 2 (33,3) | | | | 6 | 13 (22,8) | | | 57 | 2 (7,1) | | | 28 | | 91 |
| Solla | <i>Pleuronectes platessa</i> | | | | | | 1 | | | | 10 | | | | 9 | | 20 |
| TOTAL | | 12 (5,7) | 11 (5,2) | 2 (10) | 0 (0) | 17 (8,1) | 210 | 99 (15,7) | 0 (0) | 0 (0) | 631 | 6 (1,7) | 0 (0) | 0 (0) | 3 (5,9) | 355 | 1196 |

* Detección por aislamiento en cultivo celular no siguiendo normas europeas (1 mes + 1 mes de incubación)

PREVALENCIA DE ENFERMEDADES VÍRICAS EN ACUICULTURA Y PECES SILVESTRES EN CANARIAS

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE GRAN CANARIA EN 2007

Muestreos de acuicultura en Gran Canaria

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Corvina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| | | | | | | | | | | |

Muestreos de ejemplares silvestres en Gran Canaria

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Boga | 20 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Pejerrey | 5 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Bicuda | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Jurel | 0 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Fula | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Medregal | 1 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Palometa | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Chopa | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Salemas | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sargo | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lebranco | 10 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Cabrilla | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Caballa | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sardinas | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE TENERIFE EN 2007

Descripción de ejemplares de acuicultura en zona norte de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

Descripción de ejemplares de acuicultura en zona sur de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Corvina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

Muestras de ejemplares silvestres en zona norte de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 10 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Boga | 10 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Bicuda | 5 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Fula | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Palometa | 10 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Chopa | 7 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Salemas | 11 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sargo | 20 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lebrancho | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Cabrilla | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Caballa | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sardinas | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

Muestras de ejemplares silvestres en zona sur de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 20 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Boga | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Bicuda | 3 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Fula | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Palometa | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Chopa | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Salemas | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sargo | 20 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lebrancho | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Cabrilla | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Caballa | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sardinas | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE LA PALMA EN 2007

Muestreos de ejemplares de acuicultura en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

Muestreos de ejemplares de acuicultura obtenidos del medio natural en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|---|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 2 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 3 | - | | - | - | | - | - | | - |

Muestreos de ejemplares silvestres en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 12 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Boga | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Bicuda | 7 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Fula | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Galanas | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Pejeverde | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Palometa | 3 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Tamboril | 10 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Chopa | 14 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Salemas | 12 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sargo | 17 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lebranco | 11 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Cabrilla | 7 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Caballa | 4 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sardinas | 17 | - | | - | - | | - | - | | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE GRAN CANARIA EN 2008

Muestreos de acuicultura en Gran Canaria

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 40 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lubina | 30 | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| Corvina | 15 | - | - | - | - | - | - | - | + | - |
| Lenguados | 30 | - | - | - | - | - | - | + | + | + |

Todos los resultados positivos a nodavirus se correspondían con ejemplares de acuicultura obtenidos de una misma explotación. A continuación desglosamos los resultados obtenidos en dicho muestreo.

| Muestra | Nodavirus | | |
|-----------|-----------|--------|---------|
| | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Lubina 1 | - | + | - |
| Lubina 2 | - | + | - |
| Lubina 3 | - | - | - |
| Lubina 4 | - | - | - |
| Lubina 5 | - | - | - |
| Lubina 6 | - | + | - |
| Lubina 7 | - | + | - |
| Lubina 8 | - | - | - |
| Lubina 9 | - | - | - |
| Lubina 10 | - | + | - |
| Lubina 11 | - | + | - |
| Lubina 12 | - | - | - |
| Lubina 13 | - | + | - |
| Lubina 14 | - | + | - |
| Lubina 15 | - | + | - |
| Lubina 16 | - | - | - |
| Lubina 17 | - | + | - |
| Lubina 18 | - | - | - |
| Lubina 19 | - | - | - |
| Lubina 20 | - | + | - |
| Lubina 21 | - | + | - |
| Lubina 22 | - | - | - |
| Lubina 23 | - | - | - |
| Lubina 24 | - | + | - |
| Lubina 25 | - | - | - |
| Lubina 26 | - | - | - |
| Lubina 27 | - | + | - |
| Lubina 28 | - | + | - |
| Lubina 29 | - | - | - |
| Lubina 30 | - | - | - |

| Muestra | Nodavirus | | |
|-------------|-----------|--------|---------|
| | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Corvina 1 | - | + | - |
| Corvina 2 | - | - | - |
| Corvina 3 | - | + | - |
| Corvina 4 | - | + | - |
| Corvina 5 | - | - | - |
| Corvina 6 | - | - | - |
| Corvina 7 | - | + | - |
| Corvina 8 | - | + | - |
| Corvina 9 | - | + | - |
| Corvina 10 | - | - | - |
| Corvina 11 | - | + | - |
| Corvina 12 | - | + | - |
| Corvina 13 | - | + | - |
| Corvina 14 | - | - | - |
| Corvina 15 | - | + | - |
| Lenguado 1 | + | + | + |
| Lenguado 2 | + | + | + |
| Lenguado 3 | + | + | + |
| Lenguado 4 | + | + | + |
| Lenguado 5 | + | + | + |
| Lenguado 6 | + | + | + |
| Lenguado 7 | + | + | + |
| Lenguado 8 | + | + | + |
| Lenguado 9 | + | + | + |
| Lenguado 10 | + | + | + |
| Lenguado 11 | + | + | + |
| Lenguado 12 | + | + | + |
| Lenguado 13 | + | + | + |
| Lenguado 14 | + | + | + |
| Lenguado 15 | + | + | + |

Muestreos de ejemplares silvestres en Gran Canaria

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Boga | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Pejerrey | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bicuda | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fula | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Medregal | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palometa | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Chopa | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Salemas | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargo | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lebrancho | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cabrilla | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Caballa | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sardinas | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE TENERIFE EN 2008

Descripción de ejemplares de acuicultura en zona sur de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lubina | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Corvina | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Muestreos de ejemplares silvestres en zona sur de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Boga | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bicuda | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fula | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palometa | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Chopa | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Salemas | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargo | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lebrancho | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cabrilla | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Caballa | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sardinas | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE LA PALMA EN 2008

Muestras de ejemplares de acuicultura en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Corvina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

Muestras de ejemplares de acuicultura obtenidos del medio natural en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Corvina | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |

Muestras de ejemplares silvestres en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 12 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Boga | 30 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Bicuda | 7 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Fula | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Galanas | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Pejeverde | 15 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Palometa | 3 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Tamboril | 10 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Chopa | 14 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Salemas | 12 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sargo | 17 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lebrancho | 11 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Cabrilla | 7 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Caballa | 4 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Sardinas | 17 | - | | - | - | | - | - | | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE LANZAROTE EN 2008

Muestreos de ejemplares de acuicultura en Lanzarote

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lubina | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Corvina | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Muestreos de ejemplares de acuicultura obtenidos del medio natural en Lanzarote

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lubina | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Corvina | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Muestreos de ejemplares silvestres en Lanzarote

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 12 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Boga | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bicuda | 7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fula | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Galanas | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Pejeverde | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palometa | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Tamboril | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Chopa | 14 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Salemas | 12 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargo | 17 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lebrancho | 11 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cabrilla | 7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Caballa | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sardinas | 17 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE GRAN CANARIA EN 2009

Muestreos de acuicultura en Gran Canaria

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 50 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lubina | 45 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lenguados | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Muestreos de ejemplares silvestres en Gran Canaria

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Boga | 45 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bicuda | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Jurel | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fula | 25 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargos | 23 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palometa | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Chopa | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Salemas | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargo | 23 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lebrancho | 28 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cabrilla | 12 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Caballa | 11 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sardinas | 18 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE TENERIFE EN 2009

Descripción de ejemplares de acuicultura en zona sur de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 60 | - | | - | - | | - | - | | - |
| Lubina | 60 | - | | - | - | | - | - | | - |

Muestreos de ejemplares silvestres en zona sur de Tenerife

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|-----------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 23 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Boga | 46 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bicuda | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fula | 45 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargos | 32 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Palometa | 17 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Chopa | 21 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Salemas | 28 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargo | 32 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lebrancho | 19 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cabrilla | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Caballa | 23 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sardinas | 34 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE LA PALMA EN 2009

Muestreos de ejemplares de acuicultura en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|---------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Dorada | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lubina | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Muestreos de ejemplares silvestres en La Palma

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|------------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Besugo | 2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Boga | 60 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Pejeverdes | 60 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Galanas | 3 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fula | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Pejepeines | 26 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Chopa | 30 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Tamboriles | 33 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bocinegros | 45 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Brecas | 40 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargo | 7 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lebrancho | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cabrilla | 34 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Caballa | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

MUESTREOS REALIZADOS EN LA ISLA DE LANZAROTE EN 2009

Muestreos de ejemplares silvestres en Lanzarote

| Especie | | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|------------|----|-----|--------|---------|-----|--------|---------|-----------|--------|---------|
| | | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO | PCR | NESTED | CULTIVO |
| Boga | 60 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Brecas | 60 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Bocinegros | 55 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Pejeverdes | 32 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Fula | 5 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Galanas | 10 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Herrerías | 4 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Chopa | 45 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Tamboriles | 15 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lagartos | 21 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Mojarras | 6 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sargo | 9 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lebranco | 11 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Cabrilla | 20 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Caballa | 13 | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Comentarios acerca del VHS

La septicemia hemorrágica viral es una enfermedad infecciosa de especies continentales y marinas, causada por un rhabdovirus, originalmente aislado en trucha arcoíris en Europa. En Europa y EEUU el virus ha causado importantes brotes de mortalidad y enormes pérdidas económicas. Se caracteriza por una viremia que generaliza el cuadro, y la aparición de hemorragias de distinto grado en todos los tejidos de los peces afectados.

Se analizaron un total de 4.554 peces, de los cuales tomamos muestras de bazo y riñón, obteniéndose un resultado negativo en todos los ejemplares muestreados por la técnica de la PCR. Tras aplicar una segunda PCR, el resultado continuó ofreciendo un resultado negativo.

Como hemos comentado anteriormente, el VHS es considerado como un virus de aguas frías, salvo casos excepcionales como los descritos en Turquía (OIE 2004). Además, las descripciones en especies marinas son muy escasas, y unido a las temperaturas del agua que se alcanzan en Canarias durante todo el año, el riesgo de presentación de esta enfermedad es extremadamente baja, corroborándose con los resultados negativos obtenidos durante los 3 años de duración del presente proyecto de investigación.

Comentarios acerca del IPN

Es una enfermedad infecciosa muy contagiosa, producida por un *Birnavirus*, que afecta principalmente a los salmónidos, con una amplia difusión en todo el mundo, y se caracteriza por una elevada mortalidad y la presentación de signos clínicos muy inespecíficos. Se analizaron un total de 4.554 peces, de los cuales tomamos muestras de bazo y riñón, obteniéndose un resultado negativo en todos los ejemplares muestreados por la técnica de la PCR. Tras aplicar una segunda PCR, el resultado continuó ofreciendo un resultado negativo.

El IPN es un virus que afecta principalmente a salmónidos, aunque existen descripciones en especies marinas como la dorada, rodaballo y lenguado. En nuestro estudio, no hemos encontrado resultados positivos a pesar de que debido a la naturaleza del virus, y que muchas de las especies muestreadas se han descrito como posibles portadoras del virus.

Comentarios acerca del nodavirus

Se trata de una enfermedad infecciosa, muy contagiosa, producida por un *Nodavirus*, y que afecta de forma selectiva a algunas especies de peces de agua marina con la aparición de un cuadro, generalmente de curso mortal, caracterizado por incoordinación locomotriz y fuerte distensión abdominal debido a una hiperinsuflación de la vejiga natatoria. La enfermedad se describió recientemente en la acuicultura, en concreto en 1988 en la lubina y, desde entonces, se ha realizado su estudio de forma exhaustiva, comprobándose que otras especies de peces son igualmente receptivas, y muchas de ellas han sido muestreadas. Su elevada patogenicidad y difusión por todo el litoral español, hacen que enfermedad sea la enfermedad viral más importante para la acuicultura canaria, todo ello agravado por las altas temperaturas de agua de mar que existen en Canarias, que coinciden con la temperatura óptima para el nodavirus.

Tras 3 años de muestreos, donde hemos analizado un total de 4554 muestras, únicamente hemos encontrado muestras positivas en 40 de ellas. De estos 40 positivos, 15 se corresponden con lubinas, 15 con lenguados y los 10 restantes con corvinas. Se da la circunstancia que todos estos positivos fueron obtenidos en la misma explotación durante el muestreo realizado en el segundo año de muestreos. Un año más tarde, un muestreo realizado en la misma explotación ofreció un resultado negativo en todas sus muestras. Debido a esto, no es posible establecer datos de prevalencia fiables teniendo en cuenta que los casos positivos se limitan a los obtenidos en una única explotación durante una única siembra.

PREVALENCIA DE ENFERMEDADES VÍRICAS EN ACUICULTURA Y PECES SILVESTRES EN MURCIA

El conocimiento sobre la realidad epidemiológica en las instalaciones de acuicultura es escaso por la administración, especialmente en el ámbito Mediterráneo, donde las especies cultivadas habitualmente no son sensibles a ninguna de las enfermedades de declaración obligatoria que han aparecido en las distintas normativas de la materia. En el caso de las poblaciones de peces silvestres que de forma directa o indirecta están en contacto con las granjas es prácticamente nulo.

Por todo ello, se plantea que, de forma coordinada a las medidas normativas y legislativas, sería muy útil el establecimiento de una Red de Vigilancia Epidemiológica. Esta red, junto con los datos sanitarios aportados por las empresas y la información procedente de instituciones de investigación permitirán constituir la base de un futuro Mapa Epizootiológico en piscicultura marina, tal y como es preceptivo en la Ley de Sanidad Animal (Ley 8/2003). En cualquier caso, este tipo de redes epidemiológicas y los controles que implican no coinciden en fines ni en poblaciones objetivo con los Planes de Controles Oficiales en acuicultura, con los Sistemas de Vigilancia Zoonosaria y con los planes de muestreos para obtención, mantenimiento o recuperación de la calificación de libre respecto a una determinada enfermedad. En el caso que nos ocupa, lo que se pretende además de conocer la situación de las instalaciones acuícolas frente a una determinada enfermedad, es conocer la situación de las poblaciones silvestres, así como las posibles interacciones.

Por tanto, se han establecido las bases de datos epidemiológicos para el diseño y la implantación por parte de las autoridades competentes de una Red de Vigilancia Epidemiológica, cuyo objetivo es la vigilancia activa frente a las enfermedades víricas de interés en acuicultura marina. Se plantea como prioritario el estudio de las interacciones entre las poblaciones silvestres y cultivadas, valorando el posible flujo de patógenos entre ambas poblaciones.

En este trabajo, la investigación epidemiológica se basa en determinar, la existencia de enfermedades víricas de importancia (por presencia o por ausencia) en acuicultura marina mediterránea, valorando dos enfermedades sometidas a control en la Unión Europea: la septicemia viral hemorrágica (SHV) que es de declaración obligatoria (RD 1614/2008) y la necrosis pancreática infecciosa (NPI), que podía ser sometida a programas (Lista III, del derogado RD 1882/94) al inicio del proyecto, si bien con la legislación actual no está sometida a controles oficiales; y una como la encefalopatía y retinopatía viral (VER) que está en el listado de la OIE y tiene incidencia real en la acuicultura mediterránea aunque no está sometida a control por la Unión Europea. Esta última enfermedad es un riesgo potencial para nuestra acuicultura debido a las condiciones en las que el virus se encuentra con más facilidad (aguas templadas), a la alta incidencia en países colindantes especialmente

del Mediterráneo, y a la presencia de especies susceptibles como la lubina, así como cierta sensibilidad en la dorada y presencia en numerosas especies silvestres. A continuación se van analizar los resultados obtenidos en los muestreos para cada una de las enfermedades objetivo. Se expondrán en primer lugar los datos referentes a los muestreos realizados, en segundo lugar los resultados analíticos obtenidos y en tercer lugar se comentarán y discutirán los resultados.

RESULTADOS 2007

Lote 1- 07

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|--------|
| 15 | boga | pesca |
| 10 | corvina | pesca |
| 15 | jurel | pesca |
| 15 | alacha | pesca |
| 11 | mújol | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | NODAVIRUS | | |
|--------|---------|--------|----------|--------|-------------|----------|--------|-----------|----------|-------------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento |
| 29-01 | jurel | pesca | negativo | ND | ND | negativo | ND | negativo | positivo | negativo |

Lote 2- 07: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|--------|
| 17 | jurel | pesca |
| 15 | alacha | pesca |
| 12 | corvina | pesca |

Lote 3- 07: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|--------------|-------------|
| 4 | sargo común | pesca |
| 35 | dorada | pesca |
| 1 | sargo picudo | pesca |
| 2 | raspallón | pesca |
| 15 | boga | pesca |
| 22 | dorada | acuicultura |

Lote 4-07: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 60 | dorada | acuicultura |
| 16 | lubina | pesca |
| 6 | lubina | acuicultura |

Lote 5-07:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 50 | dorada | acuicultura |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|--------|---------|-------------|----------|----------|-------------|----------|----------|-------------|-----------|----------|-------------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento |
| 38-05 | dorada | acuicultura | negativo | negativo | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | negativo |

Lote 6-07: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 24 | dorada | pesca |
| 30 | jurel | pesca |
| 16 | boga | pesca |
| 31 | lubina | acuicultura |

Lote 7-07: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|--------------|--------|
| 27 | sargo picudo | pesca |
| 15 | mújol | pesca |
| 1 | sargo común | pesca |
| 1 | mojarra | pesca |

Lote 8-07: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|--------|
| 29 | magre | pesca |
| 20 | lubina | pesca |
| 3 | mújol | pesca |

Lote 9-07: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 20 | lubina | acuicultura |
| 20 | dorada | acuicultura |

RESULTADOS 2008

Lote 1- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 30 | lubinas | acuicultura |
| 30 | jureles | pesca |
| 24 | doradas | acuicultura |

Lote 2- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 50 | bogas | pesca |
| 18 | dorada | pesca |
| 14 | dorada | acuicultura |

Lote 3- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|--------|
| 11 | salpa | pesca |
| 3 | lubina | pesca |
| 33 | dorada | pesca |
| 9 | corvina | pesca |

Lote 4- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|-----------|-------------|
| 9 | lubina | pesca |
| 9 | corvina | pesca |
| 15 | jurel | pesca |
| 9 | aligote | pesca |
| 32 | dorada | acuicultura |
| 9 | dorada | pesca |
| 3 | caballito | pesca |

Lote 5- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 25 | salpa | pesca |
| 11 | corvina | pesca |
| 3 | aligote | pesca |
| 30 | lubina | acuicultura |
| 30 | dorada | acuicultura |
| 56 | alacha | pesca |
| 14 | jurel | pesca |

Lote 6- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|-----------|-------------|
| 23 | magre | pesca |
| 20 | sargo | pesca |
| 13 | dorada | pesca |
| 3 | salmonete | pesca |
| 28 | boga | acuicultura |

Lote 7- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 35 | dorada | acuicultura |
| 5 | magre | pesca |
| 21 | dorada | pesca |

Lote 8- 08:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 44 | lubina | acuicultura |
| 29 | dorada | acuicultura |
| 16 | dorada | pesca |
| 12 | sargo | pesca |
| 5 | magre | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | |
|--------|---------|-------------|----------|--------|-------------|----------|----------|-------------|-----------|--------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR |
| 02-08 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 03-08 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 16-08 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 50-08 | Dorada | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 60-08 | Dorada | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 71-08 | Sargo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 72-08 | Sargo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 74-08 | Sargo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 75-08 | Sargo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 76-08 | Sargo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 78-08 | Sargo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 107-08 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 108-08 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |

Lote 9- 08:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 21 | jurel | pesca |
| 20 | alacha | pesca |
| 22 | boga | acuicultura |
| 19 | dorada | acuicultura |
| 1 | mújol | acuicultura |
| 15 | dorada | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | |
|--------|---------|-------------|----------|--------|-------------|----------|----------|-------------|-----------|--------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR |
| 13-09 | Jurel | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 17-09 | Jurel | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 23-09 | Alacha | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 33-09 | Alacha | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 34-09 | Alacha | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 64-09 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 65-09 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |
| 68-09 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | ND |

Lote 10- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 68 | dorada | acuicultura |
| 14 | alacha | acuicultura |
| 14 | corvina | pesca |
| 1 | sargo | pesca |

Lote 11- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 20 | corvina | acuicultura |
| 30 | boga | acuicultura |
| 4 | jurel | acuicultura |

Lote 12- 08: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 2 | jurel | acuicultura |
| 18 | boga | acuicultura |
| 20 | atún | acuicultura |
| 2 | grisa | pesca |
| 2 | mero | pesca |

Lote 13- 08

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|--------|
| 34 | anguila | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | NODAVIRUS | |
|--------|---------|--------|----------|--------|-------------|----------|----------|-----------|--------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | 1ª PCR | 2ª PCR |
| 01-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 02-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 03-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 04-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 06-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 08-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 09-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 10-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 11-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 12-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 13-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 15-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 16-13 | Anguila | Pesca | positivo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 17-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 19-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 20-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 21-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 22-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 26-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |
| 27-13 | Anguila | Pesca | negativo | ND | negativo | negativo | positivo | negativo | ND |

RESULTADOS 2009

Lote 1- 09:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|-----------|--------|
| 40 | anguila | pesca |
| 40 | chanquete | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | NODAVIRUS | |
|--------|-----------|--------|----------|----------|-------------|----------|--------|-----------|--------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | 1ª PCR | 2ª PCR |
| 01-01 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 08-01 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 21-01 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 25-01 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 26-01 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 57-01 | Chanquete | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 64-01 | Chanquete | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 65-01 | Chanquete | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 71-01 | Chanquete | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |

Lote 2- 09:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 20 | anguila | pesca |
| 1 | salpa | pesca |
| 44 | dorada | acuicultura |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | NODAVIRUS | |
|--------|---------|-------------|----------|----------|-------------|----------|--------|-----------|--------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | 1ª PCR | 2ª PCR |
| 12-02 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 14-02 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 15-02 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 18-02 | Anguila | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 22-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 23-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 24-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 25-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 26-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 52-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 53-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 54-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 55-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 56-02 | Dorada | Acuicultura | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |

Lote 3- 09:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 20 | lubina | acuicultura |
| 20 | dorada | pesca |
| 15 | alacha | pesca |
| 15 | jurel | pesca |
| 10 | caballa | pesca |
| 20 | salpa | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | NODAVIRUS | |
|--------|---------|--------|----------|-----------------|-------------|----------|--------|-----------|--------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | 1ª PCR | 2ª PCR |
| 34-03 | Dorada | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 45-03 | Alacha | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 58-03 | Jurel | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 59-03 | Jurel | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 62-03 | Jurel | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 69-03 | Jurel | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |
| 83-03 | Salpa | Pesca | negativo | positivo | negativo | negativo | ND | negativo | ND |

Lote 4- 09:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|--------------|-------------|
| 15 | sargo picudo | pesca |
| 10 | sargo | pesca |
| 20 | dorada | pesca |
| 32 | dorada | acuicultura |
| 25 | mujol | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|--------|------------|-------------|----------|--------|-------------|----------|----------|-------------|-----------|----------|-------------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento |
| 01-04 | Sargo picu | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 03-04 | S. picudo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | positivo | positivo | negativo |
| 05-04 | S. picudo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | negativo | negativo | positivo | negativo |
| 07-04 | Sargo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 11-04 | S. picudo | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 15-04 | S. picudo | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 25-04 | Sargo | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 27-04 | Dorada | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 28-04 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 36-04 | Dorada | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 37-04 | Dorada | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 38-04 | Dorada | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 40-04 | Dorada | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 46-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 47-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 48-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 49-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 50-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 66-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 67-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 68-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 69-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 70-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 71-04 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 78-04 | Mújol | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 80-4 | Mujol | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |

Lote 5- 09:

| Número | Especie | Origen |
|--------|----------|-------------|
| 17 | dorada | acuicultura |
| 18 | boga | pesca |
| 22 | corvina | pesca |
| 1 | rascacio | pesca |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|--------|---------|--------|----------|--------|-------------|----------|----------|-------------|-----------|----------|-------------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento |
| 11-05 | Boga | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 14-05 | Boga | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 15-05 | Boga | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 17-05 | Boga | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 23-05 | Boga | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 24-05 | Boga | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 36-05 | Corvina | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 40-05 | Corvina | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 45-05 | Corvina | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | positivo | ND |
| 46-05 | Corvina | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 55-5 | Corvina | Pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | negativo | negativo | positivo | ND |

Lote 6- 09:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 23 | lubina | acuicultura |
| 50 | dorada | acuicultura |
| 14 | boga | acuicultura |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|--------|---------|-------------|----------|--------|-------------|----------|----------|-------------|-----------|----------|-------------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento |
| 11-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 12-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 13-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 14-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 15-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 21-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 22-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 23-06 | Lubina | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 24-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 25-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 26-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 27-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 28-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 29-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 30-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 31-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 32-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 33-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 34-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 35-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 51-06 | Boga | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 52-06 | Boga | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 53-06 | Boga | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 54-06 | Boga | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 55-06 | Boga | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 71-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 72-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 73-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 74-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |

| | | | | | | | | | | | |
|-------|--------|-------------|----------|----|----|----------|----------|----------|----------|----------|----|
| 75-06 | Dorada | Acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
|-------|--------|-------------|----------|----|----|----------|----------|----------|----------|----------|----|

Lote 7- 09:

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 39 | dorada | pesca |
| 11 | mujol | pesca |
| 21 | lubina | acuicultura |
| 17 | lubina | pesca |
| 8 | alacha | acuicultura |
| 15 | jurel | acuicultura |
| 22 | boga | acuicultura |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | | NODAVIRUS | | |
|--------|---------|-------------|----------|--------|-------------|----------|----------|-------------|-----------|----------|-------------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento |
| 01-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 03-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 04-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 05-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 06-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 07-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 08-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | positivo | ND |
| 10-07 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | positivo | negativo | negativo | negativo | ND |
| 11 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | positivo | positivo | negativo |
| 13 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 73 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 75 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 78 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 86 | Dorada | pesca | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 93 | Alacha | acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |

| | | | | | | | | | | | |
|----|--------|-------------|----------|----|----|----------|----------|----|----------|----------|----|
| 94 | Alacha | acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 95 | Alacha | acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 96 | Alacha | acuicultura | negativo | ND | ND | negativo | negativo | ND | negativo | positivo | ND |

Lote 8- 09:

Muestras analizadas

| | | |
|--------|---------|-------------|
| Número | Especie | Origen |
| 35 | jurel | pesca |
| 3 | caballa | pesca |
| 41 | alacha | pesca |
| 7 | oblada | pesca |
| 34 | corvina | acuicultura |

| Nº PEZ | ESPECIE | ORIGEN | VHS | | | IPN | | NODAVIRUS | | |
|--------|---------|--------|----------|--------|-------------|----------|--------|-----------|----------|-------------|
| | | | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento | 1ª PCR | 2ª PCR | 1ª PCR | 2ª PCR | Aislamiento |
| 05-08 | Jurel | pesca | negativo | ND | ND | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 06-08 | Jurel | pesca | negativo | ND | ND | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 08-08 | Jurel | pesca | negativo | ND | ND | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 12-08 | Jurel | pesca | negativo | ND | ND | negativo | ND | negativo | positivo | ND |
| 23-08 | Alacha | pesca | negativo | ND | ND | negativo | ND | negativo | positivo | ND |

Lote 9- 09: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 16 | alacha | acuicultura |
| 23 | jurel | acuicultura |
| 14 | boga | acuicultura |
| 16 | corvina | acuicultura |
| 20 | dorada | acuicultura |

Lote 10- 09: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 25 | atún | acuicultura |

Lote 11- 09: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 9 | dorada | acuicultura |
| 5 | jurel | acuicultura |
| 6 | boga | acuicultura |
| 7 | piche | pesca |
| 12 | grisa | pesca |

Lote 01-10: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 2 | lubina | pesca |
| 13 | Mújol | pesca |
| 5 | magre | pesca |
| 30 | lubina | acuicultura |
| 30 | dorada | acuicultura |

Lote 02-10: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 20 | corvina | acuicultura |
| 9 | lubina | pesca |
| 1 | dorada | pesca |
| 15 | alacha | pesca |
| 4 | mujol | pesca |
| 5 | magre | pesca |
| 6 | chapa | pesca |
| 21 | lubina | acuicultura |
| 1 | dorada | acuicultura |

Lote 03-10: Todo negativo

Muestras analizadas

| Número | Especie | Origen |
|--------|---------|-------------|
| 20 | lubina | acuicultura |

Septicemia Vírica Hemorrágica

Introducción

La Organización Internacional de Epizootías establece en su Manual de Diagnóstico para Animales Acuáticos (OIE, 2006) que la septicemia hemorrágica vírica (SHV) es una enfermedad de la trucha arco iris de piscifactoría, del rodaballo de piscifactoría, falso halibut del Japón de piscifactoría, así como de varias especies marinas silvestres, causada por el virus de la septicemia hemorrágica vírica (VHSV), un virus perteneciente al género *Novirhabdovirus* de la familia *Rhabdoviridae*.

En la trucha arco iris la fase aguda de la enfermedad se presenta durante las primeras etapas de la infección (hasta 30 días después de la infección), período en el cual los peces enfermos presentan síntomas clínicos claros: un comienzo rápido de la mortalidad (que puede alcanzar el 100% en los alevines), letargo, oscurecimiento de la piel, exoftalmia, anemia (branquias pálidas), hemorragias en la base de las aletas, de las branquias, de los ojos y de la piel, natación aberrante, intermitente o en espiral, abdomen hinchado debido a un edema en la cavidad peritoneal. Además, después de la fase aguda, la enfermedad puede cursar en una forma subclínica crónica, durante la cual el pez afectado no muestra signos externos. Debido al tropismo del virus por el cerebro, la SHV puede presentarse en forma nerviosa causante de las alteraciones de la natación.

Las lesiones típicas son hemorragias en piel y órbita ocular, así como exoftalmia uni o bilateral. En la necropsia se observa hemorragias generalizadas, especialmente en hígado, grasa y músculo.

Si bien es una enfermedad de salmónidos, se ha descrito en gran número de especies de las familias Clupeiformes, Gadiformes, Pleuronectiformes, Perciformes, Scorpaeniformes y Anguilliformes. En agosto de 2004, la OIE publicó la primera cita de casos de SHV en lubina en las costas mediterráneas, en concreto en Grecia. Sin embargo, existen dudas razonables sobre la etiología de dicho proceso.

Se ha aislado en multitud de especies marinas, considerándose por determinados autores como endémico en especies marinas, aunque por ser altamente dependiente de la temperatura, su distribución varía de forma considerable por este factor. De hecho, temperaturas por encima de los 20°C comprometen la viabilidad del virus, no produciendo enfermedad por encima de los 14°C..

Se distinguen 5 genotipos del virus de la VHS, que se corresponden con áreas geográficas (Snow *et al.*, 2004):

| Genotipo | Distribución |
|-----------------|---|
| Ia | Principalmente aislamientos de trucha arco iris en Europa continental |
| Ib | Principalmente aislamientos de hospedadores marinos en el Mar Báltico, Skagerrak y Kattegat, relacionados con los de Ia |
| II | Aislamientos de hospedadores marinos en el Mar Báltico, distintos a los de Ib, sin una relación sólida con los de Ia |
| III | Principalmente aislamientos procedentes de los alrededores de las Islas Británicas |
| IV | Aislamientos del Pacífico Noroeste (Norteamérica) y Japón |

Resultados del presente estudio

Se han analizado un total de 2.707 peces, de los cuales se ha estudiado bazo y riñón debido a que es en estos órganos donde el virus replica principalmente y por lo tanto de donde es más fácil aislarlo, no obteniéndose ningún positivo mediante PCR. En ningún caso se encontró sintomatología de esta enfermedad.

A los ejemplares procedentes de los 3 primeros lotes se les realizó una segunda PCR (*nested*), obteniéndose con este método un total de 30 positivos. Estos ejemplares no presentaban síntomas ni lesiones compatibles con esta enfermedad.

| Especie | Número |
|------------------|---------------|
| <i>Dorada</i> | 11 |
| <i>Chanquete</i> | 4 |
| <i>Salpa</i> | 1 |
| <i>Jurel</i> | 4 |
| <i>Alacha</i> | 1 |
| <i>Anguila</i> | 9 |

En vista de estos resultados se enviaron muestras al Laboratorio de Referencia de Enfermedades de los Peces, que es el Laboratorio de Algete (Madrid) para que se realizase la Técnica de Diagnóstico Oficial al ser esta una Enfermedad de Declaración Obligatoria. No se pudo aislar virus VHS en ninguna de las muestras remitidas. De forma paralela se intentó realizar el aislamiento de estas muestras en el CISA de Valdeolmos, no obteniéndose tampoco aislamiento de virus. En vista a estos resultados se consideraron los ejemplares como negativos a dicho virus.

Por todo ello, podemos afirmar que el uso de la *nested* PCR no es adecuado en este tipo de análisis epidemiológicos. En nuestra experiencia, el número falsos positivos al introducir este paso aumenta considerablemente, y debido además a que el fragmento interno amplificado de un tamaño muy pequeño, su secuenciación no nos permite distinguir entre los aislados de campo y nuestro virus control de laboratorio. Por lo tanto, una de las conclusiones de nuestro trabajo es que desaconsejamos la

utilización de la nested PCR como método de diagnóstico para programas de vigilancia epidemiológica.

Especies de acuicultura, silvestres e interacciones

La septicemia vírica hemorrágica (VHS) es una enfermedad de gran importancia en la acuicultura continental en Europa, aunque también se han producido episodios de mortandad en acuicultura marina, como es el caso del rodaballo en el Norte de nuestro continente (Ross *et al.*, 1994). Cada vez con mayor frecuencia se describe la presencia de este virus en poblaciones silvestres de gran cantidad de especies marinas de aguas frías (Munro, 1996; Dixon *et al.*, 1997; Mortensen, 1999; Smail, 2000; King *et al.* 2001; Dopazo, 2002). Las especies cultivadas en el litoral del levante español (dorada, lubina, corvina y atún rojo) no son especies sensibles a este virus según la OIE, lo cual tiene su reflejo en la normativa correspondiente de la Unión Europea. Sin embargo, diversos estudios han demostrado la sensibilidad de algunas de estas especies experimentalmente como ocurre en la lubina (Castric y Kinkelin, 1984).

El virus de la septicemia hemorrágica está asociado a aguas frías, si bien se ha descrito elevadas mortalidades en focos ocurridos en Turquía en el año 2004 (OIE 2004), lo cual indica que en determinadas circunstancias el virus puede adquirir virulencia en latitudes inferiores a las asumidas inicialmente, sobre todo si se considera que el brote apareció en el mes de junio. Sin embargo, respecto a ese brote existen dudas razonables para su cuestionamiento por lo inusual del caso y por carecer de base epidemiológica.

Referente a la incidencia de este virus en especies de peces marinos silvestres, el virus de la septicemia vírica hemorrágica ha sido identificado como responsable de diversos episodios de mortalidad masiva de especies silvestres de peces (*Clupea pallasii*, *Merluccius productus*, *Anaplopoma fimbria* o *Hydrolagus colliei*) en diversas zonas del Pacífico, pero nunca en aguas de Europa (DIPNET, 2007).

Este virus ha producido diversos episodios de mortalidad en granjas de especies marinas en Japón pero también en Europa en granjas de rodaballo al menos en tres ocasiones (en Alemania y Reino Unido) (DIPNET, 2007).

En cuanto a la existencia de transmisión entre peces silvestres y cultivados, según la revisión anterior, no existe evidencia de transmisión desde las granjas de acuicultura hacia los peces silvestres pero si al contrario. En el caso de Europa, diversos casos están documentados en rodaballo en Alemania, Escocia e Irlanda, así como truchas en Finlandia, Suecia, Irlanda y Escocia.

El estudio de los posibles portadores silvestres del virus tiene una importancia epidemiológica elevada, la cual ha sido analizada en el presente trabajo, con resultados negativos. El número de ejemplares analizados en casi todas las

especies, pero sobre todo en las de acuicultura da a este trabajo un alto grado de fiabilidad y representatividad.

En cualquier caso, estos datos coinciden con la única referencia previa en la que se chequearon peces de características similares (Peñalver *et al.* 2007). Estos autores utilizaron para el diagnóstico riñón y los oligonucleótidos descritos por la Organización Mundial para la Salud Animal para la técnica de la PCR (OIE, 2006), sin embargo en nuestro estudio hemos utilizado un doble chequeo: se han empleado dos parejas de oligonucleótidos, con el fin de asegurar la detección de todos los tipos de cepas. Además de los oligonucleótidos de la OIE, se han utilizado los propuestos por el Instituto de Ictiopatología de Galicia con los cuales han obtenido resultados positivos en peces silvestres (López Vázquez *et al.*, 2006). Además se ha chequeado tanto riñón como bazo. Todo ello repercute en una mayor validez y fiabilidad de los resultados obtenidos.

Especies portadoras

Las especies cultivadas en el litoral del levante español (dorada, lubina, corvina y atún rojo) no son especies sensibles a este virus según la OIE. Sin embargo, el Reglamento 1251/2008, por el que se aplica la Directiva 2006/88/CE en lo referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de enfermedades portadoras, establece una lista de especies que pueden actuar como portadoras a las enfermedades listadas como es el caso de la septicemia hemorrágica. En esa lista aparecen muchas de las especies analizadas, por lo que es de gran importancia chequearlas y en nuestro caso el determinar los resultados negativos obtenidos:

| Especie | Origen | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|------------|------------|------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 152 | 251 | 192 | 595 |
| | Pesca | 60 | 125 | 79 | 264 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 57 | 105 | 123 | 285 |
| | Pesca | 36 | 12 | 38 | 86 |
| Corvina (<i>A. regius</i>) | Acuicultura | 0 | 0 | 70 | 70 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 36 | 35 | 32 | 103 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | Acuicultura | 0 | 1 | 0 | 1 |
| | Pesca | 30 | 0 | 36 | 66 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | Acuicultura | 0 | 20 | 55 | 75 |
| Mero (<i>E. marginatus</i>) | Pesca | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Total | | 371 | 551 | 625 | 1.547 |

Los datos obtenidos demuestran que si bien estas especies pueden ser portadoras en otros escenarios epidemiológicos, en el ecosistema mediterráneo el riesgo asociado a estas especies frente a la septicemia vírica hemorrágica es mínimo.

Necrosis Pancreática Infecciosa

Introducción

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) es un miembro de la familia Birnaviridae y por lo tanto se trata de un virus no envuelto, segmentado y con RNA de cadena doble. Aunque identificado en un primer momento en salmónidos, este virus también es capaz de afectar a varias especies marinas, aunque la mortalidad en todo caso es inversamente proporcional a la edad de los peces, provocando altas mortalidades en huevos y larvas mientras que las mortalidades en peces adultos son prácticamente inexistentes, aunque en estos si que es frecuente el establecimiento de portadores asintomáticos (Rodríguez Saint-Jean et al., 2003). El virus de la necrosis pancreática infecciosa es un virus que afecta a explotaciones continentales de acuicultura de salmónidos, pero también ha producido pérdidas en algunas granjas de peces marinas como el rodaballo, y además se han descrito infecciones subclínicas en multitud de especies marinas como anguilas, atherinidae, peludas, jureles, cupleiformes y en corvina. En España ha sido aislado el virus especies marinas cultivadas como la dorada, el rodaballo y el lenguado (Barja, 2005). Por ello, el virus tiene un amplio rango de hospedadores y de especies sensibles, de peces, pero además pueden actuar como reservorios determinados moluscos (Mortensen, 1990) e incluso rotíferos (Coms, 1991). Al igual que sucedía con el virus de la Septicemia Hemorrágica, son virus que se considera que no están en nuestras costas, pero que es necesario investigarlo y valorar el peligro potencial que pueden representar para la acuicultura marina de nuestra Región.

Metodología

Las muestras biológicas (una mezcla de riñón anterior y bazo por cada animal) recogidas por parte del Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia de distintas especies de peces silvestres y de acuicultura de la Región de Murcia fueron enviadas al CISA en RNAlater (Ambion) para su posterior procesamiento.

Una vez recibidas en el CISA, se procedió a extraer el RNA total utilizando el kit RNeasy mini kit (Quiagen) y siguiendo las instrucciones del fabricante. El RNA total de cada pez se pasó a cDNA utilizando Superscript III reverse transcriptasa (Invitrogen) y "random primers" tal como indica el fabricante. Con el fin de identificar la presencia de IPNV en los distintas muestras, se efectuó una primera reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los primers:

F (5´-AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC-3´)
R (5´- TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC-3´)

previamente descritos (Heppell et al., 1992) que amplifican un fragmento de 358 pb. La reacción consistió en una desnaturalización de 5 min a 95°C seguida de 40 ciclos de 95°C 30 s, 54°C 30 s y 72°C 30 s, finalizando con un paso final de elongación de 72°C 7 min. Los productos obtenidos se corrieron en un gel de 1.5% de agarosa.

Posteriormente, estos productos de PCR fueron sometidos a una segunda reacción de PCR (nested PCR) utilizando los primers internos:

INTU (5'- AAAGGCATGGGGCTGGAGAG-3')

INTL (5'-CTCCGCTTGCCCAGGACTC)

que amplifican un fragmento de 304 pb (Cutrin et al., 2005). La reacción consistió en una desnaturalización de 5 min a 95°C seguida de 40 ciclos de 95°C 30 s, 54°C 30 s y 72°C 30 s, finalizando con un paso final de elongación de 72°C 7 min. Los productos obtenidos se corrieron en un gel de 1.5% de agarosa.

Los productos de PCR positivos que se obtuvieron, se enviaron a secuenciar para confirmar los resultados.

Resultados

Positivos en 2ª PCR en 2008

| Código | Especie | Origen | Zona | Mes | Peso | Talla |
|--------|---------|-------------|-----------|-----|------|-------|
| 02-08 | Lubina | Acuicultura | Águilas | 09 | 274 | 29 |
| 03-08 | Lubina | Acuicultura | Águilas | 09 | 386 | 31 |
| 16-08 | Lubina | Acuicultura | Águilas | 09 | 221 | 25,5 |
| 50-08 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 09 | 332 | 28,3 |
| 60-08 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 09 | 332 | 27,2 |
| 71-08 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 09 | 147 | 18,5 |
| 72-08 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 09 | 112 | 17,6 |
| 74-08 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 09 | 117 | 17,5 |
| 75-08 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 09 | 124 | 18,8 |
| 76-08 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 09 | 104 | 17,7 |
| 78-08 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 09 | 112 | 18 |
| 107-08 | Lubina | Acuicultura | San Pedro | 09 | 363 | 31,5 |
| 108-08 | Lubina | Acuicultura | San Pedro | 09 | 335 | 30 |
| 13-09 | Jurel | Pesca | Mazarrón | 09 | 80 | 21,4 |
| 17-09 | Jurel | Pesca | Mazarrón | 09 | 66 | 19,4 |
| 23-09 | Alacha | Pesca | Mazarrón | 09 | 158 | 27,4 |
| 33-09 | Alacha | Pesca | Mazarrón | 09 | 127 | 25 |
| 34-09 | Alacha | Pesca | Mazarrón | 09 | 74 | 21 |
| 64-09 | Dorada | Acuicultura | San Pedro | 09 | 228 | 24 |
| 65-09 | Dorada | Acuicultura | San Pedro | 09 | 241 | 25,5 |
| 68-09 | Dorada | Acuicultura | San Pedro | 09 | 175 | 23 |
| 01-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 277 | 53 |
| 02-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 330 | 54,5 |
| 03-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 429 | 60 |
| 04-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 352 | 57 |

| | | | | | | |
|-------|---------|-------|----------|----|-------|------|
| 06-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 514 | 71 |
| 08-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 114 | 42 |
| 09-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 427 | 62 |
| 10-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 434 | 64 |
| 11-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 95 | 40,5 |
| 12-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 103 | 42,5 |
| 13-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 235 | 52 |
| 15-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 320 | 57 |
| 16-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 364 | 58 |
| 17-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 381 | 62 |
| 19-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 220 | 53,5 |
| 20-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 227 | 53,5 |
| 21-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 116 | 44 |
| 22-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 243 | 53 |
| 26-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 172 | 48 |
| 27-13 | Anguila | Pesca | Lo Pagán | 09 | 269,5 | 56 |

Positivos en 2ª PCR en 2009

| Código | Especie | Origen | Zona | Mes | Peso | Talla |
|--------|-----------|--------------|-----------|-----|-------|-------|
| 1-4 | S. picudo | Pesca | Lo Pagán | 05 | 228 | 24,5 |
| 3-4 | S. picudo | Pesca | Lo Pagán | 05 | 209,4 | 23,5 |
| 7-4 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 05 | 128 | 19,5 |
| 8-4 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 05 | 140,9 | 19,8 |
| 27-4 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 05 | 224,7 | 25,5 |
| 36-4 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 05 | 229,9 | 25,5 |
| 37-4 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 05 | 254,7 | 26,8 |
| 38-4 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 05 | 204,5 | 24,5 |
| 40-4 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 05 | 209,1 | 25 |
| 66-4 | Dorada | Acuicultura* | Águilas | 05 | 212,8 | 22,8 |
| 67-4 | | | | 05 | 159,8 | 23 |
| 68-4 | | | | 05 | 246,1 | 24,8 |
| 69-4 | | | | 05 | 192,3 | 22,8 |
| 70-4 | | | | 05 | 153,8 | 20,8 |
| 78-4 | Mújol | Pesca | Lo Pagán | 05 | 199 | 28,2 |
| 11-5 | Boga | Pesca | San Pedro | 06 | 305 | 29,5 |
| 14-5 | Boga | Pesca | San Pedro | 06 | 305 | 31 |
| 17-5 | Boga | Pesca | San Pedro | 06 | 139,1 | 23 |
| 23-5 | Boga | Pesca | San Pedro | 06 | 135,8 | 22,6 |
| 24-5 | Boga | Pesca | San Pedro | 06 | 180,2 | 26 |
| 36-5 | Corvina | Pesca | Lo Pagán | 06 | 206 | 25,5 |
| 40-5 | Corvina | Pesca | Lo Pagán | 06 | 287,3 | 28,5 |
| 45-5 | Corvina | Pesca | Lo Pagán | 06 | 211,2 | 26 |
| 46-5 | Corvina | Pesca | Lo Pagán | 06 | 380,5 | 30,2 |
| 21-6 | Lubina | Acuicultura* | San Pedro | 06 | 239,6 | 28,5 |
| 22-6 | | | | 06 | 151 | 23,5 |
| 23-6 | | | | 06 | 110 | 23,1 |
| 24-6 | Dorada | Acuicultura* | San Pedro | 06 | 254 | 25,5 |
| 25-6 | | | | 06 | 248,8 | 25,5 |
| 26-6 | | | | 06 | 213 | 24 |
| 27-6 | | | | 06 | 150 | 22 |
| 28-6 | Dorada | Acuicultura* | San Pedro | 06 | 237,4 | 24,5 |
| 29-6 | | | | 06 | 172,6 | 22,3 |

| | | | | | | |
|------|--------|--------------|-----------|----|-------|------|
| 30-6 | | | | 06 | 181,5 | 23 |
| 31-6 | | | | 06 | 239,4 | 25 |
| 32-6 | Dorada | Acuicultura* | San Pedro | 06 | 184,6 | 23,2 |
| 33-6 | | | | 06 | 189,8 | 24 |
| 34-6 | | | | 06 | 160 | 21,2 |
| 35-6 | | | | 06 | 86,7 | 19 |
| 51-6 | | | | 06 | 111,8 | 22 |
| 52-6 | Boga | Acuicultura* | San Pedro | 06 | 137,3 | 24,5 |
| 53-6 | | | | 06 | 84,2 | 20,7 |
| 54-6 | | | | 06 | 86,1 | 20,5 |
| 55-6 | | | | 06 | 129,3 | 23,1 |
| 71-6 | Dorada | Acuicultura* | San Pedro | 06 | 216 | 24 |
| 72-6 | | | | 06 | 207,3 | 25,5 |
| 73-6 | | | | 06 | 307,7 | 25,5 |
| 74-6 | | | | 06 | 174,6 | 23 |
| 75-6 | | | | 06 | 215,3 | 23,5 |
| 1-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 403,4 | 29,8 |
| 3-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 345,6 | 29,2 |
| 4-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 305 | 27,5 |
| 5-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 365 | 28,5 |
| 6-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 437 | 30,5 |
| 7-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 422,4 | 29,2 |
| 8-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 379,2 | 28,8 |
| 10-7 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | 388,2 | 29,5 |

* Pool de muestras en acuicultura

A pesar que desaconsejamos el uso de la nested PCR como método para la vigilancia epidemiológica, en el caso concreto de IPNV, el fragmento amplificado poseía un tamaño suficiente que nos permitía discernir entre nuestra cepa de referencia control y posibles aislados nuevos que pudieran aparecer. El IPNV identificado en nuestros estudios muestra una gran homología a nivel de secuencia con el aislado con número de referencia en el GenBank EF493156 en el caso de las anguilas y con el virus CroIPNV/06 en el caso de las muestras de sargo, alacha, dorada, lubina y jurel.

Los resultados difieren de los obtenidos en la misma zona en la única experiencia previa en la que no se encontraron animales positivos (Peñalver *et al.*, 2007a). Estos autores utilizaron para el diagnóstico riñón y los primers descritos por Larssen *et al.* (2004), si embargo en nuestro estudio hemos utilizado un doble chequeo: se han empleado dos parejas de oligonucleótidos, con el fin de asegurar la detección de todos los tipos de cepas. Los oligonucleótidos descritos por Heppell *et al.*, (1992) y los propuestos por el Instituto de Ictiopatología de Galicia con los cuales han obtenido resultados positivos en peces silvestres (Cutrín *et al.*, 2008). Además, al igual que para el estudio de la septicemia, se ha chequeado tanto riñón como bazo.

En las muestras en las que se detectaron positivos por PCR, se intentó aislar el virus en cultivo celular siendo en todos los casos negativos. De esta forma, aunque si que hemos comprobado por secuenciación que estos positivos eran reales, no podemos

nunca hablar de infección y simplemente podemos confirmar la presencia de material genético de IPNV en los peces. Debido a que este virus produce de forma muy frecuente portadores asintomáticos en los que el virus permanece latente en forma de material genético exclusivamente, estos resultados parecen estar en consonancia con esto. En cualquier caso, es de gran importancia conocer la prevalencia de estos portadores asintomáticos ya que en determinadas condiciones no conocidas el virus podría activarse para generar partículas infecciosas constituyendo un riesgo para animales cercanos no infectados previamente.

En la siguiente tabla se estable positivos totales por especies y los respectivos porcentajes, tanto por año como en el global del estudio:

| | 2007 | 2008 | | 2009 | | Global | |
|-------------------------------|------------------|------------------|-------------|------------------|--------------|------------------|-------------|
| | Número Positivos | Número Positivos | % | Número Positivos | % | Número Positivos | % |
| Todos | 0 | 41 | 3.86 | 34 | 3.13 | 75 | 2.77 |
| Acuicultura | 0 | 8 | 1.29 | 7 | 1.24 | 15 | 1.07 |
| Dorada | 0 | 3 | 1.19 | 5 | 2.60 | 8 | 1.34 |
| Lubina | 0 | 5 | 4.76 | 1 | 0.81 | 6 | 2.10 |
| Boga | 0 | 0 | 0 | 1 | 1.78 | 1 | 0.005 |
| Merodeadores | 0 | 11 | 2.56 | 10 | 4.27 | 21 | 2.34 |
| Boga | 0 | 0 | 0 | 5 | 13.5 | 5 | 2.15 |
| Jurel | 0 | 2 | 2.32 | 0 | 0 | 2 | 1.00 |
| Alacha | 0 | 3 | 3.33 | 0 | 0 | 3 | 1.70 |
| Sargo | 0 | 6 | 17.14 | 4 | 12.50 | 10 | 9.70 |
| Mújol | 0 | 0 | 0 | 1 | 2.77 | 1 | 1.49 |
| Silvestres Acuicultura | 0 | 2 | 1.60 | 13 | 16.45 | 15 | 5.68 |
| Dorada | 0 | 2 | 1.60 | 13 | 16.45 | 15 | 5.68 |
| Otros | 0 | 20 | -- | 4 | -- | 24 | -- |
| Anguila | 0 | 20 | 58.82 | 0 | 0 | 20 | 18.34 |
| Corvina (<i>S. umbra</i>) | 0 | 0 | 0 | 4 | 18.18 | 4 | 3.73 |

Discusión resultados necrosis pancreática en peces acuicultura

La enfermedad tiene una amplia distribución geográfica, se encuentra en las mayores piscifactorías de salmónidos de Norteamérica, Sudamérica, Europa y Asia. Oceanía está libre de la enfermedad. En Europa produce pérdidas en granjas de salmónidos en Noruega y Escocia (DIPNET, 2007)

Se ha demostrado que el virus de la NPI (IPNV), o los virus que muestran una relación serológica con el IPNV causan enfermedades en algunas especies de peces marinos de piscifactoría, tales como el pedregal del Japón (*Seriola quinqueradiata*), el rodaballo (*Scophthalmus maximus*), la lenguadina (*Limanda limanda*), el fletán del Atlántico (*Hippoglossus hippoglossus*), el bacalao del Atlántico (*Gadus morhua*) (OIE, 2003).

Sin embargo, las especies cultivadas en nuestro litoral no se consideran sensibles a esta enfermedad. De hecho, los ejemplares muestreados no presentaban en ningún caso sintomatología compatible con esta enfermedad. Sin embargo este virus ha sido aislado en diversas especies de cultivo. En España ha sido aislado el virus especies marinas cultivadas como la dorada, el rodaballo y el lenguado (Barja, 2005), lo cual está en consonancia con nuestros resultados, en los que hemos encontrado animales positivos en segunda PCR en dorada, lubina así como en boga procedente del interior de las jaulas de cultivo.

Los porcentajes de positividad son relativamente bajos, en concreto 1,07, siendo bastante probable que la infección proceda del exterior de las jaulas dada la gran capacidad del virus de difundirse en el medio.

Discusión resultados necrosis pancreática en peces silvestres

En salmónidos silvestres de Europa se ha hallado este virus en bajas prevalencias en Noruega y Escocia, sin embargo en niveles extremadamente altos en Galicia (Bandín y Dopazo, 2006).

Se han detectado infecciones subclínicas encubiertas en una amplia gama de especies de esturarios y de agua dulce, tales como la locha (*Misgurnus anguillicaudatus*), el lucio (*Esox lucius*) y otras numerosas especies de las familias de las Anguillidae, Atherinidae, Bothidae, Carangidae, Cotostomidae, Cichlidae, Clupeidae, Cobitidae, Coregonidae, Cyprinidae, Esocidae, Moronidae, Paralichthyidae, Percidae, Poecilidae, Sciaenidae, Soleidae y Thymallidae (OIE, 2003).

Por tanto, los datos obtenidos en el presente trabajo están en concordancia con los datos de la OIE, en referencia a la presencia de una infección subclínica en las especies de peces silvestres.

En nuestro trabajo hemos encontrado positivos en todas las especies consideradas como merodeadores de alta frecuencia en nuestra zona: boga, alacha y jurel y también en otras menos frecuentes pero constantes como mújol y sargo que podemos considerar como las más frecuentes detrás de las anteriores. Por tanto, estos datos (2,47 % de positivos) apuntan a la elevada posibilidad de transmisión desde los peces silvestres hacia el interior de las jaulas de acuicultura.

Discusión resultados necrosis pancreática interacciones silvestres con acuicultura

El virus ha sido detectado en todos los grupos muestreados: en peces de acuicultura, en peces merodeadores y en peces epidemiológicamente no relacionados con la acuicultura como son las anguilas y las corvinas (*Sciaenops ocellatus*).

En lo referente a los peces merodeadores, ha sido detectada la presencia del virus en las tres especies más frecuentemente observadas en las cercanías de las jaulas de acuicultura: boga, jurel, y alacha.

También se han encontrado en las siguientes especies merodeadoras menos frecuentes: mújol, sargo común, sargo picudo, dorada y lubina.

Este virus se transmite tanto de forma horizontal como vertical, e incluso se ha citado su transmisión a través de aves piscívoras, invertebrados e incluso cetáceos (DIPNET, 2007). Por ello, resulta evidente la posibilidad de transmisión de esta infección entre peces silvestres y los de acuicultura, especialmente en ese sentido. Afortunadamente, las especies de peces silvestres y cultivadas en nuestro litoral no son sensibles a este virus, actuando como portadores pero sin provocar patología.

Nodavirus

Introducción

Enfermedad infecciosa causada por virus de la familia Nodaviridae. En los dos últimos años, es la enfermedad más grave que afecta a la lubina cultivada en jaulas en la península. Es un proceso estacional, con temperaturas de riesgo por encima de 20^a C. A partir de ahí, a mayor temperatura, mayor gravedad. Este virus afecta al sistema nervioso central, causando lesiones en esos tejidos que van a provocar la sintomatología nerviosa que observamos en los peces. Típicamente, aparecen alteraciones en la natación: en círculo, girando sobre el propio eje longitudinal, momentos cortos con natación muy rápida o incluso manteniendo la posición vertical con la cabeza hacia abajo. Muchas veces lo único que vamos a poder observar son heridas en la cabeza, causadas por los golpes que se dan los peces en la red. Internamente, en algunos casos, puede observarse hiperinflación de la vejiga natatoria y congestión del cerebro (Zarza y Padrós, 2007).

La morbilidad se considera del 100% en las jaulas afectadas, siendo la mortalidad variable en función de la talla: de 5% en peces adultos y hasta un 20% en juveniles. Los peces que sobreviven a los brotes pueden quedar como portadores asintomáticos del virus.

La encefalopatía retinopatía viral (VER) o necrosis nerviosa viral afecta a gran número de especies de peces, siendo las más importantes la lubina, el mero, dorada, besugo, dentón, fletán, rodaballo, seriola, bacalao, bonito y salmón (Pérez y Rodríguez, 2006). En los laboratorios de ictiopatología del área mediterránea ha sido descrito principalmente en lubina, pero también en numerosas especies como corvina silvestre, mújol y mero (Barja, 2005). También se han descrito casos en el Mediterráneo en sargo picudo y en lenguado (Bovo, 2004). En una revisión reciente sobre nodavirus, Korsnes (2007), establece la siguiente clasificación:

| Tipos | |
|-------|--|
| BFNNV | Barfin flounder nervous necrosis virus Tipo de peces de aguas frías: Norte de Europa, Costas Atlánticas de Norteamérica y Japón Barfin flounder (<i>Verasper moseri</i>) es una especie de pez plano, que se distribuye por el norte de Japón. |
| SJNNV | Striped jack nervous necrosis virus Frecuente en Asia. Detectado en zona Atlántica de Península Ibérica. Striped jack (<i>Pseudocaranx dentex</i>) o jurel dentón, distribuido por todo el Mediterráneo, así como por los océanos Atlántico, Pacífico e Índico. |
| TPNNV | Tiger puffer nervous necrosis virus Aislado en condiciones experimentales Tiger puffer (<i>Fugu rubripes</i>), pez globo japonés, de gran interés culinario en Japón. |
| TNV | Turbot nodavirus Recientemente aislado en rodaballo |
| RGNNV | Red grouper Ampliamente distribuido por Australia, Asia, Sur de Europa y Sur de Norteamérica. El tipo más frecuentemente encontrado en cultivos acuícolas del Mediterráneo de lubina, así como en gran número de especies silvestres. |

Bovo (2007), define las siguientes especies sensibles:

| PECES INFECTADOS QUE MUESTRAN SÍNTOMAS Y MORTALIDAD | |
|---|------------------------------------|
| <i>Epinephelus akaara</i> | <i>Lateolabrax japonicus</i> |
| <i>E. taurina</i> | <i>Parasilusus asotus</i> |
| <i>E. coioides</i> | <i>Poecilia reticulata</i> |
| <i>E. malabaricus</i> | <i>Sebastes oblungus</i> |
| <i>E. moara</i> | <i>Anguilla anguilla</i> |
| <i>E. lanceolatus</i> | <i>Latris lineada</i> |
| <i>E. awoara</i> | <i>Tandanus tandanus</i> |
| <i>E. fuscoguttatus</i> | <i>Oxyleotrix lineolatus</i> |
| <i>E. septemfasciatus</i> | <i>Pseudopleuroctes americanus</i> |
| <i>Cromileptes altivelis</i> | <i>Atractoscion nobilis</i> |
| <i>Pseudocaranx dentex</i> | <i>Gadus morhua</i> |
| <i>Seriola dumerili</i> | <i>Melanogrammus aeglefinus</i> |
| <i>Trachinotus blochii</i> | <i>Dicentrarchus labrax</i> |
| <i>Trachinotus falcatus</i> | <i>Umbrina cirrosa</i> |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> | <i>Diplodus puntazzo</i> |
| <i>Oplegnathus fasciatus</i> | <i>Sciaena umbra</i> |
| <i>Rachycentron canadum</i> | <i>Epinephelus marginatus</i> |
| <i>Liza auratus</i> | <i>Epinephelus aeneus</i> |
| <i>Lutjanus erythroterus</i> | <i>Epinephelus alexandrinus</i> |
| <i>Verasper moseri</i> | <i>Hippoglossus hippoglossus</i> |

| | |
|--|---|
| <i>Paralichthys olivaceus</i> <i>Takifugu rubripes</i> <i>Lates calcarifer</i> | <i>Solea solea</i> <i>Acipenser gueldestaedi</i> <i>Scolphthalmus maximus</i> |
|--|---|

| PECES QUE SE INFECTAN | |
|---|---|
| <i>Pagellus acarne</i> <i>Gobius jazo</i> <i>Argyrosomus regius</i> <i>Sparus aurata</i> <i>Trisopterus minutus</i> | <i>Mullus barbatus</i> <i>Mullus surmuletus</i> <i>Scorpaena sp</i> <i>Liza ramada</i> |

| PECES INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE | |
|------------------------------------|-----------------------|
| <i>Oreochromis mossambicus</i> | <i>Anarchis minor</i> |

Por tanto, el rango de especies sensibles es muy elevado, lo cual unido a su gran elevada patogenicidad y su gran difusión en el Mediterráneo hace que esta sea una de las enfermedades víricas potencialmente más peligrosas para las instalaciones en mar abierto. A ello contribuye el gran rango de hospedadores del virus, entre los que se describen la dorada, el mújol, el salmonete, la corvina e incluso bivalvos como el mejillón (Bovo, 2004). Recientemente ha sido realizada una revisión de la incidencia de esta enfermedad en el Mediterráneo, así como del riesgo de transmisión entre peces de ambos lados de las redes de las instalaciones de acuicultura (Bovo, 2007). Sus principales conclusiones son:

- Que afecta a más de 30 especies de peces, principalmente marinas.
- La enfermedad apareció en el Mediterráneo en 1995, afectando a alevines y juveniles.
- La transmisión puede ser horizontal y vertical, viéndose favorecida por la gran persistencia del virus en el medio marino. Esto unido al gran número de especies sensibles explica su tendencia a establecerse como endémico.
- La especie más sensible es la lubina, con brotes agudos en verano (22-25°C).
- No hay datos publicados sobre interacción entre peces de granja y silvestres, si bien la probabilidad parece muy elevada.
- Peces silvestres con sintomatología se han descrito en Grecia e Italia. En Falso Abadejo (*E. alexandrinus*) cerca de granja infectada, pero también Meros (*E. marginatus*) y Cherna de ley o Mero Bronceado (*E. aeneus*) en zona muy alejadas de cualquier granja.
- El genotipo en los ejemplares silvestres, cuando se caracteriza pertenece al grupo RGNNV, que es el habitual en las granjas de lubina infectadas.

A diferencia de las otras dos enfermedades, en las cuales lo previsible era no encontrar la presencia del virus, esta enfermedad tiene, a *priori*, cierta posibilidad de ser hallada, si bien en experiencias previas no ha sido detectada (Peñalver *et al.*, 2007a). En la realización de dicha experiencia se realizó el diagnóstico con los oligonucleótidos descritos por la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE,

2006), si embargo en nuestro estudio hemos utilizado un doble chequeo: se han empleado dos parejas de oligonucleótidos, con el fin de asegurar la detección de todos los tipos de cepas. Además de los oligonucleótidos de la OIE, se han utilizado los propuestos por el Instituto de Ictiopatología de Galicia con los cuales han obtenido resultados positivos en peces silvestres (Cutrín *et al.* 2008). En ambas experiencias el tejido analizado ha sido cerebro debido a que es el órgano donde el virus replica prioritariamente.

Resultados

Positivos 2007

| Código | Especie | Origen | Zona | Mes | 1ª PCR | 2ªPCR | Peso | Talla |
|--------|---------|-------------|-----------|-----|--------|-------|-------|-------|
| 29-01 | jurel | pesca | San Pedro | 6 | - | + | 155,4 | 26 |
| 38-05 | dorada | acuicultura | Águilas | 9 | - | + | 470,4 | 30 |

Positivos 2009

| Código | Especie | Origen | Zona | Mes | 1ª PCR | 2ªPCR | Peso | Talla |
|--------|--------------------|-------------|-----------|-----|--------|-------|-------|-------|
| 03-04 | S. picudo | Pesca | Lo Pagán | 05 | + | + | 209,4 | 23,5 |
| 05-04 | S. picudo | Pesca | Lo Pagán | 05 | - | + | 147,1 | 20,8 |
| 15-04 | S. picudo | Pesca | Lo Pagán | 05 | + | + | 190 | 23 |
| 25-04 | Sargo | Pesca | Lo Pagán | 05 | + | + | 145 | 20 |
| 28-04 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 05 | + | + | 240,8 | 24,5 |
| 46-04 | Dorada | Acuicultura | Águilas | 05 | + | + | 258 | 24,3 |
| 47-04 | | | Águilas | 05 | | | 360 | 27 |
| 48-04 | | | Águilas | 05 | | | 260 | 25,2 |
| 49-04 | | | Águilas | 05 | | | 292,4 | 26,5 |
| 50-04 | | | Águilas | 05 | | | 224,8 | 24 |
| 80-4 | Mujol | Pesca | Lo Pagán | 05 | - | + | 201 | 29 |
| 15-05 | Boga | Pesca | San Pedro | 06 | - | + | 129,5 | 23 |
| 45-05 | Corvina (S. umbra) | Pesca | Lo Pagán | 06 | - | + | 211,2 | 26 |
| 55-05 | Corvina (S. umbra) | Pesca | Lo Pagán | 06 | - | + | 254,5 | 27,5 |
| 11-06 | Lubina | Acuicultura | San Pedro | 06 | - | + | 290 | 30 |
| 12-06 | | | San Pedro | 06 | | | 307,4 | 31,5 |
| 13-06 | | | San Pedro | 06 | | | 288 | 29,5 |
| 14-06 | | | San Pedro | 06 | | | 283,6 | 30,5 |
| 15-06 | | | San Pedro | 06 | | | 209 | 27,5 |
| 08-07 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | - | + | 379,2 | 28,8 |
| 11-07 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | + | + | 470 | 30,5 |
| 13-07 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | - | + | 445 | 31 |
| 73-07 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | - | + | 425 | 30 |
| 75-07 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | - | + | 390 | 30 |
| 78-07 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | - | + | 376 | 29 |
| 86-07 | Dorada | Pesca | Lo Pagán | 07 | - | + | 412,6 | 29 |
| 93-07 | Alacha | Acuicultura | San Pedro | 09 | - | + | 90,3 | 21 |
| 94-07 | | | San Pedro | 09 | | | 94,2 | 23 |
| 95-07 | | | San Pedro | 09 | | | 66,3 | 20 |
| 96-07 | | | San Pedro | 09 | | | 72,4 | 20,5 |
| 05-08 | Jurel | Pesca | Águilas | 09 | - | + | 80,2 | 21 |

| | | | | | | | | |
|-------|--------|-------|---------|----|---|---|-------|------|
| 06-08 | Jurel | Pesca | Águilas | 09 | - | + | 67,8 | 20 |
| 08-08 | Jurel | Pesca | Águilas | 09 | - | + | 60,2 | 20 |
| 12-08 | Jurel | Pesca | Águilas | 09 | - | + | 82,9 | 21,3 |
| 23-08 | Alacha | Pesca | Águilas | 09 | - | + | 139,2 | 24,8 |

* Pool en muestras de acuicultura

En la siguiente tabla se reflejan los positivos y los respectivos porcentajes para cada uno de los años del proyecto así como de forma global:

| | 2007 | | 2008 | 2009 | | Global | |
|-------------------------------|------------------|-------------|------------------|------------------|-------------|------------------|-------------|
| | Número Positivos | % | Número Positivos | Número Positivos | % | Número Positivos | % |
| Todos | 2 | 0,35 | 0 | 24 | 2,21 | 26 | 0,96 |
| Acuicultura | 1 | 0,47 | 0 | 3 | 0,53 | 4 | 0,28 |
| Dorada | 1 | 0,65 | 0 | 1 | 0,52 | 2 | 0,33 |
| Lubina | 0 | 0 | 0 | 1 | 0,81 | 1 | 0,35 |
| Alacha | 0 | 0 | 0 | 1 | 4,14 | 1 | 1,06 |
| Merodeadores | 1 | 0,42 | 0 | 11 | 4,70 | 12 | 1,33 |
| Boga | 0 | 0 | 0 | 1 | 2,63 | 1 | 0,43 |
| Jurel | 1 | 1,61 | 0 | 4 | 7,84 | 5 | 2,51 |
| Alacha | 0 | 0 | 0 | 1 | 1,78 | 1 | 0,56 |
| Sargo | 0 | 0 | 0 | 4 | 12,5 | 4 | 4,12 |
| Mújol | 0 | 0 | 0 | 1 | 2,77 | 1 | 1,49 |
| Silvestres Acuicultura | 0 | 0 | 0 | 8 | 6,83 | 8 | 2,28 |
| Dorada | 0 | 0 | 0 | 8 | 10,12 | 8 | 3,03 |
| Otros | 0 | 0 | 0 | 2 | -- | 2 | -- |
| Corvina (<i>S. umbra</i>) | 0 | 0 | 0 | 2 | 9,09 | 2 | 1,86 |

Es importante mencionar que en ningún caso podemos hablar de brotes de enfermedad ya que los animales positivos a VER no presentaban ningún síntoma de esta patología, por lo que deben ser considerados como portadores asintomáticos. Asimismo el virus se intentó aislar de estas muestras positivas por parte del laboratorio del CISA así como por el Laboratorio Central de Veterinaria de Algete, siendo en todos los casos negativo. La secuenciación sin embargo, si que pudo confirmar que estos positivos eran reales, por lo que asumimos la presencia de portadores asintomáticos. Estos resultados son acordes con los comunicados por distintas empresas de acuicultura y laboratorios que comentan el hallazgo de animales positivos a la enfermedad, pero que no han detectado ningún brote abierto de enfermedad.

Respecto al tipo de virus hallado, tras la secuenciación podemos afirmar que es del tipo RGNNV, siendo este el tipo normalmente hallado en los brotes de esta patología en granjas de lubina en el Mediterráneo.

Los datos obtenidos confirman la preocupación del sector por esta enfermedad, que también ha sido diagnosticada por otros laboratorios, si bien, al menos en granjas de la Región de Murcia, no ha ocasionado ningún brote de enfermedad. Con los datos

que manejamos, es muy probable la aparición los años próximos de mortalidades debidas directamente a este virus, por lo que es importante instaurar medidas de prevención tanto activa como pasiva para evitar la aparición de estos focos.

Discusión resultados nodavirus en peces acuicultura

El total de animales procedentes de granjas de acuicultura en todo el proyecto fue de 4 ejemplares, si bien un ejemplar no era de origen comercial, sino una alacha que se había introducido en el interior. De los ejemplares comerciales, dos fueron dorada y la restante una lubina.

La dorada se considera que se infecta de forma natural pero no desarrolla la enfermedad (Castric *et al.*, 2001), pudiendo actuar como hospedador asintomático, lo cual tiene gran importancia en la acuicultura mediterránea, en la que gran parte de las instalaciones tienen un cultivo mixto de dorada y lubina. En el presente estudio se han hallado dos doradas infectadas, las cuales procedían de una misma granja de acuicultura de Águilas, si bien en dos años diferentes.

La lubina es la especie de acuicultura más sensible y la que ha producido mortalidades importantes en numeras granjas, tanto a nivel mundial como en el Mediterráneo. En los últimos años, es la enfermedad más grave que afecta a la lubina cultivada en jaulas en la península (Zarza y Padrós, 2007). En nuestro trabajo sólo hemos hallado una lubina positiva procedente de un pool de cinco ejemplares procedentes de una instalación de acuicultura de San Pedro del Pinatar. No ha sido reportado por ninguna empresa de acuicultura la aparición de mortalidades por este proceso, pero parece claro que el virus está presente en el ecosistema, como así lo confirmar resultados de laboratorio de distintas empresas.

Esta situación, de peligro latente y potencial, justifica el grado de preocupación del sector empresarial por esta enfermedad.

La última modificación de la legislación nacional en materia de declaración obligatoria de enfermedades animales suprimió la obligación de comunicación semestral de los brotes de esta enfermedad (O. ARM/851/2009, modifica anexos RD 617/2007).

Respecto a la alacha positiva, es una especie que no aparece en los listados como especie sensible ni portadora (Bovo, 2007).

Discusión resultados nodavirus en peces silvestres

El porcentaje global de positivos en los ejemplares merodeadores se situó en un 1,33. Los más frecuentemente infectados fueron jurel y sargo con 4 ejemplares cada uno y después con sólo un positivo boga, alacha y mújol.

Respecto a los ejemplares de especies cultivables pero procedentes del medio silvestre, se obtuvo un porcentaje global de positivos elevado en la dorada (superior al 3%), pero ninguno en el caso de lubina, si bien se muestrearon muchos menos ejemplares.

No hay ninguna cita en la bibliografía consultada en la que se describa la presencia de nodavirus en jurel, aunque si es especies similares como es jurel dentón (*Pseuacaranx dentex*). Este hallazgo tiene una gran importancia epidemiológica ya que el jurel común es una de las principales especies que son atraídas por las jaulas de acuicultura en mar abierto (Dempster *et al.*, 2001), siendo la más frecuentemente hallada en el interior de las jaulas tras la boga y la alacha. Por tanto, podría ser un vector a considerar en la posible transmisión de la enfermedad desde el medio silvestre hacia las granjas. De los dos oligonucleótidos utilizados para la búsqueda de nodavirus, el positivo en jurel ha sido detectado con el propuesto por la Universidad de Santiago de Compostela (Cutrín *et al.*, 2008). Respecto al tipo de virus hallado, tras la secuenciación se ha verificado que es del tipo SJNNV, es decir, el tipo del jurel dentón (Striped jacket nervous necrosis virus). Este tipo ha sido detectado en granjas de España y Portugal de dorada, lubina y lenguado senegalés (Cutrín, 2007), existiendo preocupación por su posible expansión hacia el Mediterráneo.

Los sargos picudos (*Diplodus puntazzo*) si están descritos como especies sensible a esta enfermedad. En nuestro trabajo hemos hallado 4 sargos positivos, de los que tres eran sargos picudos. Como se ha comentado, no se hallaron síntomas ni lesiones compatibles con esta enfermedad.

Respecto al resto de especies merodeadoras con ejemplares positivos, no están descritos como portadores o sensibles ni boga ni alacha, aunque diversas especies de mújol.

En las doradas silvestres se encontró un porcentaje de positividad elevado, especialmente en el año 2009, con 8 peces positivos (10,12). Como se ha comentado, se considera como una especie portadora pero no sensible, por lo que puede tener un papel fundamental en la epidemiología de esta enfermedad en el área mediterránea.

Discusión resultados nodavirus: interacciones silvestres con acuicultura

No existen datos publicados concernientes a la interacción entre peces silvestres y cultivados respecto a esta infección (DIPNET, 2007), si bien las diferentes evidencias apuntan fuertemente a esta posibilidad. En cualquier caso, el virus ha sido detectado en multitud de especies silvestres en el Mediterráneo pero los brotes han sido de momento escasos, por lo que la transmisión de los animales silvestres a los cultivados no debe ser fácil.

Los niveles de positividad encontrados tanto en peces de acuicultura como en peces silvestres merodeadores, y dadas las características de difusión y resistencia del virus en el medio, es altamente probable el contagio entre ambos lados de las redes de las instalaciones de acuicultura. En la actualidad se hacen controles rutinarios de esta enfermedad en las granjas de producción de origen, garantizando estas la ausencia del virus en los ejemplares que comercializan. Por ello, se debe suponer una transmisión desde el medio natural hacia el interior de las granjas de acuicultura.

BIBLIOGRAFÍA

BANDIN I, DOPAZO C.P. (2006). Restocking of salmon in Galician rivers: A health management program to reduce the risk of introduction of certain fish viruses. *Dipnet newsletter*, 35.

BARJA, J.L. (2005) Mediterranean Aquaculture Diagnostic Laboratories. Options méditerranéennes. FAO-CIHEAM . Serie B: *Etudes et Recherches*, 49.

CASTRIC J.; THIERY R.; JEFFROY J.; RAYMOND JC. (2001). Sea bream *Sparus aurata*, an asymptomatic contagious fish host for nodavirus. *Diseases of Aquatic Organisms*, 47: 33-38.

COMPS M.; MENU B.; BRENIL J.; BONAMI JR. (1991). Viral infection associated with rotifer mortalities in mass culture. *Aquaculture* 93: 1-7.

CUTRÍN J. M.; THIERY R.; OLVEIRA J. G.; BARJA J. L.; DOPAZO C. P.; BANDÍN I. (2008). Phylogenetic análisis of fish nodaviruses from the Iberian Peninsula. *Applied Environmental Microbiology*.

DIXON PF.; FEIST S.; KEHOE E.; PARRY L.; STONE DM.; WAY K. (1997). Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus from Atlantic herring *Clupea harengus* from the English Channel. *Dis. Aquat. Org.* 30: 81-89.

DOPAZO CP.; BANDIN I.; LOPEZ-VAZQUEZ C.; LAMAS J.; NOYA M.; BARJA JL. (2002). Isolation of viral hemorrhagic septicemia virus from Greenland halibut

Reinhardtius hippoglossoides caught at the Flemish Cap. *Dis. Aquat. Org.* 50: 171-179.

DIPNET (2007). Review of disease interaction and pathogen Exchange between farmed and wild finfish and shellfish in Europe. (www.revistaaquatic.com/DIPNET)

HEPPELL, J., BERTHIAUME, L., TARRAB, E., LECOMTE, J. AND ARELLA, M., (1992). Evidence of genomic variations between infectious pancreatic necrosis virus strains determined by restriction fragments profiles. *Journal of General Virology*, 73: 2863.

KING JA.; SNOW M.; SMAIL DA.; RAYNARD RS. (2001). Distribution of viral haemorrhagic septicaemia virus in wild fish species of the North Sea, North East Atlantic Ocean and Irish Sea. *Dis. Aquat. Org.* 47: 81-86.

LARSEN, R.; P.R. TORUNN; R. BØRRE. (2004). Inhibition of infectious pancreatic necrosis virus replication by Atlantic salmon Mx1 protein. *Journal of Virology* 2004. Vol. 78. No. 15. p. 7938-7944.

LÓPEZ-VAZQUEZ, C; DOPAZO, C.P.; OLVEIRA, J. G.; BARJA, J.L.; BANDIN, I.; (2006). Development of a rapid, sensitive and non-lethal diagnostic assay for the detection of viral haemorrhagic septicaemia virus. *Journal of Virological Methods* 133: 167-174.

MORTENSEN SH.; HJELTNESS B. ; RODSETH O. ; KROGSRUD J. ; CHRISTIE KE. (1990). Infectious pancreatic necrosis virus, serotype N1, isolated from Norwegian halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and scallops (*Pecten maximus*). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 10 : 42-43.

MORTENSEN HF (1999). Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) from wild marine fish species in the Baltic Sea, Kattegat, Skagerrak and the North Sea. *Virus Res.* 63 : 95-106.

MUNRO ALS (1996). First recorded outbreak of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in GB and subsequent actions to contain, eradicate and investigate the origins of the infection. Scottish Office Agriculture, Environment and Fisheries Department, Aberdeen. *Scottish Aquaculture Research Report n° 3*.

OIE, 2003. Código animales acuáticos.

OIE, 2004. Septicemia Viral Hemorrágica en Turquía. *Informaciones Sanitarias*, vol.17 35 y 36.

OIE, 2006. Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos. www.oie.int/esp/normes/fmanual/pdf_es/2.1.05_Septicemia_hemorragica_virica.

PEÑALVER, J.; E. MARÍA-DOLORES, C. TAFALLA, R. DÍAZ, L. BERMÚDEZ, O. GÓMEZ.(2007). Resultados preliminares del programa piloto de vigilancia epidemiológica frente a enfermedades víricas en la Región de Murcia *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura (1025-1028)*.

REGLAMENTO 1251/2008, por el que se aplica la Directiva 2006/88/CE en lo referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de enfermedades portadoras.

RODRIGUEZ SAINT-JEAN S, BORREGO JJ, PEREZ-PRIETO SI. (2003) Infectious pancreatic necrosis virus: biology, pathogenesis, and diagnostic methods. *Adv Virus Res*; 62: 113-65.

ROSS K.; Mc CARTHY U.; HUNTLY PJ.; WOOD BP; STUARD D; ROUGH EI.; SMAIL DA.; BRUNO DW. (1994). An outbreak of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) IN TURBOT (*Scophthalmus maximus*) in Scotland. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 14: 213-214.

SMAIL DA. (2000). Isolation and identification of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from cod *Gadus morhua* with the ulcer syndrome and from haddock *Melanogrammus aeglefinus* having skin haemorrhages in the North Sea. *Dis. Aquat. Org.* 41: 231-235.

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). *Dis. Aquat. Org.*, 61, 11–21.

ZARZA C. Y PADRÓS F (2007). Enfermedades emergentes en la piscicultura marina española. *Skretting Informa, Primavera 2007*.

2.4.6. MAPA ESPECIES SENSIBLES Y PORTADORES

En el presente apartado se va a describir la situación actual de las enfermedades de declaración obligatoria en acuicultura, para posteriormente hacer un mapa en cada comunidad participante de las especies sensibles tanto en acuicultura como en peces silvestres. En el caso de las enfermedades listadas en la Directiva 2006/88/CE, la legislación, a través del Reglamento CE 1251/2008 establece listados de especies potencialmente sensibles.

La última modificación legislativa en materia de enfermedades de declaración obligatoria en los peces emana de la Decisión 2008/650/CE. Adapta la normativa comunitaria en materia de declaración de enfermedades animales a las enfermedades recogidas en la Directiva 2006/88/CE.

Establece como enfermedades de declaración obligatoria en los animales acuáticos las enfermedades recogidas en dicha directiva, tanto las exóticas como las no exóticas

Es España, la normativa vigente hasta ese momento en esta materia es R.D. 617/2007, por el que se establece la lista de enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación. Este real decreto ha sido modificado por la Orden ARM/831/2009. Con esta modificación se incluyen las enfermedades listadas que aparecen en la Directiva 2006/88/CE (traspuesta al ordenamiento jurídico nacional a través del Real Decreto 1614/2008) y se eliminan una serie de enfermedades de notificación semestral en adaptación a los nuevos listados de enfermedades notificables de la Organización Internacional de Epizootias (OIE). Las enfermedades que se eliminan en la lista de notificables son las siguientes:

Virosis del bagre de canal
Encefalopatía y retinopatía viral
Necrosis pancreática infecciosa
Renibacteriosis
Septicemia entérica del bagre
Piscirickettsiosis

Dos de estas enfermedades, la encefalopatía y retinopatía viral así como la necrosis pancreática infecciosa son dos de las enfermedades objetivo de Proyecto Piloto de Vigilancia Epidemiológica del presente proyecto de investigación. Desde un punto de vista administrativo estas enfermedades pierden importancia. Sin embargo, con los resultados obtenidos en nuestros trabajos y por la preocupación creciente del sector, la encefalopatía y retinopatía viral es la enfermedad en acuicultura marina potencialmente más peligrosa para el sector en la actualidad.

De esta forma, quedan para los peces como enfermedades de declaración obligatoria y urgente las siguientes:

Anemia infecciosa del salmón
Herpesvirosis de la carpa koi
Necrosis hematopoyética infecciosa
Necrosis hematopoyética epizoótica
Septicemia hemorrágica viral
Síndrome ulcerante epizoótico

Como enfermedades de declaración no urgente, quedan las siguientes:

Iridovirosis de la dorada japonesa
Viremia primaveral de la carpa
Girodactilosis

A continuación se describen las especies sensibles y portadores para cada una de las enfermedades:

a. Enfermedades exóticas

| Necrosis hematopoyética epizoótica | |
|--|---|
| Especies Sensibles (RD 1614/2008) | Especies potencialmente portadoras (Reglamento 1251/2008) |
| Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>) y perca (<i>Perca fluviatilis</i>) | Carpa cabezona (<i>Aristichthys nobilis</i>), carpa dorada o roja (<i>Carassius auratus</i>), carpín (<i>Carassius carassius</i>), carpa (<i>Cyprinus carpio</i>), carpa plateada (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>), cachos (<i>Leuciscus spp</i>), bermejuela (<i>Rutilus rutilus</i>), gardí (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>) y tenca (<i>Tinca tinca</i>) |

| Síndrome ulcerante epizoótico | |
|--|---|
| Especies Sensibles (RD 1614/2008) | Especies potencialmente portadoras (Reglamento 1251/2008) |
| Géneros <i>Catla</i> , <i>Channa</i> , <i>Labeo</i> , <i>Mastacembelus</i> , <i>Mugil</i> , <i>Puntius</i> y <i>Trichogaster</i> | Carpa cabezona (<i>Aristichthys nobilis</i>), carpa dorada o roja (<i>Carassius auratus</i>), carpín (<i>Carassius carassius</i>), carpa (<i>Cyprinus carpio</i>), carpa plateada (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>), cachos (<i>Leuciscus spp</i>), bermejuela (<i>Rutilus rutilus</i>), gardí (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>) y tenca (<i>Tinca tinca</i>) |

b. Enfermedades no exóticas

| Septicemia hemorrágica viral | |
|---|---|
| Especies Sensibles (RD 1614/2008) | Especies potencialmente portadoras (Reglamento 1251/2008) |
| <p>Arenque (<i>Clupea spp.</i>), coregonos (<i>Coregonus sp.</i>), lucio (<i>Esox lucius</i>), eglefino (<i>Gadus aeglefinus</i>), bacalao del Pacífico (<i>Gadus macrocephalus</i>), bacalao del Atlántico (<i>Gadus morhua</i>), salmones del Pacífico (<i>Oncorhynchus spp.</i>), trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), mollareta (<i>Onos mustelus</i>), trucha común (<i>Salmo trutta</i>), rodaballo (<i>Scophthalmus maximus</i>), espadín (<i>Sprattus sprattus</i>) y timalo (<i>Thymallus thymallus</i>)</p> | <p>Esturión beluga (<i>Huso huso</i>), esturión del Danubio (<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>), esterlete (<i>Acipenser ruthenus</i>), esturión estrellado (<i>Acipenser stellatus</i>), esturión (<i>Acipenser sturio</i>), esturión siberiano (<i>Acipenser Baerii</i>) Carpa cabezona (<i>Aristichthys nobilis</i>), carpa dorada o roja (<i>Carassius auratus</i>), carpín (<i>Carassius carassius</i>), carpa (<i>Cyprinus carpio</i>), carpa plateada (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>), cachos (<i>Leuciscus spp</i>), bermejuela (<i>Rutilus rutilus</i>), gardí (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>) y tenca (<i>Tinca tinca</i>) Tinto (<i>Clarias gariepinus</i>), lucio (<i>Esox lucius</i>), bagres (<i>Ictalurus spp.</i>), pez gato negro (<i>Ameiurus melas</i>), coto punteado (<i>Ictalurus punctatus</i>), panga (<i>Pangasius pangasius</i>), lucioperca (<i>Sander lucioperca</i>), siluro (<i>Silurus glanis</i>) Lubina o robalo (<i>Dicentrarchus labrax</i>), lubina blanca, lubina americana (<i>Morone chrysops x M. saxatilis</i>), mugil (<i>Mugil cephalus</i>), corvinón ocelado (<i>Sciaenops ocellatus</i>), corvina (<i>Argyrosomus regius</i>), verrugato (<i>Umbrina cirrosa</i>), atunes (<i>Thunnus spp.</i>), atún rojo o de aleta azul (<i>Thunnus thynnus</i>), mero (<i>Epinephelus marginatus</i>), lenguado senegalés o lenguado rubio (<i>Solea senegalensis</i>), lenguado europeo (<i>Solea solea</i>), breca (<i>Pagellus erythrinus</i>), dentón o dentón europeo (<i>Dentex dentex</i>), dorada (<i>Sparus aurata</i>), sargo (<i>Diplodus sargus</i>), besugo (<i>Pagellus bogaraveo</i>), dorada gigante (<i>Pagrus major</i>), sargo picudo (<i>Diplodus puntazzo</i>), mojarra (<i>Diplodus vulgaris</i>), pargo (<i>Pagrus pagrus</i>) Tilapia (<i>Oreochromis</i>)</p> |

| Necrosis hematopoyética infecciosa | |
|--|--|
| Especies Sensibles (RD 1614/2008) | Especies potencialmente portadoras (Reglamento 1251/2008) |
| Salmón keta (<i>Oncorhynchus keta</i>), salmón coho (<i>Oncorhynchus kisutch</i>), salmón masou (<i>Oncorhynchus masou</i>), trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), salmón rojo (<i>Oncorhynchus nerka</i>), salmón amago (<i>Oncorhynchus rhodurus</i>), salmón chinook (<i>Oncorhynchus tshawytscha</i>) y salmón del Atlántico (<i>Salmo salar</i>) | Esturión beluga (<i>Huso huso</i>), esturión del Danubio (<i>Acipenser gueldenstaedtii</i>), esterlete (<i>Acipenser ruthenus</i>), esturión estrellado (<i>Acipenser stellatus</i>), esturión (<i>Acipenser sturio</i>), esturión siberiano (<i>Acipenser Baerii</i>) Carpa cabezona (<i>Aristichthys nobilis</i>), carpa dorada o roja (<i>Carassius auratus</i>), carpín (<i>Carassius carassius</i>), carpa (<i>Cyprinus carpio</i>), carpa plateada (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>), cachos (<i>Leuciscus spp</i>), bermejuela (<i>Rutilus rutilus</i>), gardí (<i>Scardinius erythrophthalmus</i>) y tenca (<i>Tinca tinca</i>) Tinto (<i>Clarias gariepinus</i>), bagres (<i>Ictalurus spp.</i>), pez gato negro (<i>Ameiurus melas</i>), coto punteado (<i>Ictalurus punctatus</i>), panga (<i>Pangasius pangasius</i>), lucioperca (<i>Sander lucioperca</i>), siluro (<i>Silurus glanis</i>) Fletán o halibut o halibut atlántico (<i>Hippoglossus hippoglossus</i>), platija (<i>Platichthys flesus</i>), bacalao (<i>Gadus morhua</i>), eglefino (<i>Melanogrammus aeglefinus</i>) |

| Herpesvirosis de la carpa koi | |
|--|---|
| Especies Sensibles (RD 1614/2008) | Especies potencialmente portadoras (Reglamento 1251/2008) |
| Carpa común y carpa koi (<i>Cyprinus carpio</i>) | Ninguna |

| Anemia infecciosa del salmón | |
|---|---|
| Especies Sensibles (RD 1614/2008) | Especies potencialmente portadoras (Reglamento 1251/2008) |
| Trucha arco iris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), salmón del Atlántico (<i>Salmo salar</i>) y trucha común (<i>Salmo trutta</i>) | Ninguna |

c. Enfermedades de declaración no urgente (semestral)

| Iridovirus de la dorada japonesa |
|---|
| Especies Sensibles (OIE, 2006) |
| Dorada japonesa (<i>Pagrus major</i>), pargo de cabeza negra (<i>Acanthopagrus schlegeli</i>), sargo de aleta amarilla (<i>Acanthopagrus latus</i>), sargo púrpura (<i>Evynnis japonica</i>), medregal del Japón (<i>Seriola quinqueradiata</i>), pez limón (<i>Seriola dumerili</i>), medregal australiano (<i>Seriola lalandi</i>), híbrido de medregal australiano y medregal del Japón (<i>S. lalandi</i> × <i>S. quinqueradiata</i>), jurel dentón (<i>Pseudocaranx dentex</i>), atún rojo (<i>Thunnus thynnus</i>), carite oriental (<i>Scomberomorus niphonius</i>), estornino (<i>Scomber japonicus</i>), jurel japonés (<i>Trachurus japonicus</i>), perca loro japonesa (<i>Oplegnathus fasciatus</i>), perca loro manchada (<i>Oplegnathus punctatus</i>), cobia (<i>Rachycentron canadum</i>), pámpano lunero (<i>Trachinotus blochii</i>), ronco japonés (<i>Parapristipoma trilineatum</i>), ronco manchado (<i>Plectorhynchus cinctus</i>), emperador chino (<i>Lethrinus haematopterus</i>), emperador relámpago (<i>Lethrinus nebulosus</i>), chopa punteada (<i>Girella punctata</i>), gallineta negra (<i>Sebastes schlegeli</i>), corvina amarilla (<i>Pseudosciaena crocea</i>), mero de pintas rojas (<i>Epinephelus akaara</i>), mero carcelario (<i>Epinephelus septemfasciatus</i>), mero malabárigo (<i>Epinephelus malabaricus</i>), mero diente largo (<i>Epinephelus bruneus</i>), mero de pintas naranjas (<i>Epinephelus coioides</i>), mero amarillo (<i>Epinephelus awoara</i>), mero lutria (<i>Epinephelus tauvina</i>), mero manchado (<i>Epinephelus fuscoguttatus</i>), mero lanceolado (<i>Epinephelus lanceolatus</i>), serránido japonés (<i>Lateolabrax japonicas</i>), <i>Lateolabrax</i> sp., perca gigante (<i>Lates calcarifer</i>), lubina estriada híbrida (<i>Morone saxatilis</i> × <i>M. chrysops</i>), perca americana (<i>Micropterus salmoides</i>), falso halibut del Japón (<i>Paralichthys olivaceus</i>), fletán manchado (<i>Verasper variegatus</i>), pez globo tigre (<i>Takifugu rubripes</i>). |

| Viremia primaveral de la carpa |
|--|
| Especies Sensibles (OIE, 2006) |
| Carpa común (<i>Cyprinus carpio carpio</i>), carpa koi (<i>Cyprinus carpio koi</i>), el carpín (<i>Carassius carassius</i>), el siluro (<i>Silurus glanis</i>), la carpa plateada (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>), la carpa cabezona (<i>Aristichthys nobilis</i>), carpa china (<i>Ctenopharyngodon idella</i>), el pez rojo (<i>Carassius auratus</i>), el orfe (<i>Leuciscus idus</i>), la tenca (<i>Tinca tinca</i>), el rutilo (<i>Rutilus rutilus</i>) y el pez cebrá (<i>Danio rerio</i>). |

| Girodactilosis |
|--|
| Especies Sensibles (OIE, 2006) |
| Salmón (<i>Salmo salar</i>), trucha arcoiris (<i>Oncorhynchus mykiss</i>), salvelino (<i>Salvelinus alpinus</i>), trucha de arroyo (<i>Salvelinus fontinalis</i>), tímalo (<i>Thymallus thymallus</i>), trucha lacustre (<i>Salvelinus namaycush</i>) y trucha común (<i>Salmo trutta</i>) |

A. Mapa de especies sensibles y portadoras en Murcia a las enfermedades de declaración obligatoria en peces

| Necrosis hematopoyética epizoótica | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | X | X |
| <i>Perca fluviatilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | | | | |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |

| Síndrome ulcerante epizoótico | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Catla</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Channa</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Labeo</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mastacembelus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mugil</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Puntius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Trichogaster</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | | | | |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|------------------------------------|----|----|----|----------|
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |

| Septicemia hemorrágica viral | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Clupea spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Coregonus sp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Esox lucius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus aeglefinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus macrocephalus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus morhua</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | X | X |
| <i>Onos mustelus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scophthalmus maximus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Sprattus sprattus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thymallus thymallus</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | | | | |
| <i>Huso huso</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser ruthenus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser stellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser baerii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Clarias gariepinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Esox lucius</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|---------------------------------------|----------|----------|----|----------|
| <i>Ictalurus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ameiurus melas</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pangasius pangasius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sander lucioperca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Dicentrarchus labrax</i> | X | X | -- | -- |
| <i>Morone chrysops x M. saxatilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mugil cephalus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Argyrosomus regius</i> | X | X | -- | -- |
| <i>Umbrina cirrosa</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thunnus spp</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thunnus thynnus</i> | X | X | -- | -- |
| <i>Epinephelus marginatus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Solea senegalensis</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Solea solea</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagellus erythrinus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Dentex dentex</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Sparus aurata</i> | X | X | -- | -- |
| <i>Diplodus sargus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagellus bogaraveo</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagrus major</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Diplodus puntazzo</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Diplodus vulgaris</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagrus pagrus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Oreochromis</i> | -- | -- | -- | -- |

| Necrosis hematopoyética infecciosa | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus keta</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus kisutch</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus masou</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | X | X |
| <i>Oncorhynchus nerka</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|------------------------------------|----|----|----|----|
| <i>rhodurus</i> | | | | |
| <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo salar</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | | | | |
| <i>Huso huso</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser ruthenus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser stellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser sturio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser baerii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Clarias gariepinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ameiurus melas</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pangasius pangasius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sander lucioperca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hippoglossus hippoglossus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Platichthys flesus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus morhua</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Melanogrammus aeglefinus</i> | -- | -- | -- | -- |

| Herpesvirosis de la carpa koi | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |

| Herpesvirosis de la carpa koi | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | X | X |
| <i>Salmo salar</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | -- | -- | -- |

| Iridovirosis de la dorada japonesa | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Pagrus major</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acanthopagrus schlegeli</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acanthopagrus latus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Evynnis japonica</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Seriola quinqueradiata</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Seriola dumerili</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Seriola lalandi</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pseudocaranx dentex</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Thunnus thynnus</i> | X | X | -- | -- |
| <i>Scomberomorus niphonius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scomber japonicus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Trachurus japonicus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oplegnathus fasciatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oplegnathus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rachycentron canadum</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Trachinotus blochii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Parapristipoma trilineatum</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Plectorhynchus cinctus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lethrinus haematopterus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lethrinus</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|---|----|----|----|----|
| <i>nebulosus</i> | | | | |
| <i>Girella punctata</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sebastes schlegeli</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pseudosciaena crocea</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus akaara</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus septemfasciatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus malabaricus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus bruneus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus coioides</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus awoara</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus tauvina</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus lanceolatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lateolabrax japonicus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lates calcarifer</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Morone saxatilis</i> × <i>M. chrysops</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Micropterus salmoides</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Paralichthys olivaceus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Verasper variegatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Takifugu rubripes</i> | -- | -- | -- | -- |

| Viremia primaveral de la carpa | | | | |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|--------------------------------|----|----|----|----|
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ctenopharyngodon idella</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Leuciscus idus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Danio rerio</i> | -- | -- | -- | -- |

| Girodactilosis | | | | |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Salmo salar</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | X | X |
| <i>Salvelinus alpinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salvelinus fontinalis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Thymallus thymallus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salvelinus namaycush</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | -- | -- | -- |

B. Mapa de especies sensibles y portadoras en Canarias a las enfermedades de declaración obligatoria en peces.

| Necrosis hematopoyética epizoótica | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Perca fluviatilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scardinius</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|-------------------------|----|----|----|----|
| <i>erythrophthalmus</i> | | | | |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | -- |

| Síndrome ulcerante epizoótico | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Catla</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Channa</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Labeo</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mastacembelus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mugil</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Puntius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Trichogaster</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | | | | |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | -- |

| Septicemia hemorrágica viral | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Clupea spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Coregonus sp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Esox lucius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus aeglefinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus macrocephalus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus morhua</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Onos mustelus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scophthalmus maximus</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|---------------------------------------|----------|----|----|----|
| <i>Sprattus sprattus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Thymallus thymallus</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | | | | |
| <i>Huso huso</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser ruthenus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser stellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser baerii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Clarias gariepinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Esox lucius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ameiurus melas</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pangasius pangasius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sander lucioperca</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Dicentrarchus labrax</i> | X | -- | -- | -- |
| <i>Morone chrysops x M. saxatilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mugil cephalus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Argyrosomus regius</i> | X | -- | -- | -- |
| <i>Umbrina cirrosa</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Thunnus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Thunnus thynnus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus marginatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Solea senegalensis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Solea solea</i> | X | -- | -- | -- |

| | | | | |
|----------------------------|----|----|----|----|
| <i>Pagellus erythrinus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Dentex dentex</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sparus aurata</i> | X | -- | -- | -- |
| <i>Diplodus sargus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagellus bogaraveo</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pagrus major</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Diplodus puntazzo</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Diplodus vulgaris</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagrus pagrus</i> | X | -- | -- | -- |
| <i>Oreochromis</i> | -- | -- | -- | -- |

| Necrosis hematopoyética infecciosa | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus keta</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus kisutch</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus masou</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus nerka</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus rhodurus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo salar</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | | | | |
| <i>Huso huso</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser ruthenus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser stellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser sturio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser baerii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|------------------------------------|----|----|----|----|
| <i>rutilus</i> | | | | |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Clarias gariepinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ameiurus melas</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pangasius pangasius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sander lucioperca</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hippoglossus hippoglossus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Platichthys flesus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus morhua</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Melanogrammus aeglefinus</i> | -- | -- | -- | -- |

| Herpesvirosis de la carpa koi | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | -- |

| Anemia infecciosa del salmón | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo salar</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | -- | -- | -- |

| Iridovirosis de la dorada japonesa | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Pagrus major</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acanthopagrus schlegeli</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acanthopagrus latus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Evynnis japonica</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Seriola quinqueradiata</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Seriola dumerili</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Seriola lalandi</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|------------------------------------|----|----|----|----|
| <i>Pseudocaranx dentex</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thunnus thynnus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scomberomorus niphonius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scomber japonicus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Trachurus japonicus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oplegnathus fasciatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oplegnathus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rachycentron canadum</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Trachinotus blochii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Parapristipoma trilineatum</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Plectorhynchus cinctus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lethrinus haematopterus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lethrinus nebulosus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Girella punctata</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sebastes schlegeli</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pseudosciaena crocea</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus akaara</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus septemfasciatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus malabaricus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus bruneus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus coioides</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus awoara</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus tauvina</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|---|----|----|----|----|
| <i>fuscoguttatus</i> | | | | |
| <i>Epinephelus lanceolatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lateolabrax japonicus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lates calcarifer</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Morone saxatilis</i> × <i>M. chrysops</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Micropterus salmoides</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Paralichthys olivaceus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Verasper variegatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Takifugu rubripes</i> | -- | -- | -- | -- |

| Viremia primaveral de la carpa | | | | |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ctenopharyngodon idella</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus idus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Danio rerio</i> | -- | -- | -- | -- |

| Girodactilosis | | | | |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Salmo salar</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salvelinus alpinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salvelinus fontinalis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Thymallus thymallus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salvelinus</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|---------------------|----|----|----|----|
| <i>namaycush</i> | | | | |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | -- | -- | -- |

C. Mapa de especies sensibles y portadoras en Galicia a las enfermedades de declaración obligatoria en peces.

| Necrosis hematopoyética epizoótica | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Perca fluviatilis</i> | -- | -- | -- | X |
| Especies portadoras | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |

| Síndrome ulcerante epizoótico | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Catla</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Channa</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Labeo</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mastacembelus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mugil</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Puntius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Trichogaster</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|------------------------------------|----|----|----|----|
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |

| Septicemia hemorrágica viral | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Clupea spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Coregonus sp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Esox lucius</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Gadus aeglefinus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Gadus macrocephalus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Gadus morhua</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus spp</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Onos mustelus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Scophthalmus maximus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Sprattus sprattus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thymallus thymallus</i> | -- | -- | -- | -- |
| Especies portadoras | -- | -- | -- | -- |
| <i>Huso huso</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser ruthenus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser stellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser baerii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | X |

| | | | | |
|---------------------------------------|----|----|----|----|
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Clarias gariepinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Esox lucius</i> | -- | X | -- | X |
| <i>Ictalurus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ameiurus melas</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Ictalurus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pangasius pangasius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sander lucioperca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | X | -- | X |
| <i>Dicentrarchus labrax</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Morone chrysops x M. saxatilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Mugil cephalus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Argyrosomus regius</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Umbrina cirrosa</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thunnus spp</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thunnus thynnus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Epinephelus marginatus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Solea senegalensis</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Solea solea</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagellus erythrinus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Dentex dentex</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Sparus aurata</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Diplodus sargus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagellus bogaraveo</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagrus major</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Diplodus puntazzo</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Diplodus vulgaris</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Pagrus pagrus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Oreochromis</i> | -- | -- | -- | -- |

| Necrosis hematopoyética infecciosa | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus keta</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus kisutch</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus masou</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|------------------------------------|----|------------|----|----------|
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus nerka</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus rhodurus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus tshawytscha</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo salar</i> | -- | X | -- | -- |
| Especies portadoras | -- | -- | -- | -- |
| <i>Huso huso</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser ruthenus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser stellatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acipenser sturio</i> | -- | X * | -- | -- |
| <i>Acipenser baerii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Leuciscus spp</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Scardinius erythrophthalmus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Clarias gariepinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ictalurus spp</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ameiurus melas</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Ictalurus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pangasius pangasius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sander lucioperca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hippoglossus hippoglossus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Platichthys flesus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Gadus morhua</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Melanogrammus aeglefinus</i> | -- | X | -- | -- |

| Herpesvirosis de la carpa koi | | | | |
|--------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |

| Anemia infecciosa del salmón | | | | |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Salmo salar</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | -- | -- | X |

| Iridovirosis de la dorada japonesa | | | | |
|---|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Pagrus major</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acanthopagrus schlegeli</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Acanthopagrus latus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Evynnis japonica</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Seriola quinqueradiata</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Seriola dumerili</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Seriola lalandi</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pseudocaranx dentex</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Thunnus thynnus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Scomberomorus niphonius</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Scomber japonicus</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Trachurus japonicus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oplegnathus fasciatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Oplegnathus punctatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Rachycentron canadum</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Trachinotus blochii</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Parapristipoma trilineatum</i> | -- | -- | -- | -- |

| | | | | |
|---|----|----|----|----------|
| <i>Plectorhynchus cinctus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lethrinus haematopterus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lethrinus nebulosus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Girella punctata</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sebastes schlegeli</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Pseudosciaena crocea</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus akaara</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus septemfasciatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus malabaricus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus bruneus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus coioides</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus awoara</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus tauvina</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus fuscoguttatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Epinephelus lanceolatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lateolabrax japonicus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Lates calcarifer</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Morone saxatilis</i> × <i>M. chrysops</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Micropterus salmoides</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Paralichthys olivaceus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Verasper variegatus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Takifugu rubripes</i> | -- | -- | -- | -- |

| Viremia primaveral de la carpa | | | | |
|---------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Cyprinus carpio</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius carassius</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Silurus glanis</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Hypophthalmichthys molitrix</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Aristichthys nobilis</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Ctenopharyngodon idella</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Carassius auratus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Leuciscus idus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Tinca tinca</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Rutilus rutilus</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Danio rerio</i> | -- | -- | -- | -- |

| Girodactilosis | | | | |
|------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| Especies sensibles | Acuicultura marina | Silvestres marinos | Acuicultura continental | Silvestres continental |
| <i>Salmo salar</i> | -- | X | -- | -- |
| <i>Oncorhynchus mykiss</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Salvelinus alpinus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salvelinus fontinalis</i> | -- | -- | -- | X |
| <i>Thymallus thymallus</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salvelinus namaycush</i> | -- | -- | -- | -- |
| <i>Salmo trutta</i> | -- | X | -- | -- |

* Se capturó un esturión en Gijón el 24/11/2010, por primera vez desde 1976.

Fuente: Biólogos de la Unidad Técnica de Pesca de Bajura, del Departamento Territorial da Coruña de la Consellería do Mar. Xunta de Galicia

Bibliografía

- Atlas de Distribución de los Peces Epicontinentales de la Región de Murcia. 2005. Dirección General de Medio Natural de la Consejería de Industria y Medio Ambiente de la Región de Murcia.

- OIE. Código Sanitario y Manual de los Animales Acuáticos, 2006 (www.oie.int).

- Calvín JC, 1995.El ecosistema marino mediterráneo: guía de su flora y fauna. Ed. Eurocolor, Murcia.
- Especies de interés pesquero en el Litoral de Andalucía. 2001. Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.
- Decisión 2008/650/CE, de 30 de julio de 2008, que modifica la Directiva 82/894/CEE del Consejo relativa a la notificación de las enfermedades de los animales en la Comunidad para incluir determinadas enfermedades en la lista de enfermedades de declaración obligatoria y suprimir de dicha lista la encefalomielitis enterovírica porcina.
- Directiva 2006/88/CE, traspuesta al ordenamiento jurídico español mediante el Real Decreto 1614/2008, relativo a los requisitos zoonosanitarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos.
- Orden ARM/831/2009, de 27 de marzo, por que se modifican los anexos I y II del Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación.
- Real Decreto 617/2007, de 16 de mayo, por el que se establece la lista de las enfermedades de los animales de declaración obligatoria y se regula su notificación.
- Reglamento 1251/2008 de la Comisión de 12 de diciembre de 2008, por el que se aplica la Directiva 2006/88 del Consejo en lo referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de especies portadoras.

2.4. 7. CARNADA ATUNES

La actividad de engorde de atún rojo (*Thunnus thynnus*) se ha desarrollado los últimos años en las costas de las comunidades autónomas de Murcia, Cataluña y Andalucía. En Murcia están registradas 9 de las 12 granjas de engorde de atún autorizadas en el litoral Español. La alimentación se realiza exclusivamente mediante carnada compuesta por ejemplares completos de peces de pequeños pelágicos y moluscos cefalópodos como el calamar.

El proceso de engorde y engrasamiento comienza habitualmente a finales de junio y julio y se mantiene, en función de factores básicamente económicos de regulación de mercado, no más allá del mes de marzo o abril. Durante este periodo la alimentación se realiza exclusivamente mediante carnada compuesta por ejemplares completos de peces de pequeños pelágicos y moluscos cefalópodos como el calamar. La cantidades de carnada necesaria para alimentar a estos animales es muy considerable, ya que se estima entre el 2 y el 10 % del peso corporal de los atunes la ración diaria de alimento requerido, en función de diversos factores (Lovatelli, 2003).

Existe controversia sobre la posibilidad de que la liberación al medio de peces en su uso como alimento de los atunes enjaulados pueda presentar un potencial riesgo zoonosario, especialmente cuando su origen se sitúa en zonas muy lejanas y en ecosistemas distintos, pudiendo ser el vehículo de enfermedades para las cuales las poblaciones de peces silvestres de nuestro litoral podrían no estar preparadas inmunológicamente. Esta inquietud ha sido puesta de manifiesto por organizaciones conservacionistas a nivel europeo (WWF, 2005).

La D. G. de Ganadería y Pesca, dentro programa Piloto de Vigilancia Epidemiológica, establece la realización de una serie de controles regulares sobre la carnada utilizada en las granjas de atunes del Litoral de Murcia. El objetivo es valorar de forma práctica la posibilidad de transmisión de enfermedades víricas a la fauna silvestre local y al resto de granjas de acuicultura situadas en la zona. Las siguientes fotos ilustran las fases de alimentación de los atunes:





Material y Métodos

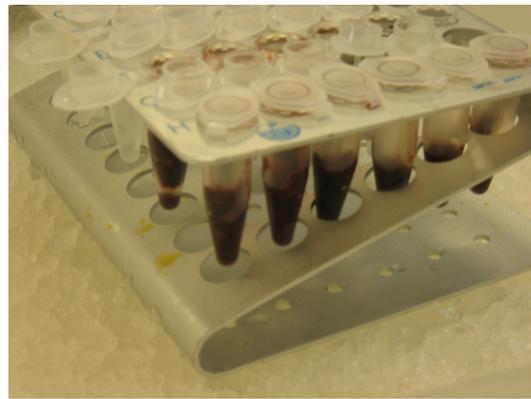
Las campañas de engorde de atún rojo 2006/2007 y 2007/2008 se han realizado en la Región de Murcia en 4 instalaciones distribuidas en dos zonas de producción: dos instalaciones situadas en el Polígono Acuícola de San Pedro del Pinatar y dos granjas localizadas en el Polígono Acuícola de El Gorguel (Cartagena). La campañas 2008/2009 y 2009/2010 se ha criado atún en una sola granja de Cartagena.

El tamaño de muestra fue de 30 ejemplares en cada control y para cada instalación, asumiendo una prevalencia del 10% con un intervalo de confianza del 95% (Ossiander y Wedermeyer, 1973).

Los ejemplares recolectados fueron transportados en condiciones de refrigeración hasta el Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar, donde personal del Servicio de Pesca y Acuicultura procedió a realizar la extracción de riñón cefálico y bazo. Las muestras, fueron enviadas en condiciones de frío y con las debidas medidas de bioseguridad al laboratorio virológico del Centro de Investigación de Sanidad Animal del INIA (Valdeolmos-Madrid).

En el laboratorio las muestras se homogenizaron de forma estéril en medio de cultivo suplementado con antibióticos y fungizona. Distintas diluciones de estos homogenizados se inocularon en células EPC de carpa. Tras 7-8 días de incubación

a 14 °C se visualizaron para detectar posibles efectos virales. En caso de encontrarse replicación viral, se procedería a identificar el virus.



Extracción de riñón craneal y bazo en caballa (carnada) para virología.

Resultados

Todas las muestras que se tomaron correspondieron a peces congelados, es decir, en ninguno de los muestreos se detectó el uso de carnada fresca procedente de los caladeros locales o cercanos. En la tabla I se refleja la distribución de los ejemplares obtenidos en las tomas de muestras realizadas de forma aleatoria. En la tabla II se refleja el origen de los ejemplares muestreados. Esta información se tomó de la información comercial que acompañaba a cada una de las partidas muestreadas.

Los resultados obtenidos en el laboratorio del CISA sobre las 410 muestras tras la realización de los homogenizados e inoculación en cultivo celular fue la ausencia de cualquier efecto citopático que indicase la presencia de algún virus potencialmente patógeno, por lo que no fue necesario realizar ningún tipo de aislamiento con fines de identificación virológica.

Tabla I. Peces muestreados cada año

| Especie | Nº peces 2006/2007 | Nº peces 2007/2008 | Nº peces 2008/2009 | Nº peces 2009/2010 | Total |
|---|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------|
| Estornino (<i>Scomber japonicus</i>) | 106 | 95 | -- | -- | 201 |
| Caballa | | | | | |

| | | | | | |
|---------------------------------------|-----|-----|----|----|-----|
| <i>(Scomber scombrus)</i> | 30 | 60 | 60 | -- | 150 |
| Sardina <i>(Cuplea pilchartus)</i> | 14 | -- | -- | -- | 14 |
| Alacha <i>(Sardinella aurita)</i> | 30 | 15 | -- | 60 | 105 |
| Total especie | 180 | 170 | 60 | 60 | 470 |

Tabla II. Origen de ejemplares muestreados

| Año | Especie | Total peces | Total lote | Origen |
|-----------|-----------|-------------|---------------------------|---------------------------|
| 2006/2007 | Estornino | 106 | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | | | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | | | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | | | 16 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | Caballa | 30 | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | Sardina | 14 | 14 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| Alacha | 30 | 30 | FAO zona 37. Mediterráneo | |
| 2007/2008 | Estornino | 95 | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | | | 30 | FAO zona 37. Mediterráneo |
| | | | 15 | FAO zona 37. Mediterráneo |
| | | | 20 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | Caballa | 60 | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | | | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| Alacha | 15 | 15 | FAO zona 37. Mediterráneo | |
| 2008/2009 | Caballa | 60 | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| | | | 30 | FAO zona 27. Atlántico NE |
| 2009/2010 | Alacha | 60 | 30 | FAO zona 37. Mediterráneo |
| | Alacha | | 30 | FAO zona 37. Mediterráneo |

Discusión

Las especies utilizadas e identificadas en los muestreos fueron: caballa (*Scomber scombrus*), estornino (*Scomber japonicus*), sardina (*Sardina pilchardus*) y alacha (*Sardinella aurita*), junto a calamares que no fueron muestreados al no ser objetivo del presente estudio. Esta dieta está en consonancia con la descrita por diversos autores en granjas de engorde de atún del arco mediterráneo (Lovatelli, 2003).

El origen de estos peces suele estar localizado en caladeros distintos al Mediterráneo como se observa en la tabla II. Si bien, al haber disminuido

considerablemente el número de instalaciones y por tanto el número de ejemplares que engordar, ha decrecido considerablemente la demanda de carnada por parte del sector, no siendo necesario la importación masiva de peces de zonas tan alejadas a nuestras costas como ocurría en años anteriores.

Es importante valorar el posible papel de esta carnada como vehículo para la introducción de enfermedades exóticas en las instalaciones de acuicultura y en la fauna ictícola local, ya que diversos estudios y autores consideran esta posibilidad en otras zonas del planeta (Ward *et al.*, 2001).

Los resultados que hemos obtenido indican ausencia de cualquier virus patógeno viable y por tanto la imposibilidad de transmisión, al menos en los lotes de los que proceden los ejemplares analizados. Respecto de la causa de la ausencia de virus viables no podemos distinguir si se debe a la inexistencia en origen de infecciones víricas en los peces o por el contrario, si los procesos de congelación industrial a los que se someten este tipo de producto eliminan los virus presentes en los peces.

Todos los peces de carnada chequeados en este trabajo estaban congelados, pero en determinadas circunstancias de mercado las empresas pueden utilizar para la alimentación de los atunes pescado fresco. En próximos estudios va a ser muy importante chequear también algunos lotes de peces frescos para ver si en esas condiciones de conservación se observa algún virus viable. Sin embargo, estas partidas de peces “en fresco” proceden del mismo caladero donde se sitúan las granjas de acuicultura, con lo cual no hay ningún riesgo de introducir virus exóticos en la fauna ictícola local.

Como conclusión, el riesgo de transmisión de enfermedades víricas a través de la carnada que se utiliza en la alimentación del atún rojo (*Thunnus thynnus*) en las granjas del litoral del sureste español resultó nulo en las partidas chequeadas, ya que no se obtuvo ningún virus viable que pudiese desarrollar enfermedades. Sobre la causa de la ausencia de virus viables, no podemos distinguir si se debe a una ausencia en origen de infecciones víricas en los peces o por el contrario, si los procesos de congelación industrial a los que se someten este tipo de producto eliminan los virus presentes en los peces.

La realización de controles rutinarios sobre el alimento de los atunes minimiza el riesgo real de introducción de enfermedades exóticas y debe ser considerado e integrado dentro de la programación de los controles que constituyan un Plan de Vigilancia Epidemiológica en aquellas zonas en las que se cultiva atún rojo.

Bibliografía

Lovatelli, A. 2003. Summary Report on the Status of BFT Aquaculture. In *Report of the 2nd Meeting of the ad hoc Working Group on Sustainable Tuna Farming/Fattening Practices in the Mediterranean*, Izmir, Turkey, 15-17 December 2003, pp. 73-89. GFCM and ICCAT.

Ossiander, F.J. y G. Wedermeyer. 1973. Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish populations. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 30: 1383-1384.

Ward, T.M., F. Hoedt, L. McLeay, W.F. Dimmlich, M. Kinloch, G. Jackson, R. McGarvey, P.J. Rogers y K. Jones. 2001. Effects of the 1995 and 1998 mass mortality events on the spawning biomass of sardine, *Sardinops sagax*, in South Australian waters. *ICES Journal of Marine Science* 58:865-875.

WWF. 2005. Risk on local fish populations and ecosystems posed by the use of imported feed fish by the tuna farming industry in the Mediterranean. *WWF Mediterranean Programme*, april 2005.

2.4.8. ENFERMEDADES PARASITARIAS

La patología de origen parasitaria tiene un gran interés en piscicultura marina, tanto por el grado de incidencia como por las consecuencias económicas sobre las empresas. Algunas de las enfermedades que más preocupan al sector, tanto por su incidencia actual como futura, tienen este origen en este tipo de enfermedades.

Dentro de los objetivos planteados en el proyecto, se propuso que parte de los ejemplares estudiados para el diagnóstico virológico serían sometidos además a un estudio parasitológico, con el fin de recabar la máxima información y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

Los estudios parasitológicos han sido realizados principalmente por el grupo de investigación de Murcia con el apoyo del Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Murcia. Los resultados de los demás grupos de investigación se expondrán al final del apartado.

2.4.8.1. Estudios parásitos en Murcia

Los parásitos estudiados han sido los siguientes:

Anisakis
Ceratomyxa
Enteromixus
Anguillícola
Cardicola

A continuación se describen brevemente los estudios realizados, así como los resultados obtenidos para cada uno de los parásitos:

Anisakis

Los resultados obtenidos en este apartado consideramos que son de gran importancia para el sector, el cual reclama a la administración sanitaria que rebaje los requisitos en referencia a anisakis a los ejemplares de peces procedentes de la acuicultura, pues argumentan la ausencia de este parásito en este tipo de peces. Sin embargo son mínimos los trabajos de investigación que han abordado este tema, especialmente en las especies cultivadas en mediterráneo.

Como resultado del trabajo realizado se ha publicado el siguiente artículo:

Absence of Anisakis Larvae in Farmed European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) in Southeast Spain.
Journal of Food Protection. Vol 73 N° 7. 2010. Pages 1334- 1334

El Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, a demanda del sector, ha iniciado trámites para intentar eliminar ciertos requisitos sanitarios sobre anisakis en las especies de acuicultura mediterránea, en línea a los movimientos que se realizan en países del Norte de Europa en referencia a los salmónidos. Entre los argumentos científicos utilizados, se ha presentado el artículo anteriormente mencionado, el cual fue remitido en agosto de 2010 al presidente del Grupo de Expertos de Higiene de los Alimentos para su posterior remisión a la EFSA (European Food Safety Authority).

A continuación se describen los datos más relevantes del estudio realizado, si bien no se corresponde con el artículo anterior, el cual se puede consultar en el apartado de difusión de la presente memoria:

La presencia de larvas de anisakis en el pescado de consumo humano supone un riesgo para la salud pública. Con el fin de disminuir la incidencia de esta zoonosis, las autoridades sanitarias a nivel europeo promulgaron diversa normativa la cual ha tenido su reflejo a nivel nacional en el Real Decreto 1420/2006. La aplicación de esta normativa ha provocado reacciones contrarias en diversos sectores y ha suscitado una polémica sobre la ausencia o no de este parásito en los ejemplares procedentes de la acuicultura. No hay estudios sobre la presencia de anisakis en ejemplares procedentes de acuicultura marina mediterránea, justificándose por el sector su ausencia en estudios realizados básicamente en el Norte de Europa (Lunestad, 2003). Resulta de gran interés verificar la ausencia de larvas de este parásito en los productos de la acuicultura, lo cual puede aportar un valor añadido a estas producciones.

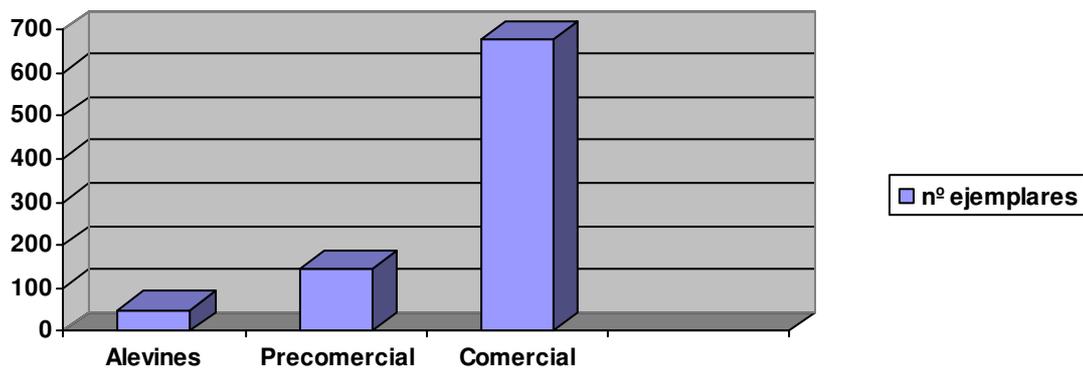
Material y Métodos

Estudio sobre peces engordados en instalaciones acuícolas en mar abierto de la Región de Murcia entre los años 2.006 y 2.009. Los ejemplares eran de talla comercial o próxima a ella. La distribución temporal y por especies se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución temporal y por especies de peces analizados

| Año | Dorada | Lubina | Total Año |
|---------------|--------|--------|-----------|
| 2006 | 66 | 34 | 100 |
| 2007 | 152 | 57 | 209 |
| 2008 | 251 | 105 | 356 |
| 2009 | 143 | 43 | 186 |
| Total Especie | 612 | 239 | |
| Total Estudio | | | 851 |

Distribución de los ejemplares por tamaños:



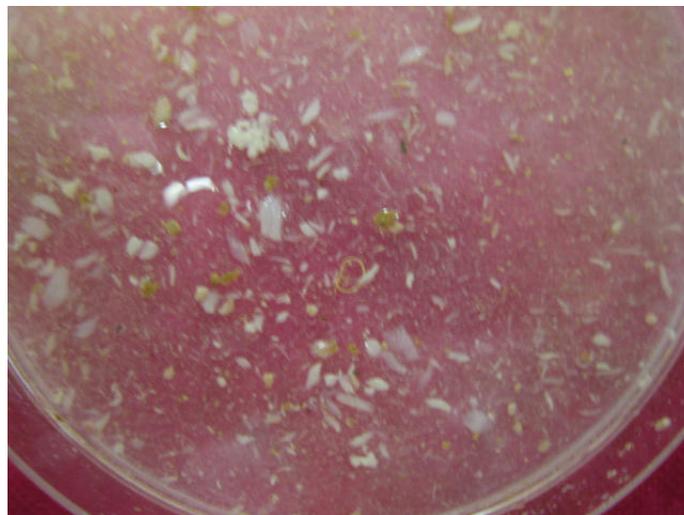
Distribución temporal de los muestreos:

| Año | Especie | 1 Trimestre | 2 Trimestre | 3 Trimestre | 4 Trimestre |
|------|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 2006 | Dorada | -- | -- | -- | 66 |
| | Lubina | -- | -- | 10 | 24 |
| 2007 | Dorada | -- | 20 | 132 | -- |
| | Lubina | -- | -- | 6 | 51 |
| 2008 | Dorada | 70 | 30 | 83 | 68 |
| | Lubina | 30 | 30 | 45 | -- |
| 2009 | Dorada | -- | 143 | -- | -- |
| | Lubina | -- | 43 | 20 | -- |
| | Total | 100 | 266 | 296 | 209 |

Todos los ejemplares fueron necropsiados por personal del Servicio de Pesca y Acuicultura en las instalaciones del Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar anotándose las características morfométricas habituales. Posteriormente fueron sometidos a un examen visual completo, tanto de la cavidad abdominal como de los órganos del aparato digestivo, para detectar la presencia de larvas libres de anisakis y posteriormente fueron sometidos a una digestión artificial de músculo para detectar la presencia de larvas en dicho tejido siguiendo la sistemática descrita por Osanz (2001):

El cuerpo del pez era desprovisto de cabeza, cola y columna vertebral con el fin de introducir la musculatura del pez en una solución de digestión. Solución de digestión compuesta por: 25 ml de ácido clorhídrico al 37%, 10 g de pepsina 1:3000 y agua destilada hasta completar el litro.

En vaso de precipitados se añadía la muestra y la solución de digestión en una proporción 1:2. Se incubaba en estufa durante 24 horas a 37^aC. Finalizada la digestión, el contenido era agitado y examinado sobre placa de Petri bajo lupa. Como control de la técnica de digestión artificial, se realizaron pruebas con larvas de anisakis obtenidas en peces procedentes de pesca extractiva para corroborar la resistencia de los nematodos a la solución ácida utilizada.



Larva de anisakis tras la digestión artificial utilizada como control positivo

Resultados y Discusión

No se encontró ninguna larva de anisakis en los ejemplares examinados, ni mediante la inspección visual ni en la prueba de la digestión de tejido muscular. Nuestros resultados coinciden con los de Lunestad (2003) en salmones, quien

muestreó 1180 peces, realizando también inspección visual y digestión artificial de músculo. Excepcionalmente, Marty (2008) encontró una larva de anisakis en intestino de salmón cultivado en Canadá.

Existen muchos estudios sobre prevalencia de larvas de anisakis en peces procedentes de pesca extractiva. En estos estudios se analizan multitud de especies, estableciéndose en algunos trabajos recopilatorios las especies más frecuentemente infestadas (Ferre, 2001), no apareciendo la dorada ni la lubina entre ellos.

La ausencia de anisakis en pescados de acuicultura de nuestro litoral puede deberse a diversos factores: El más importante parece ser la alimentación. Lo cierto es que la alimentación artificial mediante pienso limita enormemente que los peces criados en jaulas en mar abierto entren en contacto con la fuente de infestación que serían pequeños crustáceos o incluso peces de menor tamaño como ocurre en los peces silvestres. La alimentación artificial de este tipo de peces impediría el acceso a las larvas del parásito ya que los procesos tecnológicos industriales impiden la viabilidad de las posibles larvas presentes en la materia prima con la que se fabrica el pienso. La alimentación *ad limitum* implica un saciamiento de los animales a lo cual contribuye la gran adaptación de ambas especies a la alimentación artificial

Las especies cultivadas tradicionalmente en nuestras costas son la dorada y la lubina, las cuales no se citan como especies normalmente infectadas (Ferre, 2001). Aunque se trata de una parasitosis cosmopolita, tal y como cita el anterior autor, la temperatura del agua parece ser de gran importancia, siendo más frecuente en aguas frías y polares, lo cual implica que las aguas del Mediterráneo, bastante cálidas, sean menos favorables para el ciclo de vida de estos nematodos. Los datos de distintos estudios, como el de Fernández-Buendía (2005), corroboran que el grado de infestación en los peces del Atlántico es mucho mayor que el de los peces procedentes del Mediterráneo. La prevalencia más baja en el Mediterráneo también puede estar influida por un menor número de hospedadores definitivos.

Bibliografía

- Fernández-Buendía, F.; M. J. Pérez; C. Hernández; A. Fernández. (2005). Resultados de las inspecciones llevadas a cabo en el programa de control de parásitos en el pescado en el municipio de Murcia en el año 2003 y 2004. *Actas del I Congreso de Seguridad Alimentaria*.
- Ferre, I. 2001. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. *Revista Aquatic* nº14.
- Lunestad, B.T. 2003. Absence of nematodos in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J. Food Prot.* 66(1): 122-124.
- Marty, G.D. 2008. Anisakid larva in th eviscera of a farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 279: 209-210.

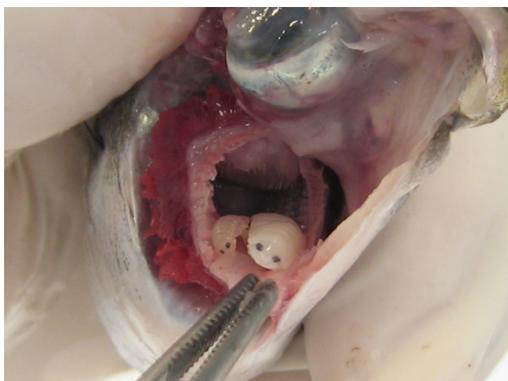
Osanz, A.C. 2001. Presencia de larvas de anisakis (Nematodo: ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.

Ceratothoa

La cría intensiva de peces conlleva sistemas de cultivo con elevadas concentraciones de ejemplares, lo cual facilita la aparición y difusión de enfermedades. La presencia de crustáceos parásitos en los peces silvestres es un hallazgo relativamente frecuente. Dentro de este tipo de parásitos, *Ceratothoa oestroides* (Riso, 1826) es un isópodo que se desarrolla en el interior de la cavidad bucal, lo cual provoca trastornos mecánicos e irritativos en el hospedador, pero además puede producir anemia, inmunosupresión y en determinados casos la muerte del pez. Este parásito supone un potencial riesgo para la acuicultura mediterránea, pudiendo producir graves perjuicios económicos en las instalaciones afectadas. Esta patología no ha sido descrita en instalaciones de acuicultura de nuestro litoral, pero sí lo ha sido con consecuencias graves en cultivos de dorada y lubina en Grecia, Turquía y en el Mar Adriático.

Especies *Ceratothoa* del Atlántico Noreste y Mediterráneo (Horton, 2000): *C. steindachneri*, *C. capri*, *C. collares*, *C. italica*, *C. oestroides*, *C. oxyrrhynchaena*, *C. parallela*.

Adultos en cavidad bucal, donde aparecen normalmente macho y hembra. La hembra grávida tiene 400-450 larvas y está permanentemente en fase reproductiva. Poca información sobre influencia factores sobre fecundidad, si bien la temperatura elevada favorece fecundidad. Julio parece ser mes óptimo de reproducción. *Ceratothoa* sp son hermafroditas proteránticos.



C. oestroides en cavidad bucal de boga



Hembra (izquierda) y macho (derecha)

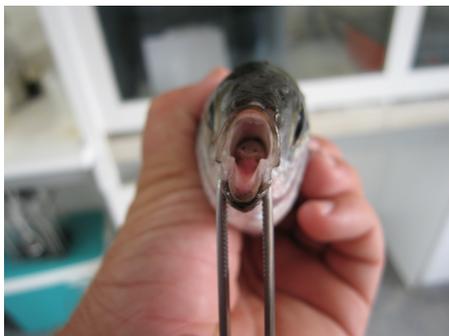
C. oestroides tiene una amplia variedad de hospedadores, entre los que destaca la boga (*B. boops*), diversas especies de Centracanthidae y otros Sparidae, en menor medida sardina (*C. pilchardus*), jurel (*Trachurus sp.*), salmonete (*Mullus sp.*) y brótola (*Phycis sp.*) (Kirkim *et al.* 2008). Dorada (*S. aurata*) y lubina (*D. labrax*) no parecen ser hospedadores naturales. Las instalaciones de acuicultura marinas ejercen un efecto de atracción de abundantes peces silvestres. Esta atracción se debe al efecto combinado de la presencia de alimento artificial, atracción química procedente de los peces estabulados y al efecto que ejercen las jaulas como FADs (*Fish Attraction Devices*). Estudios sobre granjas del sureste peninsular (Dempster *et al.*, 2002) sitúan como las especies más frecuentes: boga, alacha (*S. aurata*), jurel, mújol (Mugilidae), palometa (*T. ovatus*) y oblada (*O. melanura*). Resulta por ello de gran interés comprobar el nivel de prevalencia de este parásito en estas especies merodeadoras.

Material y Métodos

Se procedió a la recolección de ejemplares de boga, alacha y jurel tanto del exterior de las jaulas de acuicultura como del interior de las mismas, ya que es muy frecuente que las especies merodeadoras, en distintas fases de la cría, pero especialmente en las operaciones de cambio de red, queden atrapados en el interior. También se chequearon ejemplares de dorada y lubina procedentes de las mismas instalaciones, situadas en el Polígono Acuícola de San Pedro de Pinatar en la zona norte del litoral de Murcia. Los peces fueron sometidos a un meticuloso examen de la cavidad bucal para la búsqueda de las formas adultas del parásito. El muestreo se realizó entre mayo y agosto de 2007 y el número de ejemplares por especie se refleja en la tabla 1.

Tabla 1. Número de ejemplares chequeados por especie y origen

| | Exterior Jaulas | Interior Jaulas | Total |
|--------|-----------------|-----------------|-------|
| Boga | 71 | 142 | 213 |
| Jurel | 33 | 5 | 38 |
| Alacha | 29 | 17 | 46 |
| Dorada | -- | 152 | 152 |
| Lubina | -- | 57 | 57 |



Resultados y Discusión

De las tres especies silvestres analizadas, sólo se encontró el parásito (parejas de macho y hembra) en boga. En el caso de las bogas obtenidas en el exterior de las jaulas, la prevalencia fue de un 9,8% (7 de 71) frente a una prevalencia del 3,5% en los ejemplares procedentes del interior de las jaulas (5 de 142). Matasin y Vucinic (2008) encuentran en el Adriático una prevalencia en boga no asociada a jaulas del 12,8 %, lo cual está en concordancia con nuestros resultados. En la bibliografía consultada se considera a esta especie como la que presenta una prevalencia netamente superior que el resto de especies. Para el total de los ejemplares de esta especie, la prevalencia fue de un 5,6 %. Los ejemplares de jurel y alacha no estaban infestados, hecho sí descrito por otros autores tanto en jurel como en sardina (Kirkim et al. 2008).



Los ejemplares de acuicultura, tanto dorada como lubina, no presentaban en ningún caso el parásito. Hasta la fecha no ha sido descrita esta patología en nuestras costas, pero sí han acaecido episodios graves en piscifactorías marinas de Grecia (Sarusic, 1999), Turquía (Horton y Akamura, 2001) y en el Adriático (Mladineo, 2003). Las instalaciones de acuicultura de nuestro litoral están normalmente situadas lejos de paredes y fondos rocosos, sobre una columna de agua elevada y con gran renovación de agua, todo lo cual dificulta la infestación de los ejemplares de acuicultura, que pasan toda su fase de engorde en esas condiciones. Además los adultos de *C. oestroides* no pueden migrar de un hospedador a otro. En cualquier caso, es necesario realizar un seguimiento sobre la epidemiología de este parásito.

Bibliografía

Dempster, T., P. Sánchez, J.T. Bayle, F. Giménez, C. Valle. 2002. Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-wester Mediterranean Sea: spatial and short-term temporal variability. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 242: 237-252.
Horton, T., B. Akamura. 2001. Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a turkish sea bass (*D. labrax*) and sea bream (*S. aurata*) farm. *Dis. Aquat. Org.* 46: 181-188.

- Kirkim, F., A. Kocatas, T. Katagan, M. Sezgin. 2008. A report on parasitic isopods (Crustacea) from marine fishes and decapods in Aegean Sea (Turkey). *Acta Paras. Turcica* (www.tparazitolderg.org).
- Mladineo, I. 2003. Prevalence of *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826), a cymothoid isopode parasite, in cultured sea bass (*D. labrax*) on two farms in Middle Adriatic Sea. *Acta Adriat.* 43(1): 97-102.
- Matasin, Z., S. Vucinic. 2008. *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826) bogue (*Boops boops*) and picarel (*Spicara smaris*) from the Velebit channel in the Northern Adriatic. *Veterinarski Arhiv* 78 (4): 363-367.
- Sarusic, G. 1999. Preliminary report of infestacion by isopod *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826) in marine cultured fish. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathologists* 19: 110-112.

Anguillicola

La infección por el nematodo *Anguillicola crassus* es considerada uno de los factores que han contribuido al descenso de las poblaciones naturales de anguilas europeas. Varios estudios han demostrado que *A. crassus* está bastante extendido en España (Korta y Díaz, 2008). No obstante, existen todavía algunos ríos españoles que no han sido colonizados por este nematodo y otros ecosistemas, tales como el Mar Menor, en los que se desconoce su prevalencia. Los ecosistemas marinos fueron inicialmente considerados una barrera natural para la diseminación de *A. crassus* (Van Banning y Haenen, 1990), pero estudios posteriores demostraron la existencia de anguilas infectadas por este nematodo en mar abierto y en aguas costeras salobres (Koeie 1991, Höglund *et al.* 1992).



Inmaduro o anguila verde (arriba) y adulto o anguila plateada (abajo)

Material y Métodos

Las formas parasitarias adultas halladas en el lumen de la vejiga natatoria se conservaron en etanol al 70% hasta su identificación. Las vejigas natatorias se digirieron (45 min, 38 °C), en una solución de pepsina al 1,5% (actividad proteolítica 1:10.000) y ácido clorhídrico al 1,5% en agua destilada. El material digerido se lavó mediante centrifugación (500g, 5 min) y se contaron las distintas fases parasitarias

en una cámara de Favatti. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el test estadístico de Mann-Whitney.

Resultados y Discusión



Nematodo *Anguillicola crassus* junto a la vejiga natatoria de anguila de donde se extrajo



Muestreo de distintos tejidos de anguila para la realización de estudios parasitológicos e inmunológicos

Este es el primer estudio que demuestra que *A. crassus* puede completar su ciclo biológico en ecosistemas con salinidades por encima de 35 g/l. Kirk *et al.* (2002) demostraron que un 15-21% de los ejemplares de *A. crassus* adultos utilizados en una infección experimental con anguilas marinas no fueron capaces de soportar el

estrés osmótico. No obstante, de acuerdo con Kirk (2003), las únicas limitaciones para la diseminación de *A. crassus* son temperaturas menores a 4 °C y la falta de un hospedador intermediario adecuado. En aguas continentales se han descrito varios hospedadores intermediarios. *Eurytymora affinis*, el copépodo considerado hospedador intermediario de *A. crassus* en aguas marinas, no ha sido descrito entre el zooplancton del Mar Menor (Gilbert, 2001). Por tanto, la elevada salinidad de las aguas del Mar Menor, además de la falta de un hospedador intermediario adecuado, podrían explicar la baja prevalencia de *A. crassus* en las anguilas procedentes de esta laguna salada.

Tabla 1. *Anguillicola crassus*. Prevalencia, intensidad de parasitación y abundancia en anguilas europeas procedentes del Mar Menor

| | | Mar Menor (N =109) |
|----------------------------|----------------------------|---------------------|
| Adultos | Prevalencia total (%) | 3,67 |
| | Prevalencia de hembras (%) | 41,66 |
| | Prevalencia de machos (%) | 16,66 |
| | Sexo sin determinar (%) | 41,66 |
| | Intensidad | 3 (1-9) |
| | Abundancia (DS) | 0,11 (5,3) |
| Larvas L2 ^a | Prevalencia (%) | 4,59 |
| | Intensidad | 8.666 (1- 42.960) |
| | Abundancia (DS) | 397,52 (22.232,92) |
| Larvas L3 | Prevalencia (%) | 0,92 |
| | Intensidad | 1 (1) |
| | Abundancia (DS) | 0,01 (0) |
| Larvas L4 | Prevalencia (%) | 0 |
| | Intensidad | 0 |
| | Abundancia (DS) | 0 |
| L3+L4+Adultos ^b | Prevalencia (%) | 4,59 |
| | Intensidad | 2,6 (1-9) |
| | Abundancia (DS) | 0,12 (5,3) |
| Carga total parasitaria | Prevalencia (%) | 7,34 |
| | Intensidad | 5.417,87 (1-42.969) |
| | Abundancia (DS) | 397,64 (19.007) |

^a Huevos conteniendo larva L2 o larva L2 eclosionada, ^b para facilitar la comparación con la bibliografía se ha calculado la carga total parasitaria sin incluir los estadios de larva L2. DS = Desviación estándar.

Bibliografía

- Gilabert, J. 2001. Seasonal plankton dynamics in a Mediterranean hypersaline coastal lagoon: the Mar Menor. *Journal of Plankton Research* 23 (2): 207-218.
- Höglund J., J. Andersson, H. Wickstrom y M. Reizenstein. 1992. The distribution of *Anguillicola* in Sweden and its association with thermal discharge areas. *Irish Fish Investigation Service*. 36: 143-150.
- Kirk R.S. 2003. The impact of *Anguillicola crassus* on European eels. *Fisheries Management and Ecology* 10: 385-394.
- Kirk R.S., D. Morritt, J.W. Lewis y C.R. Kennedy. 2002. The osmotic relationship of the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* with seawater eels. *Parasitology* 124: 339-347.
- Koie M. 1991. Swimbladder nematodes (*Anguillicola* spp.) and gill monogeneans (*Pseudodactylogyryus* spp.) parasitic on the European eel (*Anguilla anguilla*). *Journal du Conseil Internationale Exploration de Mer* 47: 391-398.
- Korta M. y E. Díaz. 2008. Report on the eel stock and fishery in Spain: working document EIFAC/ICES Working Group on eels, Leuven (Belgium), 2-9 September 2008.
- Schabuss, M., C.R. Kennedy, R. Konecny, B. Grillitsch, W. Reckendorfer, F. Schiemer y A. Herzig. 2005. Dynamics and predicted decline of *Anguillicola crassus* infection in European eels, *Anguilla anguilla*, in Neusiedler See, Austria. *Journal of Helminthology* 79: 159-167.
- Van Banning P. y O.L.M. Haenen. 1990. Effects of the swimbladder nematode *Anguillicola crassus* in wild and farmed eel, *Anguilla anguilla*. In: Perkins FO, Cheng TC (eds) Pathology in marine science. Academic Press, New York.
- Vicente E. y Miracle M.R. 1992. The coastal lagoon Albufera de Valencia: An ecosystem under stress. *Limnetica* 8: 87-100.

Enteromyxum leei

El objetivo del proyecto era realizar un estudio epidemiológico de la prevalencia de *Enteromyxum leei* (Myxosporea: Bivalvulida), en la región de Murcia. Este parásito produce una enteritis severa responsable de importantes mortalidades en la acuicultura marina. Aunque no se conoce el ciclo completo de este mixosporidio, ni se ha demostrado la participación de un hospedador intermediario, se ha comprobado que se puede transmitir directamente entre los peces. Este hecho, junto el amplio de rango de hospedadores, es sumamente importante desde el punto de vista epidemiológico, ya que contribuye a la rápida dispersión de esta enfermedad para la que no existe tratamiento

Material y métodos: Tal y como estaba programado, el estudio se ha realizado a tres niveles: peces de acuicultura, peces silvestres de especies de interés en acuicultura y peces de especies que no se cultivan pero potencialmente

transmisores del parásito. En total se han muestreado 493 peces (Tabla 1). Debido al tiempo transcurrido entre la muerte de los animales y la fijación de los tejidos, doce muestras presentaban un alto grado de autólisis que impedía un diagnóstico adecuado de la infección. Estas muestras no han sido contabilizadas en los cálculos de la prevalencia. A continuación se detalla las muestras tomadas de cada especie estudiada:

- Peces de acuicultura: se han muestreado en total 293 peces de acuicultura, 163 doradas y 135 lubinas.
- Ejemplares de especies cultivada procedentes del medio natural: 24 doradas y 29 lubinas.
- Ejemplares de especies no cultivadas: *Enteromyxum leei* ha sido hallado en gran número de especies silvestres, por lo que resulta de gran interés estudiar la posible transmisión entre especies silvestres y cultivadas. Para ello se han muestreado 122 peces no cultivados pero que estaban dentro de las jaulas de acuicultura; bogas (90), jureles (12) y alachas (20).
- También se ha realizado un control sanitario sobre los alevines que iban a ser introducidos en granjas de nuestra Región. Para ello se han muestreado, 20 alevines de dorada.

Tras la necropsia de los animales y el examen en fresco, se obtendrá fragmentos del intestino posterior que se fijarán en formol al 10%, se incluirán en resina acrílica Technovit 7100 (Kulzer, Heraeus, Alemania) mediante métodos estándar, se cortarán mediante microtomo a 1,5 µm de grosor y se teñirán mediante la técnica Giemsa.

Resultados y Discusión: en la tabla 2 aparece reflejada la prevalencia de *E. leei* detectada en las diferentes especies así como la prevalencia de otros parásitos detectados. La prevalencia de *E. leei* fue del 0.8% del total de peces procesados y del 2.2% de las doradas cultivadas. La intensidad de la infección fue muy alta en el caso de las muestras nº 184 y 149 y muy baja en el caso de las muestras nº 85 y 86. Se ha observado la presencia del coccidio *Eimeria sparis* en el 12.5% de las doradas silvestres, así como la del mixosporidio *Sphaerospora dicentrachi* en el 17.2 % de las lubinas silvestres y en el 1.48 % de las lubinas cultivadas. En el 1.84% de las doradas cultivadas se ha observado la presencia de grandes granulomas, fundamentalmente en la serosa del intestino y en la grasa adyacente aunque también en infiltrando las distintas capas del intestino. Podría tratarse de la respuesta del hospedador a infecciones bacterianas. No obstante con las muestras tomadas para este estudio no podemos confirmar este dato.

Inicialmente detectado en Chipre, *Enteromyxum leei*, se ha asociado posteriormente con morbilidades y mortalidades en Grecia, Francia, Turquía, Italia y España, no solo en doradas sino también en otros espáridos. El parásito muestra una afinidad muy estricta por el intestino del pez, donde tiene lugar su desarrollo hasta la formación de las esporas. En este proceso produce importantes lesiones, consistentes en una

enteritis severa con acumulación de líquido en el tracto digestivo y desprendimiento del epitelio. Los peces dejan de comer casi totalmente y no aprovechan el alimento que ingieren, lo que lleva a la extrema delgadez que se observa y que conduce finalmente a la muerte del pez.

En infecciones leves o moderadas, el parásito se localiza intercelularmente, sin producir daño celular aparente, causando únicamente la compresión mecánica de los enterocitos adyacentes. En infecciones avanzadas, las lesiones son mucho más evidentes, y la estructura de la mucosa intestinal parece claramente alterada, por lo que se llega a producir descamación del epitelio y hemorragias, con la consiguiente liberación de parásitos en el lumen intestinal. La enfermedad progresa con mayor rapidez en el sargo, que además muestra prevalencias e intensidades de infección mayores, y lesiones histopatológicas más marcadas, que la dorada.

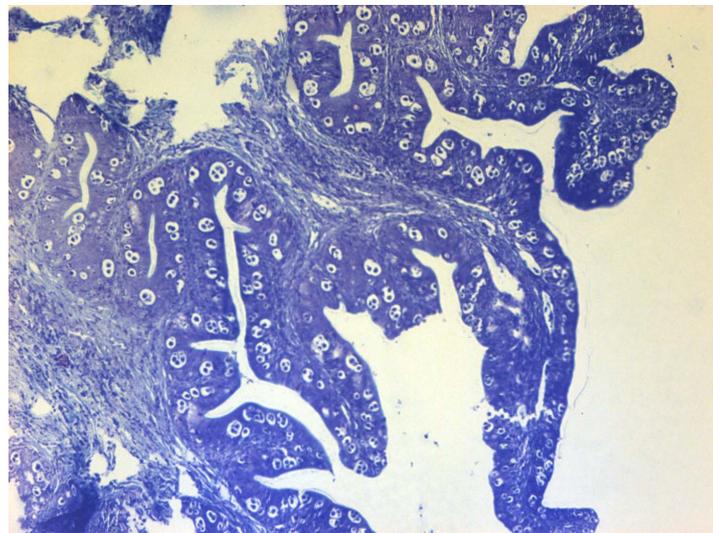
Sin embargo, en la dorada es donde se producen en la actualidad el mayor número de casos al estar extendido su cultivo. Se trata tal vez de la patología por parásitos más importante en las especies cultivadas en el litoral Murciano. La peligrosidad de este parásito radica básicamente en que se ha demostrado que tiene un ciclo directo de transmisión, lo que hace que pueda transmitirse de pez a pez muy fácilmente. No existen tratamientos efectivos contra este parásito.

Tabla 1: Número de animales muestreados de cada especie de pez. Entre paréntesis aparece reflejado el número de muestras que no presentaron autólisis.

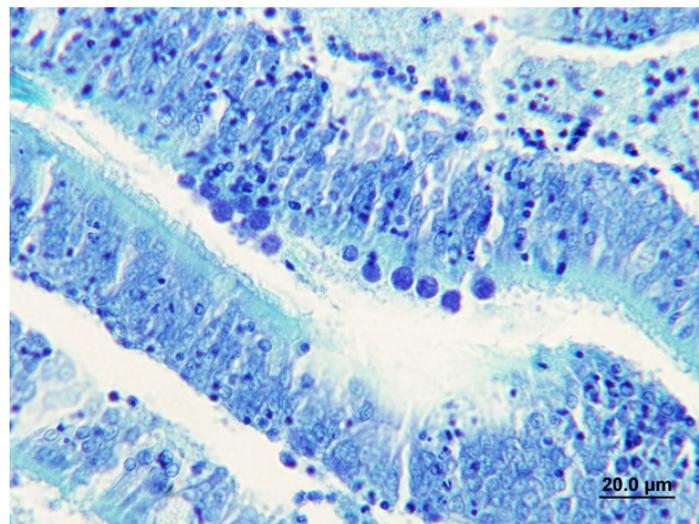
| ESPECIE | | | Nº |
|---------------|-----------|-----------------------------|------------------|
| Dorada | Cultivada | <i>Sparus aurata</i> | 183 (179) |
| | Silvestre | | 24 (16) |
| Lubina | Cultivada | <i>Dicentrarchus labrax</i> | 135 (135) |
| | Silvestre | | 29 (29) |
| Alacha | Silvestre | <i>Sardinella aurita</i> | 20 (20) |
| Jurel | Silvestre | <i>Trachurus spp.</i> | 12 (12) |
| Boga | Silvestre | <i>Boops boops</i> | 90 (90) |
| TOTAL | | | 493 (481) |

Tabla 2. Prevalencia en tanto por ciento de los parásitos detectados el intestino de los peces muestreados mediante técnicas histológicas. Entre paréntesis aparecen reflejados el número de animales positivos. - = negativos.

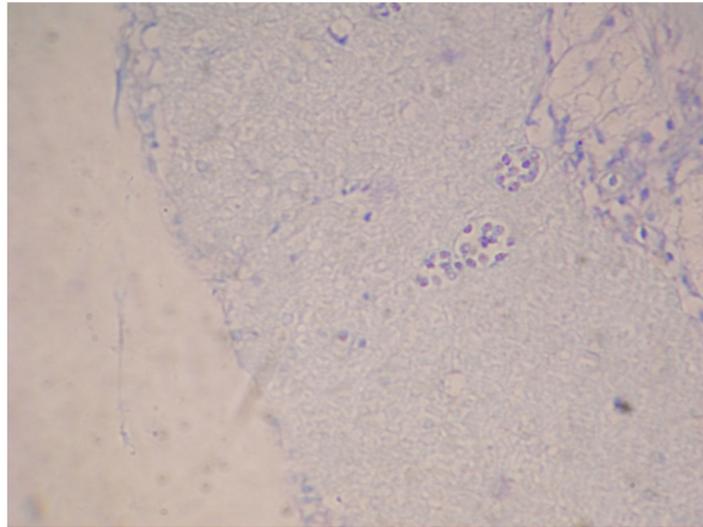
| | Dorada acuicultura | Dorada silvestre | Alevines dorada | Lubina acuicultura | Lubina silvestre | Boga | Jurel | Alacha |
|-------------------------|--------------------|------------------|-----------------|--------------------|------------------|------|-------|--------|
| <i>Enteromyxum leei</i> | 2.2 (4) | - | - | - | - | - | - | - |
| <i>S. dicentrarchi</i> | - | - | - | 1.48 (2) | 17.2 (5) | - | - | - |
| <i>Eimeria sparis</i> | - | 12.5 (2) | - | - | - | - | - | - |
| Granulomas | 1.84 (3) | - | - | - | - | - | - | - |



Enteromyxum leei en intestino de dorada



Eimeria sparis en intestino de dorada



Sphaerospora dicentrachi en intestino de lubina

Bibliografía

Athanassopoulou F y col. (1999) Diseases of *Puntazzo puntazzo* Cuvier in marine aquaculture systems in Greece. J Fish Dis 1999;22:215–218.

Diamant, A, 1992. A new pathogenic histozoic Myxidium (MYXOSPOREA) in cultured kilt-head sea bream *Sparus aurata*. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 12:64-66.

Favaloro E y col. (2002) Rearing of sharpsnout seabream (*Diplodus puntazzo*, Cetti 1777) in a Mediterranean fish farm: monoculture versus polyculture. Aquac Res 33:137–140.

Le Breton A y col. (1995) Occurrence of an histozoic *Myxidium* infection in two marine cultured species. *Puntazzo puntazzo* C. and *Pagrus major*. Bull Eur Assoc Fish Pathol 15:210-212

Muñoz P y col. (2007) Sharpsnout sea bream (*Puntazzo puntazzo*) humoral immune response against the parasite *Enteromyxum leei* (Myxozoa). Fish and Shellfish Immunology (DOI: 10.1016/j.fsi.2007.01.014) (2007)

Padrós F y col (2001). *Myxidium leei* (Myxozoa) infections in aquarium-reared Mediterranean fish species. Dis Aquat Org 47:57-62.

Sakini, N; Tarer, V; Jacquemin, D.; Marques, A. 1996. Présence en Méditerranée occidentale d'une Mixosporidie histozoïque pathogène dans les élevages du daurade, *Sparus aurata*. Ann. Sci. Nat. Zool. Paris 17:123-127.

Cardicola

Los patógenos que afectan a los atunes son relativamente desconocidos. Si bien la experiencia acumulada los últimos 15 años en el engorde de esta especie apunta a la no presencia de enfermedades graves en el ciclo de manejo de esta especie, es necesario la valoración de patógenos potenciales.

El objetivo en el desarrollo de esta especie es conseguir cerrar el ciclo de su cultivo, lo cual implicará una intensificación en su manejo y probablemente un incremento en la manifestación de patógenos cuyos efectos en condiciones normales no comprometen la salud de los ejemplares. En el presente trabajo se analiza uno de los principales parásitos descritos. El muestreo empezó a realizarse a finales de 2006, pero los análisis y pruebas diagnósticas se han realizado bajo el auspicio del presente trabajo, igual que en los años posteriores del estudio.

Prevalencia de *Cardicola forsteri* (Digenea: Sanguinicolidae) en atún rojo *Thunnus thynnus* (Scombridae), en jaulas de engorde en el Mediterráneo.

RESUMEN

La prevalencia del trematodo *Cardicola forsteri* en el atún rojo del Atlántico se ha investigado. El análisis parasitológico incluyó el examen visual del corazón para la presencia de incidencia de adultos y análisis macroscópico e histopatológico de las branquias para evaluar la presencia de lesiones causadas por los huevos de *C. forsteri*. No se hallaron parásitos adultos en el corazón. Algunas de las branquias expuestas presentaban pequeños focos amarillos. Huevos enquistados del parásito se encontraron en secciones de tejido branquial en el 28,7% de las muestras de atún. Una respuesta inflamatoria leve se observó alrededor de la mayoría de estos huevos, mientras que en algunos casos los huevos estaban encapsulados por una reacción granulomatosa. A pesar de la ausencia de lesiones graves en los atunes infectados, *C. forsteri* puede combinarse con otros agentes para causar grandes problemas y en el futuro, cuando el ciclo de cría de atún este cerrado, el impacto potencial de este parásito sanguinicola debe ser considerado.

Palabras clave: El atún rojo, *Cardicola*, duela, Sanguinicolidae.

INTRODUCCIÓN

El atún de aleta azul (atún rojo, *Thunnus thynnus*, L. 1758) es un pez explotado por la pesca comercial durante siglos en todo el área mediterránea. Debido a la creciente demanda de este pez único en el mercado de sashimi, sushi, una acuicultura basada en la captura de ejemplares del medio natural se ha desarrollado en el Mar Mediterráneo en la última década. Esta actividad consiste en la captura de individuos adultos, durante los meses de mayo de junio, que ingresan con fines de reproducción en el Mediterráneo. Después de la captura, los peces se introducen en jaulas flotantes donde permanece por un período de aproximadamente seis meses alimentados con pescado de alto contenido de grasa. Después de este período, los atunes son sacrificados en las jaulas flotantes, inmediatamente cargado en un buque-factoría y enviados a los mercados japoneses.

Entre los problemas patológicos reportados en el atún criado, el parásito sanguíneo *Cardicola forsteri* (*Digenea: Sanguinicolidae*), se han señalado como un riesgo grave para la salud de atún (Nowak et al. 2006). Inicialmente se identificó en la población australiana de atún del sur de cría (Cribb et al. 2000), este hallazgo se informó más tarde en atún rojo (Mladineo y Tudor 2005, Mladineo 2006 y Nowak et al. 2006). Sanguinicolos son parásitos de peces marinos y de agua dulce (Smith 1997). La mayoría de las especies se encuentran en el corazón, bulbo arterioso y la aorta ventral (Kirk y Lewis 1996). Una vez establecido, el parásito adulto pone huevos que viajan a las branquias donde se alojan. Aquí los huevos eclosionan y salen de la agalla como miracidios de vida libre. Estos miracidios infectar un huésped intermedio en el que penetran y donde se realiza la reproducción asexual. Bivalvos y poliquetos se han reportado como hospedadores intermediarios para algunas especies de sanguinicolos marinos. Cercarias salen de los hospedadores intermediarios y buscar activamente el huésped definitivo, un pez, para lo que penetran en la piel del huésped y trematodos juveniles intenten alcanzar el sistema circulatorio en los que se someten a una migración a un sitio definitivo donde maduran (Smith, 1997).

C. forsteri no ha estado directamente relacionada con episodios de mortalidad de atún cultivado, aunque sí en combinación con otros cambios drásticos como la floración de algas tóxicas (Munday y Hallegraeff, 1998) o cuando los ejemplares pequeños estaban muy infectados. Sin embargo, la infección está presente en el atún salvaje en bajo nivel, y se agrava durante el ciclo de cría en confinamiento (Colquitt et al., 2001). A medida que el impacto de sanguinicolos en jaulas de atún criado no debe dejarse de lado, el objetivo del presente trabajo fue estudiar la prevalencia de *forsteri* C en atún rojo criado en el oeste del Mediterráneo, en las costas murcianas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre noviembre de 2006 y diciembre de 2008, seis granjas de atún rojo ubicado en la Región de Murcia se muestrearon un total de 108 BFT (Tabla 1). Los animales muestreados fueron sacrificados bajo el agua y luego izados por la cola a la cubierta del barco. Agallas y corazón fueron recuperados a bordo inmediatamente después del sacrificio. Para histología, un total de cuatro piezas de 1 cm de largo de branquia se obtuvieron de cada atún e inmediatamente fijados en formalina neutra tamponada al 10%. El resto de branquia y el corazón se recogieron de forma individual en bolsas de plástico, que se transportan al laboratorio y almacenadas a -20°C hasta su procesamiento. Una vez descongelados, los corazones se disecaron y enjuagarse con agua para eliminar cualquier parásito adulto. El contenido se vertió en placas de Petri y fueron examinados para detectar la presencia de parásitos adultos usando un microscopio estereoscópico (SMZ 800).

Branquias individuales también fueron examinados bajo el microscopio estereoscópico. Debido a la naturaleza ósea de las branquias de atún, es necesario descalcificar las muestras en una mezcla de 5% de EDTA y 3% de ácido clorhídrico de 24 horas, seguido de 60 minutos de lavado en agua dulce. Las muestras fueron luego incorporados en bloques de parafina, cortadas y teñidas con hematoxilina y eosina (H & E), según los procedimientos estándar. Las secciones se examinan bajo un microscopio (Nikon) y las lesiones fueron fotografiadas usando foto-archivo adjunto.

RESULTADOS

Todos los corazones eran macroscópicamente normales y no se observaron parásitos adultos de los corazones. El examen histopatológico informó la presencia de huevos en consonancia con los descritos para sanguícolas (Smith, 1997) en las branquias del 28,7% del atún muestreado (Fig. 1). El número de huevos observados en las secciones de los filamentos individuales varió entre 1 y 165. Los huevos encontrados en las branquias aparecen en diferentes grados de desarrollo miracidia. Los huevos más pequeños, de apariencia esférica varió de diámetro 14 a 26 micras. Huevos más grandes y alargados, que al parecer habían iniciado el desarrollo miracidia, subieron a 36,6 micras de largo. Una respuesta inflamatoria leve se observó en torno a algunos de los huevos, mientras que de vez en cuando, los huevos individuales fueron encapsulados por una reacción granulomatosa (Fig. 1), que consistía en células epiteloides y linfocitos rodeados por fibroblastos y fibrocitos en las lesiones más antiguas. Algunos de los huevos se observaron en las arterias aferentes filamentosos, pero la mayoría de ellos habían atravesado los capilares de las laminillas branquiales, por lo observado en las laminillas (Fig. 1), o en el lado

eferente. En 14,8% del atún muestreado, no se encontraron huevos de parásito en las branquias, pero una patología localizada idiopática de enmalle se detectó, que incluía la congestión, la fusión de laminillas secundarias, hipertrofia del epitelio estratificado interlamelar e infiltrados focales de los macrófagos y los linfocitos.

DISCUSIÓN

La prevalencia detectada en el presente estudio (28,7%) fue similar a la prevalencia reportada por Deveney et al. (2005) en el atún rojo del sur, quienes observaron un 31% de infección. Mladineo (2006) detectó la presencia de huevos de *C. forsteri*, pero no parásito adulto, en el 63,34% del atún rojo en muestras recolectadas en el Mar Adriático. Las diferencias entre estos estudios podría deberse al hecho de que algunas de las muestras de atún en este último estudio fueron las muestras de ejemplares encontrados muertos en una granja de atún Adriático asociados a patógenos que pueden tener predisposición a la infección por *C. forsteri*.

A pesar de que el atún muestra en el presente estudio muestra un elevado número de huevos y granulomas, sin un aislamiento del parásito adulto, este hallazgo sigue siendo sólo una hipótesis de infección por *Cardicola* spp. Sin embargo, la patología descrita, de etiología aún discutible, muestra un gran efecto sobre los animales y, sin duda, induce cierta presión sobre el consumo de oxígeno. Otros autores también han fracasado en encontrar la forma adulta de atún rojo en *C. forsteri* incluso a pesar de los huevos se registraron en las branquias (Mladineo y Tudor, 2004; Mladineo, 2006). Aiken et al. (2006) observaron que cuando la temperatura del agua disminuye, la intensidad y prevalencia de la infección por *C. forsteri* de atún rojo del sur se redujo después de un pico inicial. Descensos similares en intensidad y / o después de un pico de prevalencia se ha observado en otras especies de peces cultivados infectados por sanguinícolas. Ogawa y Fukudome (1994) investigaron en *Seriola dumerili* la mortalidad en masa en Japón, causada por cardícola spp. La infección tiene un ciclo anual, se inicia la invasión por cercarias en septiembre, los huevos se acumulan en las branquias y el corazón de noviembre, y la mortalidad, que se producen en los meses de invierno, de diciembre a marzo, disminuye con la temperatura del agua cada vez mayor. Excepto seis peces muestreados de octubre, todos los BFT utilizados en el presente estudio se tomaron muestras en los meses de invierno. El bajo número de trematodos adultos infectados por el atún, debido a las bajas temperaturas, y su ubicación hipotética en la aorta ventral o en los vasos cefálica o dorsal, no muestreadas en este estudio, podría explicar la falta de adultos *C. forsteri* observado.

Aunque la correlación entre la intensidad de la infección y el crecimiento medido como índice de condición no ha sido reportada (Aiken et al. 2006), un efecto negativo debe ser considerado como lesiones que ocurren comúnmente en las branquias y se supone que son causadas por la presentación y la eclosión de los

huevos de *C. forsteri* (Colquitt, 1999). Sin embargo, esta patología no consideramos que pueda ser significativo en los niveles de infección visto durante la temporada de muestreo reportados, ya que las lesiones no obstruían demasiadas branquias. Los atunes parecen ser capaces de compensar la presencia de lesiones debido a la gran superficie de las vías respiratorias (Colquitt, 1999).

A pesar de no existir patología en el atún, esto no significa que la infección no se podría combinar con otros factores para causar una enfermedad grave o muerte (Colquitt et al., 2001). En general se cree que esta enfermedad predispone a las infecciones secundarias. En primer lugar la infección puede comprometer los mecanismos inmunológicos. Kumon et al. 2002), por ejemplo, encontró que la sangre infestado de *Seriola quinqueradiata*, cuando fueron infestados por la bacteria patógena *Lactococcus garvieae*, tuvieron una mortalidad significativamente mayor que en los peces no infestadas con el gusano de sangre. Como la infección por *C. forsteri* puede combinar con otros agentes para causar esos efectos más investigaciones sobre la epidemiología de este parásito son necesarios.

En el futuro, el ciclo de cría de atunes probablemente se extenderá a varios años para producir la transformación del atún rojo "basada en la captura" del Atlántico (*Thunnus thynnus*) de la industria en el Mediterráneo en una verdadera acuicultura y autosostenido. Esto se indispensable para proteger a la población frágil de atún rojo y para asegurar su recuperación. Con un ciclo de reproducción de varios años, desde la etapa larval a través del desove, el efecto patológico de *C. forsteri*, en un período tan largo de cría, no debe ser descuidado.

BIBLIOGRAFÍA

- Aiken, H. M., C.J. Hayward and B.F. Nowak. (2006): *Aquaculture* 254, 40.45.
- Colquitt, S. (1999): Histopathological changes in, and immune responses of, southern bluefin tuna (*Thunnus maccoyii*) infected with *Cardicola* spp. (Digenea: Sanguinicolidae) Hons. Thesis. University of Tasmania, Launceston, Tasmania, Australia.
- Colquitt, S.E., B.L. Munday and M. Daintith (2001): *J. Fish Dis.* 24, 225.229
- Cribb, T..H., M. Daintith and B. Munday (2000): *Rec. Aust. Mus.* 124, 117.120.
- Deveney, M. R., T.J. Bayly, C.J. Johnston and B. F. Nowak (2005): *J. Fish Dis.* 28, 279.284.
- Kirk, R.S. and J.W. Lewis (1996): *Parasitology* 113, 279.285.
- Kumon, M., T. Iida, Y. Fukuda, M. Arimoto and K. Shimizu (2002): *Fish Pathol* 37, 201.203.

Mladineo, I. and M. Tudor (2004): Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 24 (3), 144.152.
[Mladineo, I.](#) (2006): Acta Adriat., 47, 23.28.

Munday, B. L. and G. M. Hallegraeff (1998): Fish Pathol. 33, 343.350.
[Nowak, B.](#) (2004): Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol., 24. 45.51.

Nowak, B, I. Mladineo, H. Aiken, N. Bott and C. Hayward (2006): Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 26, 38.42.

Ogawa, K. and M. Fukudome (1994): Fish Pathol. 29, 265.269.

Smith, J.W. (1997): Helminthol. Abst. Ser. A 66, 254.294.

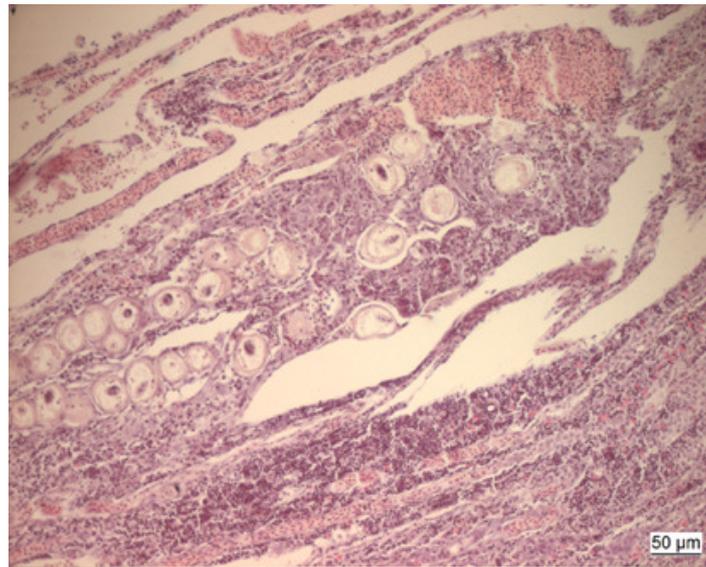
Tabla 1. Distribución del número de ejemplares de atunes muestreados en cada granja y periodo de tiempo

| | Número de BFT muestreados | Peso medio de los lotes (Kg) | Fecha de muestreo |
|----------|---------------------------|------------------------------|-------------------|
| Granja 1 | 20 | 31 | Noviembre 2006 |
| Granja 2 | 15 | 202 | Diciembre 2006 |
| | 15 | 25.5 | |
| Granja 3 | 6 | ND* | Octubre 2007 |
| Granja 4 | 6 | 200 | Noviembre 2007 |
| | 11 | 40 | |
| Granja 5 | 15 | 40 | Enero 2008 |
| Granja 6 | 20 | 40 | Diciembre 2008 |

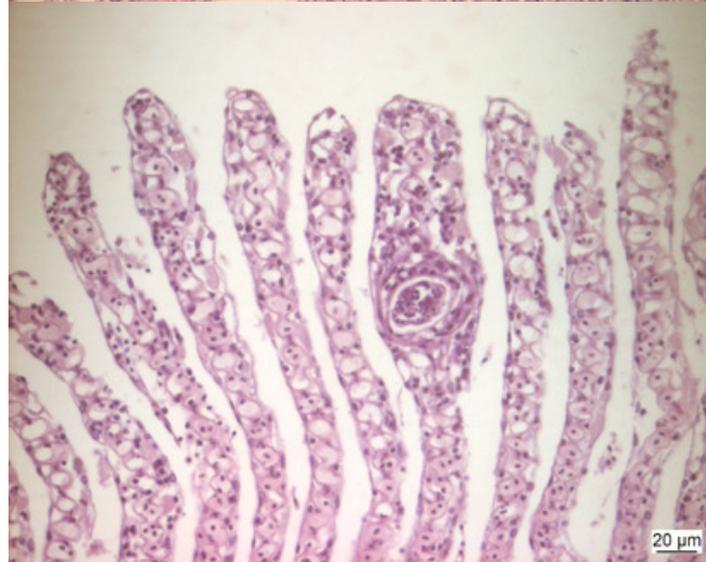
*ND: No determinado

Figura 1. Huevos de *Cardicola forsteri* en branquias de *Thunnus thynnus* (H&E). A. Diferentes grados de desarrollo de miracidias. B. Vasos aferentes en láminas secundarias con huevos. C. Una típica respuesta inflamatoria alrededor de huevo (punta de flecha), y un atípico granuloma focal (flecha) formado alrededor de huevo.

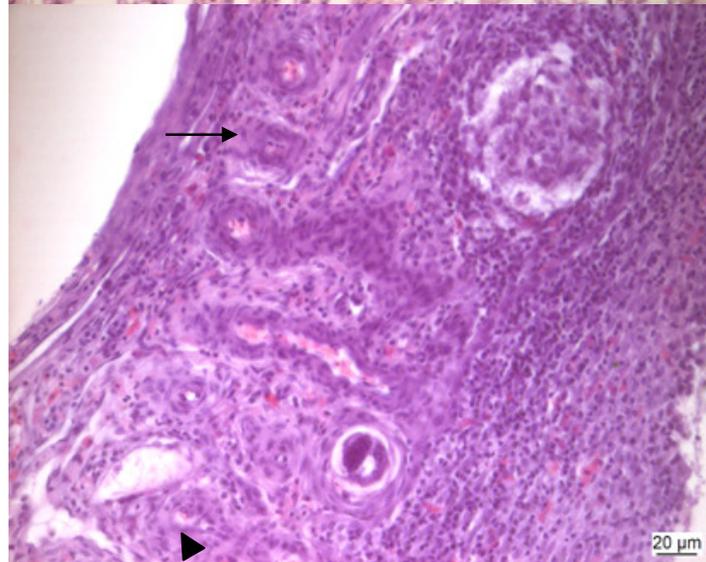
A



B



C



2.4.8.2. Estudios parásitos en Galicia

INFORME FINAL DEL GRUPO DE ICTIOPATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE VETERINARIA DE LUGO – UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

De conformidad a lo estipulado en el Convenio de Colaboración 2009/PG330, 2010/AX96, se recibieron un total de 200 muestras procedentes de diversos puntos del litoral gallego:

- Peces de pesca extractiva de bajura de las lonjas de Celeiro y Burela.
- Peces de pesca extractiva de bajura de la lonja de Vigo.
- Merodeadores del entorno de jaulas de cultivo de la Ría de Ortigueira.
- Merodeadores del entorno de jaulas de cultivo de la Ría de Muros.

Las muestras fueron recogidas por miembros del CPAM bajo asesoramiento del personal del Grupo de Ictiopatología de la FVL (GIFVL). Se registró el peso y la talla de cada uno de los individuos muestreados y a continuación se procedió a la realización de la necropsia completa, ordenada y sistemática. Los diferentes tejidos a analizar se fijaron durante un mínimo de 48 h en formol tamponado y a continuación se procedió al procesado histológico de rutina de las mismas.

Se realizaron cortes al micrótopo de 1-3 μm de espesor, que posteriormente fueron teñidos con hematoxilina & eosina (H&E), Giemsa y azul de toluidina, para su observación al microscopio óptico.

En cada uno de los individuos muestreados se procedió a realizar el examen histológico de los tejidos remitidos, así como un diagnóstico de las principales patologías detectadas en cada caso. En algunos casos, los datos procedentes del estudio histopatológico permitieron alcanzar un diagnóstico etiológico preciso de la patología existente. Sin embargo, en otras ocasiones fue preciso realizar técnicas histoquímicas complementarias (PAS, Ziehl-Neelsen, Gram, Tricrómico de Masson y/o Gallego,...) para la identificación del agente causal.

Los datos obtenidos de cada uno de los especímenes examinados se registraron en una base de datos creada exclusivamente para tal fin y que se adjunta en el Anexo I. Esta base de datos facilita enormemente el manejo y búsqueda de información y posibilitará en un futuro próximo la confección de mapas epidemiológicos con las principales patologías presentes en nuestro litoral.

Las muestras de tejido restantes después de haber realizado el examen histológico se almacenaron convenientemente en formol, de modo que puedan ser utilizadas para la realización posterior de técnicas más complejas, como inmunohistoquímica y análisis de biología molecular, así como para el cruzamiento de datos complementarios con otros grupos de ictiopatología.

El estudio histopatológico de los peces remitidos ha permitido hacer una valoración del estado sanitario general que presentan las especies de captura más frecuente en nuestras costas, identificando las patologías más comunes, aquellas que afectan a determinadas especies o aquellas que entrañan riesgo zoonótico. También se han analizado otros factores determinantes para evaluar las condiciones sanitarias del pescado, como son la cantidad y tamaño de los centros de melanomacrófagos y otros factores influyentes en la comercialización del pescado, como son la presencia de quistes y neoplasias.

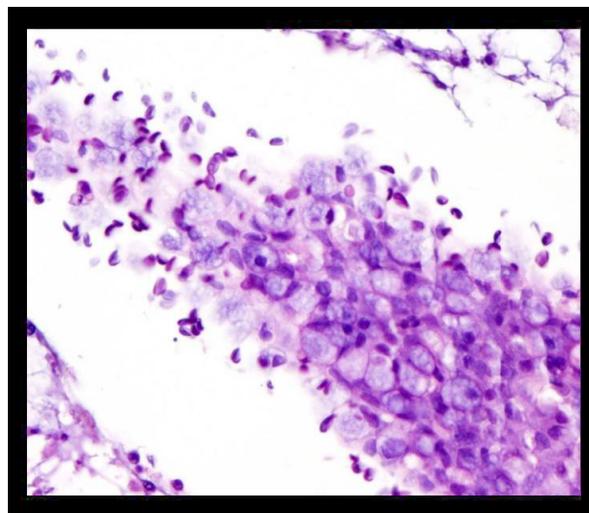
RESUMEN DE LOS PRINCIPALES HALLAZGOS HISTOPATOLÓGICOS

A continuación se describen de forma breve los principales hallazgos histopatológicos, así como las enfermedades diagnosticadas con mayor frecuencia.

Parásitos

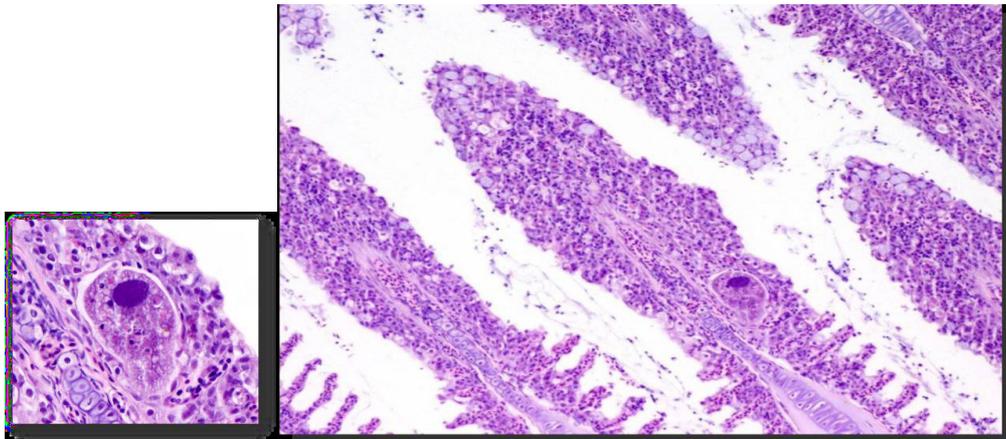
Ichthyobodiasis:

Producida por el protozoo parásito *Ichthyobodo necator* e *I. necatrix*. Provoca la enfermedad conocida comúnmente como costiasis. Afecta a las branquias y a la piel, causando un exceso de mucus, hiperplasia epitelial y edema. (Foto: varias formas de *Ichthyobodo* spp. en branquia).



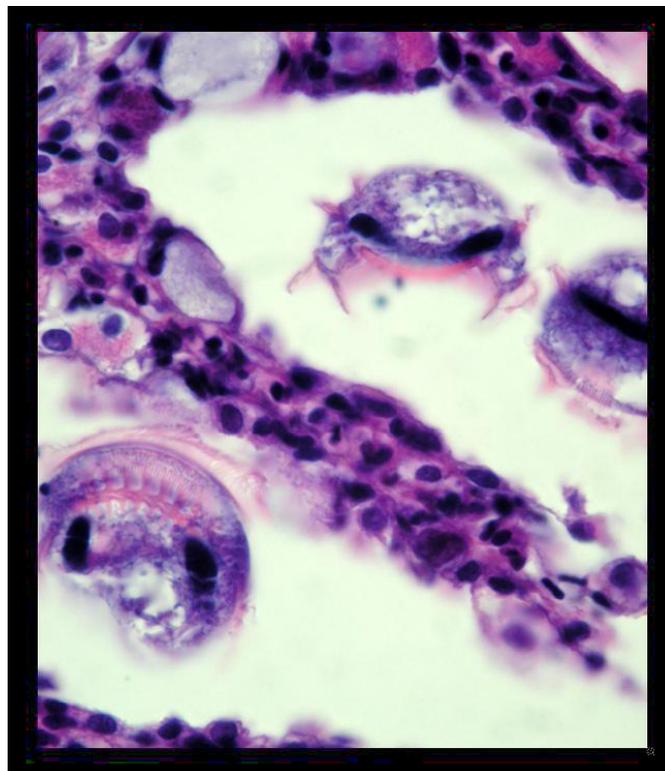
Cryptocariasis:

Causada por *Cryptocarion irritans*, es el homólogo de la “enfermedad del punto blanco” en peces de agua marina. Los peces afectados muestran manchas blancas, exceso de mucus, letargia, disnea. Puede provocar aumentos importantes de la mortalidad, combinada con infecciones secundarias (Foto: *Cryptocarion* en branquia)



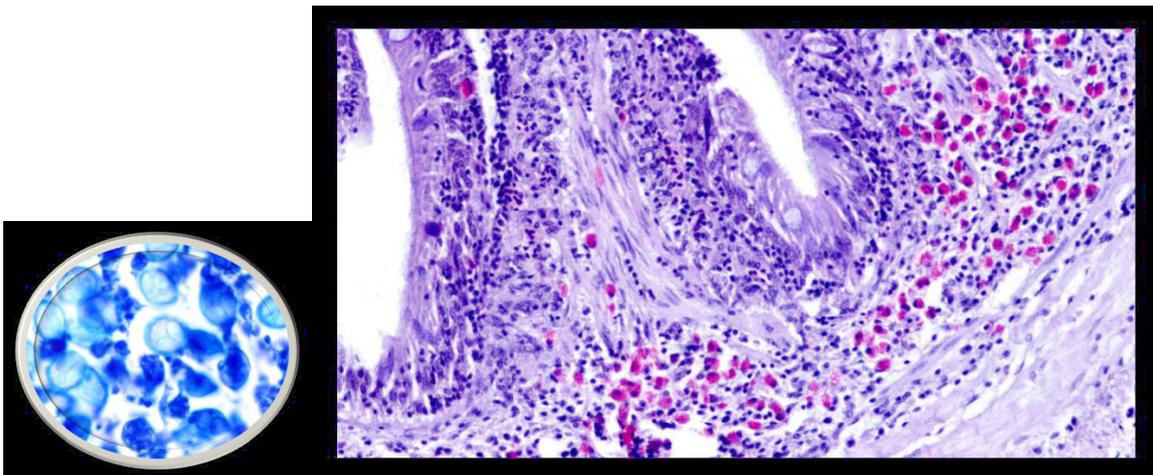
Ciliados peritricos:

Se detectaron varias formas parasitarias compatibles con *Trichodina* sp. y *Trichodinella* sp. Se trata de parásitos comunes de amplia distribución geográfica. Son comensales y únicamente son causantes de patologías en infestaciones masivas, cursando con hiperplasia de laminillas branquiales, fusión lamelar y disnea. (Foto: tres formas de ciliado peritrico localizadas entre las laminillas secundarias branquiales).

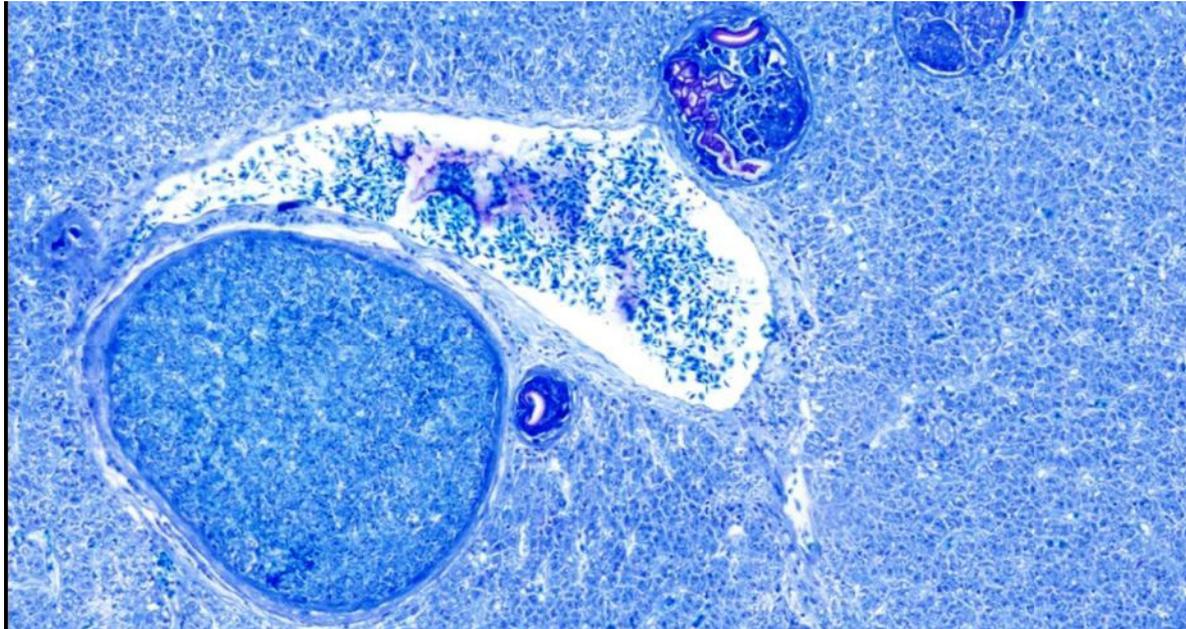


Mixosporidiosis:

Hemos detectado diferentes especies de parásitos mixosporidios (formas morfológicamente compatibles con *Myxidium* sp., *Mixobolus* sp., *Sphaerospora* sp.,...) en diferentes órganos y tejidos de los peces examinados, como branquias, hígado, bazo y lámina propia-submucosa intestinal. Los mixosporidios constituyen un grupo de parásitos metazoos que poseen una elevada importancia en la acuicultura, debido a la alta morbilidad y mortalidad que provocan muchas de las especies que conforman este género. (Foto: lámina propia submucosa de intestino, conteniendo un discreto infiltrado inflamatorio compuesto principalmente por linfocitos y células granulares eosinofílicas, causado por la presencia de pequeños quistes que contenían formas parasitarias compatibles con *Sphaerospora* sp.).

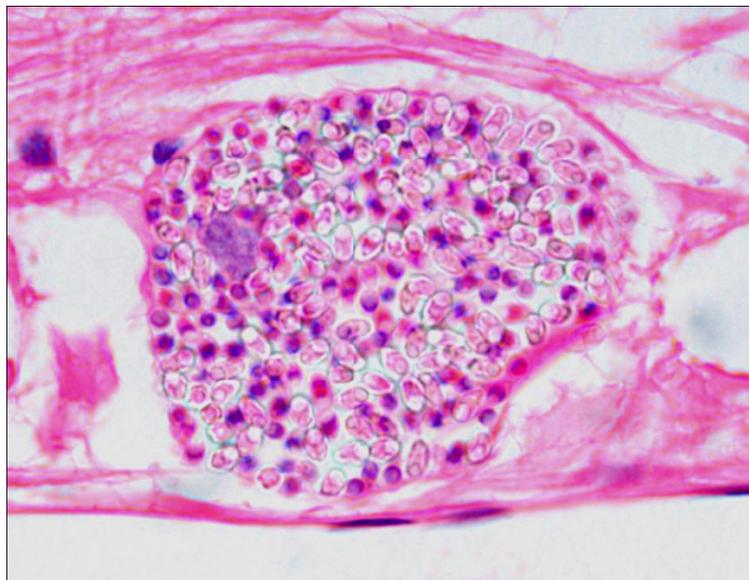


Sin embargo, hasta la fecha, no se han detectado formas parasitarias compatibles con el mixosporidio *Enteromyxum scophthalmi*, causante de la enteromixosis del rodaballo en granjas de cultivo, tanto en rodaballos salvajes como en posibles peces portadores. En algunos casos esto puede ser debido al estado de autólisis en el que se encontraba el tracto digestivo, lo que impedía una correcta evaluación histológica del mismo y la identificación de posibles estadios parasitarios. (Foto: bazo de un mugílido en el que se localizan varios granulomas con escasa reacción fibrosa circundante, uno de ellos conteniendo estadios parasitarios compatibles con *Myxobolus* sp.).

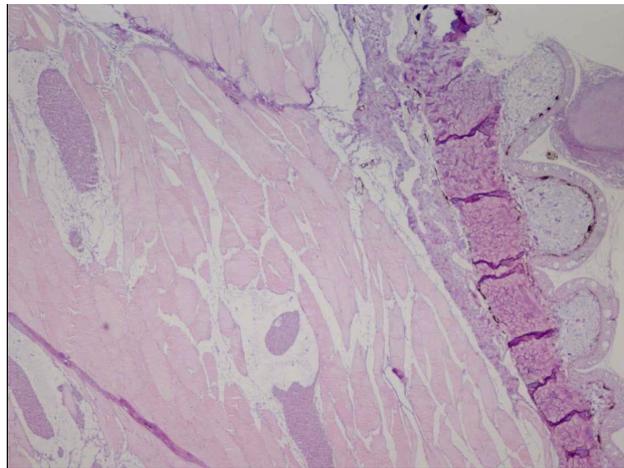


Microsporidios:

Los microsporidios conforman un grupo de parásitos protozoos intracelulares. Su crecimiento intracelular da lugar a la hiperplasia de la célula huésped y, en el caso de algunas especies, la formación de una masa de diversos tamaños, denominada xenoma. (Foto: xenoma de *Spraguea* en tejido nervioso)



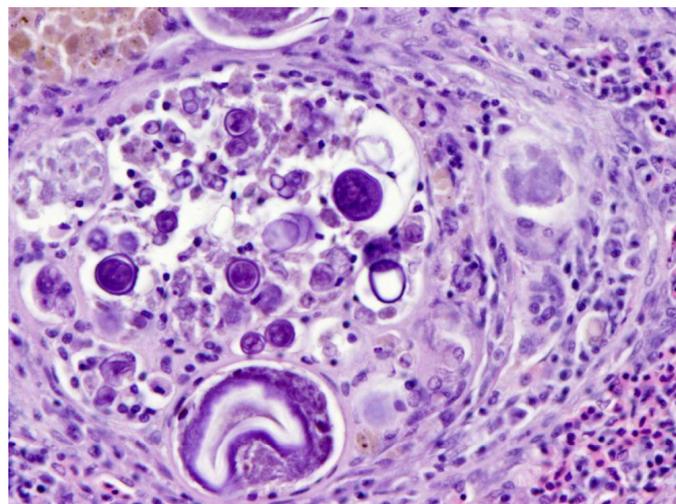
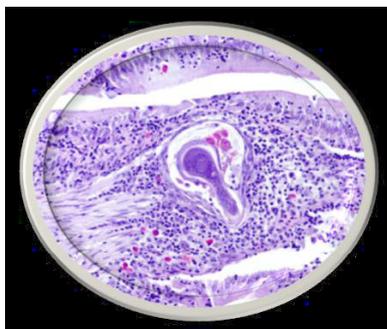
Las lesiones ocasionadas por estos parásitos son dependientes de la localización en el hospedador, y suelen provocar emaciación, letargia, lesiones musculares, pérdida del valor comercial del pescado... (Foto: piel y paquetes musculares, donde se localizan varios xenomas de un microsporidio).



Las especies más comunes son *Glugea* sp., *Loma* sp., *Tetramicra* sp., *Spraguea* sp.,...

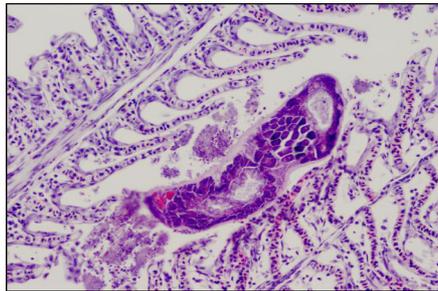
Mesomycetozoa:

Es un grupo inusual de protistas que se sitúan entre los hongos y los animales. En los tejidos del pez hospedador se suelen localizar esporas latentes que germinan rápidamente una vez que el pez muere. Su patogenicidad depende de su localización, ya que pueden ubicarse en prácticamente cualquier tejido del hospedador. En los peces muestreados se encontró con suma frecuencia diferentes estadios de *Ichthyophonus hofferi* en diversas localizaciones. Provocan hiperplasia lamelar en branquias y granulomas de diversa entidad en diferentes localizaciones tisulares. (Foto: varios estadios esporozoarios de un mesomycetozoo compatible con *Ichthyophonus* sp. en hígado).

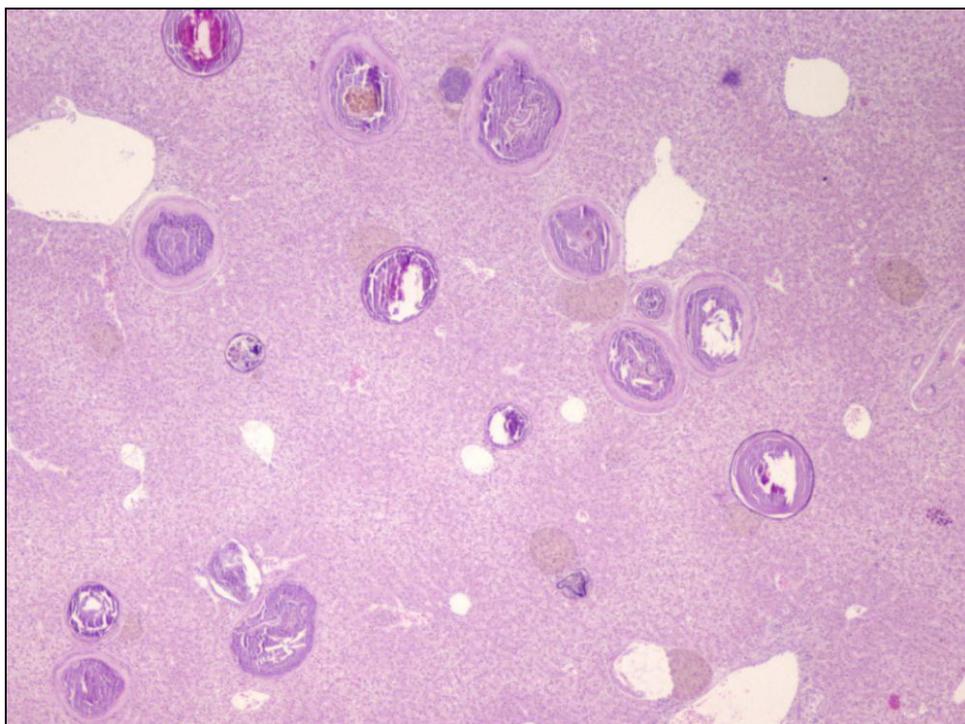


Trematodos:

En los peces examinados hemos encontrado trematodos tanto monogénicos como digenéticos. Los primeros son básicamente ectoparásitos, mientras que los segundos pueden invadir diversos tejidos en el interior del pez. En branquias se localizaron diversas formas de monogéneos de morfología compatible con *Diplectanum* sp. y *Furnestinia* sp. (Foto: parásito monogéneo, dispuesto entre las laminillas primarias de un pez. Debido a que no es apreciable el aparato de fijación, resulta imposible clasificarlo en monopisthocotileo o poliopisthocotileo).

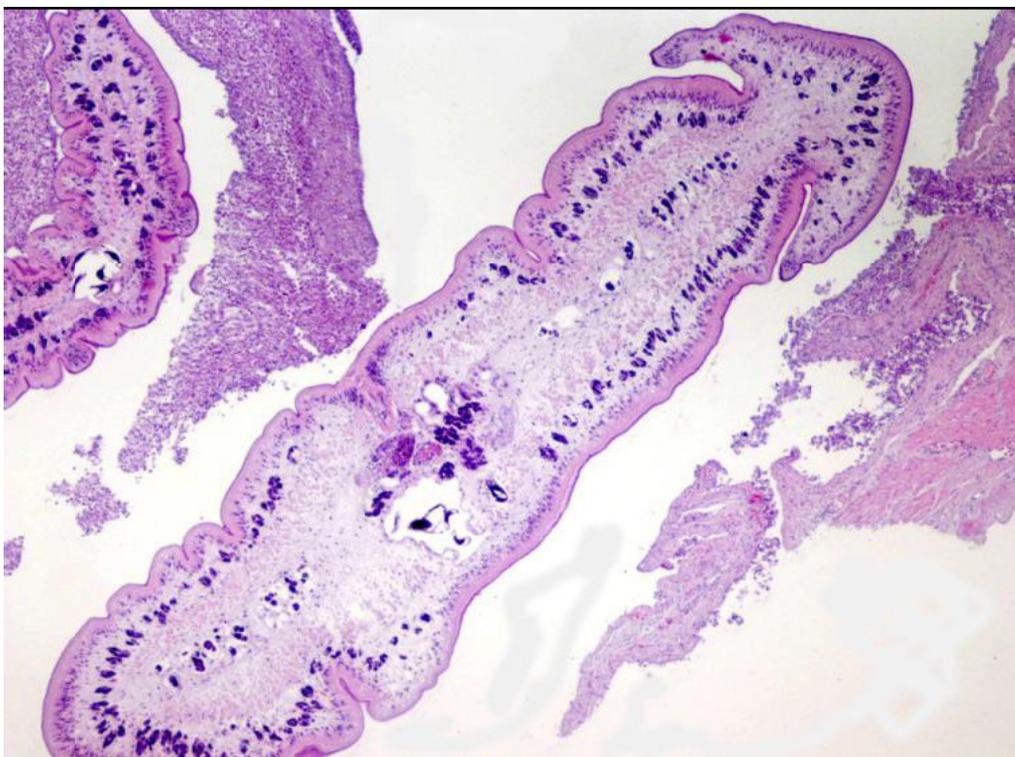


Dentro de los trematodos digenéticos, hemos detectado infecciones por diferentes fases de desarrollo de esta clase de parásitos. De tal forma, se describe la presencia de huevos y oncomiracidios de *Sanguinicolidae* en capilares branquiales y de numerosas metacercarias que causan reacciones granulomatosas en diversos tejidos del hospedador, debido a sus migraciones. (Foto: varios granulomas de localización multifocal distribuidos a lo largo del parénquima hepático).



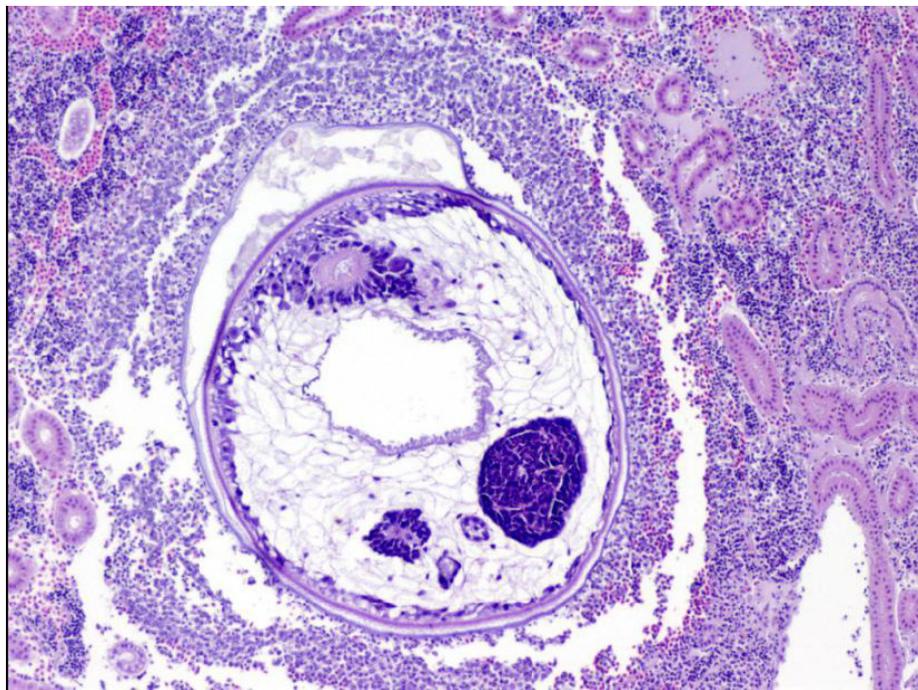
Cestodos:

Los cestodos o gusanos segmentados constituyen un grupo heterogéneo de parásitos metazoos, en el cual los peces pueden actuar como hospedador intermediario o definitivo. Generalmente, este tipo de parásitos es visible a simple vista y se diagnostican de forma macroscópica, ya que el procesado histológico de los tejidos puede ocasionar la pérdida de los parásitos. Sin embargo, en determinados animales pudimos detectar la presencia de cestodos localizados en la luz del tracto digestivo. (Foto: dos cestodos en la luz de intestino delgado).

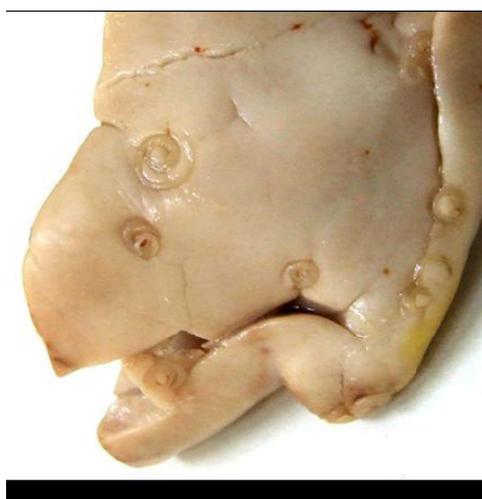
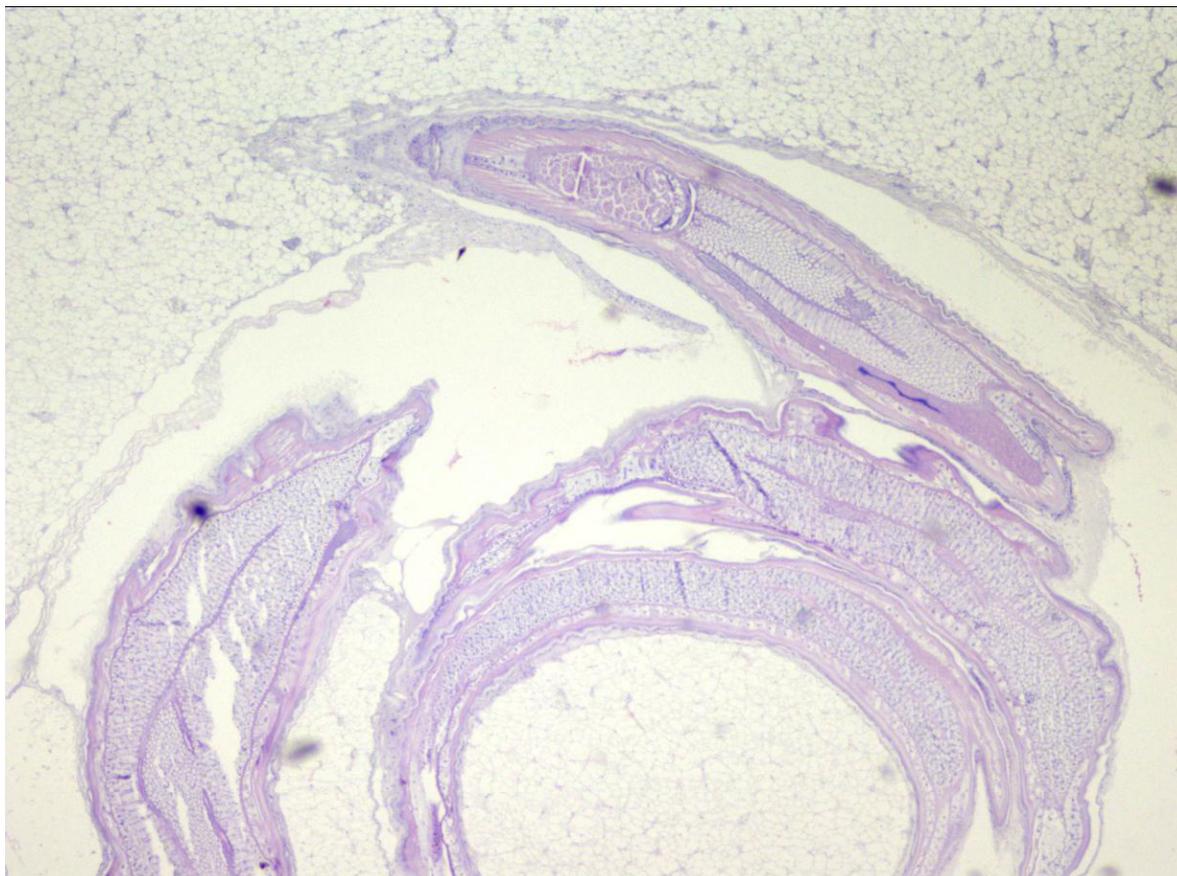


Nematodos:

Los nematodos son gusanos cilíndricos no segmentados, que poseen sexos separados y un ciclo de vida heteroxeno, con dos o más hospedadores. En alguna de las especies examinadas en el presente proyecto, fue frecuente la presencia de nematodos adultos en la luz del tracto digestivo, así como de larvas enquistadas en la serosa o en el parénquima de diferentes órganos. (Foto: larva de nematodo enquistada en el tejido intertubular renal, provocando una moderada reacción inflamatoria granulomatosa).

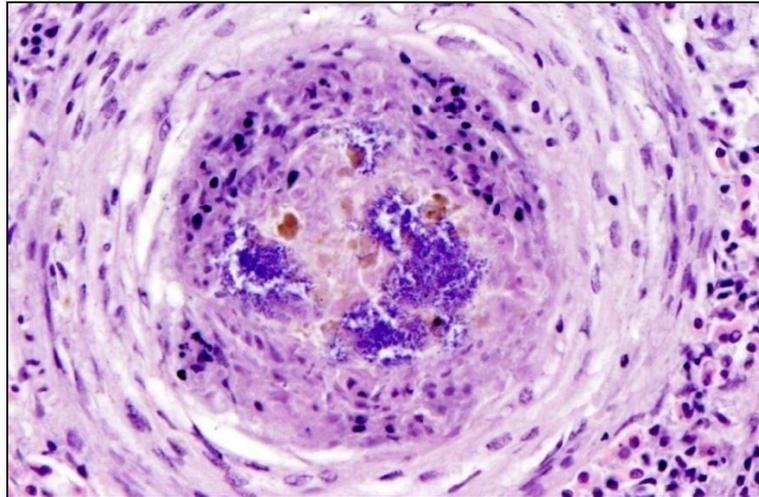


Dentro de los nematodos con importancia sanitaria para el hombre destacan los pertenecientes al género Anisakidae, por ser causantes de zoonosis. En los peces muestreados se encontraron abundantes larvas de anisákidos en serosas, hígado y músculo. (Foto: hígado conteniendo varias larvas de anisákidos en la serosa así como en el interior del parénquima).

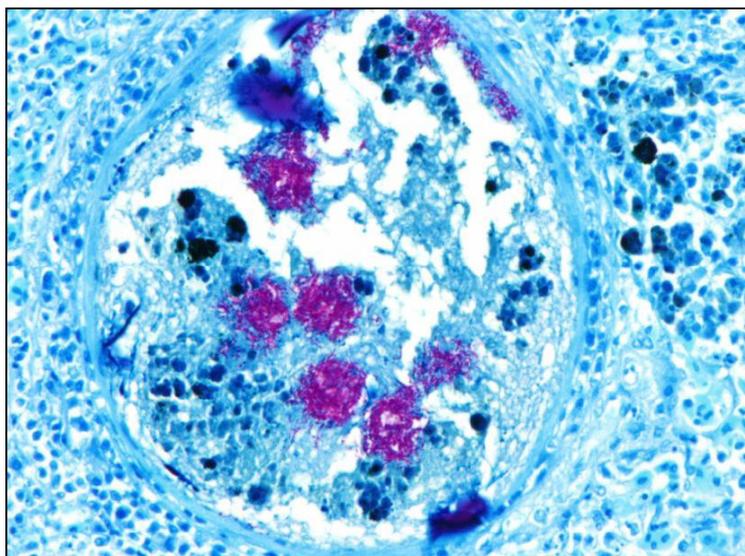


Bacterias:

Tanto en el tracto digestivo como en otros órganos internos fue posible la localización de colonias bacterianas de diversa naturaleza. Normalmente se acompañaban de una reacción inflamatoria subaguda o crónica de diferente magnitud. (Foto: colonia bacteriana localizada en bazo y rodeada por una reacción fibrosa crónica).

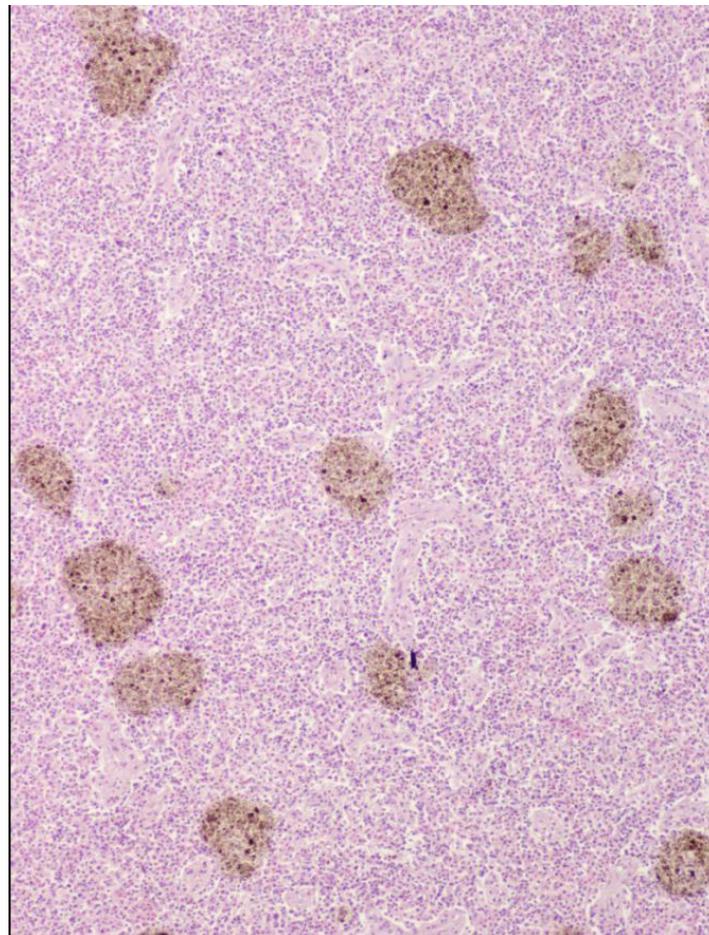


En los peces muestreados, destacaban las lesiones producidas por infecciones por *Photobacterium damsela* sb. *piscicida* (Pasteurellosis), *Aeromonas* sp. y con *Mycobacterium* sp. (Micobacteriosis). (Foto: granuloma conteniendo numerosos bacilos ácido-alcohol resistentes. Tinción Ziehl-Neelsen).



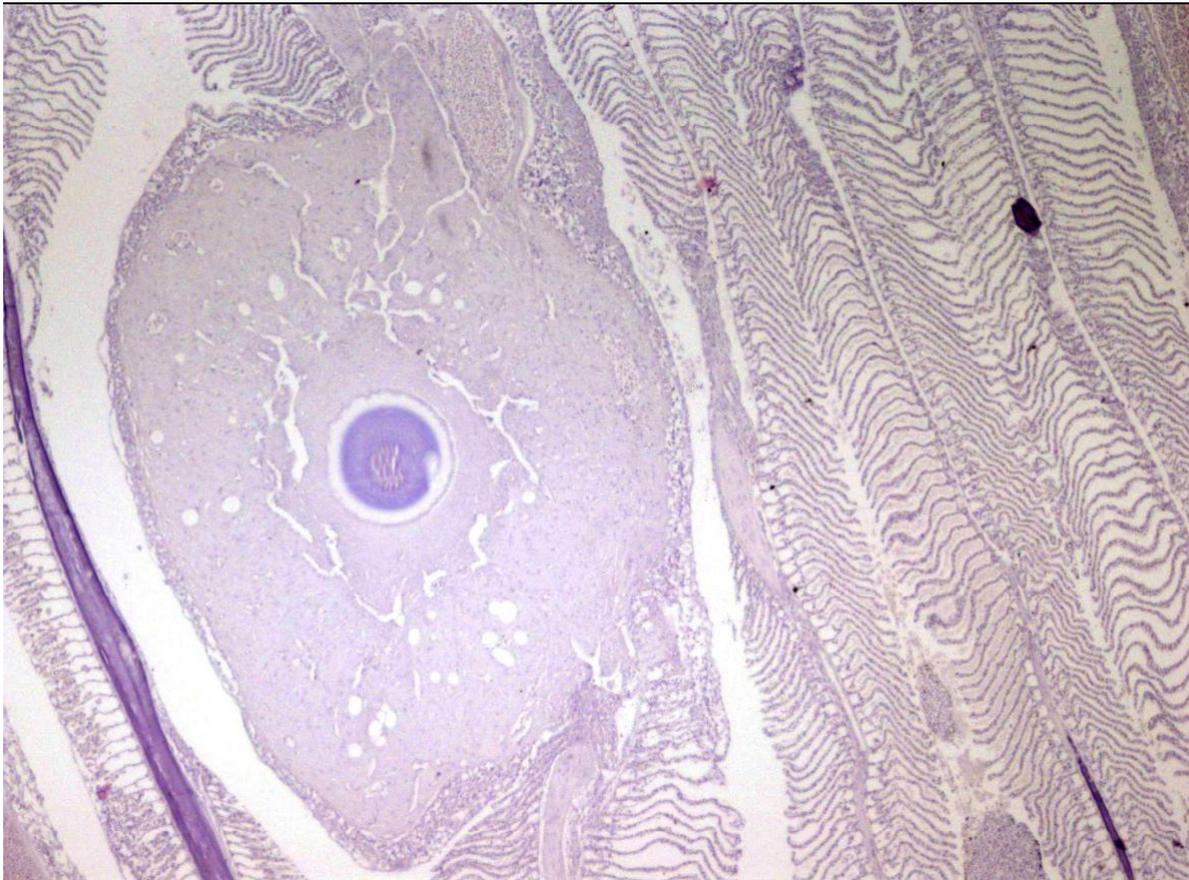
MMCs:

Los centros de melanomacrófagos (MMCs), son estructuras presentes en prácticamente todas las especies de peces, compuestas por la agregación de células inmunitarias cargadas de pigmentos con capacidad fagocítica. Se cree que desempeñan un papel esencial en el desarrollo de la respuesta inmunitaria y en la defensa contra enfermedades. Asimismo se han detectado variaciones en cuanto a su tamaño y/o número en presencia de diferentes contaminantes acuáticos, de modo que estas variaciones pueden ser utilizadas como bioindicador de calidad ambiental. (Foto: bazo de un pez de estudio conteniendo un gran número de MMCs cargados de pigmento).



Neoplasias:

Aunque poco frecuentes, debido principalmente a la corta esperanza de vida de la mayoría de especies piscícolas, a lo largo de este estudio se detectó algún tipo de neoplasia. (Foto: condroma localizado en la laminilla primaria branquial).



2.4.8.3. Estudios parásitos en Canarias

Enteromyxum leii

Lo hemos encontrado en jaulas de dorada en la isla de Tenerife

Plerocerciodos (*Pterobothrium senegalensis*)

En la especie pejepeine (*Xyrichtys novacula*) en las islas de Lanzarote y la Palma, con una altísima prevalencia en la Isla de la Palma (100%).

Furnestinia echeneis

En ejemplares de sardinas (salvajes) y doradas de cultivo

Diplectanun

En sardinas (salvajes)

Mixosporidium

Kudoa thrysites en besugos

Piojo de mar (Cymothoa banesi)

Sargos, bicudas, chopas, bogas y lubinas de cultivo

2.4.9. MEDIDAS EN CASO DE POSITIVO EN PECES SILVESTRES

En la reunión de coordinación de 19 de junio de 2008 celebrada en Madrid, técnicos del Sanidad Animal del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino indicaron la necesidad de establecer protocolos de actuación en el caso de aparición de enfermedades listadas en la fauna ictícola local.

La normativa aplicable (Real Decreto 1614/2008 relativo a los requisitos zoonosanitarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos) establece de forma pormenorizada las actuaciones a realizar por las autoridades competentes en sanidad animal en el caso de estas enfermedades en ejemplares de las granjas de acuicultura, pero no especifica las actuaciones en peces silvestres.

PROTOCOLO DE ACTUACIÓN ANTE LA APARICIÓN DE POSITIVOS A ENFERMEDADES DE DECLARACIÓN OBLIGATORIA EN PECES SILVESTRES

El Real Decreto 1614/2008, de 3 de octubre, relativo a los requisitos zoonosanitarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos, supone la normativa de referencia respecto a las medidas a adoptar en caso de aparición de determinadas enfermedades potencialmente peligrosas para las especies acuícolas.

Se especifican las medidas obligatorias a seguir en caso de sospecha y confirmación de cualquiera de las enfermedades listadas (exóticas y no exóticas en zonas libres) en las instalaciones de acuicultura. Estas medidas se completan por parte del Ministerio mediante el diseño de un Plan de Contingencia, el cual puede ser consultado en su página web. En el Plan se especifican los procedimientos técnicos, instrucciones y medidas de control para estas enfermedades, así como cadena de mando, coordinación entre autoridades y demás consideraciones teóricas y prácticas.

En el artículo 38 del Real Decreto 1614/2008 se especifican las actuaciones a seguir para el control de las enfermedades en animales acuáticos silvestres:

1. En caso de que los animales acuáticos silvestres estén infectados o se sospeche que están infectados con enfermedades exóticas enumeradas en el anexo IV, la autoridad competente hará un seguimiento de la situación y adoptará medidas

para reducir y, en la medida de lo posible, evitar la propagación ulterior de la enfermedad.

2. Si los animales acuáticos silvestres están infectados, o se sospecha que lo están, con una enfermedad no exótica enumerada en el anexo IV en un territorio, una zona o un compartimento que haya sido declarado libre de esa enfermedad, la autoridad competente también hará un seguimiento de la situación y adoptará medidas para reducir y, en la medida de lo posible, evitar la propagación ulterior de la enfermedad.

3. Las autoridades competentes informarán al Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino de las medidas que hayan adoptado conforme a lo dispuesto en los apartados 1 y 2, para que por éste informe a la Comisión y a los demás Estados miembros.

El Reglamento comunitario 1251/2008, referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de especies portadoras. Este reglamento incorpora al ordenamiento una lista de especies portadoras para cada una de las enfermedades listadas, lo cual implica que la Comisión entiende y distingue entre infección y enfermedad. Esto implica que la presencia de determinados patógenos en peces silvestres no tiene que entenderse como la aparición de un foco de enfermedad.

Es necesario, por tanto, definir y establecer cuales son las posibles medidas a adoptar por parte de las autoridades competentes a la hora de gestionar la aparición de alguna de las enfermedades listadas en peces silvestres.

El origen de los positivos en peces silvestres, en principio, puede tener tres orígenes:

- Mortalidades naturales*
- Positivos en Programas de Vigilancia Epidemiológica*
- Estudios de Centros de Investigación*

En cualquier caso, la aparición de positivos de las enfermedades listadas en peces silvestres, debe de ser puesto inmediatamente en conocimiento de la Autoridad Sanitaria competente de la Comunidad Autónoma para la adopción de las medidas oportunas y para la comunicación oportuna al Ministerio.

Las actuaciones serían las siguientes en el caso de aparición en peces silvestres de mortalidades o sintomatología compatible con enfermedades listadas:

A. En caso de sospecha

Si es una zona con instalaciones de acuicultura, se adoptarán las siguientes medidas:

- 1. Aviso a responsables sanitarios de las instalaciones y, en su caso, a la Asociación de Defensa Sanitaria correspondiente.*
- 2. Incremento de medidas pasivas de prevención de riesgos biológicos en las instalaciones.*
- 3. Realizar inspecciones por personal experimentado en enfermedades de acuicultura en todas las instalaciones cercanas. Realizar una encuesta epidemiológica, en concreto la reflejada en el Plan de Contingencia del Ministerio, y se comprobará de forma específica los siguientes aspectos:*

Cría de nuevas especies

Variaciones importantes en sistemas de cultivo y/o alimentación

Gestión de residuos y en especial de cadáveres

Liberaciones accidentales de peces

Histórico de patologías y tratamientos

Evolución de mortandades

B. En caso de confirmación

B.1 Zona sin instalaciones de acuicultura

1. Realizar un Estudio Epidemiológico. Comprenderá como mínimo los siguientes datos:

- Variaciones medio ambientales: temperatura, salinidad, focos de contaminación.*
- Variaciones de especies en medio silvestres, tanto de origen natural como antropogénico.*
- Posibles cambios de agua en transporte*
- Realizar un estudio riguroso sobre la biología de la especie afectada, con especial referencia a sus características migratorias.*
- Realizar un análisis filogenético del patógeno encontrado, a fin de poder compararlo con otras secuencias y variantes descritas.*

2. *Realizar inspecciones por personal experimentado en enfermedades de peces en los puntos de primera venta de pescado silvestre. La duración de este control variará en función de periodos de incubación de la enfermedad. Pe: un control al finalizar periodo de incubación desde la fecha del positivo y un segundo control en 15 días.*
3. *Toma de muestras en caso de sospecha según criterios Plan Contingencia.*
4. *Seguimiento del Foco: Diseño y ejecución de un programa de Vigilancia Epidemiológica. Este programa de vigilancia investigará la especie que ha resultado positiva así como otras especies presentes en la zona que sean sensibles (definidas en el Real Decreto 1614/2008) o portadoras (definidas en el Reglamento 1251/2008).*
5. *Comunicación al Seprona y a los Agentes Medioambientales.*
6. *Comunicación a los Centros de Investigación con actividad en la zona: dependientes de las CCAA, IEO, Universidades, etc.*
7. *Prohibir la captura de ejemplares silvestres para su introducción en acuarios tanto comerciales como privados.*
8. *Prohibir la captura de ejemplares silvestres para su uso como reproductores. En su caso se podrá autorizar realizando una cuarentena rigurosa.*
9. *Prohibir en la zona afectada los cambios y renovación de agua para las empresas de transporte.*

B.2. Si es una zona con instalaciones de acuicultura

Además de las anteriores, se adoptarán las siguientes medidas:

10. *Aviso a responsables sanitarios de las instalaciones y, en su caso, a la Asociación de Defensa Sanitaria correspondiente.*
11. *Incremento de medidas pasivas de prevención de riesgos biológicos en las instalaciones.*
12. *Realizar inspección por personal experimentado en enfermedades de acuicultura en las instalaciones cercanas. Cumplimentar encuesta epidemiológica del Plan de Contingencia. De forma específica comprobar:*

Cría de nuevas especies
Variaciones importantes en sistemas de cultivo y/o alimentación
Gestión de residuos y en especial de cadáveres
Liberaciones accidentales de peces
Histórico de patologías y tratamientos
Evolución de mortandades

13. *En el caso de cría de especies sensibles (Real Decreto 1614/2008) o portadoras (Reglamento 1251/2008) se procederá a realizar una toma de muestras. Esta toma de muestras se realizará independientemente de la especie en caso de sospecha. El tamaño de muestra debe garantizar un 95% de intervalo de confianza para una prevalencia esperada del 10 %. Para ello, se tomará un número mínimo de 30 ejemplares para cada especie.*
14. *Si las especies merodeadoras de las instalaciones de acuicultura son especies sensibles (Real Decreto 1614/2008) o portadoras (Reglamento 1251/2008) se procederá a realizar una toma de muestras. Esta toma de muestras se realizará independientemente de la especie en caso de sospecha. El tamaño de muestra debe garantizar un 95% de intervalo de confianza para una prevalencia esperada del 10 %. Para ello, se tomará un número mínimo de 30 ejemplares para cada especie.*

2.4.10. FORMACIÓN PERSONAL TÉCNICO DE CAMPO Y LABORATORIO

A. FORMACIÓN GALICIA

El RD 1614/2008 establece en su Anexo VII (Criterios y requisitos de los planes de contingencia), punto 9: *“El personal deberá participar con regularidad en formación sobre signos clínicos, investigación epidemiológica y control de enfermedades epizooticas en ejercicios en tiempo real, así como en formación sobre capacidad de comunicación para llevar a cabo campañas de sensibilización sobre enfermedades en curso destinadas a las autoridades, los responsables de las explotaciones y los veterinarios”*

A su vez el reglamento 882/2004, sobre los controles oficiales, en su artículo 6, establece que el personal encargado de realizar los controles: *“ recibe la formación adecuada a su ámbito de actuación que le capacite para cumplir su función de manera competente y efectuar los controles oficiales de manera coherente.”*

Dentro del primer convenio firmado con el Instituto de Acuicultura para realizar las analíticas del año 2007 del Plan JACUMAR, se estableció que además los responsables de dicho Instituto deberían diseñar un curso de formación específico para el personal de la Consellería del Mar. Se propuso por su parte la realización de dos cursos de formación, uno de patología y otro de diagnóstico en acuicultura, que fueron sufragados respectivamente por sendos convenios del Instituto Tecnológico del Mar (INTECMAR) en los años 2008 y 2009, al no ser suficiente el presupuesto del Plan JACUMAR para su financiación.

A estos cursos, además de los componentes del grupo de trabajo del Plan Jacumar, asistió personal de otros departamentos del INTECMAR y fueron invitados inspectores de Sanidad Animal de la Consellería de Medio Rural.

- Curso Básico de Patología en Acuicultura:

Módulo I- Patología en Acuicultura. 17-18 noviembre 2008

Módulo II- Prevención y control. 1-2 diciembre 2008

- Curso Básico de Diagnóstico en Acuicultura:

I.-Piscicultura.

Unidade de Ictiopatoloxía. Instituto de Acuicultura. USC (Universidad de Santiago de Compostela) 30 noviembre-3 diciembre 2009

También para el desarrollo del Plan JACUMAR y mejorar la formación del personal que participó en él, algunos de sus componentes asistieron a los siguientes cursos y conferencias a lo largo de estos años:

- Curso de Acuicultura: Sanidad, Tratamiento del agua y Tecnología de la producción. 26 marzo-28 mayo 2008
Colegio Oficial de Veterinarios de Lugo
- Curso Instrumental: Epidemiología Aplicada a las Ciencias de la Vida. Julio 2008.
Universidad de León.
- Internacional Aquaculture Biosecurity Conference. Trondheim, Norway.
August 17-18 2009.
<http://www.iabconference.org>
- Course for Authorities in Member States on Aquatic Animal Health Controls and Trade arising from the Directive 2006/88. CEFAS, Weymouth 1-4 septiembre 2009
<http://www.efishbusiness.co.uk>

B. FORMACIÓN CANARIAS

Uno de los objetivos del presente proyecto que ahora acaba es que a su finalización, cada Comunidad Autónoma participante tuviese su propio centro de diagnóstico de enfermedades infectocontagiosas acuícolas, capaz de funcionar de manera autónoma en coordinación con el Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA-INIA).

Debido a las particularidades intrínsecas de este proyecto, se requería de la puesta a punto, mejora y optimización de las técnicas de diagnóstico, intentando conseguir técnicas sensibles y específicas de respuesta rápida. Para ello, la formación de personal técnico de campo y de laboratorio era fundamental para el correcto desarrollo del proyecto, asentando las bases futuras de la implantación del Sistema de Vigilancia Epidemiológica en cada Comunidad Autónoma. Con el desarrollo del proyecto hemos podido cumplir dicho objetivo, ya que durante el transcurso del proyecto hemos formado en dichas técnicas diagnósticas a dos investigadoras predoctorales que están a punto de dar lectura a sus Tesis Doctorales. Dichas investigadoras se han incorporado al grupo de investigación que ha desarrollado este proyecto en Canarias como técnicos contratados, y participan activamente en el plan de vigilancia epidemiológica que tiene establecida la Comunidad Autónoma de Canarias desde hace más de 5 años.

Una vez finalizado este proyecto, la Unidad Enfermedades Infecciosas e Ictiopatología del Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, presenta un laboratorio de diagnóstico de enfermedades infecciosas totalmente equipado y con el material humano necesario para el desarrollo de futuros planes de vigilancia epidemiológica que estime la autoridad competente.

C. FORMACIÓN MURCIA

En el año 2006, la Unión Europea estableció un nuevo marco normativo en materia de sanidad en acuicultura mediante la Directiva 88/2006, cuya trasposición debía realizarse por los estados miembros como fecha máxima en agosto de 2008, fecha en la que entraba en vigor. En España ha dado lugar al Real Decreto 1614/2008 relativo a los requisitos zoonosanitarios de los animales y los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos. En este momento, la acuicultura se ve afectada por gran número de las normas generales que deben ser observadas al igual que en el resto de actividades de producción animal. Entre las más importantes de estas normas tenemos:

- Ley de Sanidad Animal
- Legislación Alimentación Animal
- Legislación Medicamentos y Piensos Medicamentosos
- Normativa sobre residuos
- Notificación de Enfermedades Declaración Obligatoria
- Normativa Bienestar Animal
- Normativa subproductos

De forma específica, en referencia a la acuicultura, la normativa a aplicar era la siguiente:

- RD 1488/1994, que establece medidas mínimas de lucha determinadas enfermedades de los peces.
- RD 1882/1994, que establece las condiciones de sanidad animal aplicables a la puesta en el mercado de animales y productos de la pesca.
- RD 1043/1997, que establece las normas mínimas para el control de determinadas enfermedades de los moluscos.

Estos reales decretos son muy básicos en cuanto a planteamientos sanitarios generales y muy específicos respecto a las enfermedades de declaración obligatoria en los peces, es decir para la septicemia hemorrágica, la necrosis hematopoyética y la anemia infecciosa del salmón, así como a los aspectos relativos a la declaración de zonas como libres de estas enfermedades.

Las especies cultivadas en el Mediterráneo Español no son sensibles (según los listados de la OIE) a ninguna de estas enfermedades, lo cual ha llevado a que la incidencia real sobre los controles y las inspecciones de estas normativas ha sido mínimo en nuestra región. En general los controles en sanidad animal en las instalaciones de acuicultura por parte de la administración han sido escasos en todo el país, a excepción de aquellas zonas declaradas como libres de enfermedades, donde de forma periódica se realizaban controles y muestreos en peces. Entre las causas podemos destacar:

- Ausencia de normativa específica para las especies/ enfermedades en acuicultura marina en el Mediterráneo.
- Ausencia de incidencia en zoonosis asociadas a especies de acuicultura.
- Ausencia de epidemias graves en acuicultura marina. De hecho, las principales enfermedades que producen daños económicos en las instalaciones de acuicultura no son enfermedades listadas, por lo que la administración no tenía que ejercer medidas ni planes de control.
- Falta de tradición y/o conocimientos de los Servicios de Inspección de Sanidad
- Responsables técnicos de instalaciones poco familiarizados con legislación sanitaria.
- Empresas con niveles elevados de autocontrol.

El Real Decreto 1614/2008 obliga a la realización de controles sanitarios en todas las instalaciones de acuicultura, siendo la frecuencia de los controles priorizado en base a estudios de categorización del riesgo. Estos controles precisan, en determinados casos la toma de muestras, por lo que el desarrollo de este Plan nacional ha permitido a Comunidades Autónomas como Murcia establecer protocolos de actuación, de muestreos, de toma de muestras, remisión de muestras a laboratorio, etc. Estas actuaciones, exigidas por la nueva normativa, no se contemplaban en la anterior, en la que los controles se circunscribían a las instalaciones con especies sensibles.

Por lo tanto, este proyecto ha conseguido el objetivo inicialmente planteado de preparar, entrenar y dejar operativo un sistema de actuación sanitaria eficaz de una zona sin tradición en este tipo de actuaciones como es la Región de Murcia.

Además se han realizado una serie de acciones formativas a personas directamente implicadas en la sanidad de los organismos acuáticos donde se ha explicado la metodología de trabajo de este proyecto:

Curso Avances en Acuicultura

Comunicación: Controles oficiales en instalaciones acuícolas: sanidad animal, salud pública y medio ambiente.

Entidad Organizadora: Centro de Profesores y Recursos Mar Menor. Dirección General de Promoción Educativa e Innovación.

Lugar: San Pedro del Pinatar

Fecha: 11 de marzo 2009

Los destinatarios de este curso fueron los profesores de que imparten los Ciclos Formativos, Producción Acuícola (Grado Superior) y Operaciones de Cultivo Acuícola (Grado Medio) del IES Manuel Tárrega Escribano de San Pedro del Pinatar.

Curso controles oficiales en pesca, acuicultura y productos de la pesca

Comunicación: Proyecto Piloto Plan de Vigilancia Epidemiológica

Entidad Organizadora: Escuela de Administración Pública

Lugar: Murcia

Fecha: 30 de abril 2009 y 21 de abril de 2010

Los destinatario de este curso eran los funcionarios y resto de personal encargados de realizar los controles sanitarios en las instalaciones de acuicultura de la Región de Murcia.

2.5. CONCLUSIONES

Para completar este apartado, se acompañará una presentación en Power Point (máximo 10-15 diapositivas) que incluirá solo los aspectos más generales de los objetivos generales y las acciones desarrolladas y dedicará especial atención a los resultados y su utilidad para el sector acuícola.

Se acompaña como Anexo la presentación

2.6. VALORACIÓN

La Sanidad Animal es un pilar básico de la producción animal. La realización de este novedoso Plan Nacional produjo desde el principio grandes expectativas por su contenido y oportunidad. A finales de 2006, la excelente evaluación que hizo la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP) del Plan Jacumar de Gestión Sanitaria presentado por las CCAA de Murcia y Cataluña, impulsó su aprobación dentro de la línea estratégica que para JACUMAR era la sanidad animal en acuicultura. Destacaba la ANEP, que se trata de un momento muy oportuno, pues se acaba de publicar la nueva directiva relativa a los requisitos zoonosanitarios de los animales y de los productos de la acuicultura, y a la prevención y control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos. Y también comienza el proceso de su transposición al ordenamiento nacional, motivo por el que se incorporó al Plan la Subdirección General de Sanidad Animal del Ministerio, aunque ya se contaba con la presencia en el mismo del Laboratorio Nacional de Referencia de Algete para patologías de peces.

El proyecto se dividió en dos grandes subproyectos, paralelos en cuanto al objetivo final de mejorar la sanidad de la acuicultura pero con dos ópticas distintas. En el caso del subproyecto liderado por Murcia, la base principal del proyecto consistía en la realización de un ambicioso plan de muestreo que sirviese de base para la elaboración de un Plan de Vigilancia Epidemiológica, y de forma paralela establecer distintos protocolos y medidas de actuación de interés para las empresas de acuicultura y para los gestores administrativos de la Sanidad Animal. Este subproyecto estaba perfectamente equilibrado con la presencia de las Comunidades Autónomas de Andalucía, Canarias, Galicia y Murcia. Esto representaba, si consideramos los datos de producción del año 2009, que bajo los controles derivados de este plan nacional, se englobaban del total de la producción nacional el 56% de la dorada, el 84% de la lubina, el 97% del rodaballo, el 72% de la corvina y el 70% del atún rojo, siendo estas las principales especies cultivadas en nuestro país.

El primer año del proyecto se produjo un desagradable suceso que fue la salida, no justificada, de la Comunidad Autónoma de Andalucía del subproyecto. La pérdida de la participación de Andalucía en este subproyecto supuso un descenso en número de muestreos y en la representatividad geográfica de estos muestreos. Habría sido de gran interés que parte del dinero que en su día se presupuestó para Andalucía revirtiese en el resto de Comunidades participantes en el subproyecto, de tal forma que, en la medida de lo posible, pudiese mejorarse el valor estadístico de los resultados obtenidos incrementando los muestreos en las tres Comunidades Autónomas que permanecen en el subproyecto. La no participación de Andalucía ha restado significación a los resultados obtenidos desde un punto de vista especialmente geográfico, pero no de las especies muestreadas, pues sin la participación de esta comunidad los datos de producción de las comunidades

participantes bajan a un 41% en la dorada y a un 62% en la lubina pero se mantienen invariables en las otras tres especies: rodaballo, corvina y atún.

Los problemas de disponibilidad económica han provocado retrasos en el esquema de trabajo, especialmente en el primer año del proyecto. En el año 2009 también hubo retraso en los muestreos por estos motivos y por motivos logísticos, retrasándose en parte al año 2010, el cual estaba reservado inicialmente para el procesamiento de los datos de los tres años anteriores. El otro subproyecto que forma parte de este Plan Nacional pidió una prórroga sin financiación a la cual se ha adherido nuestro subproyecto con la finalidad de poder realizar unos informes más completos y poder procesar la información obtenida durante los tres años de muestreos.

Los años 2008 y 2009 han sido especialmente intensos por el volumen de muestreos realizados y el posterior procesamiento y análisis de los mismos. En estos años los grupos participantes han tenido que incrementar su esfuerzo para la consecución de los objetivos, ya que se han duplicado los muestreos respecto al 2007. A pesar del enorme trabajo de campo que supone la recolección de las muestras así como el trabajo de su procesamiento y análisis en los laboratorios, todos los grupos participantes han alcanzado satisfactoriamente el nivel de muestreo al que se habían comprometido.

A lo largo del proyecto se han realizado reuniones para valorar los resultados de las campañas realizadas, no sólo los datos analíticos, sino especialmente los datos sobre organización, logística y desarrollo de los mismos. No se debe perder el horizonte de este subproyecto, en el cual son de vital importancia los muestreos para establecer valores epidemiológicos y los protocolos de diagnóstico para adecuar las técnicas laboratoriales, pero que hay un tercer pilar consistente en el diseño de planes de vigilancia para enfermedades no sometidas a control oficial y que debe ser desarrollado tomando como base la experiencia adquirida por los técnicos de las distintas Comunidades Autónomas en el desarrollo de estos muestreos.

Por la temática del proyecto, desde su inicio quedó establecido que desde la Subdirección General de Sanidad Animal del Ministerio se debía realizar un seguimiento y una colaboración con los grupos participantes. En base a esta premisa, personal de esta subdirección general ha estado siempre presente en las reuniones de coordinación y los datos parciales y globales les han sido puntualmente comunicados.

A pesar de las dificultades a las que nos hemos tenido que enfrentar los grupos de trabajo que estamos realizando este subproyecto, especialmente derivadas del hecho de que ninguno de los tres grupos habíamos desarrollado previamente ningún proyecto JACUMAR, se han cumplido satisfactoriamente los objetivos, supliendo con esfuerzo e ilusión los retos a los que nos hemos comprometido.

Los objetivos del proyecto eran suficientemente amplios y ambiciosos, los cuales han sido desarrollados y completados:

- Establecer un modelo teórico/práctico para el establecimiento de una red de vigilancia sanitaria en acuicultura marina. El modelo creado para las enfermedades víricas deberá ser extrapolable, en la medida de posible, al resto de patologías infectocontagiosas.
- La puesta a punto, mejora y optimización de técnicas de diagnóstico sensibles y específicas de respuesta rápida.
- Mejorar el conocimiento sobre los niveles de prevalencia de las principales enfermedades víricas de importancia en acuicultura marina. Creación de bases de datos y mapas epidemiológicos.
- Aportar datos sobre niveles de prevalencia de estas enfermedades víricas en las poblaciones silvestres, tanto de las especies cultivadas como de otras que puedan actuar como monitoras.
- Valorar y establecer los procedimientos prácticos para el diagnóstico de enfermedades víricas en acuicultura de forma rutinaria y su aplicación en situaciones de alerta sanitaria.
- Confeccionar un mapa epidemiológico para las enfermedades víricas en acuicultura marina.
- Mejorar la formación de personal técnico de campo y de laboratorio.

Junto con el cumplimiento de los objetivos parciales iniciales del proyecto, se han planteado nuevos objetivos parciales de gran importancia sanitaria, en parte derivados de la entrada en vigor de la nueva normativa sanitaria europea y en otros casos por recomendación de la administración sanitaria:

- La Memoria Científico-Técnica del Proyecto planteaba la posibilidad de realizar controles parasitológicos siguiendo la idea de valorar la interacción entre peces silvestres y cultivados y obtener la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.
- La publicación del Reglamento (CE) 1251/2008 referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de especies portadoras. Los resultados de este proyecto puede aportar nuevos datos científicos y prácticos sobre especies portadoras. Por todo ello, dentro de los objetivos del subproyecto, se ha incorporado un nuevo objetivo, consistente en

valorar el papel de las distintas especies analizadas por los grupos participantes como especies portadoras para Septicemia Hemorrágica Vírica en el marco de la nueva normativa sanitaria comunitaria.

- A propuesta de técnicos de la Dirección General de Sanidad Animal del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino se incorpora como otro nuevo objetivo parcial el diseño de un protocolo de actuaciones ante la aparición de una enfermedad listada en ejemplares de peces silvestres.

- El Real Decreto 1614/2008, relativo a los requisitos zoonosarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos (Traspone Directiva 2006/88/CE) establece como uno de los requisitos para la autorización de las instalaciones de acuicultura el establecimiento de un Sistema de Vigilancia Zoonosaria. Este sistema debe ser capaz de detectar la aparición de alguna de las enfermedades listadas, así como mortalidades por encima de una tasa normal que debe establecerse entre la administración y las empresas. Se propone definir un modelo de Sistema de Vigilancia Zoonosaria en piscicultura marina así como establecer valores de referencia en cuanto a niveles de mortalidad en las distintas especies.

Se ha realizado un gran esfuerzo de difusión de resultados, especialmente en el año 2009, lo cual queda reflejado en el correspondiente informe.

Consideramos que con este Plan Jacumar de Gestión Sanitaria se ha aumentado la sensibilización, concienciación y preparación, de los organismos y autoridades competentes respecto a la prevención, el control y la erradicación de las enfermedades de los animales acuáticos. Esto se ha conseguido con el esfuerzo y trabajo de gran número de grupos multidisciplinares pertenecientes a la administración y a organismos e instituciones de investigación. Así mismo, la participación directa de las empresas y la colaboración de sus responsables sanitarios ha permitido optimizar su desarrollo y revalorizar los resultados.

Desde la coordinación del subproyecto queremos agradecer el enorme esfuerzo realizado por los grupos participantes, lo cual unido a su gran valía técnica y humana ha permitido cumplir con las metas y objetivos de este proyecto

2.7. DIFUSIÓN

A. DIFUSIÓN MURCIA

1. CONGRESOS

Comunicaciones a congresos 2008

1. Título: *Ausencia de larvas de anisakis en pescado de acuicultura de la Región de Murcia*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Participación en II Congreso Internacional de Seguridad Alimentaria con póster y con trabajo escrito en memorias del congreso

Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico

Medio de difusión: Exposición pública póster y entrega de CD con memorias del congreso.

Lugar y fecha: Murcia, 28-29 febrero y 1 de marzo de 2008

2. Título: *Experiencia en desarrollo de plan piloto de vigilancia epidemiológica frente a enfermedades víricas en acuicultura marina.*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Presentación de póster en IV Jornadas de Acuicultura de Litoral Suratlántico.

Tipo de soporte: Póster

Medio de difusión: Exposición pública póster y entrega de memorias de las jornadas

Lugar y fecha: Cartaya, Huelva. 16-17 de abril de 2008

Comunicaciones a Congresos 2009

1. Título: *Detección del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) en distintas especies marinas de la Región de Murcia*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Participación en X Congreso Nacional de Virología mediante póster.

Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico

Medio de difusión: Exposición pública póster

Lugar y fecha: Salamanca, 21-24 de junio de 2009

2. Título: *Assessment of risk transmission virus diseases across of food used to feed bluefin tuna (*Thunnus thynnus*)*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Participación en 14 EAFP International Conference mediante póster.

Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico

Medio de difusión: Exposición pública póster

3. Título: *Preliminary results of a pilot programme for epidemiologic vigilance of virus diseases in Murcia*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Participación en 14 EAFP International Conference.

Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico

Medio de difusión: Exposición pública póster

Lugar y fecha: Praga (República Checa), 14-19 de septiembre de 2009

4. Título: *Management of risk transmission virus diseases across of food used to feed bluefin tuna (Thunnus thynnus) in Murcia (S-E Spain)*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Participación en Aquaculture Biosecurity Conference

Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico

Medio de difusión: Libro Actas Congreso

Lugar y fecha: Trondheim (Noruega), 17-18 de agosto de 2009

5. Título: *Development of a pilot programme for epidemiologic vigilance of virus diseases in Murcia (S-E Spain)*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Participación en Aquaculture Biosecurity Conference

Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico

Medio de difusión: Libro Actas Congreso

Lugar y fecha: Trondheim (Noruega), 17-18 de agosto de 2009

6. Título: *Valoración de la presencia del isópodo Ceratothoa oestroides en peces silvestres merodeadores en instalaciones de acuicultura del Levante.*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Participación en XII Congreso Nacional de Acuicultura

Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico

Medio de difusión: Comunicación Oral

Lugar y fecha: Madrid, 24-26 de noviembre de 2009

7. Título: *Programa de vigilancia sobre anisakis en pescado de acuicultura de la Región de Murcia*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia
Tipo de documento: Participación en XII Congreso Nacional de Acuicultura
Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico
Medio de difusión: Comunicación Oral
Lugar y fecha: Madrid, 24-26 de noviembre de 2009

8. Título: Proyecto de caracterización de condiciones de sanidad animal en acuicultura marina: diseño de red piloto de vigilancia epidemiológica

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia
Tipo de documento: Participación en XII Congreso Nacional de Acuicultura
Tipo de soporte: Papel y soporte electrónico
Medio de difusión: Comunicación mediante Póster
Lugar y fecha: Madrid, 24-26 de noviembre de 2009

2. DIFUSIÓN MEDIANTE JORNADAS

Jornadas 2008

1. Título: *Organización de la Sanidad de la Acuicultura Marina en la Región de Murcia*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia
Tipo de documento: Presentación de la ponencia: Organización de la Sanidad de la Acuicultura Marina en la Región de Murcia, en la que se expone los objetivos y desarrollo del proyecto al sector a nivel nacional.
Tipo de soporte: exposición oral
Medio de difusión: Exposición oral en Reunión de trabajo APROMAR: Estrategias para la Sanidad de la Piscicultura Marina en España. 3 de abril de 2008.
Lugar y fecha: Madrid, 3 de abril de 2008
Nombre y datos de contacto: Emilio Marfía Dolores Pedrero

2. Título: Difusión de la Organización de la Sanidad de la Acuicultura Marina en la Región de Murcia, en la que se expone los objetivos y desarrollo del proyecto al sector a nivel nacional.

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia
Tipo de documento: Mesa Redonda
Tipo de soporte: Comunicación oral
Medio de difusión: Seminario sobre Agrupaciones de Defensa Sanitaria en Piscicultura Marina, organizadas por APROMAR

Lugar y fecha: 20 y 21 de noviembre de 2008 en la Facultad de Veterinaria de Barcelona.

Nombre y datos de contacto: José Peñalver García

Jornadas 2009

1. Evento: Curso Avances en Acuicultura

Comunicación: Controles oficiales en instalaciones acuícolas: sanidad animal, salud pública y medio ambiente.

Entidad Organizadora: Centro de Profesores y Recursos Mar Menor. Dirección General de Promoción Educativa e Innovación.

Lugar: San Pedro del Pinatar

Fecha: 11 de marzo

2. Curso controles oficiales en pesca, acuicultura y productos de la pesca

Comunicación: Proyecto Piloto Plan de Vigilancia Epidemiológica

Entidad Organizadora: Escuela de Administración Pública

Lugar: Murcia

Fecha: 30 de abril

Jornadas 2010

1. Curso controles oficiales en pesca, acuicultura y productos de la pesca

Curso dirigido a personal de la administración con competencias en inspección y/o gestión de la acuicultura y la pesca.

Comunicación: Proyecto Piloto Plan de Vigilancia Epidemiológica

Entidad Organizadora: Escuela de Administración Pública

Lugar: Murcia

Fecha: 21 de abril de 2010

2. Jornada de Transferencia de Tecnología en Acuicultura Marina

Jornada técnica en la que se difunde a las empresas de acuicultura de la Región de Murcia así como a otras entidades públicas y privadas interesadas las principales líneas de investigación en acuicultura desarrolladas por el IMIDA y por instituciones asociadas.

Comunicación: Plan Nacional de Vigilancia Epidemiológica (PN JACUMAR)

Entidad organizadora: IMIDA (Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario).

Lugar: San Pedro del Pinatar

Fecha: 23 de noviembre de 2010

3. PUBLICACIONES

1. Título: DISEÑO DE MAPAS EPIDEMIOLÓGICOS EXPERIMENTALES EN ACUICULTURA EN EL MARCO DE LOS PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS

Autores: E. María-Dolores; J.Peñalver; A. Mateos

Ref. X revista: Boletín del Colegio de Veterinarios de Murcia Libro

Clave: A Volumen: Marzo Páginas, inicial: 6 final: 7 Fecha: 2007

Lugar de publicación: MURCIA

2. Título: PROYECTO DE CARACTERIZACIÓN DE CONDICIONES DE SANIDAD ANIMAL EN ACUICULTURA MARINA: DISEÑO DE RED PILOTO DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

Autores: E. María Dolores, F. Real; L. Roman; L. Sorroza; E. Areoso; A. Muñoz; C. Pereira; C. Tafalla; J. Peñalver

Revista : X Libro: Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura

Volumen: Páginas: inicial: 304 final: 305 Fecha: 2009

Editorial: Sociedad Española de Acuicultura

Lugar de publicación: Madrid

3. Título: PROGRAMA DE VIGILANCIA SOBRE ANISAKIS EN PESCADO DE ACUICULTURA DE LA REGIÓN DE MURCIA

Autores: J. Peñalver ;E. María Dolores, L. Bermúdez, O. Gómez, E. Viuda, J.I. López, M.L. Pla.

Revista : X Libro: Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura

Volumen: Páginas: inicial: 638 final: 639 Fecha: 2009

Editorial: Sociedad Española de Acuicultura

Lugar de publicación: Madrid

4. Título: VALORACIÓN DE LA PRESENCIA DEL ISÓPODO CERATOTHOA OESTROIDES EN PECES SILVESTRES MERODEADORES EN INSTALACIONES DE ACUICULTURA DEL LEVANTE

Autores: E. María Dolores, L. Bermúdez, O. Gómez, E. Viuda, J.I. López, M.L. Pla, P. Muñoz; J. Peñalver
Revista : X Libro: Actas del XII Congreso Nacional de Acuicultura
Volumen: Páginas: inicial: 256 final: 257 Fecha: 2009
Editorial: Sociedad Española de Acuicultura
Lugar de publicación: Madrid

5. Participación en el libro denominado: El Mar Menor. Estado actual del conocimiento científico. Dentro del capítulo sobre Gestión de Recursos Pesqueros del Mar Menor, se difunde la parte del plan que incluye muestreos en el Mar Menor. Las páginas del capítulo son de la 517 a la 540. Se ha publicado en Murcia en el año 2009 por el Instituto Euromediterráneo del Agua. Autores: E. María Dolores, L. Bermúdez, I. Bas, O. Gómez, E. Viuda, J.I. López, M.L. Pla; J. Peñalver

6. Título: Absence of Anisakid Larvae in Farmed European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and Gilthead Sea Bream (*Sparus auratus* L.) in Southeast Spain.

Autores: J. Peñalver, E. María Dolores, P. Muñoz.
X Revista: Journal of Food Protection Libro
Volumen: 73 Páginas: inicial: 1332 final: 1334 Fecha: 2010
Editorial: International Association for Food Protection
Lugar de publicación: EEUU

4. NOTAS DE PRENSA

1. **Título:** *Agricultura demuestra con un estudio la ausencia de larvas de Anisakis en el pescado de la acuicultura regional*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Nota de prensa

Tipo de soporte: Periódico

Medio de difusión, lugar y fecha:

- "Actualidad Informativa" el 14-08-2008 (www.carm.es)
- Periódico La Verdad, el 15-08-2008
- Mispeces.com, el 18-08-2008 (www.mispeces.com)

2. **Título:** *Agricultura confirma la ausencia de virus en la carnada usada en la alimentación del atún rojo*

Equipo: Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia

Tipo de documento: Nota de prensa

Tipo de soporte: Periódico

Medio de difusión, lugar y fecha:

- “Actualidad Informativa” el 24-08-2008 (www.carm.es)
- Periódico La Verdad, el 25-08-2008
- Mispeces.com, el 28-08-2008 (www.mispeces.com)

5. DIFUSIÓN AL SECTOR IMPLICADO

Se ha comunicado a cada empresa los resultados analíticos de los ejemplares procedentes de sus explotaciones, así como un resumen genérico de los resultados obtenidos en todos los ejemplares de acuicultura de su Comunidad Autónoma, así como los resultados de los peces procedentes de pesca extractiva.

A continuación se reflejan las presentaciones y póster en congresos

Ausencia de larvas de anisakis en pescado de acuicultura de la Región de Murcia



Región de Murcia

J. Peñalver, E. María-Dolores, L. Bermúdez, O. Gómez, R. Díaz, O. Blanco, E. Viuda.
 Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia.
 Centro de Recursos Marinos. Puerto de San Pedro, 7, apto 65, 30740. San Pedro del Pinatar.
 Tfno y fax: 968 184518. e-mail: jose.penalver2@carum.es

1 - INTRODUCCIÓN

La entrada en vigor del Real Decreto 1420/2006 ha creado controversia y originado diversas polémicas, una de ellas es sobre la presencia de este parásito en peces de acuicultura marina. Resulta de gran interés para el sector demostrar esta ausencia en peces procedentes de granjas marinas del Mediterráneo. En este trabajo, aprovechando los peces de acuicultura chequeados dentro del Plan de Vigilancia Epidemiológica frente a enfermedades víricas, se han analizado 309 peces entre los años 2006 y 2007, no obteniéndose ningún positivo. Se comentan los resultados obtenidos y se presentan los controles programados para los años 2008 y 2009, donde se va a incrementar el número de controles y la significación estadística de los mismos.

Tabla 1. Datos del muestreo de dorada en 2006

| Lote | Origen | Número | Pesos (g) | Media (Mínimo-Máximo) |
|------|-------------------|--------|---------------------|-----------------------|
| 1 | San Pedro Pinatar | 15 | 459,9 (258 - 644) | |
| 2 | San Pedro Pinatar | 30 | 53,5 (13 - 164) | |
| 3 | San Pedro Pinatar | 21 | 426,2 (250 - 578,5) | |

Tabla 2. Datos del muestreo de lubina en 2006

| Lote | Origen | Número | Pesos (g) | Media (Mínimo-Máximo) |
|------|-------------------|--------|-------------------|-----------------------|
| 1 | Aguilas | 24 | 471,2 (317 - 766) | |
| 2 | San Pedro Pinatar | 10 | 27 (18,1 - 42) | |

Tabla 3. Datos del muestreo de dorada en 2007

| Lote | Origen | Número | Pesos (g) | Media (Mínimo-Máximo) |
|------|-------------------|--------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | San Pedro Pinatar | 22 | 266 (167,4 - 316) | |
| 2 | San Pedro Pinatar | 30 | 333,9 (248 - 429) | |
| 3 | San Pedro Pinatar | 30 | 395,2 (237,9 - 509,4) | |
| 4 | San Pedro Pinatar | 30 | 307,9 (196,6 - 387,5) | |
| 5 | Aguilas | 20 | 583 (470,4 - 712) | |
| 6 | Aguilas | 20 | 56,2 (29,4 - 90,4) | |

Tabla 4. Datos del muestreo de lubina en 2007

| Lote | Origen | Número | Pesos (g) | Media (Mínimo-Máximo) |
|------|-------------------|--------|---------------------|-----------------------|
| 1 | San Pedro Pinatar | 6 | 447,8 (330,8 - 720) | |
| 2 | San Pedro Pinatar | 31 | 249,8 (147,9 - 420) | |
| 3 | Aguilas | 20 | 80,3 (62,6 - 144,5) | |

Tabla 5. Período de muestreo

| Año | Especie | Agosto | Septiembre | Octubre | Noviembre | Diciembre |
|------|---------|--------|------------|---------|-----------|-----------|
| 2006 | Dorada | --- | --- | --- | 51 | 15 |
| | Lubina | --- | 10 | --- | 24 | --- |
| 2007 | Dorada | 22 | 110 | --- | --- | --- |
| | Lubina | --- | 6 | 31 | 20 | --- |

2 - MATERIAL Y MÉTODOS

Sobre los peces establecidos en instalaciones acuícolas frente los municipios de Aguilas y San Pedro del Pinatar, y entre los años 2006 y 2007, se ha seleccionado una muestra al azar de 309 ejemplares, con la distribución que se describe en las tablas 1 a 5. Los ejemplares fueron necropsiados por personal del Servicio de Pesca y Acuicultura en las instalaciones del Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar. Posteriormente fueron sometidos a un examen visual completo los 309 ejemplares muestreados, y los 209 del año 2007 fueron sometidos a una digestión artificial de músculo. Los procedimientos de control fueron los siguientes:

Examen visual: Se practica una incisión en la cavidad abdominal en sentido caudo-cranial, desde el orificio excretor hasta el opérculo. Las vísceras y el peritoneo eran examinados. A continuación el tubo digestivo se seccionaba longitudinalmente y se exploraba su contenido, y posteriormente se examinaban las vísceras tras extraerlas y depositarlas de forma individualizada sobre placa de Petri bajo lupa iluminada.

Digestión artificial: El cuerpo del pez era desprovisto de cabeza, cola y columna vertebral con el fin de introducir la musculatura del pez en una solución de digestión. La solución de digestión utilizada estaba compuesta por: 25 ml de ácido clorhídrico al 37%, 10 g de pepsina 1:3000 y agua destilada hasta completar el litro. En vaso de precipitados se añadía la muestra y la solución de digestión en una proporción 1:2. Se incubaba en estufa durante 24 horas a 37°C. Finalizada la digestión, el contenido era agitado y examinado bajo lupa.

No se encontró ninguna larva de anisakis en los ejemplares examinados, ni mediante la inspección visual ni en la prueba de la digestión de tejido muscular. Nuestros resultados coinciden con los del único estudio sobre prevalencia de anisakis en pescado de acuicultura que se realizó muestreando salmónes en Noruega (Lunestad, 2003), no encontrándose trabajos sobre peces de acuicultura mediterránea. La ausencia aparente de anisakis en pescados de acuicultura de nuestra litoral puede deberse a diversos factores; El más importante parece ser la alimentación, tal y como mantiene el sector productivo. La alimentación artificial mediante pienso limita enormemente que los peces criados en jaulas en mar abierto entren en contacto con la fuente de infestación que serían pequeños crustáceos o peces de menor tamaño. Sin embargo, aunque la probabilidad se limita mucho, no puede descartarse de forma absoluta este contacto, ya que las jaulas flotantes de acuicultura tienen un efecto atrayente para multitud de especies marinas por un efecto combinado de presencia de comida, atracción química y de protección (Dempieter *et al.*, 2001). Las especies cultivadas tradicionalmente en nuestras costas son la dorada y la lubina, no se sitúan como especies normalmente infectadas (Ferre, 2001). Aunque se trate de una parasitosis cosmopolita, la temperatura del agua parece ser de gran importancia, siendo más frecuente en aguas frías y polares, por ello las aguas del Mediterráneo, bastante cálidas, son menos favorables para el ciclo de vida de estos nematodos. Los datos de distintos estudios, como el de Fernández-Buendía (2008) corroboran que el grado de infestación en los peces del Atlántico es mucho mayor que el de los peces procedentes del Mediterráneo. La prevalencia más baja en el Mediterráneo también puede estar influida por un menor número de hospedadores definitivos (cetáceos y pinipedes), ya que se ha relacionado los niveles de infestación de peces con la abundancia de mamíferos marinos en una zona (Vauno, 1972), por lo que el ciclo biológico del parásito tendría un desarrollo más problemático. El tamaño de la muestra se va a incrementar durante los años 2008 y 2009 partiendo de unos niveles de prevalencia e incidencia que mejoren la significación estadística de los resultados. Además de incluir la coryna (*Argemoneus regalis*), se van a realizar controles en las 2 semestres del año, con el fin de incluir variables temporales y espaciales como pueden ser la temperatura del agua del mar, y los ciclos biológicos de los distintos hospedadores intermedios y definitivos.

4- REFERENCIAS

Dempieter, T., P. Stachow, J. Berth, E. Caciopuz. (2001) Nivel de infestación de las jaulas de cultivos marinos sobre la comunidad vírica en el SE Atlántico. Doctoral de la Universidad de Alagoas.
 Fernández-Buendía, F., M. A. Vauno, J. C. Vauno, A. Fernández. (2008) Estudios de las inspecciones: larvas a cabo en el control de productos que proceden de el municipio de Murcia en el año 2003 y 2004. Anuario del Consejo de Seguridad Alimentaria.
 Ferre, I. 2001. Anisakiosis y otros helmintos en acuicultura: diagnóstico por consumo doméstico. *Revista Aquaria* #14.
 Lunestad BT. 2003. Absence of anisakiosis in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J. Food Prot.* 66(1): 123-124.
 Young, P. C. 1972. The relationship between the presence of larval *Anisakis* species in cod and marine mammals in British home waters. *Journal of Parasitology*, 62, 309-302.

AGRADECIMIENTOS: Empresas de Acuicultura de la Región de Murcia
 Trabajo financiado por Planes Nacionales de Cultivos Marinos

Detección del virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) en distintas especies marinas de la región de Murcia



González¹, L.; Peñalver², J.; María-Dolores², E.; Montero¹, T.; Tafalla¹, C.



¹ Centro de Investigación en Sanidad Animal (INIA), Carretera de. Algete a El Casar, km 8.1, Valdeolmos 28130, (Madrid).

² Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia, Centro de Recursos Marinos, Puerto de San Pedro, 7, apto 65, 30740, San Pedro del Pinatar (Murcia).

INTRODUCCIÓN:

El virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) es un miembro de la familia *Birnaviridae* y por lo tanto se trata de un virus no envuelto, segmentado y con RNA de cadena doble. Aunque identificado en un primer momento en salmonidos, este virus también es capaz de afectar a varias especies marinas, aunque la mortalidad en todo caso es inversamente proporcional a la edad de los peces, siendo las mortalidades muy ocasionales en peces adultos (Rodríguez Saint-Jean et al., 2003). Dentro de un estudio de prevalencia realizado en 2008 en la región de Murcia y promovido por el Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia en el marco del proyecto JACUMAR sobre "creación de mapas epidemiológicos en acuicultura marina", se analizó por medio de reverso transcripción y reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) la presencia de IPNV a partir de muestras de bazo y riñón anterior obtenidas de un total de 143 individuos correspondientes a 9 especies marinas diferentes.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Las muestras biológicas (una mezcla de riñón anterior y bazo por cada animal) recogidas por parte del Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia de distintas especies de peces salvajes de la región de Murcia fueron enviadas al CISA en RNAlater (Ambion) para su posterior procesamiento.

Una vez recibidas en el CISA, se procedió a extraer el RNA total utilizando el kit RNeasy mini kit (Quiagen) y siguiendo las instrucciones del fabricante.

El RNA total de cada pez se pasó a cDNA utilizando Superscript III reverso transcriptasa (Invitrogen) y "random primers" tal como indica el fabricante.

Con el fin de identificar la presencia de IPNV en las distintas muestras, se efectuó una primera reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizando los primers F (5'-AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC-3') y R (5'-TGTCACCCACAGGAAAGATGACTC-3') previamente descritos (Heppell et al., 1992) que amplifican un fragmento de 358 pb. La reacción consistió en una desnaturalización de 5 min a 95°C seguida de 40 ciclos de 95°C 30 s, 54°C 30 s y 72°C 30 s, finalizando con un paso final de elongación de 72°C 7 min. Los productos obtenidos se corrieron en un gel de 1.5% de agarosa.

Posteriormente, estos productos de PCR fueron sometidos a una segunda reacción de PCR (nested PCR) utilizando los primers internos INTU (5'-AAAGGCATGGGGCTGGAGAG-3') y INTL (5'-CTCCGCTTCCCAGGACTC) que amplifican un fragmento de 304 pb (Cutrin et al., 2005). La reacción consistió en una desnaturalización de 5 min a 95°C seguida de 40 ciclos de 95°C 30 s, 54°C 30 s y 72°C 30 s, finalizando con un paso final de elongación de 72°C 7 min. Los productos obtenidos se corrieron en un gel de 1.5% de agarosa.

Los productos de PCR positivos que se obtuvieron, se enviaron a secuenciar para confirmar los resultados.

Referencias:

- Haggeli J, Berthiaume L, Terrab E, Lecomte J, Arella M. Evidence of genomic variations between infectious pancreatic necrosis virus strains determined by restriction fragments profiles. *J Gen Virol* 1992; 73: 2863-2870.
- Cutrin JM, López-Vázquez C, Olivares JG, Castro S, Dopazo CP, Brandín I. Isolation in cell culture and detection by PCR-based technology of IPNV-like virus from leucocytes of common turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). *J Fish Dis*. 2006; 28(12): 713-22.
- Rodríguez Saint-Jean S, Borrego JJ, Pérez-Prieto SI. Infectious pancreatic necrosis virus: biology, pathogenesis, and diagnostic methods. *Adv Virus Res* 2003; 62: 113-68.

RESULTADOS:

Durante el periodo comprendido entre el 10 de Septiembre de 2008 y el 22 de Diciembre de 2008, se muestrearon en aguas de la región de Murcia un total de 143 peces salvajes pertenecientes a las siguientes especies:

| | | |
|---------|-----------------------------------|---------------|
| Anguila | (<i>Anguilla anguilla</i>) | 34 individuos |
| Dorada | (<i>Sparus aurata</i>) | 31 individuos |
| Jurel | (<i>Trachurus trachurus</i>) | 21 individuos |
| Alacha | (<i>Sardinella aurita</i>) | 20 individuos |
| Corvina | (<i>Sciaena umbra</i>) | 14 individuos |
| Sargo | (<i>Diplodus</i> sp.) | 14 individuos |
| Magre | (<i>Lithognathus mormyrus</i>) | 5 individuos |
| Grisa | | 2 individuos |
| Mero | (<i>Epinephelus marginatus</i>) | 2 individuos |

Tras la primera PCR ninguna de estas muestras fue positiva para IPNV.

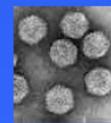
Al realizar la segunda PCR (nested) se obtuvieron algunos productos de amplificación del tamaño esperado. Una vez enviados a secuenciar, se confirmó la presencia de IPNV en 39 de estas muestras:

26 positivos en anguila
6 positivos en sargos
3 positivos en alacha
2 positivos en dorada
2 positivos en jurel

El IPNV identificado muestra una gran homología a nivel de secuencia con el aislado con número de referencia en el GenBank EF493156 en el caso de las anguilas y con el virus CroIPNV/06 en el caso de las muestras de sargo, alacha, dorada y jurel.

CONCLUSIONES:

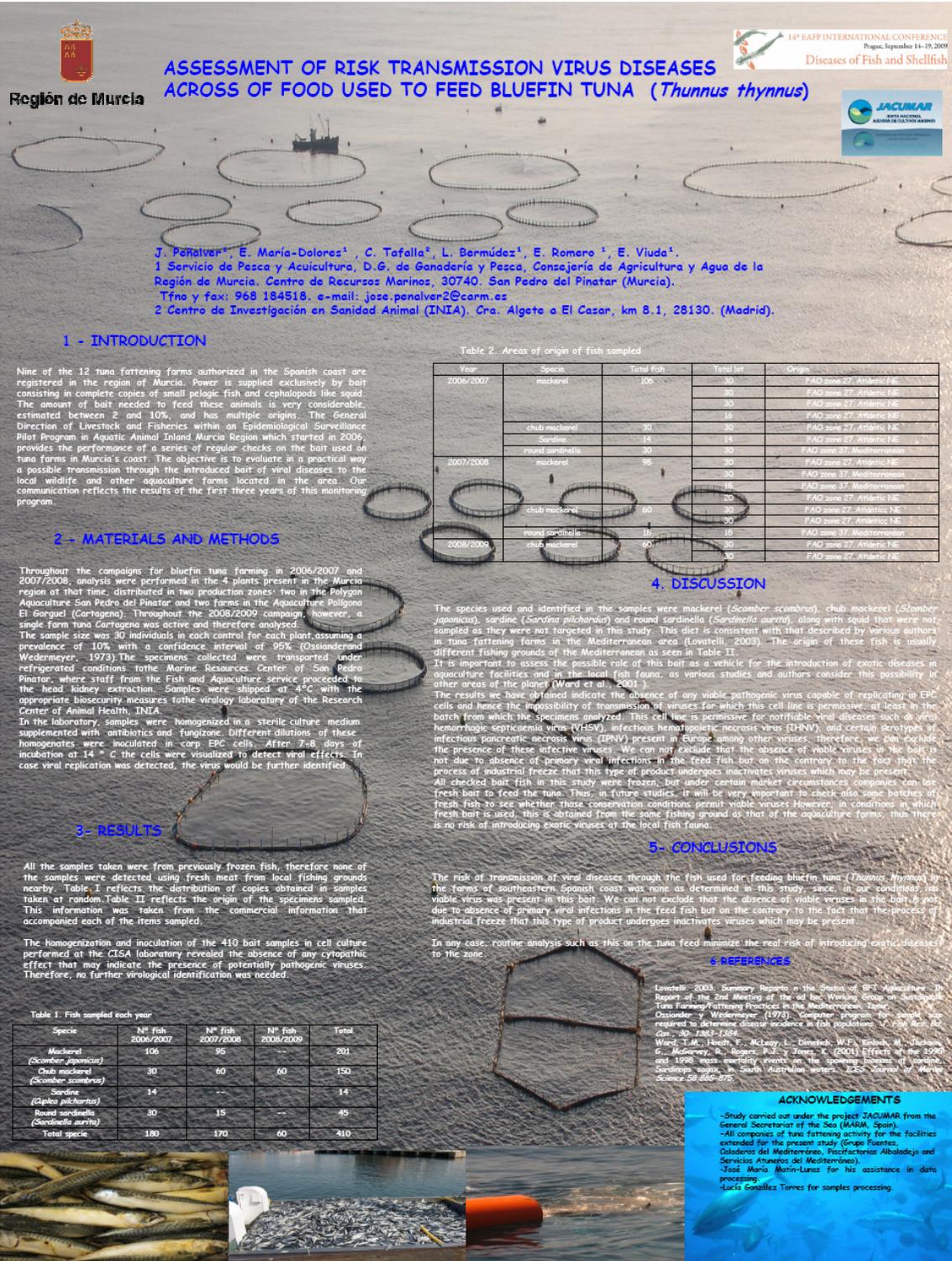
- IPNV, aunque sin manifestar signos de enfermedad, se encuentra presente en peces salvajes marinos de la región de Murcia
- Los IPNV identificados muestran una gran similitud a nivel de secuencia con los virus CroIPNV/06 y EF493156.
- La incorporación de una nested PCR, es capaz de detectar la presencia de IPNV en muestras que serían identificadas como negativas por PCR simple.



Agradecimientos: Este trabajo ha sido efectuado dentro de un proyecto JACUMAR promovido por el Servicio de Pesca y Acuicultura de Murcia. Lucía González Torres está contratada para este trabajo gracias a TRA6SEGA.



14th EAFF INTERNATIONAL CONFERENCE
Prague, September 14-19, 2009
Diseases of Fish and Shellfish



ASSESSMENT OF RISK TRANSMISSION VIRUS DISEASES ACROSS OF FOOD USED TO FEED BLUEFIN TUNA (*Thunnus thynnus*)

Región de Murcia

J. Peñalver¹, E. María-Dolores¹, C. Tafalla², L. Bermúdez¹, E. Romero¹, E. Viuda¹,
¹ Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia, Centro de Recursos Marinos, 30740, San Pedro del Pinatar (Murcia).
 Tfno y fax: 968 184518. e-mail: jose.peñalver2@car.m.es
² Centro de Investigación en Sanidad Animal (INIA), Cra. Algete a El Casar, km 8.1, 28130. (Madrid).

1 - INTRODUCTION

Nine of the 12 tuna fattening farms authorized in the Spanish coast are registered in the region of Murcia. Power is supplied exclusively by bait consisting in complete copies of small pelagic fish and cephalopods like squid. The amount of bait needed to feed these animals is very considerable, estimated between 2 and 10%, and has multiple origins. The General Direction of Livestock and Fisheries within an Epidemiological Surveillance Pilot Program in Aquatic Animal Inland Murcia Region which started in 2006, provides the performance of a series of regular checks on the bait used on tuna farms in Murcia's coast. The objective is to evaluate in a practical way a possible transmission through the introduced bait of viral diseases to the local wildlife and other aquaculture farms located in the area. Our communication reflects the results of the first three years of this monitoring program.

2 - MATERIALS AND METHODS

Throughout the campaigns for bluefin tuna farming in 2006/2007 and 2007/2008, analysis were performed in the 4 plants present in the Murcia region at that time, distributed in two production zones: two in the Polygon Acuicultura San Pedro del Pinatar and two farms in the Acuicultura Polígono El Gorguel (Cartagena). Throughout the 2008/2009 campaign, however, a single farm tuna Cartagena was active and therefore analysed. The sample size was 30 individuals in each control for each plant assuming a prevalence of 10% with a confidence interval of 95% (Ostendorp and Wedemeyer, 1978). The specimens collected were transported under refrigerated conditions to the Marine Resources Center of San Pedro Pinatar, where staff from the Fish and Aquaculture service proceeded to the head kidney extraction. Samples were shipped at 4°C with the appropriate biosecurity measures to the virology laboratory of the Research Center of Animal Health, INIA. In the laboratory, samples were homogenized in a sterile culture medium supplemented with antibiotics and fungicide. Different dilutions of these homogenates were inoculated in carp EPC cells. After 7-8 days of incubation at 14 °C the cells were visualized to detect viral effects. In case viral replication was detected, the virus would be further identified.

3- RESULTS

All the samples taken were from previously frozen fish, therefore none of the samples were detected using fresh meat from local fishing grounds nearby. Table I reflects the distribution of copies obtained in samples taken at random. Table II reflects the origin of the specimens sampled. This information was taken from the commercial information that accompanied each of the items sampled. The homogenization and inoculation of the 410 bait samples in cell culture performed at the CITA laboratory revealed the absence of any cytopathic effect that may indicate the presence of potentially pathogenic viruses. Therefore, no further virological identification was needed.

Table 1. Fish sampled each year

| Species | Nº fish 2006/2007 | Nº fish 2007/2008 | Nº fish 2008/2009 | Total |
|---|-------------------|-------------------|-------------------|-------|
| Mackerel (<i>Scorpaenopsis</i>) | 106 | 95 | — | 201 |
| Chub mackerel (<i>Scorpaenopsis</i>) | 30 | 60 | 60 | 150 |
| Sardine (<i>Gadus maderensis</i>) | 14 | — | — | 14 |
| Round sardinella (<i>Sardinella aurata</i>) | 30 | 15 | — | 45 |
| Total specie | 180 | 170 | 60 | 410 |

Table 2. Areas of origin of fish sampled

| Year | Species | Total fish | Total lot | Origin |
|-----------|---------------|------------|-----------|----------------------------|
| 2006/2007 | mackerel | 106 | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 46 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | chub mackerel | 30 | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 14 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 30 | FAO zone 31, Mediterranean |
| 2007/2008 | mackerel | 95 | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 30 | FAO zone 37, Mediterranean |
| | | | 35 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | chub mackerel | 60 | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 15 | FAO zone 31, Mediterranean |
| 2008/2009 | chub mackerel | 60 | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |
| | | | 30 | FAO zone 27, Atlantic NE |

4. DISCUSSION

The species used and identified in the samples were mackerel (*Scorpaenopsis scorpaenoides*), chub mackerel (*Scorpaenopsis japonicus*), sardine (*Scorpaenopsis sardina*) and round sardinella (*Sardinella aurata*), along with squid that were not sampled as they were not targeted in this study. This diet is consistent with that described by various authors in tuna fattening farms in the Mediterranean area (Lovatelli, 2003). The origin of these fish is usually different fishing grounds of the Mediterranean as seen in Table II. It is important to assess the possible role of this bait as a vehicle for the introduction of exotic diseases in aquaculture facilities and in the local fish fauna, as various studies and authors consider this possibility in other areas of the planet (Ward et al., 2001). The results we have obtained indicate the absence of any viable pathogenic virus capable of replicating in EPC cells and hence the impossibility of transmission of viruses for which this cell line is permissive, at least in the batch from which the specimens analyzed. This cell line is permissive for notifiable viral diseases such as viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV), infectious hematopoietic necrosis virus (IHNV), and certain serotypes of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) present in Europe, among other viruses. Therefore, the fish exclude the presence of these infective viruses. We can not exclude that the absence of viable viruses in the bait is not due to absence of primary viral infections in the feed fish but on the contrary to the fact that the process of industrial freeze that this type of product undergoes inactivates viruses which may be present. All checked bait fish in this study were frozen, but under certain market circumstances companies can use fresh bait to feed the tuna. Thus, in future studies, it will be very important to check also some batches of fresh fish to see whether those conservation conditions permit viable viruses. However, in conditions in which fresh bait is used, this is obtained from the same fishing ground as that of the aquaculture farms, this there is no risk of introducing exotic viruses at the local fish fauna.

5- CONCLUSIONS

The risk of transmission of viral diseases through the fish used for feeding bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) by the farms of southeastern Spanish coast was none as determined in this study, since, in our conditions, no viable virus was present in this bait. We can not exclude that the absence of viable viruses in the bait is not due to absence of primary viral infections in the feed fish but on the contrary to the fact that the process of industrial freeze that this type of product undergoes inactivates viruses which may be present. In any case, routine analysis such as this on the tuna feed minimize the real risk of introducing exotic diseases to the zone.

6 REFERENCES

Lovatelli: 2003, Summary Report on the Status of BFT Aquaculture. In Report of the 2nd Meeting of the ad hoc Working Group on Sustainable Tuna Farming Practices in the Mediterranean, Rome, 20-21 October, Ostendorp y Wedemeyer (1978). Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish populations. *J. Fish Res. Bd. Can.* 35: 2887-2894.
 Ward, T.M., Booth, F., McLeay, L., Dimmock, W.F., Kinloch, W., Mackinnon, G., McLeay, M., Spicer, P., & Jones, K. (2001). Effects of the 1999 and 1998 mass mortality events on the spawning success of southern Sardinops sagax in South Australian waters. *ICES Journal of Marine Science* 58:865-875.

ACKNOWLEDGEMENTS

- Study carried out under the project JACUMAR from the General Secretariat of the Sea (MARM, Spain).
- All companies of tuna fattening activity for the facilities extended for the present study (Grupo Fuentes, Coladeros del Mediterráneo, Piscifactorías Albaladejo and Servicios Atuneros del Mediterráneo).
- José María Martín-Lomas for his assistance in data processing.
- Lucía González Torres for samples processing.

Preliminary results of a pilot programme for epidemiologic vigilance of virus diseases in Murcia, S.E. Spain

J. Peñalver¹, E. María-Dolores¹, C. Tafalla², R. Diaz², E. Viuda, E. Romero, L. Bermúdez³, O. Gómez⁴

¹ Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia, Centro de Recursos Marinos, Puerto de San Pedro, 7, apto 85, 30740, San Pedro del Pinatar (Murcia), Tlno y fax: 968 184518, e-mail: jose.penalver2@carra.es
² Centro de Investigación en Sanidad Animal (INIA), Crta. Algete a El Casar, km 8,1, 28119, Madrid.

1 - INTRODUCTION

The Fisheries and Aquaculture Service of Murcia Government started in 2007 an experimental program of epidemiologic vigilance in aquaculture to assess the risks associated to some viral diseases both in aquaculture farms and wild fish populations. For this, the presence of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV), infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) and nodavirus was studied in fish through molecular techniques (PCR). Since it is necessary to lower the risk of virus transmission between both sides of the nets, we have studied fish grown in farms, wild fish belonging to the same species as those cultured, and wild fish belonging to species that can be widely found around the aquaculture farms that may serve to monitor for diseases in the cultured fish. In this communication we describe our preliminary results carried out during the first two years of these surveys.

2 - MATERIALS AND METHODS

The 1622 fish studied in this epidemiological survey (2007-2008) are described in Table I. 858 came from aquaculture and the remaining fish came from the wild. Biological samples obtained by the Fisheries and Aquaculture Service in Murcia from the different fish were shipped to CISA in RNAlater (Ambion) at 4°C to be further processed to determine the presence or absence of VHSV, IPNV or nodavirus through PCR. For each specimen, a sample containing both head kidney and spleen was provided for the detection of both VHSV and IPNV, whereas the brain was provided to study the prevalence of nodavirus.

Once at CISA, total RNA was extracted from all samples using the RNeasy mini kit (Qiagen) following the manufacturer's instructions. cDNA was obtained from these RNAs using Superscript III reverse transcriptase (Invitrogen) and random primers as indicated by the manufacturer. In order to detect the presence of the different viruses in these corresponding samples, a PCR was performed for each virus using specific primers. Reactions always consisted in a denaturation step of 5 min at 95°C followed by 40 cycles of 95°C 30 s, 54°C 30 s and 72°C 30 s, and ending with a final elongation step of 72°C for 7 min. The amplified products were visualized in an 1.5% agarose gel following ethidium bromide staining.

In the last 435 fish samples obtained in 2008, 1 µl of these PCR products was used in a second internal nested PCR reaction using the same PCR conditions and specific primers which hybridized within the first PCR product. In case amplification products of the expected size were obtained, these were further sequenced to confirm the results.

Primers used for viral detection have been described elsewhere and are shown in Table II (Heppell et al., 1992; Cutrin et al., 2005; Lopez-Vazquez et al., 2006; Oliveira et al., 2006).

3 - RESULTS

Table III. Nodavirus positives (PCR)

| Species | Fish | Origin |
|---------------|------|-------------|
| Trachurus spp | 1 | Fishing |
| Sparus aurata | 1 | Aquaculture |

Table IV. IPNV positives (nested PCR)

| Species | Fish | Origin |
|---------------|------|-------------|
| D. labrax | 5 | Aquaculture |
| Sparus aurata | 3 | Aquaculture |
| Sparus aurata | 2 | Fishing |
| Diplodus spp | 6 | Fishing |
| Trachurus spp | 2 | Fishing |
| S. aurata | 3 | Fishing |
| European cat | 22 | Fishing |

4. DISCUSSION

The results we have obtained in our epidemiological survey using classic PCR only show the presence of nodavirus in a few samples, and no positive samples for IPNV nor VHSV. When using nested PCR, however, we have been able to detect a much higher number of positive samples, especially for IPNV, even though no virus was later isolated from these samples. All this, reveals the need for further investigation in molecular techniques for use in viral epidemiological studies, since we still have to determine what to really declare when having a negative classic PCR and isolation and a positive nested PCR. Double check mechanisms for these very sensible techniques need to be established, especially for viruses such as IPNV capable of persistence, for which positive PCRs may not indicate the presence of live replicating virus.

Conducting inspections of aquaculture farms is fairly standardized in inland aquaculture, but little in marine aquaculture and wild fish. This work has allowed us to establish the program under these conditions taking into account the sampling, processing samples, species selection and sector collaboration. Responsible management of animal health is required to have the greatest scientific knowledge dealing with the epidemiological reality of fish stocks: both cultivated and wild, as the health status of a state can impact the other. However, EU regulations on fish health (Directive 88/2006) do not include wild fish surveillance programs. Certain species should be sampled according to their sensitivity or capacity to act as a carrier, together with their distribution and availability of capture.

2 - MATERIALS AND METHODS

Table I. Fish sampled each year

| Species | Origin | 2007 | 2008 | Total |
|------------------------|---------------|------------|--------------|-------------|
| Sparus aurata | Aquaculture | 152 | 291 | 403 |
| | Fishing | 60 | 125 | 185 |
| Dicentrarchus labrax | Aquaculture | 57 | 105 | 162 |
| | Fishing | 36 | 12 | 48 |
| Sciaenops ocellatus | Fishing | 22 | 63 | 85 |
| | Aquaculture* | 20 | 70 | 90 |
| Sardinella aurata | Fishing | 10 | 20 | 30 |
| | Aquaculture * | 31 | 148 | 179 |
| Boops boops | Fishing | 15 | 0 | 15 |
| | Aquaculture * | 12 | 21 | 33 |
| Trachurus spp | Fishing | 50 | 65 | 115 |
| | Fishing | 36 | 35 | 71 |
| Diplodus spp | Fishing | 0 | 33 | 33 |
| Lithognathus mionectes | Fishing | 0 | 34 | 34 |
| Mullus surmuletus | Fishing | 0 | 3 | 3 |
| Mugil spp | Fishing | 30 | 1 | 31 |
| Thunnus thynnus | Aquaculture | 0 | 20 | 20 |
| Epinephelus marginatus | Fishing | 0 | 2 | 2 |
| Labrus viridis | Fishing | 0 | 2 | 2 |
| Salpa salpa | Fishing | 30 | 36 | 66 |
| Pagrus acarne | Fishing | 0 | 12 | 12 |
| Megascopus gutturalis | Fishing | 0 | 3 | 3 |
| Total | | 561 | 1.061 | 1622 |

* Introduced Wild fish

ACKNOWLEDGEMENTS

- Study carried out under the project JACUMAR from the General Secretariat of the Sea (MARIM, Spain).
- Aquaculture enterprises and Fishermen's associations in the region of Murcia
- José María Martín-Lunas for his assistance in data processing.
- Lucía González Torres for sample processing.

**MANAGEMENT OF RISK TRANSMISSION OF VIRUS DISEASES VIA FOOD
USED TO FEED BLUEFIN TUNA (*Thunnus thynnus*) IN MURCIA (SE SPAIN)**

J Peñalver*, EM Dolores, C Tafalla, E Montero, E Romero, E Viuda and O Gómez
Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca
Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia
Centro de Recursos Marinos
Puerto de San Pedro, 7, apto 65. 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia, España)
jose.penalver2@carra.es

The fattening of bluefin tuna is a very important economic activity for Spanish aquaculture, and mainly for the Mediterranean area. The feeding is exclusively based on full specimens of little pelagic and cephalopods species, which come from fishing grounds different to Mediterranean. In order to prevent future infections, The Fisheries and Aquaculture Service of Murcia Govern have started in 2006, an experimental program to assess the risks derived from the introduction of exotic viruses in local wild fishes and in aquaculture farms because of this feeding process.

The 410 specimens investigated were negative, therefore no pathogen viruses were found. The meaning of these epidemiologic data and the basis for future monitoring campaigns are discussed.

**DEVELOPMENT OF A PILOT PROGRAMME FOR EPIDEMIOLOGIC
VIGILANCE OF VIRUS DISEASES IN MURCIA (SE SPAIN)**

J Peñalver*, EM Dolores, C Tafalla, E González, E Romero and L Bermúdez
Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca
Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia
Centro de Recursos Marinos
Puerto de San Pedro, 7, apto 65. 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia, España)
jose.penalver2@carm.es

The Fisheries and Aquaculture Service of Murcia Govern have started in 2007 an experimental program of epidemiology vigilance in aquaculture in order to measure the risks coming from some virus diseases from aquaculture farms and from wild fish. Besides, it is necessary to know the risk of virus transmission between both sides of the nets. We have studied fish grown in farms, fish from the same species but coming from the wild, species that can be usually found around aquaculture farms and monitored these species for virus diseases.

From the 1622 fish studied (2007-2008), 585 came from aquaculture and the remaining fish came from the wild. The viruses investigated were: Viral Encephalopathy and Retinopathy (VER), Viral Hemorrhagic Septicaemia (VHS) and Infectious Pancreatic Necrosis (IPN). We have found positive samples for nodavirus and Infectious Pancreatic Necrosis but we have not found any positive sample for Viral Hemorrhagic Septicaemia. The discussion covers the epidemiological meaning of the data. Finally, new monitoring campaigns are recommended based on this information and experience.

Valoración de la presencia del isópodo *Ceratothoa oestroides* en peces silvestres merodeadores en instalaciones de acuicultura del Levante.

E. MaríaDolores¹, L. Bermúdez¹, O. Gómez¹, E. Viuda¹, J.I. López¹, M.L. Pla¹, P. Muñoz² y J. Peñalver¹.

¹ Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Centro de Recursos Marinos. Puerto de San Pedro, apto 65, 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia). Tfno y fax: 968 184518. e-mail: jose.penalver2@carm.es

² Dpto. Sanidad Animal. Universidad de Murcia, 30100, Murcia.

Abstract

C. oestroides isopod is a relatively common species in wild fish, adults in developing oral cavity and causing alterations to the host. The intensive rearing conditions facilitate the development of pathologies. The presence of marauding wildlife is an added danger. On our coast have not been cases in the aquaculture species, but in other areas of the Mediterranean. In this paper we make a check on the presence of the parasite in adult specimens of marauding species and species of aquaculture fish infested obtained only in bogue, from outside and inside of the cages.

Programa de vigilancia sobre anisakis en pescado de acuicultura de la Región de Murcia

J. Peñalver, E. María Dolores, L. Bermúdez, O. Gómez, E. Viuda, J.I. López, M.L. Pla.

Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Centro de Recursos Marinos. Puerto de San Pedro, apto 65, 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia). Tfno y fax: 968 184518. e-mail: jose.penalver2@carm.es

Abstract

The entry into legal effects of RD 1420/2006 has created controversy over the presence of *Anisakis* larvae in fish aquaculture, especially marine industry's arguments based on studies conducted in Northern Europe. It is of great interest for the sector to demonstrate its absence in fish farms from the Mediterranean sea. In this work, checked the analyzed farmed fish within the JACUMAR project. Epidemiological Surveillance has been conducted to assess the presence of the parasite, both by visual examination as making artificial digestion techniques on muscle tissue. In total 851 fish were analyzed between 2006 and 2009 from farms in the coastal of Murcia, none positive.



Proyecto de caracterización de condiciones de sanidad animal en acuicultura marina: diseño de red piloto de vigilancia epidemiológica

E. Mariadolores¹, F. Real², L. Román², L. Sorroza², E. Areoso², A. Muñoz², C. Pereira², C. Tafalla² y J. Peñalver³
¹ Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de Murcia. Cartagena. Tfno: 968 326635.
 e-mail: emilio.mariadolores@car.m.es

² Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias. Servicio de Estructuras Pesqueras.
³ Consellería do Mar de la Xunta de Galicia. Direc. Xeral de Recursos Marinos.



JUSTIFICACIÓN

La sanidad animal tiene una importancia cada vez mayor en la gestión de las empresas de acuicultura. La administración responsable de la sanidad animal debe tener conocimiento científico sobre la realidad epidemiológica de las poblaciones de peces, tanto cultivadas como silvestres, ya que el estado sanitario de unos puede repercutir en el estado de los otros. Se pretende establecer un modelo para la creación de una red de vigilancia epidemiológica en acuicultura marina mediterránea.

Los objetivos específicos del proyecto son: Establecer un modelo teórico/práctico para el establecimiento de una red de vigilancia sanitaria en acuicultura marina. La puesta a punto, mejora y optimización de técnicas de diagnóstico sensibles y específicos de respuesta rápida. Mejorar el conocimiento sobre los niveles de prevalencia de las principales enfermedades víricas de importancia en acuicultura marina. Creación de bases de datos y mapas epidemiológicos. Aportar datos sobre niveles de prevalencia de estas enfermedades víricas en las poblaciones silvestres, tanto de las especies cultivadas como de otras que puedan actuar como monitoras. Confeccionar un mapa epidemiológico para las enfermedades víricas en acuicultura marina. Mejorar la formación de personal técnico de campo y de laboratorio. La entrada en vigor del RD 1614/2008 establece la necesidad de realizar un Sistema de Vigilancia Zoonositaria en las explotaciones de acuicultura, lo cual revaloriza los resultados del proyecto.

El proyecto está enmarcado en la línea prioritaria JACUMAR de Sanidad Animal, se desarrolla entre los años 2007 y 2009 participando las comunidades autónomas de Canarias, Galicia y Murcia, siendo esta última la encargada de la coordinación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los muestreos del plan de vigilancia experimental se realizarán a tres niveles: a) Controles rutinarios sobre ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura, sobre ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural y sobre ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios a las enfermedades de las especies cultivadas o bien ser usadas como especies centinela. b) Seguimientos específicos sobre: las importaciones, las nuevas especies en acuicultura y sobre los peces usados como alimento de atunes. c) Focos de enfermedad. Cuando exista un foco de enfermedad en acuicultura y cuando exista un foco de mortalidad o cualquier tipo de anomalías en peces silvestres.

Se han seleccionado las enfermedades: encefalopatía y retinopatía viral (VER), de incidencia y gran potencialidad; septicemia viral hemorrágica (SVH) cuya incidencia se considera nula pero que resulta de gran interés la investigación de posibles portadores, especialmente en peces silvestres, y la necrosis pancreática infecciosa (IPN) cuya presencia y/o prevalencia son desconocidas en acuicultura marina mediterránea. Los muestreos de los controles rutinarios se detallan en la tabla 1^{*}.

| Año | Origen Peces | Canarias | Galicia | Murcia | Total |
|-----------------|--------------|----------|---------|--------|-------|
| 2007 | Acuicultura | 300 | 930 | 209 | 1439 |
| | Silvestres | 896 | 201 | 382 | 1479 |
| | Total año | 1196 | 1131 | 591 | 2918 |
| 2008 | Acuicultura | 265 | 1920 | 376 | 2561 |
| | Silvestres | 1377 | 632 | 685 | 2694 |
| | Total año | 1642 | 2552 | 1061 | 5255 |
| 2009* | Acuicultura | 300 | 1920 | 520 | 2740 |
| | Silvestres | 1740 | 632 | 620 | 2992 |
| | Total año | 2040 | 2552 | 1140 | 5732 |
| Total Comunidad | | 4878 | 6285 | 2762 | 13875 |



RESULTADOS

La realización de muestreos, analíticas, reuniones han producido los siguientes resultados, se bien se está aún en el tercer año de proyectos y diversas tareas no están finalizadas:

Mejora de la competitividad del sector: seguimiento sanitario de las instalaciones de acuicultura; obtención de datos científicos sobre las enfermedades y su epidemiología. Establecimiento y especial valoración de técnicas rápidas de diagnóstico.

Mejora en la actividad investigadora: Coordinación de equipos interdisciplinarios en Sanidad Animal de las distintas Comunidades Autónomas y de la Administración General del Estado, como este prioritario es la aplicación de la nueva normativa de Sanidad (RD 1614/2008) y la normativa europea relacionada.

Integración de resultados en actuaciones de la administración en materia de sanidad animal: Transferencia de información a las distintas administraciones y autoridades sanitarias sobre epidemiología de las poblaciones de peces silvestres y de las posibles interacciones entre estos; realización de la experiencia de desarrollo de una Red Piloto de Vigilancia Epidemiológica para determinadas enfermedades de peces; conocimiento del estatus sanitario frente a determinadas patologías de las instalaciones de acuicultura marina y en poblaciones de peces silvestres; interacción entre peces cultivados y silvestres; elaboración de un mapa epidemiológico de enfermedades víricas de acuicultura marina; realización de estudios parasitológicos específicos; valorar la posible transmisión de enfermedades víricas a través de la carnada usada en la alimentación de los atunes; elaboración de una guía y protocolo de actuaciones en el caso de aparición de enfermedad listada en ejemplares de peces silvestres, cubriéndose así un aspecto sanitario de gran interés que la legislación no abarca suficientemente; valoración sobre el papel de las especies portadoras frente a las enfermedades listadas en el marco de la nueva normativa que regula y establece requisitos sanitarios (Reglamento 1251/2008); establecimiento de un protocolo de muestreo y diagnóstico denominado "Protocolo normalizado de trabajo para muestreo y diagnóstico de betanodavirus, VHSV e IPNV en peces silvestres y cultivados"; valoración del uso de técnicas de diagnóstico molecular en Planes de Vigilancia Epidemiológica; formación de personal, tanto de campo como de laboratorio, en materia de sanidad animal en acuicultura y la participación en consultas de las administraciones para el diseño o revisión de textos legales.

Artículos

DISEÑO DE MAPAS EPIDEMIOLOGICOS EXPERIMENTALES EN ACUICULTURA EN EL MARCO DE LOS PLANES NACIONALES DE CULTIVOS MARINOS

Maria Dolores Pedrero, E; Peñalver García, J; Mateo Aparicio Sánchez-Orejón, Antonio.

Servicio de Pesca y Acuicultura. Dirección General de Ganadería y Pesca. Consejería de Agricultura y Agua. Región de Murcia.

La Acuicultura se ha convertido en una importante fuente de producción de proteínas destinada al consumo humano, que representa hasta el 40% de la producción mundial de peces, moluscos y algas. En este marco, y como en cualquier producción ganadera, el acuicultor se enfrenta a una serie de retos de mercado y de competencia, entre los cuales se encuentran:

- Todo el área de la patología de peces y moluscos, y particular a las enfermedades de declaración obligatoria dentro de la Unión Europea. reguladas con la nueva Directiva_ 2006/88/CE relativa a los requisitos zoonosarios de los animales y de los productos de la acuicultura, y a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos.
- Las enfermedades infecciosas y parasitarias ligadas a la producción acuícola, y con mayor trascendencia económica en la cuenta de explotación.

Las Administraciones Públicas, como responsables de la sanidad animal, tiene la obligación de tener el mayor conocimiento científico sobre la realidad epidemiológica de las poblaciones de peces, tanto cultivadas como silvestres, máxime cuando el estado sanitario de unos puede repercutir en el estado de los otros.

Desde esta perspectiva, varias Comunidades Autónomas, Canarias, Andalucía, Cataluña y Galicia, coordinadas desde la Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia y la Subdirección General de Sanidad Animal del M.A.P.A., han presentado un proyecto que ha sido aprobado y financiado por la Junta Nacional de Cultivos Marinos (Secretaría General de Pesca Marítima), con una duración de tres años (2.007-2.009), que pretende establecer una red de vigilancia epidemiológica experimental para las principales enfermedades infecciosas de los peces y moluscos en la acuicultura marina mediterránea y atlántica, al tiempo que establecer los programas de aplicación a desarrollar en el nuevo marco legal, con

el objetivo de ser un instrumento científico eficaz para la gestión y policía sanitaria por parte de la Administración, y además sirva de base para la planificación de futuras redes de vigilancia.

Para ello se han seleccionado las enfermedades, desde el punto de vista de ser E.D.O, o bien desde su incidencia en la producción, como son la septicemia viral hemorrágica (SHV), la encefalopatía y retinopatía viral (VER) o la linfocitosis. También se incluyen enfermedades víricas cuya presencia y/o prevalencia son desconocidas en acuicultura marina mediterránea, como es el caso de la necrosis pancreática infecciosa (PNI) y la necrosis eritrocítica viral (VEN).

Se plantea un diseño de muestreo que abarca a las especies de acuicultura y a esas mismas especies obtenidas del medio natural, así como a 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 objetivo. La carnada usada en la alimentación en las granjas de engorde de atunes también será muestreada cuando proceda de caladeros distintos ante la posibilidad de ser una vía de introducción de agentes patógenos exóticos. Así mismo se realizarán controles específicos en caso de ciertas importaciones, detección de partidas de peces en acuicultura de origen desconocido o ante la presencia de brotes de mortalidad masiva, tanto en acuicultura como en peces silvestres.

El desarrollo de las técnicas diagnósticas rápidas y eficaces es también una herramienta básica en los planes de vigilancia epidemiológica y en la gestión de crisis y alertas sanitarias. Es por ello que en el presente proyecto se pretende poner a punto en las distintas Comunidades Autónomas la infraestructura necesaria para establecer de forma permanente redes de vigilancia epidemiológica experimentales, mediante la dotación de equipos adecuados y la preparación del personal técnico. Con este fin participarán, el Centro de Investigación en Sanidad Animal, dependiente del INIA, el Laboratorio de Sanidad del Algete (MAPA), y el Laboratorio de Vigo.

Valoración de la presencia del isópodo *Ceratothoa oestroides* en peces silvestres merodeadores en instalaciones de acuicultura del Levante.

E. MaríaDolores¹, L. Bermúdez¹, O. Gómez¹, E. Viuda¹, J.I. López¹, M.L. Pla¹, P. Muñoz² y J. Peñalver¹.

¹ Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Centro de Recursos Marinos. Puerto de San Pedro, apto 65, 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia). Tfno y fax: 968 184518. e-mail: jose.penalver2@carm.es

² Dpto. Sanidad Animal. Universidad de Murcia, 30100, Murcia.

Abstract

C. oestroides isopod is a relatively common species in wild fish, adults in developing oral cavity and causing alterations to the host. The intensive rearing conditions facilitate the development of pathologies. The presence of marauding wildlife is an added danger. On our coast have not been cases in the aquaculture species, but in other areas of the Mediterranean. In this paper we make a check on the presence of the parasite in adult specimens of marauding species and species of aquaculture fish infested obtained only in bogue, from outside and inside of the cages.

Justificación

La cría intensiva de peces conlleva sistemas de cultivo con elevadas concentraciones de ejemplares, lo cual facilita la aparición y difusión de enfermedades. La presencia de crustáceos parásitos en los peces silvestres es un hallazgo relativamente frecuente. Dentro de este tipo de parásitos, *Ceratothoa oestroides* (Riso, 1826) es un isópodo que se desarrolla en el interior de la cavidad bucal, lo cual provoca trastornos mecánicos e irritativos en el hospedador, pero además puede producir anemia, inmunosupresión y en determinados casos la muerte del pez. Este parásito supone un potencial riesgo para la acuicultura mediterránea, pudiendo producir graves perjuicios económicos en las instalaciones afectadas. Esta patología no ha sido descrita en instalaciones de acuicultura de nuestro litoral, pero sí lo ha sido con consecuencias graves en cultivos de dorada y lubina en Grecia, Turquía y en el Mar Adriático.

C. oestroides tiene una amplia variedad de hospedadores, entre los que destaca la boga (*B. boops*), diversas especies de Centracanthidae y otros Sparidae, en menor medida sardina (*C. pilchardus*), jurel (*Trachurus sp.*), salmonete (*Mullus sp.*) y brótola (*Phycis sp.*) (Kirkim *et al.* 2008). Dorada (*S. aurata*) y lubina (*D. labrax*) no parecen ser hospedadores naturales. Las instalaciones de acuicultura marinas ejercen un efecto de atracción de abundantes peces silvestres. Esta atracción se debe al efecto combinado de la presencia de alimento artificial, atracción química procedente de los peces estabulados y al efecto que ejercen las jaulas como FADs (*Fish Attraction Devices*). Estudios sobre granjas del sureste peninsular (Dempster *et al.*, 2002) sitúan como las especies más frecuentes: boga, alacha (*S. aurata*), jurel, mújol (Mugilidae), palometa (*T. ovatus*) y oblada (*O. melanura*). Resulta por ello de gran interés comprobar el nivel de prevalencia de este parásito en estas especies merodeadoras.

Material y Métodos

Se procedió a la recolección de ejemplares de boga, alacha y jurel tanto del exterior de las jaulas de acuicultura como del interior de las mismas, ya que es muy frecuente que las especies merodeadoras, en distintas fases de la cría, pero especialmente en las operaciones de cambio de red, queden atrapados en el interior. También se chequearon ejemplares de dorada y lubina procedentes de las mismas instalaciones, situadas en el Polígono Acuícola de San Pedro de Pinatar en la zona norte del litoral de Murcia. Los peces fueron sometidos a un meticuloso examen de la cavidad bucal para la búsqueda de las formas adultas del parásito. El muestreo se realizó entre mayo y agosto de 2007 y el número de ejemplares por especie se refleja en la tabla 1.

Tabla 1. Número de ejemplares chequeados por especie y origen

| | Exterior Jaulas | Interior Jaulas | Total |
|---------------|-----------------|-----------------|-------|
| Boga | 71 | 142 | 213 |
| Jurel | 33 | 5 | 38 |
| Alacha | 29 | 17 | 46 |
| Dorada | -- | 152 | 152 |
| Lubina | -- | 57 | 57 |

Resultados y Discusión

De las tres especies silvestres analizadas, sólo se encontró el parásito (parejas de macho y hembra) en boga. En el caso de las bogas obtenidas en el exterior de las jaulas, la prevalencia fue de un 9,8% (7 de 71) frente a una prevalencia del 3,5% en los ejemplares procedentes del interior de las jaulas (5 de 142). Matasin y Vucinic (2008) encuentran en el Adriático una prevalencia en boga no asociada a jaulas del 12,8 %, lo cual está en concordancia con nuestros resultados. En la bibliografía consultada se considera a esta especie como la que presenta una prevalencia netamente superior que el resto de especies. Para el total de los ejemplares de esta especie, la prevalencia fue de un 5,6 %. Los ejemplares de jurel y alacha no estaban infestados, hecho sí descrito por otros autores tanto en jurel como en sardina (Kirkim et al. 2008).

Los ejemplares de acuicultura, tanto dorada como lubina, no presentaban en ningún caso el parásito. Hasta la fecha no ha sido descrita esta patología en nuestras costas, pero sí han acaecido episodios graves en piscifactorías marinas de Grecia (Sarusic, 1999), Turquía (Horton y Akamura, 2001) y en el Adriático (Mladineo, 2003). Las instalaciones de acuicultura de nuestro litoral están normalmente situadas lejos de paredes y fondos rocosos, sobre una columna de agua elevada y con gran renovación de agua, todo lo cual dificulta la infestación de los ejemplares de acuicultura, que pasan toda su fase de engorde en esas condiciones. Además los adultos de *C. oestroides* no pueden migrar de un hospedador a otro. En cualquier caso, es necesario realizar un seguimiento sobre la epidemiología de este parásito.

Bibliografía

- Dempster, T., P. Sánchez, J.T. Bayle, F. Giménez, C. Valle. 2002. Attraction of wild fish to sea-cage fish farms in the south-wester Mediterranean Sea: spatial and short-term temporal variability. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 242: 237-252.
- Horton, T., B. Akamura. 2001. Cymothoid isopod parasites in aquaculture: a review and case study of a turkish sea bass (*D. labrax*) and sea bream (*S. aurata*) farm. *Dis. Aquat. Org.* 46: 181-188.
- Kirkim, F., A. Kocatat, T. Katagan, M. Sezgin. 2008. A report on parasitic isopods (Crustacea) from marine fishes and decapods in Aegean Sea (Turkey). *Acta Paras. Turcica* (www.tpavazitolderg.org).
- Mladineo, I. 2003. Prevalence of *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826), a cymothoid isopode parasite, in cultured sea bass (*D. labrax*) on two farms in Middle Adriatic Sea. *Acta Adriat.* 43(1): 97-102.
- Matasin, Z., S. Vucinic. 2008. *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826) bogue (*Boops boops*) and picarel (*Spicara smaris*) from the Velebit channel in the Northern Adriatic. *Veterinarski Arhiv* 78 (4): 363-367.
- Sarusic, G. 1999. Preliminary report of infestacion by isopod *Ceratothoa oestroides* (Risso, 1826) in marine cultured fish. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathologists* 19: 110-112.

Agradecimientos

El presente trabajo se ha realizado en el marco del proyecto JACUMAR de Vigilancia Epidemiológica en Acuicultura Marina.

Programa de vigilancia sobre anisakis en pescado de acuicultura de la Región de Murcia

J. Peñalver, E. María Dolores, L. Bermúdez, O. Gómez, E. Viuda, J.I. López, M.L. Pla.

Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de la Región de Murcia. Centro de Recursos Marinos. Puerto de San Pedro, apto 65, 30740. San Pedro del Pinatar (Murcia). Tfno y fax: 968 184518. e-mail: jose.penalver2@carm.es

Abstract

The entry into legal effects of RD 1420/2006 has created controversy over the presence of *Anisakis* larvae in fish aquaculture, especially marine industry's arguments based on studies conducted in Northern Europe. It is of great interest for the sector to demonstrate its absence in fish farms from the Mediterranean sea. In this work, checked the analyzed farmed fish within the JACUMAR project. Epidemiological Surveillance has been conducted to assess the presence of the parasite, both by visual examination as making artificial digestion techniques on muscle tissue. In total 851 fish were analyzed between 2006 and 2009 from farms in the coastal of Murcia, none positive.

Justificación

La presencia de larvas de anisakis en el pescado de consumo humano supone un riesgo para la salud pública. Con el fin de disminuir la incidencia de esta zoonosis, las autoridades sanitarias a nivel europeo promulgaron diversa normativa la cual ha tenido su reflejo a nivel nacional en el Real Decreto 1420/2006. La aplicación de esta normativa ha provocado reacciones contrarias en diversos sectores y ha suscitado una polémica sobre la ausencia o no de este parásito en los ejemplares procedentes de la acuicultura. No hay estudios sobre la presencia de anisakis en ejemplares procedentes de acuicultura marina mediterránea, justificándose por el sector su ausencia en estudios realizados básicamente en el Norte de Europa (Lunestad, 2003). Resulta de gran interés verificar la ausencia de larvas de este parásito en los productos de la acuicultura, lo cual puede aportar un valor añadido a estas producciones.

Material y Métodos

Estudio sobre peces engordados en instalaciones acuícolas en mar abierto de la Región de Murcia entre los años 2.006 y 2.009. Los ejemplares eran de talla comercial o próxima a ella. La distribución temporal y por especies se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución temporal y por especies de peces analizados

| Año | Dorada | Lubina | Total Año |
|---------------|--------|--------|-----------|
| 2006 | 66 | 34 | 100 |
| 2007 | 152 | 57 | 209 |
| 2008 | 251 | 105 | 356 |
| 2009 | 143 | 43 | 186 |
| Total Especie | 612 | 239 | |
| Total Estudio | | | 851 |

Todos los ejemplares fueron necropsiados por personal del Servicio de Pesca y Acuicultura en las instalaciones del Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar anotándose las características morfológicas habituales. Posteriormente fueron sometidos a un examen visual completo, tanto de la cavidad abdominal como de los órganos del aparato digestivo, para detectar la presencia de larvas libres

de anisakis y posteriormente fueron sometidos a una digestión artificial de músculo para detectar la presencia de larvas en dicho tejido siguiendo la sistemática descrita por Osanz (2001).

Resultados y Discusión

No se encontró ninguna larva de anisakis en los ejemplares examinados, ni mediante la inspección visual ni en la prueba de la digestión de tejido muscular. Nuestros resultados coinciden con los de Lunestad (2003) en salmones, quien muestreó 1180 peces, realizando también inspección visual y digestión artificial de músculo. Excepcionalmente, Marty (2008) encontró una larva de anisakis en intestino de salmón cultivado en Canadá.

Existen muchos estudios sobre prevalencia de larvas de anisakis en peces procedentes de pesca extractiva. En estos estudios se analizan multitud de especies, estableciéndose en algunos trabajos recopilatorios las especies más frecuentemente infestadas (Ferre, 2001), no apareciendo la dorada ni la lubina entre ellos.

La ausencia de anisakis en pescados de acuicultura de nuestro litoral puede deberse a diversos factores: El más importante parece ser la alimentación. Lo cierto es que la alimentación artificial mediante pienso limita enormemente que los peces criados en jaulas en mar abierto entren en contacto con la fuente de infestación que serían pequeños crustáceos o incluso peces de menor tamaño como ocurre en los peces silvestres. Las especies cultivadas tradicionalmente en nuestras costas son la dorada y la lubina, las cuales no se citan como especies normalmente infectadas (Ferre, 2001). Aunque se trata de una parasitosis cosmopolita, tal y como cita el anterior autor, la temperatura del agua parece ser de gran importancia, siendo más frecuente en aguas frías y polares, lo cual implica que las aguas del Mediterráneo, bastante cálidas, sean menos favorables para el ciclo de vida de estos nematodos. Los datos de distintos estudios, como el de Fernández-Buendía (2005), corroboran que el grado de infestación en los peces del Atlántico es mucho mayor que el de los peces procedentes del Mediterráneo. La prevalencia más baja en el Mediterráneo también puede estar influida por un menor número de hospedadores definitivos.

Bibliografía

- Fernández-Buendía, F.; M. J. Pérez; C. Hernández; A. Fernández. (2005). Resultados de las inspecciones llevadas a cabo en el programa de control de parásitos en el pescado en el municipio de Murcia en el año 2003 y 2004. *Actas del I Congreso de Seguridad Alimentaria*.
- Ferre, I. 2001. Anisakiosis y otras zoonosis parasitarias transmitidas por consumo de pescado. *Revista Aquatic* nº14.
- Lunestad, B.T. 2003. Absence of nematodos in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J. Food Prot.* 66(1): 122-124.
- Marty, G.D. 2008. Anisakid larva in th eviscera of a farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 279: 209-210.
- Osanz, A.C. 2001. Presencia de larvas de anisakis (Nematodo: ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona.

Agradecimientos

El presente trabajo se ha realizado en el marco del proyecto JACUMAR de Vigilancia Epidemiológica en Acuicultura Marina.

Los autores agradecen a Emilio Romero y Jose M^a Martín-Lunas su inestimable colaboración en procesado de las muestras y análisis de datos.

Proyecto de caracterización de condiciones de sanidad animal en acuicultura marina: diseño de red piloto de vigilancia epidemiológica

E. MaríaDolores¹, F. Real², L. Román², L. Sorroza², E. Areoso³, A. Muñoz³, C. Pereira³, C. Tafalla¹ y J. Peñalver¹

¹ Servicio de Pesca y Acuicultura, D.G. de Ganadería y Pesca, Consejería de Agricultura y Agua de Murcia. Edificio Foro, Cartagena. Tfno: 968 326635. e-mail: emilio.mariadolores@carm.es

² Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentación del Gobierno de Canarias. Servicio de Estructuras Pesqueras. ³ Consellería do Mar de la Xunta de Galicia. Direc. Xeral de Recursos Mariños.

Abstract

The objective of this project JACUMAR is the development of strategies to design a network for epidemiological surveillance for diseases of interest in marine aquaculture by the competent authorities, control samples from the farms and samples from the wild (cultivated species and other sites). With this objective we have designed a large sampling program against various diseases, as well as various working groups that develop technical and policy aspects. We present the main results.

Justificación

La sanidad animal tiene una importancia cada vez mayor en la gestión de las empresas de acuicultura. La administración responsable de la sanidad animal debe tener conocimiento científico sobre la realidad epidemiológica de las poblaciones de peces, tanto cultivadas como silvestres, ya que el estado sanitario de unos puede repercutir en el estado de los otros. Se pretende establecer un modelo para la creación de una red de vigilancia epidemiológica en acuicultura marina mediterránea.

Los objetivos específicos del proyecto son: Establecer un modelo teórico/práctico para el establecimiento de una red de vigilancia sanitaria en acuicultura marina. La puesta a punto, mejora y optimización de técnicas de diagnóstico sensibles y específicas de respuesta rápida. Mejorar el conocimiento sobre los niveles de prevalencia de las principales enfermedades víricas de importancia en acuicultura marina. Creación de bases de datos y mapas epidemiológicos. Aportar datos sobre niveles de prevalencia de estas enfermedades víricas en las poblaciones silvestres, tanto de las especies cultivadas como de otras que puedan actuar como monitoras. Confeccionar un mapa epidemiológico para las enfermedades víricas en acuicultura marina. Mejorar la formación de personal técnico de campo y de laboratorio.

El proyecto está enmarcado en la línea prioritaria JACUMAR de Sanidad Animal, se desarrolla entre los años 2007 y 2009 participando las comunidades autónomas de Canarias, Galicia y Murcia, siendo esta última la encargada de la coordinación.

La entrada en vigor del RD 1614/2008 establece la necesidad de realizar un Sistema de Vigilancia Zoonosológica en las explotaciones de acuicultura, lo cual revaloriza los resultados del proyecto.

Material y Métodos

Los muestreos del plan de vigilancia experimental se realizarán a tres niveles: a) Controles rutinarios sobre ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura, sobre ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural y sobre ejemplares de especies no cultivadas pero que puedan actuar como reservorios a las enfermedades de las especies cultivadas o bien ser usadas como especies centinela. b) Seguimientos específicos sobre: las importaciones, las nuevas especies en acuicultura y sobre los peces usados como alimento de atunes. c) Focos de enfermedad. Cuando exista un foco de enfermedad en acuicultura y cuando exista un foco de mortalidad o cualquier tipo de anomalías en peces silvestres.

Se han seleccionado las enfermedades: encefalopatía y retinopatía viral (VER), de incidencia y gran potencialidad, septicemia viral hemorrágica (SHV) cuya incidencia se considera nula pero que resulta de gran interés la investigación de posibles portadores, especialmente en peces silvestres, y la necrosis pancreática infecciosa (IPN) cuya presencia y/o prevalencia son desconocidas en acuicultura marina mediterránea. Los muestreos de los controles rutinarios se detallan en la tabla 1:

Tabla1. Muestreos de los controles rutinarios por Comunidades Autónomas

| Año | Origen Peces | Canarias | Galicia | Murcia | Total |
|-----------------|--------------|----------|---------|--------|-------|
| 2007 | Acuicultura | 300 | 930 | 209 | 1439 |
| | Silvestres | 896 | 201 | 352 | 1449 |
| | Total año | 1196 | 1131 | 561 | 2888 |
| 2008 | Acuicultura | 265 | 1920 | 376 | 2561 |
| | Silvestres | 1377 | 632 | 685 | 2694 |
| | Total año | 1642 | 2552 | 1061 | 5255 |
| 2009* | Acuicultura | 300 | 1920 | 520 | 2740 |
| | Silvestres | 1740 | 632 | 620 | 2992 |
| | Total año | 2040 | 2552 | 1140 | 5732 |
| Total Comunidad | | 4878 | 6235 | 2762 | 13875 |

* Muestreo previsto

Resultados

La realización de muestreos, analíticas, reuniones y grupos de trabajo han producido los siguientes resultados, se bien se debe considerar que se está aún en el tercer año de proyectos y diversas tareas no están finalizadas.

Mejora de la competitividad del sector: seguimiento sanitario de las instalaciones de acuicultura; obtención de datos científicos sobre las enfermedades y su epidemiología. Establecimiento y en especial valoración de técnicas rápidas de diagnóstico.

Mejora en la actividad investigadora: Coordinación de equipos interdisciplinares en Sanidad Animal de las distintas Comunidades Autónomas y de la Administración General del Estado, campo este prioritario es la aplicación de la nueva normativa de Sanidad (RD 1614/2008) y la normativa europea relacionada.

Integración de resultados en actuaciones de la administración en materia de sanidad animal: Transferencia de información a las distintas administraciones y autoridades sanitarias sobre epidemiología de las poblaciones de peces silvestres y de las posibles interacciones entre estos; realización de la experiencia de desarrollo de una Red Piloto de Vigilancia Epidemiológica para determinadas enfermedades de peces; conocimiento del estatus sanitario frente a determinadas patologías de las instalaciones de acuicultura marina y en poblaciones de peces silvestres; interacción entre peces cultivados y silvestres; elaboración de un mapa epidemiológico de enfermedades víricas de acuicultura marina, realización de estudios parasitológicos específicos; valorar la posible transmisión de enfermedades víricas a través de la carnada usada en la alimentación de los atunes; elaboración de una guía y protocolo de actuaciones en el caso de aparición de enfermedad listada en ejemplares de peces silvestres, cubriéndose así un aspecto sanitario de gran interés que la legislación no abarca suficientemente; valoración sobre el papel de las especies portadoras frente a las enfermedades listadas en el marco de la nueva normativa que regula y establece requisitos sanitarios (Reglamento 1251/2008), establecimiento de un protocolo de muestreo y diagnóstico denominado: "Protocolo normalizado de trabajo para muestreo y diagnóstico de betanodavirus, VHSV e IPNV en peces silvestres y cultivados"; valoración del uso de técnicas de diagnóstico molecular en Planes de Vigilancia Epidemiológica; formación de personal, tanto de campo como de laboratorio, en materia de sanidad animal en acuicultura y la participación en consultas de las administraciones para el diseño o revisión de textos legales.

Research Note

Absence of Anisakid Larvae in Farmed European Sea Bass (*Dicentrarchus labrax* L.) and Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata* L.) in Southeast Spain

J. PEÑALVER,¹* E. MARÍA DOLORES,¹ AND P. MUÑOZ²

¹Dirección General de Ganadería y Pesca, Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, Murcia, Spain; and ²Dpto. Sanidad Animal, Universidad de Murcia, 30100, Murcia, Spain

MS 09-484: Received 12 November 2009/Accepted 16 January 2010

ABSTRACT

In the present study, a total of 871 farmed fish, 612 gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) and 259 European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.), were examined for the presence of anisakid larvae. Two diagnostic methods were applied, visual inspection and artificial digestion based on the degradation of fish soft tissue in an acidified pepsin enzyme solution. None of the samples examined in this study contained any anisakid parasite. The results suggest that consumption of these farmed fish species carries a minimal risk of exposure to these nematodes in this region.

Anisakidosis is a human infection with the third larval stage (L3) of nematodes belonging to the family Anisakidae or Raphidascaridae. The species most frequently encountered are *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens*, while *Anisakis physeteris* and *Contracaecum* spp. have been reported in a few cases (3). The accidental ingestion of these parasites, generally after the consumption of raw or inadequately cooked parasitized fish, can cause severe abdominal pain, digestive disorders, and/or allergies in humans (3, 6). The majority of reported anisakidosis cases are from Japan, where consumption of raw fish is common and 2,000 cases are diagnosed annually. However, globalization has made anisakidosis a more and more frequent disease worldwide, due to consumer-related factors such as increased international travel and changes in eating habits.

Anisakid parasites have a complex life cycle. Adult parasites lay eggs in the intestines of piscivorous mammals, and the eggs develop and hatch as free-swimming L2 larvae, which are ingested by crustaceans and develop into L3 larvae (8). After infected crustaceans are ingested by a fish, the L3 larvae penetrate the intestinal wall of the fish and remain encysted or attached to the visceral cavity until the fish is consumed by the piscivorous mammal. Anisakid parasites undertake a postmortem migration from the body cavity to the flesh of some teleost fish. Any fish or cephalopod species can be parasitized by L3 anisakis larvae. Codfish, hake, sardines, anchovies, salmon, tuna, and squid are among the most frequently parasitized species (7). Nevertheless, few studies have focused on the prevalence of anisakid parasites in some common Mediterranean fish

species. A recent study has pointed out a high prevalence, up to 89.36%, of Anisakidae larvae in wild European sea bass (4). This teleost species is, with gilthead sea bream, one of the two most important fish species commercialized in Spain. Although farmed fish are supposed to be free of anisakid parasites, a case of anisakid larvae in a farmed Atlantic salmon (*Salmon salar*) has been recently reported (14). For this reason, the aim of this work was to study the presence of anisakid parasites in farmed gilthead sea bream and European sea bass in order to ensure that products of this aquaculture sector are free of parasites.

MATERIALS AND METHODS

A total of 871 fish, 612 gilthead sea bream and 259 European sea bass, from 10 farms (designated farm 1 to farm 10) located in Murcia Region (Western Mediterranean Sea) were sampled. During the period of this study, June 2006 through September 2009, 38 samplings were conducted (Table 1), and the sample size varied from 6 to 44 fish per farm visit (median, 22.9). In the laboratory, the fish were sampled immediately after collection. They were measured, and three fish weight categories were defined: fry-juvenile (≤ 50 g, $n = 50$), precommercial size market (51 to 200 g, $n = 145$), and market size (>200 g, $n = 676$).

Diagnostic procedures on each sampled fish include visual examination and artificial digestion. For visual examination the fish were dissected by making an incision along the ventral line from the anus to the oral aperture, and the whole body cavity, the abdominal organs, and gastrointestinal content were carefully examined on a petri dish with illumination to detect the Anisakidae larvae. For artificial digestion, a procedure previously described was conducted (15). Briefly, muscle tissue was dissected and digested in 1 liter of freshly prepared 1% (wt/vol) pepsin (1:3,000 activity) and 1% (wt/vol) hydrochloric acid in distilled water. Individual digestion was carried out at 37°C during 24 h. Digested

* Author for correspondence. Tel: + 34 968 184518; Fax: + 34 968 184518; E-mail: jose.penalver2@cam.es.

TABLE 1. Distribution of the number of *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax* specimens sampled in each farm and period of time

| Yr | Fish species | Location | No. of sampled fish |
|-------|-----------------------------|----------|---------------------|
| 2006 | <i>Sparus aurata</i> | Farm 1 | 15 |
| | | Farm 2 | 30 |
| | | Farm 3 | 21 |
| | <i>Dicentrarchus labrax</i> | Farm 3 | 10 |
| | | Farm 4 | 24 |
| 2007 | <i>S. aurata</i> | Farm 1 | 22 |
| | | Farm 2 | 30 |
| | | Farm 3 | 30 |
| | | Farm 4 | 20 |
| | <i>D. labrax</i> | Farm 6 | 30 |
| | | Farm 8 | 20 |
| | | Farm 5 | 6 |
| | | Farm 7 | 31 |
| | | Farm 8 | 20 |
| | | Farm 1 | 33 |
| 2008 | <i>S. aurata</i> | Farm 2 | 30 |
| | | Farm 3 | 32 |
| | | Farm 4 | 58 |
| | | Farm 5 | 10 |
| | | Farm 6 | 24 |
| | | Farm 7 | 35 |
| | | Farm 8 | 29 |
| | | Farm 3 | 20 |
| | <i>D. labrax</i> | Farm 4 | 10 |
| | | Farm 6 | 25 |
| | | Farm 7 | 30 |
| | | Farm 8 | 20 |
| | | Farm 1 | 25 |
| | | Farm 3 | 44 |
| 2009 | <i>S. aurata</i> | Farm 4 | 32 |
| | | Farm 7 | 10 |
| | | Farm 9 | 7 |
| | | Farm 10 | 25 |
| | | Farm 1 | 20 |
| | | Farm 3 | 23 |
| | <i>D. labrax</i> | Farm 3 | 23 |
| | | Farm 6 | 20 |
| | | Farm 1 | 20 |
| | | Farm 3 | 23 |
| Total | | | 871 |

tissue was observed on a petri dish under a stereomicroscope. Anisakid larvae obtained from wild mackerel (*Scomber scombrus*) were used as control for parasite resistance to the enzymatic solution.

RESULTS AND DISCUSSION

None of the 259 European sea bass or of the 612 gilthead sea bream had evidence of anisakid parasites. The high sensitivity of one of the diagnostic methods used, artificial digestion (10), negates the hypothesis of misdiagnosis.

The development of food allergies is an increasingly common concern among consumers worldwide. In fact, *A. simplex* extracts are now included in the standard sets for allergens for the investigations of food allergies, anaphylaxis, and even drug allergies (14). For this reason, the fish processing industry and the consumer want a safe and appetizing fish product that is free from nematodes. Some

authors have demonstrated the absence of anisakid parasites in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) (1, 5, 9, 12) due to the feeding methods used in fish farms and to the anisakid life cycle. The cycle is broken in farmed fish because the processing of formulated feeds renders the L3 larvae nonviable. Nevertheless, current fish farming practices involve open-net cages that eventually allow exposure of fish to the crustacean intermediate host. In fact, a case of anisakid larvae in a farmed Atlantic salmon has been recently reported (13), indicating that on rare occasions these farmed salmonids might ingest anisakids and become infected.

As far as authors are aware, no data are available regarding the prevalence of anisakids in wild or farmed gilthead sea bream, and a recent study has been focused on the prevalence of these nematodes in wild European sea bass (4). This could be due to the fact that these fish are not usually consumed raw and consequently are not considered as potential risk. In fact, most Spanish cases of anisakidosis have been ascribed to the consumption of raw anchovies, usually as anchovies in vinegar (11), a highly popular dish in Spain and other Mediterranean countries. For this reason, European Union and Spanish regulations require food establishments to freeze fish destined for raw consumption. Nevertheless, hypersensitivity reactions to parasite antigen can occur after ingestion of fresh, but also previously frozen, or cooked fish products (2). *Anisakis*-associated hypersensitivity cases have been particularly noted in northern Spain, with the allergic cases predominantly related to the consumption of cooked hake (*Merluccius merluccius*) (3). So, epidemiological studies regarding the prevalence of anisakids in the two most important species commercialized in Europe are of considerable interest.

The results of the present work point out the absence of anisakid parasites in European sea bass and gilthead sea bream farmed in Mediterranean coast of Spain. In the recent study of wild European sea bass, which reported prevalence ranging between 65 and 89.36% in relation with body weight, the fish were caught from the northeastern Atlantic Ocean (4). Various authors have suggested that parasitization by anisakids can vary among fish of the same species but different origins. In fact, a higher prevalence of anisakid larvae in fish from the Atlantic Ocean than in those from the Mediterranean Sea (16, 18) has been reported. Nevertheless, anisakids have been detected in many wild fish near the western Mediterranean coast (17–19), and probably these nematoda are also present in wild European sea bass and gilthead sea bream from the Mediterranean sea.

In conclusion, although farmed European sea bass or gilthead sea bream might eventually ingest anisakids and become infected, our work indicates that consumption of these farmed fishes results in minimal risk of exposure to anisakid parasites in this region.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the National Plan of Aquaculture (JACUMAR). The authors thank E. Romero for his assistance with fish processing and R. Ruiz de Ybáñez for manuscript revision.

REFERENCES

1. Angot, A., and P. Brasseur. 1993. European farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) are safe from anisakid larvae. *Aquaculture* 118: 339–344.
2. Audicana, M. T., I. J. Ansoategui, L. Fernández de Corres, and M. W. Kennedy. 2002. *Anisakis simplex*: dangerous—dead and alive? *Trends Parasitol.* 18:20–25.
3. Audicana, M. T., and M. W. Kennedy. 2008. *Anisakis simplex*: from obscure infectious worm to inducer of immune hypersensitivity. *Clin. Microbiol. Rev.* 21:360–379.
4. Bernardi, C. 2009. Preliminary study on prevalence of larvae of Anisakidae family in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Food Control* 20:433–434.
5. Bristow, G. A., and B. Berland. 1991. A report on some metazoan parasites of wild marine salmon (*Salmo salar* L.) from the west-coast of Norway with comments on their interactions with farmed salmon. *Aquaculture* 98:311–318.
6. Butt, A. A., K. E. Aldridge, and C. V. Sanders. 2004. Infections related to the ingestion of seafood. Part II. Parasitic infections and food safety. *Lancet Infect. Dis.* 4:294–300.
7. Choi, S. J., J. C. Lee., M. J. Kim, G. Y. Hur, S. Y. Shin, and H. S. Park. 2009. The clinical characteristics of *Anisakis* allergy in Korea. *Korean J. Intern. Med.* 24:160–163.
8. Daschner, A., and C. Y. Pascual. 2005. *Anisakis simplex*: sensitization and clinical allergy. *Curr. Opin. Allergy Clin. Immunol.* 5:281–285.
9. Deardorff, T. L., and M. L. Kent. 1989. Prevalence of larval *Anisakis simplex* in pen-reared and wild-caught salmon (Salmonidae) from Puget Sound, Washington. *J. Wildl. Dis.* 25:416–419.
10. Levsen, A., B. T. Lunestad, and B. Berland. 2005. Low detection efficiency of candling as a commonly recommended inspection method for nematode larvae in the flesh of pelagic fish. *J. Food Prot.* 68:828–832.
11. López-Serrano, M. C., A. Alonso Gómez, A. Daschner, A. Moreno-Ancillo, J. M. Suárez de Parga, M. T. Caballero, P. Barranco, and R. Cabañas. 2000. Gastroallergic anisakidosis: findings in 22 patients. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 15:503–506.
12. Lunestad, B. T. 2003. Absence of nematodes in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in Norway. *J. Food Prot.* 66:122–124.
13. Marty, G. D. 2008. Anisakid larva in the viscera of a farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 279:209–210.
14. Moneret-Vautrin, D. A., M. Morisset, J. Flabbee, E. Beaudouin, and G. Kanny. 2005. Epidemiology of life-threatening and lethal anaphylaxis: a review. *Allergy* 60:443–451.
15. Osanz, A. C. 2001. Presencia de larvas de *Anisakis* (Nematodo: ascaridoidea) en pescado de consumo capturado en la zona pesquera de Tarragona. Ph.D. thesis. Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain.
16. Rello, F. J., F. J. Adroher, R. Benítez, and A. Valero. 2009. The fishing area as a possible indicator of the infection by anisakids in anchovies (*Engraulis encrasicolus*) from southwestern Europe. *Int. J. Food Microbiol.* 129:277–281.
17. Rello, F. J., F. J. Adroher, and A. Valero. 2008. *Hysterothylacium aduncum*, the only anisakid parasite of sardines (*Sardina pilchardus*) from the southern and eastern coasts of Spain. *Parasitol. Res.* 104: 117–121.
18. Valero, A., J. Martín-Sánchez, E. Reyes-Muelas, and F. J. Adroher. 2000. Larval anisakids parasitizing the blue whiting, *Micromesistius poutassou*, from Motril Bay in the Mediterranean region of southern Spain. *J. Helminthol.* 74:361–364.
19. Valero, A., M. I. Paniagua, I. Hierro, V. Díaz, M. J. Valderrama, R. Benítez, and F. J. Adroher. 2006. Anisakid parasites of two forkbeards (*Phycis blennoides* and *Phycis phycis*) from the Mediterranean coasts of Andalucía (Southern Spain). *Parasitol. Int.* 55:1–5.

B. DIFUSIÓN GALICIA

Debido a la confidencialidad acordada en la reunión previa a la aprobación del Plan Jacumar de Gestión Sanitaria, celebrada en la Subdirección General de Sanidad Animal, sobre la publicación de resultados analíticos que atañen a la calificación sanitaria de las explotaciones acuícola. Durante el desarrollo del mismo, sólo se realizaron actividades de difusión generales sobre el Plan Jacumar de Gestión Sanitaria que se estaba llevando a cabo, como las siguientes notas de prensa.

<http://www.galiciadigital.com/nota.5185.php>

http://www.lavozdegalicia.es/sociedad/2007/12/10/0003_6390221.htm

http://www.panoramaacuicola.com/noticias/2007/12/10/galicia_estudia_las_enfermedades_de_los_peces_para_mejorar_la_calidad_.html

También se presentaron comunicaciones en diversos foros científicos, siempre con autorización y mención expresa de quien financió los trabajos, así como comunicación previa a la autoridad competente, para su conocimiento.

VII Reunión de Microbiología del Medio Acuático
Bilbao, 26-27 septiembre de 2008

Anexo I : Microbiología del medio acuático Bilbao 2008.pdf

8th International Symposium of Viruses of Lower Vertebrates
Santiago de Compostela, abril de 2009

- Anexo II: Cutrín et al.pdf
- Anexo III: Bandín et al.pdf

XXII Reunión de la Sociedad Española de Anatomía Patológica Veterinaria
Valencia, junio de 2010

- Anexo IV: Peces-Valencia 2010.pdf
- Anexo V: R Bermúdez Valencia 2010.pdf



Presencia de birnavirus acuáticos en peces procedentes de las rías de Galicia

J.M. Cutrin¹, I. Bandín¹, A. Silva¹, E. Areoso², J.L.Barja¹ y C.P. Dopazo¹

¹*Instituto de Acuicultura, Universidad de Santiago de Compostela*

²*Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos, Delegación de Coruña, Xunta de Galicia*

En el marco de un convenio entre nuestro laboratorio y Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos de la Xunta de Galicia, y como complemento de un proyecto Jacumar paralelo, en noviembre de 2007 se realizó un muestro de las poblaciones de peces existentes en las rías gallegas para evaluar la presencia en las mismas de birnavirus acuáticos. Se analizó un total de 213 peces de diferentes especies: múgel (57); lenguado (27); salmonete (21); lubina (17); boga (15); abadejo (13), besugo (12); acedia (11); coruxo (10); sargo (6); raya (5); jurel (5); corvina (4); rodaballo (4); palometa (3); pez aguja (1); caballa (1) y solla (1). La mayoría de estos peces procedían de pesca de bajura, principalmente de las lonjas de Vigo, Ribeira y Coruña pero también se capturaron y se analizaron dos especies “merodeadoras” de plantas de acuicultura como son el múgel y la boga.

Los individuos se trasladaron en hielo a las instalaciones del Instituto de Acuicultura de la Universidad de Santiago de Compostela para proceder a su análisis virológico. Se procesaron por separado muestras de bazo y riñón y se inocularon en las líneas celulares CHSE-214, BF-2 y EPC. Los cultivos se observaron semanalmente durante al menos un mes, con el objeto de detectar el desarrollo de algún efecto citopático (ECP) producido por la multiplicación viral y se realizaron como mínimo dos subcultivos. Los aislados virales así obtenidos se identificaron mediante RT-PCR utilizando cebadores para los virus objeto de análisis.

Se detectó la presencia de aquabirnavirus en 29 peces (13.6% del total de peces analizados). Entre los peces infectados destacan especies que se cultivan actualmente como rodaballo (50%), abadejo (30%), lubina (29%), acedia (18%), besugo (16%) y lenguado (14%). En especies no cultivadas en la actualidad su presencia es variable. Parece no estar presente en salmonete, sargo, solla, raya, pez aguja, corbina y caballa pero sí en palometa (33%) y jurel (20%) aunque el número de peces muestreados es muy bajo (3 y 5 respectivamente) y en coruxo (10%), en este caso con un mayor número de capturas.

Por área geográfica no podemos determinar zonas con peces más infectados que otras. Se detectó la presencia de birnavirus acuáticos en las lonjas de Coruña (17%), Vigo (16%) y Ribeira (11%). Por otra parte su presencia en peces merodeadores no es de gran importancia, no estando presente en bogas aunque si en múgeles (10%).

PHYLOGENETIC ANALYSIS OF INFECTIOUS PANCREATIC NECROSIS VIRUS (IPNV) ISOLATED FROM WILD FISH IN THE GALICIAN COASTAL WATERS (NW SPAIN)

J.M. Cutrin¹, M. Lago¹, I. Bandín¹, E. Areoso² and C.P. Dopazo¹

¹Unidad de Ictiopatología-Sección patología viral. Departamento de Microbiología y Parasitología. Instituto de Acuicultura, Universidad de Santiago de Compostela, Spain

²Consellería do Mar, Xunta de Galicia, Spain

In the last three years a virological survey among wild fish has been conducted in the Galician coastal waters. From 2007 to 2008 a total of 866 asymptomatic fish belonging to 22 different species were analyzed. Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) was isolated from 102 individuals using incubation periods longer than those established by the EU regulation (Decision 2001/183/EC). Infected fish corresponded to 10 different species: pollack (*Pollachius pollachius*), turbot (*Scophthalmus maximus*), brill (*S. rombus*), striped goalfish (*Mullus barbatus*), white seabream (*Diplodus sargus*), red seabream (*Pagellus bogaraveo*), Senegalese sole (*Solea senegalensis*), little sole (*S. lascaris*), beryx (*Beryx splendens*) and grey mullet (*Chelon labrosus*)

Twenty three IPNV isolates, including at least one isolate from each of the 10 positive species, were subjected to a partial sequencing of both genomic segments. IPNV reference strains belonging to WB, AB, Sp, He, Te, C1, C2 and C3 serotypes were also sequenced for comparative purposes. Phylogenetic analysis based on segment A showed that most of the isolates (20) clustered with WB reference strain (genogroup I), whereas the remaining were included in genogroup II (Ab type). However, the tree performed using segment B sequences indicated that only 15 isolates were included within genogrup I and 8 were included within genogroup II.

These findings demonstrate the existence of five IPNV reassortant strains exhibiting a WB-type segment A and an Ab-type segment B and highlight the importance of sequencing both genomic segments to better characterize and type new isolates.

OCCURRENCE OF INFECTIOUS PANCREATIC NECROSIS VIRUS (IPNV), VIRAL SEPTICAEMIA HAEMORRHAGIC VIRUS (VHSV) AND BETANODAVIRUSES IN WILD FISH FROM THE GALICIAN COASTAL WATERS (N.W. SPAIN): A THREE YEARS STUDY

I. Bandín¹, E. Areoso², J.M. Cutrín¹, J.G. Olveira¹, C. López-Vázquez¹, M. Lago¹, S. Souto¹ & C.P. Dopazo¹

¹Unidad de Ictiopatología-Patología Viral. Dpto. Microbiología y Parasitología. Instituto de Acuicultura. Universidad de Santiago de Compostela, Spain.

²Consellería do Mar, Xunta de Galicia, Spain

From November 2007 to November 2009 a total of 1200 fish, belonging to 21 different species, were collected from the coastal Galician waters for virological examination. Two sampling times were scheduled: a first one during the spring months (April-June) and another during autumn (October-November). Internal organs (spleen, kidney and brain) were aseptically extracted from each individual fish and processed for cell culture isolation and RT-PCR/nested PCR analysis. Brain samples were used for betanodavirus detection, and a mixture of spleen and kidney was tested for the presence of viral septicaemia haemorrhagic virus (VHSV) and infectious pancreatic necrosis virus (IPNV).

No viruses were isolated following the procedure established by the EU regulation (Decision 2001/183/EC). However, the three viruses were detected along the study with different prevalences among the years. Whereas the detection of VHSV was 30-40% in the two first years of the study, it decreased to 8% in 2009. On the contrary the level of detection of betanodavirus and IPNV increased from 13 to 21% and 13 to 39%, respectively. The variation in the viral prevalences could be related to the differences observed in the seawater temperature, especially in October (13°C average temperature in 2007 and 16°C in 2009).

Regarding the prevalence of the different viruses in the fish species analyzed, IPNV and VHSV showed a clear preference for some host species along the three years. The highest percentages of IPNV positive fish were observed in pollack (*Pollachius pollachius*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and red seabream (*Pagellus bogaraveo*). VHSV carriers were detected mainly within striped goalfish (*Mullus barbatus*), white seabream (*Diplodus sargus*), brill (*Scophthalmus rombus*) and red seabream. Finally, although the detection data of betanodaviruses showed the broadest range of fish host species and strongly varied among the years, red seabream showed always a moderate to high level of positives for this virus. Therefore, these results indicate that red seabream should be considered as a target species for viral monitoring purposes in our coastal waters

We want to thank INTECMAR (Instituto tecnolóxico para Control do Medio Mariño-Xunta de Galicia) y JACUMAR (Junta Asesora de Cultivos Marinos-Ministerio de MARM) the co-funding of this research project.



DETERMINACIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE LOS PECES PROCEDENTES DE PESCA EXTRACTIVA EN LAS COSTAS GALLEGAS

¹Bermúdez R, ²Losada AP, ²Faílde LD, ²Coscelli GA, ²Sancho AR, ²Vázquez S, ³Areoso E, ³Puget JM, ²Quiroga MI

¹Departamento de Anatomía y Producción Animal. ²Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. ³Xunta de Galicia, Consellería do Mar.

En la actualidad, el buen estado sanitario de los peces procedentes de acuicultura se garantiza mediante un estricto control de diversos factores, desde los parámetros físico-químicos del agua hasta los estudios anatomopatológicos, bacteriológicos y virológicos. Sin embargo, estamos lejos de aplicar este tipo de control a los peces provenientes de la pesca convencional, por lo que constituyen una fuente continua de portadores de enfermedades que pueden afectar a los cultivos continentales, así como suponer un riesgo de zoonosis. El objetivo de este trabajo es caracterizar y estandarizar las condiciones de salud animal en nuestras costas, con el propósito de establecer estrategias de vigilancia epidemiológica adecuadas.

Para llevar a cabo este estudio, se han tomado muestras de tracto digestivo, branquias, corazón, riñón, bazo y encéfalo de diferentes especies ictícolas, en las principales lonjas de Galicia.

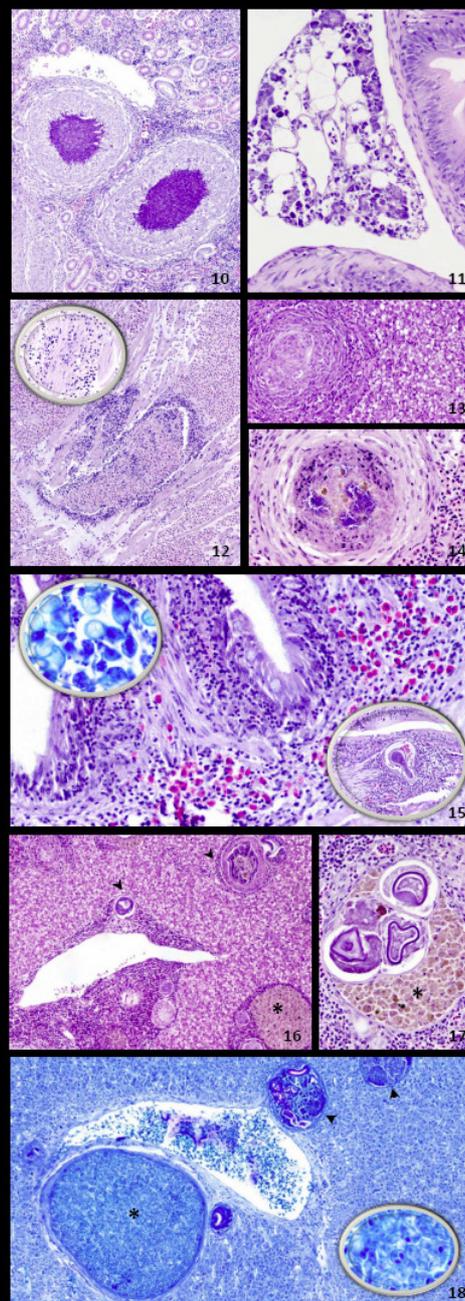
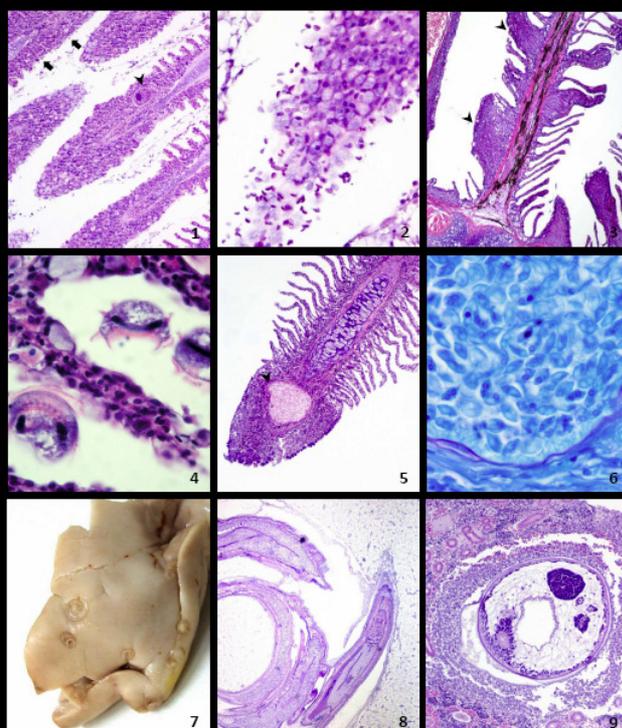


Fig. 17. Bazo, mullón. Centro de melismacrófagos (asterisco) englobando varias larvas parasitarias de metazoos, lo que sugiere la participación activa de estas estructuras en la respuesta del hospedador frente a estos parásitos. H&E, 400X.

Fig. 18. Hígado, lubina. Infección mixta por metacercarias (puntas de flecha) y quiste conteniendo varios estadios de desarrollo de un mixosporidio de morfología compatible con *Myxobolus* sp. Azul de toluidina, 40X. Inserto: plasmodios y esporas del mixosporidio, mostrando metacromasia en las cápsulas polares. Azul de toluidina, 1000X.

Este trabajo ha permitido comprobar el estado sanitario de los peces procedentes de pesca extractiva, a la vez que sienta las bases para la confección de mapas epidemiológicos y estrategias profilácticas en acuicultura marina.



PÓSTER

DETERMINACIÓN DEL ESTADO SANITARIO DE LOS PECES PROCEDENTES DE PESCA EXTRACTIVA EN LAS COSTAS GALLEGAS

¹Bermúdez R, ²Losada AP, ²Faílde LD, ²Coscelli GA, ²Sancho AR, ²Vázquez S,
³Areoso E, ³Puget JM, ²Quiroga MI

¹Departamento de Anatomía y Producción Animal. ²Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela.

³Xunta de Galicia, Consellería do Mar.

roberto.bermudez@usc.es

El aumento de la demanda de pescado, ha propiciado que en los últimos años se haya producido un enorme desarrollo de la acuicultura en nuestro país en detrimento de la pesca extractiva. Esta intensificación en el cultivo de diferentes especies ictícolas ha provocado la aparición de nuevas patologías no descritas hasta la fecha, así como de brotes epidémicos de diversas enfermedades conocidas. En la actualidad, se garantiza el buen estado sanitario de los peces procedentes de acuicultura mediante un estricto control de diversos factores, desde los parámetros físico-químicos del agua hasta los estudios anatomopatológicos, bacteriológicos y virológicos. Sin embargo, estamos lejos de aplicar este tipo de control a los peces provenientes de la pesca convencional, por lo que constituyen una fuente continua de portadores de enfermedades que pueden afectar a los cultivos continentales, así como suponer un riesgo de zoonosis. El objetivo de este trabajo es caracterizar y estandarizar las condiciones de salud animal en nuestras costas, con el propósito de establecer estrategias de vigilancia epidemiológica adecuadas. Para llevar a cabo este estudio, se han tomado muestras de tracto digestivo, branquias, corazón, riñón, bazo y encéfalo de diferentes especies ictícolas, en las principales lonjas de Galicia. Las muestras se fijaron en formol y se procesaron mediante las técnicas de rutina, tiñéndose mediante H&E y Azul de Toluidina. Los resultados del estudio histopatológico demostraron la presencia de diversas patologías en los peces analizados, principalmente de tipo parasitario y bacteriano en segundo término. Este trabajo ha permitido comprobar el estado sanitario de los peces procedentes de pesca extractiva, a la vez que sienta las bases para la confección de mapas epidemiológicos y estrategias profilácticas en acuicultura marina.

Convenio de la Xunta de Galicia, Consellería do Mar 2009/PG330

C. DIFUSIÓN CANARIAS

Durante el desarrollo del presente proyecto hemos difundido parcialmente nuestros resultados en el Congreso Internacional de Patólogos de Peces celebrado en septiembre de 2009 en la ciudad de Praga. En dicho Congreso se presentaron dos comunicaciones que se detallan a continuación:

1. AUTORES: L. Román, F. Real, F. Acosta, J. Bravo, J.Vega, L. Sorroza, V. Grasso and D. Padilla

TÍTULO: EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF VIRAL DISEASES IN WILD FISH POPULATIONS OF CANARY ISLANDS

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Comunicación.

CONGRESO: 14th International Conference of the EAAP "Diseases of fish and shellfish

PUBLICACIÓN: Libro de Resúmenes.

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Praga *AÑO:* Septiembre de 2009.

2. AUTORES: C. Rodgers, E. Aguirre, MC Alonso, P Alvarez-Pellitero, K. Andree, D. Padilla, J. Peñalver, C. Tafalla and D. Furones

TÍTULO: DEFINITION OF A LIST OF FISH DISEASES TO AID HEALTH MANAGEMENT IN SPAIN

TIPO DE PARTICIPACIÓN: Comunicación.

CONGRESO: 14th International Conference of the EAAP "Diseases of fish and shellfish

PUBLICACIÓN: Libro de Resúmenes.

LUGAR DE CELEBRACIÓN: Praga *AÑO:* Septiembre de 2009.

EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF VIRAL DISEASES IN WILD FISH POPULATIONS OF CANARY ISLANDS

L. Román*, F. Real, F. Acosta, J. Bravo, J. Vega, L. Sorroza, V. Grasso and D. Padilla
 Universidad de Las Palmas de Gran Canaria
 Instituto Universitario de Sanidad Animal, Arucas, Spain.



INTRODUCTION

Animal health is increasing the importance in the management of aquacultural hatcheries. Public organisms responsible for animal health have the obligation to possess the highest level of scientific knowledge regarding the epidemiological reality of populations of fish in their natural habitat. The level of understanding regarding epidemiological reality in aquaculture facilities in the Canary Islands is extremely limited, and data of wild populations which are in contact with that in cultivation is practically non-existent. The aim of this work was to study the more important viral diseases in Canary Island wild fish species in order to design an epidemiological map.

M&M

During two years, several samples were obtained around the Canary Archipelago (Fig. 1). 30 specimen per wild fish species which live around aquaculture cages were sampled as well as fish species which can be considered as sentinel for the viral diseases object of this study. We analyzed two different viral diseases: viral haemorrhagic septicaemia (VHS) and infectious pancreatic necrosis (IPN).

Figure 1.- Sampling areas in the Canary Archipelago



After necropsy, sample of nervous system, kidney and spleen were taken and stored at -80°C until analysis. RNA was extracted from stored samples and diagnosis of viral genes was made by RT-PCR.

REFERENCES

- Dopazo C.P., Bardin I., López-Vázquez C., Lamas J., Noya M. and Barja J.L. (2002) Isolation of viral haemorrhagic septicaemia from Greenland halibut *Reinhardtius hippoglossoides* caught at Flemish Cap. *Diseases of Aquatic Organisms* 60, 171-179.
- Ross K., McCarthy U., Huntly P.J., Wood B.P., Stuart C., Rough E.L., Small D.A. and Bruno D.W. (1984) An outbreak of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in turbot (*Scophthalmus maximus*) in Scotland. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists* 14, 215-216.
- Skall H.F., Olsen N.J. and Møllergaard S. (2006) Viral haemorrhagic septicaemia virus in marine fish and its implications for fish farming - a review. *Journal of Fish Diseases* 29, 609-628.
- Snow M. and Small D.A. (1989) Experimental susceptibility of turbot *Scophthalmus maximus* to viral haemorrhagic septicaemia virus isolated from outwilted turbot. *Diseases of Aquatic Organisms* 38, 163-168.
- Snow M., Bain N., Black J., Taupin V., Cunningham C.O., Ying J.A., Skall H.F. and Hayward R.B. (2004) Genetic population structure of marine viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV). *Diseases of Aquatic Organisms* 61, 11-21.
- Stone D.M., Way K. and Dixon P.F. (1987) 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, 1315-1328.

RESULTS

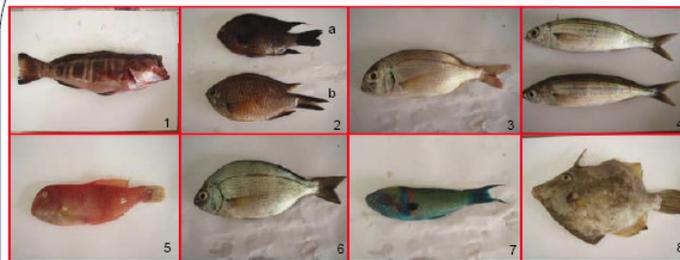


Figure 2.- This image represent the more frequent species sampled. 1 Comber (*Serranus cabrilla*), 2a Canary Damsel fish (*Abudefduf luridus*), 2b Damsel fish (*Chromis limbata*), 3 Red porgy (*Pagrus pagrus*), 4 Bogue (*Boops boops*), 5 Pearly razorfish (*Xyrichtys novacula*), 6 Black sea bream (*Spondylosoma cantharus*), 7 Ormate wrasse (*Thalassoma pavo*), 8 Planehead filefish (*Stephanolepis hispidus*)

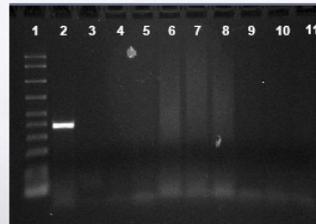


Figure 3.- All the samples tested were negative for IPNV. Lane 1: 100-pb DNA ladder, lane 2: Positive control, Lane 3: Negative control, Lane 4-8: Canary Island species sampled

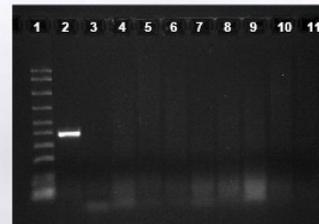


Figure 4.- All the samples tested were negative for VHSV. Lane 1: 100-pb DNA ladder, line 2: Positive control, Line 3: Negative control, Lane 4-8: Canary Island species sampled

DISCUSSION

Viral diseases are considered as one of the most important problem in off-shore aquaculture, because of their frequent appearance but also for the difficulty for prevention and treatment. For this reason, is fundamental to know the sanitary condition of the aquaculture as well as the environment where the cages are settled.

During two years of samples in the Canary archipelago we did not find any positive fish for the genes of VHS and IPN. VHS virus has been isolated in a wide variety of marine fish (either symptomatic or not) of the North Atlantic Ocean, the Baltic Sea and the Pacific Ocean of North America (Skall *et al.*, 2005). Furthermore VHS has been described in black flétán (*Reinhardtius hippoglossoides*) in Terranova, a fish area of the North Atlantic (Dopazo *et al.*, 2002).

At the same time, in Scotland and Ireland was identified the genes sequence of VHS in turbot (*Psetta maxima*) (Ross *et al.*, 1994) which was the same of those identified in Atlantic Ocean (Stone *et al.*, 1997; Snow *et al.*, 1999; Snow *et al.*, 2004).

These data indicate that VHS is a very contagious virus and it may represent a risk for both wild and cultivated fish. The same way IPN has been detected in a large number of fish and nowadays it is considered that it can appear in all aquatic species. With our results the Canary Archipelago may be considered, at the present, epidemiologically free of these viral diseases, but continuous studies are necessary to create an epidemiologic map of the area to ensure these results and also the basic conditions to develop aquaculture.

DEFINITION OF A LIST OF FISH DISEASES TO AID HEALTH MANAGEMENT IN SPAIN

C. Rodgers¹, E. Aguirre², M-C. Alonso³, P. Alvarez-Pellitero⁴, K. Andree¹, J. Barja⁵, J. Borrego³, I. de Blas⁶, C.P. Dopazo⁵, P. Fernández⁷, N. Frias⁷, D. Padilla⁸, F. Padros^{9,14}, J. Peñalver¹⁰, E. Planas¹¹, A. Sitjà-Bobadilla⁴, C. Tafalla¹², C. Zarza¹³ and D. Furones^{1,14}

¹IRTA, Sant Carles de la Ràpita, Spain; ²DA P, Cádiz, Spain; ³Universidad de Mérida, Mérida, Spain; ⁴IAT3-CSIC, Castellón, Spain; ⁵Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Spain; ⁶University of Zaragoza, Zaragoza, Spain; ⁷Laboratorio Nacional de Referencia de Enfermedades de Peces, Algeciras, Spain; ⁸ISA, Arizóna, Spain; ⁹Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, Spain; ¹⁰CARM, San Pedro del Pinar, Spain; ¹¹Biomar/ProAgua Huelga, S.A., Paterna, Spain; ¹²ICISA-INIA, Valdeolmillos, Spain; ¹³Skrating, Cojibar, Spain; ¹⁴Carxa de Referencia de Recerca i Desenvolupament en Aquicultura de Castelló



Introduction

European legislation concerning animal health requirements for aquaculture animals (Directive 2006/88/EC and Spanish Real Decreto 1614/2008) indicates that for diseases not subject to Community measures, but which are of local importance, the aquaculture industry and the competent authorities of the Member States should take more responsibility. Where an exotic or emerging disease not listed in Part II, Annex IV of Directive 2006/88/EC constitutes a significant risk for the animal health situation of aquaculture or wild aquatic animals in a Member State, measures may be taken to prevent the introduction of or to control that disease. As a result, an expert working group was formed to consider additional disease pathogens not specified by the current legislation. The members of the working group were initially consulted as individuals and they were subsequently convened for a group study with the objective of using a risk ranking technique to compile a list of fish disease hazards (pathogens) of relevance to Spanish aquaculture.

Materials and Methods

1. Individual level exercise

a) Global list of diseases

Prior information related to a global list of diseases was provided to individual experts. The data was related to pathogenic agent, susceptible host species, geographical distribution by country, notifiable status (EU, OIE), exotic status (EU) and the OIE criteria for designating a notifiable disease (e.g. consequences and propagation). This was an adaptation of an exercise previously carried out by the PANDA project.

b) Experts summary/considerations

The experts used the information to consider whether, in their opinion, each disease posed a risk to Spain. A second iteration was then performed to allow individuals to reconsider their choices. The responses of all the experts were then evaluated and those pathogens not considered relevant were removed (pre-filtered) from the list.

2. Group level exercise

a) Filtered and agreed list

The same experts were convened and the pre-filtered pathogens were then considered subjectively at the group level using four criteria: the existence of susceptible species in Spain, the existence of commercial movements of the susceptible species from a known positive zone, the existence of favourable conditions for propagation (e.g. temperature, salinity, intermediate hosts), and potential impact (e.g. high mortalities and economic losses). See example above right.

b) Risk estimation

Risk estimation was undertaken by using an interactive Excel spreadsheet adapted for the purpose from the PANDA project. Briefly, 13 questions divided into five categories were considered covering the presence or absence of each pathogen in Spain, introduction pathways, establishment and propagation, consequences, and the possibility for risk mitigation. Each question was weighted and uncertainty was also built into the exercise. See example template opposite.

c) Analysis and production of ranked pathogens

The results were analysed graphically and by simple ranking in conjunction with the perceived uncertainty. Ranking provided the most valid output, since the exercise combined both subjective opinion and more objective spreadsheet-based risk estimation. Already listed notifiable diseases were included as a comparative baseline control.

Results

It was possible to divide the resultant list into three groups:

Group I (high national risk)

Aphanomyces invadans (EUS)¹, spring viraemia of carp virus (SVCV), koi herpes virus (KHV)² and infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV)³

Group II (regional risk)

Enteromyxum spp. (*leel* and *scophthalmi*), Aquabimaviridae (incl. IPNV), viral encephalopathy and retinopathy virus (VERV), *Streptococcus iniae*, *Phylasteriella dicentrarchi* and *Aeromonas salmonicida* (in the marine environment).

Group III (low risk)

Sparicotyle chrysopteri Microcotylidae, *Flavobacterium maritimum*, *Photobacterium piscicida*, Togaviridae, *Sphaerospora testicularis*, *Edwardsiella tarda*, Bimavirus (no-EVE), *Lactococcus garviae*, viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV)⁴, *Tenacibaculum maritimum*, epizootic haematopoietic necrosis virus (EHN)⁵, *Renibacterium salmoninarum* (BKD) and *Gyrodactylus salaris*.

¹The diseases caused by these pathogens are notifiable and exotic to Europe according to Directive 2006/88/EC

²The diseases caused by these pathogens are notifiable and non-exotic to Europe according to Directive 2006/88/EC

Discussion

There has been significant development of the European aquaculture industry in recent decades, particularly for aquatic marine species, and the latest changes in the legislation reflect the need for a more pragmatic approach to disease consideration. The application of techniques related to risk analysis and epidemiology has become inherent at all levels as a result of the increasing importance of international obligations that specify the adoption of improved standards (e.g. WTO, OIE). Under the new legislation, this exercise can be used to help define sampling plans for disease monitoring in Spain using epidemiological and risk-based criteria by realistically considering the disease incidence at the national and regional level. However, the weighting initially applied to the risk estimation queries can affect the final ranking. Nevertheless, once the data has been considered the weighting can be varied in any subsequent exercise, although the initial data must be accurate and the collective opinion of the experts needs careful interpretation.

Acknowledgements: The study was funded by the Spanish Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Jacumar) and formed part of the GESAC project concerning aquaculture health management in Spain

1300 pathogens agreed by the group of experts

Each criterion has to be evaluated with a Yes (Y), No (N) or ? (response)

A. Susceptible species for the pathogens exist in Spain
B. Commercial movements of the susceptible species from a known positive zone
C. Existence of favourable conditions for propagation (e.g. temperature, salinity, intermediate hosts, etc.)
D. Impact (e.g. high mortalities, economic losses)

| Pathogen | A | B | C | D | Rank | Qualifying Comments |
|--|-----|-----|-----|-----|------|---------------------|
| <i>Aphanomyces invadans</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 1 | EU - Notifiable |
| Spring viraemia of carp virus (SVCV) | Yes | Yes | Yes | Yes | 2 | EU - Notifiable |
| Koi herpes virus (KHV) | Yes | Yes | Yes | Yes | 3 | EU - Notifiable |
| Infectious haematopoietic necrosis virus (IHNV) | Yes | Yes | Yes | Yes | 4 | EU - Notifiable |
| <i>Edwardsiella tarda</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 5 | EU - Notifiable |
| <i>Streptococcus iniae</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 6 | EU - Notifiable |
| <i>Photobacterium piscicida</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 7 | EU - Notifiable |
| <i>Sphaerospora testicularis</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 8 | EU - Notifiable |
| <i>Gyrodactylus salaris</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 9 | EU - Notifiable |
| <i>Enteromyxum</i> spp. | Yes | Yes | Yes | Yes | 10 | EU - Notifiable |
| <i>Viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV)</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 11 | EU - Notifiable |
| <i>Tenacibaculum maritimum</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 12 | EU - Notifiable |
| <i>Epizootic haematopoietic necrosis virus (EHN)</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 13 | EU - Notifiable |
| <i>Renibacterium salmoninarum (BKD)</i> | Yes | Yes | Yes | Yes | 14 | EU - Notifiable |

According to the OIE, the specific animal species in which infection has been demonstrated or animal species or experimental responses to the disease agent that indicate the animal species for infection.
According to the OIE, the report or status of specific animals, aquatic animal products, biological products and pathological material

Filtered and agreed list example

| RISK ESTIMATION FOR PATHOGENS | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L | M | N | O | P | Q | R | S | T | U | V | W | X | Y | Z | AA | AB | AC | AD | AE | AF | AG | AH | AI | AJ | AK | AL | AM | AN | AO | AP | AQ | AR | AS | AT | AU | AV | AW | AX | AY | AZ | BA | BB | BC | BD | BE | BF | BG | BH | BI | BJ | BK | BL | BM | BN | BO | BP | BQ | BR | BS | BT | BU | BV | BW | BX | BY | BZ | CA | CB | CC | CD | CE | CF | CG | CH | CI | CJ | CK | CL | CM | CN | CO | CP | CQ | CR | CS | CT | CU | CV | CW | CX | CY | CZ | DA | DB | DC | DD | DE | DF | DG | DH | DI | DJ | DK | DL | DM | DN | DO | DP | DQ | DR | DS | DT | DU | DV | DW | DX | DY | DZ | EA | EB | EC | ED | EE | EF | EG | EH | EI | EJ | EK | EL | EM | EN | EO | EP | EQ | ER | ES | ET | EU | EV | EW | EX | EY | EZ | FA | FB | FC | FD | FE | FF | FG | FH | FI | FJ | FK | FL | FM | FN | FO | FP | FQ | FR | FS | FT | FU | FV | FW | FX | FY | FZ | GA | GB | GC | GD | GE | GF | GG | GH | GI | GJ | GK | GL | GM | GN | GO | GP | GQ | GR | GS | GT | GU | GV | GW | GX | GY | GZ | HA | HB | HC | HD | HE | HF | HG | HH | HI | HJ | HK | HL | HM | HN | HO | HP | HQ | HR | HS | HT | HU | HV | HW | HX | HY | HZ | IA | IB | IC | ID | IE | IF | IG | IH | II | IJ | IK | IL | IM | IN | IO | IP | IQ | IR | IS | IT | IU | IV | IW | IX | IY | IZ | JA | JB | JC | JD | JE | JF | JG | JH | JI | JJ | JK | JL | JM | JN | JO | JP | JQ | JR | JS | JT | JU | JV | JW | JX | JY | JZ | KA | KB | KC | KD | KE | KF | KG | KH | KI | KJ | KL | KM | KN | KO | KP | KQ | KR | KS | KT | KU | KV | KW | KX | KY | KZ | LA | LB | LC | LD | LE | LF | LG | LH | LI | LJ | LK | LL | LM | LN | LO | LP | LQ | LR | LS | LT | LU | LV | LW | LX | LY | LZ | MA | MB | MC | MD | ME | MF | MG | MH | MI | MJ | MK | ML | MM | MN | MO | MP | MQ | MR | MS | MT | MU | MV | MW | MX | MY | MZ | NA | NB | NC | ND | NE | NF | NG | NH | NI | NJ | NK | NL | NM | NN | NO | NP | NQ | NR | NS | NT | NU | NV | NW | NX | NY | NZ | OA | OB | OC | OD | OE | OF | OG | OH | OI | OJ | OK | OL | OM | ON | OO | OP | OQ | OR | OS | OT | OU | OV | OW | OX | OY | OZ | PA | PB | PC | PD | PE | PF | PG | PH | PI | PJ | PK | PL | PM | PN | PO | PP | PQ | PR | PS | PT | PU | PV | PW | PX | PY | PZ | QA | QB | QC | QD | QE | QF | QG | QH | QI | QJ | QK | QL | QM | QN | QO | QP | QQ | QR | QS | QT | QU | QV | QW | QX | QY | QZ | RA | RB | RC | RD | RE | RF | RG | RH | RI | RJ | RK | RL | RM | RN | RO | RP | RQ | RR | RS | RT | RU | RV | RW | RX | RY | RZ | SA | SB | SC | SD | SE | SF | SG | SH | SI | SJ | SK | SL | SM | SN | SO | SP | SQ | SR | SS | ST | SU | SV | SW | SX | SY | SZ | TA | TB | TC | TD | TE | TF | TG | TH | TI | TJ | TK | TL | TM | TN | TO | TP | TQ | TR | TS | TT | TU | TV | TW | TX | TY | TZ | UA | UB | UC | UD | UE | UF | UG | UH | UI | UJ | UK | UL | UM | UN | UO | UP | UQ | UR | US | UT | UU | UV | UW | UX | UY | UZ | VA | VB | VC | VD | VE | VF | VG | VH | VI | VJ | VK | VL | VM | VN | VO | VP | VQ | VR | VS | VT | VU | VV | VW | VX | VY | VZ | WA | WB | WC | WD | WE | WF | WG | WH | WI | WJ | WK | WL | WM | WN | WO | WP | WQ | WR | WS | WT | WU | WV | WW | WX | WY | WZ | XA | XB | XC | XD | XE | XF | XG | XH | XI | XJ | XK | XL | XM | XN | XO | XP | XQ | XR | XS | XT | XU | XV | XW | XX | XY | XZ | YA | YB | YC | YD | YE | YF | YG | YH | YI | YJ | YK | YL | YM | YN | YO | YP | YQ | YR | YS | YT | YU | YV | YW | YX | YZ | ZA | ZB | ZC | ZD | ZE | ZF | ZG | ZH | ZI | ZJ | ZK | ZL | ZM | ZN | ZO | ZP | ZQ | ZR | ZS | ZT | ZU | ZV | ZW | ZX | ZY | ZZ | AA | AB | AC | AD | AE | AF | AG | AH | AI | AJ | AK | AL | AM | AN | AO | AP | AQ | AR | AS | AT | AU | AV | AW | AX | AY | AZ | BA | BB | BC | BD | BE | BF | BG | BH | BI | BJ | BK | BL | BM | BN | BO | BP | BQ | BR | BS | BT | BU | BV | BW |
|-------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
|-------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|

D. COORDINACIÓN

DIFUSIÓN A LOS GESTORES DE SANIDAD ANIMAL

Siguiendo con los protocolos comprometidos, los grupos de investigación de cada Comunidad Autónoma han informado puntualmente de los resultados obtenidos en materia de enfermedades a sus correspondientes autoridades en materia de Sanidad Animal.

Los resultados, de forma global, son comunicados por la Coordinación a los responsables en Sanidad Animal del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino.

Foro JACUMAR.

Celebrado en Madrid, los días 20 y 21 de octubre de 2009. Su finalidad era difundir al sector los resultados más importantes de una serie de planes nacionales previamente seleccionados por el propio sector.

2.8. INCIDENCIAS DE DESARROLLO

AÑO 2007

Este subproyecto tiene como objetivos los de la “Elaboración de estrategias de actuación para el diseño de una Red de Vigilancia Epidemiológica para las enfermedades de interés en acuicultura marina por parte de las autoridades competentes, donde se controlan ejemplares procedentes de las granjas y ejemplares procedentes del medio silvestre. En el caso de las enfermedades que no están sujetas a programas oficiales de control o vigilancia, la creación de redes de vigilancia epidemiológica”. Estos objetivos, de inequívoco interés para el desarrollo y sobre todo para la gestión de la acuicultura marina, requieren que los estudios epidemiológicos que se realicen sean lo más representativos posibles. Efectivamente, el diseño de redes de vigilancia epidemiológica puede realizarse igualmente con mayor o menor número de regiones participantes, pero el disminuir el número de zonas para los muestreos epidemiológicos puede reducir significativamente el valor global de los datos obtenidos en el conjunto del proyecto.

Este subproyecto se inició con la participación de cuatro comunidades autónomas: Andalucía, Canarias, Galicia y Murcia, ejerciendo esta última las labores de coordinación. Para los fines del proyecto, la distribución zonal de las comunidades autónoma era muy interesante, ya que se chequeaba la costa atlántica del norte de la Península (Galicia), la costa atlántica sur (Canarias), el Mediterráneo (Murcia y Andalucía) y la zona atlántica del sur de la Península (Andalucía).

A mediados del ejercicio 2007, la coordinación recibió la triste noticia del deseo de Andalucía de abandonar nuestro subproyecto para unirse al que lidera Cataluña. Consideramos muy positivo la Incorporación de Andalucía al subproyecto de Cataluña, ya que lo enriquece, y debería haberse incorporado desde el principio. Sin embargo, y por las razones anteriormente argumentadas, supone un importante golpe al desarrollo global del subproyecto, tanto cualitativa como cuantitativamente. El abandono de Andalucía, sin causas técnicas argumentadas, supone un precedente en el desarrollo de los Planes Nacionales que la propia Secretaría de Pesca ha considerado preocupante y ha provocado cambios en los protocolos de aprobación de Planes en el futuro, como es la necesidad de la firma de conformidad de la Dirección General competente de cada Comunidad Autónoma que se adquiriera a un Plan.

En cualquier caso, comentar que desde esta coordinación se ha intentado convencer a los representantes de Andalucía para que no abandonaran el subproyecto, ya que se podrían haber buscado soluciones de consenso que compatibilizasen los problemas expuestos por Andalucía con los compromisos previamente adquiridos.

Incidencias en Canarias: El retraso en el inicio del Proyecto nos ha llevado a que aproximadamente en el mes de Marzo hayamos finalizado los objetivos previstos para el 2007. También cabe señalar, que hemos tenido que reducir el número de peces a analizar y utilizar pools de muestras, ya que debido a la metodología aprobada en una de las últimas reuniones celebradas en Madrid, en la que se decidió utilizar 2 juegos de primers por enfermedad, unida al elevado coste de los Kits de extracción de ARN y PCR aprobados, dicho proyecto se hacía del todo inviable económicamente, atendiendo al ambicioso muestreo presentado en su momento.

En general desde Galicia creemos que es importante ajustarse a los objetivos previstos en el Plan y así lo hemos hecho hasta ahora en el desarrollo de los trabajos.

A mediados de mayo de 2007, coincidiendo con el inicio de los trabajos nos vimos en la necesidad de realizar cambios en la relación de personal encargado en Galicia de la ejecución de los dos subproyectos, por cambios en la plantilla de la Consellería de Pesca y para incorporar al Plan mas personal de la Consellería de Medio Rural por los motivos ya mencionados. También tuvimos que proceder a un reajuste de conceptos presupuestarios dentro del presupuesto destinado a Galicia. Estas dos modificaciones fueron previamente comunicadas a la Secretaría de JACUMAR a través del coordinador del subproyecto de Murcia, haciendo constar que ninguna de ellas suponía incremento en el presupuesto total en su día aprobado, ni modificación o cambio en los objetivos del Plan.

Murcia ha conseguido cumplir con todos los objetivos referentes a número y fecha de los muestreos previstos en la programación del 2007, a excepción de un menor número de muestras en la carnada de atún (debido a que en la previsión se consideraron dos semestres, pero en realidad el muestreo sólo era en el segundo), así como variaciones mínimas en el porcentaje relativo de las especies muestreadas por problemas en la obtención de ejemplares, pero que no ha afectado al número total de ejemplares ni a al valor estadístico ni epidemiológico del muestreo global.

Una de las enfermedades previstas en el proyecto, si bien en menor grado de importancia que las tres enfermedades objetivo, no ha podido ser investigada por incompatibilidad entre la sistemática de obtención de ejemplares y la técnica requerida para su estudio, si bien se va a intentar realizar sobre un número reducido de ejemplares.

El proyecto planteaba la realización de estudios parasitológicos de forma paralela a los estudios de virus. Este apartado ha sido ampliamente desarrollado, realizando controles sobre el parásito *E. leei* en peces tanto de acuicultura como de pesca extractiva, con el fin de valorar la posible interacción. Así mismo, se han realizado chequeos frente a anisakis en todos los ejemplares procedentes de acuicultura. Todos estos análisis no han supuesto en ningún caso un incremento en el

presupuesto total en su día aprobado, ni modificación o cambio en los objetivos del Plan.

AÑO 2008

La entrada en vigor de la Directiva 2006/88/CE y su trasposición al ordenamiento jurídico nacional a través del Real Decreto 1614/2008, de 3 de octubre, relativo a los requisitos zoonosológicos de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos incrementa la importancia de este proyecto y revaloriza los resultados obtenidos por los distintos grupos participantes.

En el Real Decreto se establece la realización de programas de vigilancia zoonosológica sobre las instalaciones de acuicultura para lo cual puede ser de gran utilidad los modelos de planificación y desarrollo de los muestreos que se realizan en este proyecto.

El artículo 17 de la Directiva 2006/88/CE establece que cuando los datos científicos o la experiencia práctica demuestren que especies distintas a las reflejadas como sensibles y señaladas en su anexo, puedan ser causantes de la transmisión de una enfermedad actuando como portadoras, se tendrán en cuenta a la hora de realizar traslados de animales. A tal efecto ha sido publicado recientemente el Reglamento (CE) 1251/2008 referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de especies portadoras. Los resultados de este proyecto puede aportar nuevos datos científicos y prácticos sobre especies portadoras.

Por todo ello, dentro de los objetivos del subproyecto, se va a incorporar un nuevo objetivo parcial, consistente en valorar el papel de las distintas especies analizadas por los grupos participantes como especies portadoras para Septicemia Hemorrágica Vírica en el marco de la nueva normativa sanitaria comunitaria.

Así mismo, a propuesta de técnicos de la Dirección General de Sanidad Animal del Ministerio, se va a plantear como otro nuevo objetivo parcial el diseño de un protocolo de actuaciones ante la aparición de una enfermedad listada en ejemplares de peces silvestres.

En el año 2008, Canarias no ha comunicado ningún ajuste o reordenación destacable, a excepción de los ajustes operativos derivados de la temporalización de los pagos hacia el personal que realiza el trabajo de campo. Se han cumplido perfectamente las previsiones referentes a los muestreos y los análisis.

En Galicia se han cumplido satisfactoriamente los objetivos marcados para este año. A mediados de 2008, nos vimos en la necesidad de realizar cambios en la relación

de personal encargado en Galicia de la ejecución de los dos subproyectos, por cambios en la plantilla de la Consellería de Pesca y para incorporar al Plan más personal de la Consellería de Medio Rural por los motivos ya mencionados. Esta modificación fue comunicada a la Secretaría de JACUMAR a través del coordinador del subproyecto de Murcia, haciendo constar que no suponía incremento en el presupuesto total en su día aprobado, ni modificación o cambio en los objetivos del Plan.

Murcia ha conseguido cumplir con todos los objetivos referentes a número y fecha de los muestreos previstos en la programación del 2008, a excepción de un menor número de muestras en la carnada de atún, así como variaciones mínimas en el porcentaje relativo de las especies muestreadas por problemas en la obtención de ejemplares, pero que no ha afectado al número total de ejemplares ni a al valor estadístico ni epidemiológico del muestreo global.

El proyecto planteaba la realización de estudios parasitológicos de forma paralela a los estudios de virus. Este apartado ha sido ampliamente desarrollado, siendo en la práctica un objetivo más del subproyecto en nuestra Comunidad Autónoma, realizando controles sobre parásitos intestinales en peces tanto de acuicultura como de pesca extractiva, con el fin de valorar la posible interacción. Así mismo, se han realizado chequeos frente a anisakis en todos los ejemplares procedentes de acuicultura. Todos estos análisis no han supuesto en ningún caso un incremento en el presupuesto total en su día aprobado, ni modificación o cambio en los objetivos globales del subproyecto.

Se han realizado cambios en el personal que realiza el proyecto. Esta modificación fue comunicada a la Secretaría de JACUMAR, haciendo constar que no suponía incremento en el presupuesto total en su día aprobado, ni modificación o cambio en los objetivos del subproyecto.

AÑO 2009

El otro subproyecto que forma parte de este Plan Nacional pidió una prórroga sin financiación para el año 2010 a la cual se ha adherido nuestro subproyecto con la finalidad de poder realizar unos informes más completos y poder procesar la información obtenida durante los tres años de muestreos. Esta prórroga es especialmente importante si consideramos que he han realizado muestreos hasta el último mes de este pasado año.

3. ANEXOS CON LOS INFORMES DE LOS GRUPOS DE TRABAJO

Se adjuntan en respectivos anexos los informes realizados por los tres grupos participantes:

Murcia
Galicia
Canarias



Región de Murcia
Consejería de Agricultura y Agua
Dirección General de Ganadería y Pesca

Servicio de Pesca y Acuicultura
C/ Campos, 4 – 2ª Planta
Edificio "Foro"
30201 – Cartagena (Murcia)

Teléfono: 968 32 66 35
Fax: 968 32 66 44
serviciopesca@carm.es

PROYECTO JACUMAR: GESTIÓN SANITARIA EN ACUICULTURA Y CARACTERIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE CONDICIONES DE SANIDAD ANIMAL EN ACUICULTURA MARINA: CREACIÓN DE MAPAS EPIDEMIOLÓGICOS Y ELABORACIÓN DE ESTRATEGIAS PARA EL DISEÑO DE UNA RED DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

Línea prioritaria de los PNCM de SANIDAD ANIMAL (2007-2009).
Prorrogado hasta 2010

SUBPROYECTO: CARACTERIZACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DE CONDICIONES DE SANIDAD ANIMAL EN ACUICULTURA MARINA: CREACIÓN DE MAPAS EPIDEMIOLÓGICOS Y ELABORACIÓN DE ESTRATEGIAS PARA EL DISEÑO DE UNA RED DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA.

RESUMEN DE ACTIVIDADES

Servicio de Pesca y Acuicultura
Dirección General de Ganadería y Pesca
Consejería de Agricultura y Agua de la Comunidad Autónoma de Murcia.

AÑO 2007

El objetivo de estos trabajos es conocer el estado sanitario de las poblaciones silvestres de los animales acuáticos y su posible interacción con las especies cultivadas, así como salvaguardar la seguridad alimentaria. Es necesario adaptar la gestión y control de la acuicultura a las nuevas normas europeas de sanidad animal (Directiva 2006/88/CE) y de higiene alimentaria (Reglamentos 178/2002, 852/2004, 853/2004, 854/2004 y 882/2004). Se plantea como prioritario el estudio de las interacciones entre las poblaciones silvestres y cultivadas, valorando el posible flujo de patógenos entre ambas poblaciones así como cualquier otro efecto recíproco.

Para su implantación, se plantea el primer año la investigación rutinaria de enfermedades víricas de importancia (por presencia o por ausencia) en acuicultura marina mediterránea. Dos enfermedades están dentro de la normativa de la Unión Europea: la septicemia viral hemorrágica (SHV) que es de declaración obligatoria (Anexo II) y la necrosis pancreática infecciosa (NPI), que puede ser sometida a programas nacionales o regionales (Anexo III); en tercer lugar la encefalopatía y retinopatía viral (VER) por estar recogida en el listado de la OIE y tener una incidencia real en la acuicultura marina mediterránea. En la medida de lo posible, se realizarán controles sobre la linfocitosis (LIN). La necrosis eritrocítica viral (VEN), no es sometida a control este primer año, por problemas derivados de su metodología diagnóstica y la necesidad de obtención de sangre de los ejemplares en estudio.

Los ejemplares estudiados serán sometidos, en la medida de lo posible, a un estudio parasitológico reglado, con el fin de recabar la máxima información sobre su estado sanitario y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

Cuando en los controles sistemáticos se detecten problemas patológicos distintos a los mencionados, podrán realizarse análisis complementarios de forma conjunta con la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Murcia, para un óptimo aprovechamiento de toda la información sanitaria que pueda derivarse del presente operativo.

Los ejemplares objeto de estudio serán sometidos de forma rutinaria a un análisis morfológico y necropsia en las instalaciones del Centro de Recursos Marinos (IMIDA). Se procederá a toma de muestras de riñón, bazo y encéfalo que se remitirán al laboratorio del CISA (Centro de Investigación en Sanidad Animal), perteneciente al INIA para la realización del diagnóstico de las enfermedades víricas siguientes: SHV (septicemia viral hemorrágica), NPI (necrosis pancreática infecciosa) y VER (encefalopatía y retinopatía viral). La intensidad de muestreo para estas enfermedades dependerá de la importancia, incidencia y características de la infección. Así, en el caso de la SHV, la prioridad será el muestreo de la carnaza de los atunes y el control de algunas especies centinela. De forma puntual se realizarán controles para la linfocitosis (LIN).

PROGRAMACIÓN 2007

Para este año se proponen una fase de preparación y otra de desarrollo de las pruebas diagnósticas en el 2º semestre. Para años siguientes se programarán pruebas diagnósticas durante todo el año.

1. Programación Fase de adecuación y preparación

Durante los meses de enero hasta mayo se realizarán todas aquellas operaciones de preparación y adaptación de material, infraestructura y personal necesarias para poder realizar con éxito la posterior fase de toma de muestras y procesado de las mismas.

- Adecuación de instalaciones donde realizar las pruebas diagnósticas.
- Obtención del material e infraestructura necesarios.
- Recopilación y búsqueda bibliográfica.
- Preparación del personal técnico.
- Solicitar la colaboración de las empresas de acuicultura y de las cofradías para la obtención de ejemplares. Establecer un acuerdo para la compensación económica por la retirada de ejemplares cuando sea necesario.
- Elaborar un protocolo y una ficha de necropsia.
- Elaborar un sistema de registro de muestras.
- Convenio con CISA/INIA para realización análisis virológico.
- Puesta a punto de las técnicas diagnósticas para VER, NPI y SHV.
- Convenios con Facultad de Veterinaria para análisis parasitológicos.

2. Programación Fase de desarrollo.

Los ejemplares objeto de estudio serán sometidos de forma rutinaria a un análisis morfológico y necropsia en las instalaciones del Centro de Recursos Marinos. En este análisis se anotarán todos los hallazgos de necropsia y en especial se vigilará la presencia de lesiones compatibles con la linfocitosis así como la presencia de parásitos. Se tomarán muestras para análisis virológico. De forma puntual se realizarán controles para VEN (necrosis eritrocitaria viral). En determinados casos, especialmente para pruebas de histología o por la aparición de parásitos, se podrá solicitar la colaboración de la Facultad de Veterinaria de Murcia.

Controles rutinarios

Cronograma control rutinario 2007:

| Objetivo | Enero/ Febrero | Marzo/ Abril | Mayo/ Junio | Julio/ Agosto | Septiembre/ Octubre | Noviembre/ Diciembre |
|---------------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------------|-------------------------|
| Planificación | | | | | | |
| Grupo 1 | | | | | | |
| Grupo 2 | | | | | | |
| Grupo 3 | | | | | | |
| Grupo 4 | | | | | | |



- Grupo 1. Ejemplares de especies cultivadas procedentes de granjas de acuicultura.
 Grupo 2. Ejemplares de las especies cultivadas procedentes del medio natural.
 Grupo 3. Ejemplares de especies no cultivadas ecológicamente relacionadas
 Grupo 4. Ejemplares de especies no cultivadas, usadas como centinela de enfermedades objetivo.

Controles específicos

Los controles y análisis sobre importaciones, cultivo de nuevas especies y partidas de peces de origen desconocido no pueden ser planificadas y se realizarán en función de los resultados de las inspecciones realizadas desde el Servicio de Pesca y Acuicultura. Durante el 2007 se controlará la alimentación de los atunes.

Cronograma estudios específicos

| Objetivo | Enero/ Febrero | Marzo/ Abril | Mayo/ Junio | Julio/ Agosto | Septiembre/ Octubre | Noviembre/ Diciembre |
|----------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------------|-------------------------|
| Carnaza | | | | | | |

Focos de enfermedad

Este tipo de controles no puede ser planificado y se realizará en función de los resultados de las inspecciones realizadas desde el Servicio de Pesca y Acuicultura.

3. Muestreos previstos para el 2007

El total previsto de muestras es:

Peces para virus: 560
 Carnada de atunes: 240

Periodos de muestreo: Mayo a agosto de 2007

Muestreo de peces

Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | Número |
|---|-------------|--------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 150 |
| | Pesca | 60 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 40 |
| | Pesca | 30 |
| Sargo picudo (<i>Diplodus puntazzo</i>) | Acuicultura | 20 |
| | Pesca | 30 |
| Corvina acuicultura (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | 20 |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | 30 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Pesca | 30 |



| | | |
|--------------------------------|-------|-----|
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Pesca | 30 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Pesca | 30 |
| Sargos (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 30 |
| Mújol (<i>Mugil spp</i>) | Pesca | 30 |
| Salpa (<i>Sarpa salpa</i>) | Pesca | 30 |
| Total | | 560 |

a. Descripción ejemplares de acuicultura

| Especie | Zona de origen | | Total especie |
|--------------|----------------|---------|---------------|
| | San Pedro | Águilas | |
| Dorada | 100 | 50 | 150 |
| Lubina | 20 | 20 | 40 |
| Sargo picudo | 20 | -- | 20 |
| Corvina | 20 | -- | 20 |
| Total zona | 160 | 70 | 230 |

Se chequearán 7 granjas, tomando 30 muestras

b. Especies silvestres cultivables

| Especie | Zona de origen | | Total especie |
|--------------|----------------|---------|---------------|
| | San Pedro | Águilas | |
| Dorada | 60 | -- | 60 |
| Lubina | 30 | -- | 30 |
| Sargo picudo | 30 | -- | 30 |
| Corvina | 30 | -- | 30 |
| Total zona | 150 | -- | 150 |

c. Especies que frecuentan las granjas

| Grupo | Especie | Zona de origen | | Total especie |
|------------------|---------|----------------|---------|---------------|
| | | San Pedro | Águilas | |
| Mayor frecuencia | Alacha | -- | 30 | 30 |
| | Boga | -- | 30 | 30 |
| Subtotal | | -- | 60 | |
| Alta frecuencia | Jureles | -- | 30 | 30 |
| | Mújoles | 30 | -- | 30 |
| Subtotal | | 30 | 30 | |
| Descritos | Sargos | 30 | -- | 30 |
| | Salpa | 30 | -- | 30 |
| Subtotal | | 60 | -- | |
| Total zona | | 90 | 90 | 180 |

d. Especies centinela para enfermedades objetivo

Especies monitoras para VER

| Especie | Acuicultura | | Pesca | | Total |
|---------|-------------|---------|-----------|---------|-------|
| | San Pedro | Águilas | San Pedro | Águilas | |
| Lubina | 20 | 20 | 30 | -- | 70 |
| Corvina | 20 | -- | 30 | -- | 50 |
| Sargos | 20 | -- | 60 | -- | 80 |
| Mújol | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Total | 60 | 20 | 150 | -- | 230 |

Especies monitoras para SHV

| Especie | Acuicultura | | Pesca | | Total |
|---------|-------------|---------|-----------|---------|-------|
| | San Pedro | Águilas | San Pedro | Águilas | |
| Lubina | 20 | 20 | 30 | -- | 70 |
| Alacha | -- | -- | -- | 30 | 30 |
| Jureles | -- | -- | -- | 30 | 30 |
| Sargos | 20 | -- | 60 | -- | 80 |
| Corvina | 20 | -- | 30 | -- | 50 |
| Mújol | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Salpa | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Total | 60 | 20 | 180 | 60 | 320 |

Especies monitoras para NPI

| Especie | Acuicultura | | Pesca | | Total |
|---------|-------------|---------|-----------|---------|-------|
| | San Pedro | Águilas | San Pedro | Águilas | |
| Dorada | 100 | 50 | 60 | -- | 210 |
| Alacha | -- | -- | -- | 30 | 30 |
| Jureles | -- | -- | -- | 30 | 30 |
| Corvina | 20 | -- | 30 | -- | 50 |
| Total | 120 | 50 | 90 | 60 | 320 |

Muestreo de carnada de atún

4 granjas, dos muestreos de 30

240 ejemplares en total

50 % en cada una de las zonas de cría de atún: San Pedro y El Gorguel (Cartagena)

DESARROLLO DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA

1. Ejemplares analizados.

El origen de los ejemplares analizados fue el siguiente:

- Peces de acuicultura, procedentes de los individuos aparentemente sanos de las granjas.
- Peces de pesca extractiva, procedentes de las lonjas de San Pedro del Pinatar y de Águilas.
- Peces utilizados como alimento de atunes, obtenidos de la carnada utilizada por las empresas que realizan engorde de atún, que en el 2007 fueron 5.

2. Procesado de las muestras

Cuando se procedía a obtener ejemplares para su posterior análisis, se cumplimentaba una ficha con los datos epidemiológicos más relevantes, tanto en los peces de acuicultura como en los de pesca extractiva. Esta ficha fue consensuada entre los participantes en el proyecto en las fases previas del mismo. Los peces eran llevados rápidamente, en condiciones de frío, al Centro de Recursos Marinos en San Pedro del Pinatar para ser procesados.

Fueron sometidos de forma rutinaria a un análisis morfológico y necropsia lo antes posible anotando cualquier hallazgo significativo, en especial la presencia de lesiones compatibles con linfocitosis. Todos los datos de cada necropsia se reflejaban en la correspondiente hoja de necropsia, la cual tiene un diseño colectivo para los ejemplares de una misma partida y que también fue consensuada por los grupos participantes en el proyecto.

Se extremaron las medidas de higiene y de asepsia, no utilizando el mismo material de disección para más de un ejemplar, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas entre los ejemplares. Todo el material utilizado era posteriormente lavado y desinfectado mediante un baño con hipoclorito sódico (10%). Posteriormente el material fue esterilizado mediante autoclave.

Se procedió a extraer muestras de riñón, bazo y de encéfalo por duplicado para cada ejemplar. El tamaño de la muestra fue de aproximadamente 0,25 gramos y eran introducidos en tubos eppendorf: riñón y bazo en un tubo y el encéfalo en otro. A uno de los ejemplares de cada muestra se le añadió inmediatamente un conservante específico (ARN later®), siendo esta la muestra que se envió al laboratorio de Valdeolmos (CISA/INIA) para el análisis virológico. A partir de las muestras de encéfalo se realizará el diagnóstico de encefalopatía y retinopatía viral (VER). Las muestras de riñón y bazo fueron utilizadas para el diagnóstico de septicemia viral hemorrágica (SHV) y de necrosis pancreática infecciosa (NPI).

El segundo ejemplar de cada muestra es llevado rápidamente a temperatura de congelación sin añadirle ningún conservante. Una vez concluidas las extracciones, los ejemplares eran convenientemente identificado e introducidos individualmente en bolsas de plástico y conservados en congelación. Dentro de esas bolsas se guardarán en tubos eppendorf muestras de tejido renal y encefálico restante. En el caso de posibles positivos se podrá realizar así un segundo análisis o bien la realización de técnica oficial de confirmación como ocurre en el caso de la SHV, en cuyo caso habría que remitir los ejemplares al laboratorio oficial de referencia que es el de Sanidad Animal y Producción Animal de Algete (Real Decreto 1488/94). Para el resto de enfermedades, al no ser de declaración obligatoria, podrá ser confirmado por los laboratorios de referencia de cada Comunidad Autónoma.

La información recogida en las fichas de toma de muestras, en las hojas de necropsia, en los boletines analíticos de laboratorio y la información del análisis parasitológico fue centralizada en una base de datos informática.

3. Diagnóstico laboratorial

Durante el año 2007, las muestras fueron remitidas, para la realización de los análisis virológicos, al Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), centro de investigación dependiente del INIA. Este centro, situado en Valdeolmos (Madrid), está considerado como el de mayores garantías en cuanto a seguridad biológica, teniendo un equipo con gran experiencia en el diagnóstico virológico en enfermedades de peces mediante técnicas genéticas.

Uno de los principales objetivos para los próximos años será la puesta a punto de estas técnicas de PCR en el Laboratorio Agrario y de Sanidad Animal de El Palmar, dependiente de la Consejería de Agricultura y Agua.

Las muestras en conservador de ARN se enviaron al CISA refrigeradas donde se procederá a la extracción de RNA, paso a cDNA y PCR para diagnóstico, siendo las principales ventajas de este método de diagnóstico genético su simplicidad y rapidez, su especificidad y su sensibilidad (Gilbello *et al.*, 2001).

A continuación se describen los procedimientos diagnósticos utilizados por el CISA para SHV, VER y NPI. Este protocolo de trabajo fue consensuado en una reunión específica de los laboratorios designados por cada una de las Comunidades Autónomas participantes en el proyecto:

PROTOCOLO

1. Toma y transporte de muestras

- a. Las muestras se obtendrán, cuando sea posible, a partir de peces vivos, y en todo caso se hará a partir de peces muertos o moribundos [*Nota*: evitar los que estén en fase de “rigor mortis”].
- b. Los órganos a muestrear en cada pez serán:
 - i. Para el diagnóstico de beta-nodavirus: cerebro
 - ii. Para el diagnóstico de VHSV e IPNV: riñón anterior y bazo
- c. Toma de la muestra
 - i. Los órganos se extraerán asépticamente
 - ii. En el caso de alevines o peces de un tamaño superior a 5 cm, se extraerán los órganos indicados arriba. En el caso de alevines de un tamaño entre 3 y 5 cm, se separan la cabeza y las vísceras (desechando en la medida de posible los intestinos) del resto de la musculatura, y se procesan por separado. En el caso de peces de un tamaño inferior, los individuos se procesan enteros.
 - iii. La mitad (al menos 0,3-0,5 gr) de cada órgano se introducirá en viales estériles de 1,5 – 5 ml
 1. Cuando el transporte de la muestra vaya a durar más de 4 h, como en el caso del estudio correspondiente a Murcia, la porción de órgano citada en el apartado anterior se introducirá en tubos con 1,0 ml de RNAlater (Ambion) [*Nota*: De éste modo, el ácido nucleico de las muestras será estable durante 1 día a 37°C, o durante 1 semana a T^a ambiente].
 - iv. La otra mitad del órgano se mantendrá a 4°C el mínimo tiempo posible, procediendo cuanto antes a su almacenamiento a -80°C (sin ningún aditivo), durante no más de 2 años. [*Nota*: En caso de detectar una muestra positiva por PCR, se utilizaría su homóloga congelada para proceder a la aplicación de la técnica de aislamiento en cultivo celular, para aislar el virus].
- d. Transporte de las muestras al laboratorio de análisis:
 - i. El sistema de transporte debe asegurar, en cualquier caso, la estabilidad de la muestra.
 - ii. Las muestras en RNAlater se enviarán refrigeradas al CISA (Madrid), donde se procederá a la extracción de RNA, paso a cDNA y PCR para diagnóstico.

2. Extracción del RNA

- a. Reagrupación de muestras:
 - i. En el caso de los peces salvajes, cada pez se analizará individualmente [*Nota*: en el caso concreto de la Comunidad Canaria, esta apartado podrá ser modificado, en función del volumen de peces implicado, pasando a la realización de pooles, como se indica a continuación].
 - ii. En el caso de los peces cultivados, se llevará a cabo reagrupación, dentro de cada planta de cultivo y lote, en *pooles* de 5 individuos, siendo esta la unidad de análisis de diagnóstico [*Nota*: en este caso, la homogenización de los órganos se realizará de modo conjunto, para tener una única extracción de RNA por *pool*].
- b. Extracción de RNA.- La extracción de RNA a partir de los tejidos se realiza mediante el sistema RNeasy® Mini Kit (Qiagen), de la siguiente forma: Hasta un máximo de 200 mg de tejido se homogenizan en 360 µl de tampón RLT [*Nota*: si es necesario, se utilizarán sistemas mecánicos, tipo OMNI o similares]. El resto del proceso se realiza siguiendo las indicaciones del fabricante. Finalmente el RNA se eluye en 75 µl de agua libre de nucleasas, y se conserva, en el caso de que no se vaya a utilizar de inmediato, a - 80 °C.

3. Síntesis de cDNA.-

Para obtener el cDNA, las muestras de RNA viral (2,5-25 ng/µl) se incuban tal como indica el protocolo de la SuperScript™ III RT (Invitrogen) en presencia de *random primers* durante 5 min a 95°C, y a continuación se transfieren inmediatamente a 4°C. Seguidamente se añaden el resto de los componentes de la reacción: 4 µl de “5X First Strand buffer”, 1 µl de DTT 0,1 M, 1 µl de dNTP mix (10 mM cada uno de ellos), 50 U de SuperScript™ III RT, y agua libre de nucleasas hasta un volumen final de 20 µl. Esta solución se incuba a 25°C durante 10 min seguidos de otra incubación de 50°C durante 50 min (síntesis del cDNA). Finalmente la mezcla de reacción se somete a 85°C durante 5 min para inactivar la reversotranscriptasa. Opcionalmente se puede incubar la mezcla durante 20 min a 37°C en presencia de RNasa H para degradar los restos de RNA presentes. El cDNA obtenido se conserva a -80 °C en el caso de que no vaya a ser utilizado de inmediato.

4. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Para la reacción de PCR utilizamos el sistema HotMaster® Mix (2,5X), de Eppendorf. De 3 a 5 µl del resultado de la reacción de transcripción inversa se utilizan para la PCR. Brevemente: 10 µl de HotMaster® Mix (2,5X) se mezclan con los cebadores forward y reverse específicos para cada virus [*Nota*: ver apartado 5] a una concentración final de 0,25 µM, de 3 a 5 µl de cDNA y agua libre de nucleasas hasta un volumen final de 25 µl. Esta

mezcla de reacción se somete a los siguientes ciclos [*Nota: se empleará el mismo protocolo en todos los casos*]:

1. 94 °C durante 3 min
2. 94 °C durante 30 seg
3. 58 °C durante 30 seg
4. 68 °C durante 30 seg 35 ciclos desde paso 2 a 4
5. 68 °C durante 10 min
6. 4 °C hasta recoger

El resultado de la reacción de PCR se carga en un gel de agarosa 1,5 % y las bandas específicas se visualizan en un transiluminador de UV.

5. **Parejas de cebadores:** Para el diagnóstico de cada uno de los 3 virus, se emplearán dos parejas de primers, con el fin de asegurar la detección de todos los tipos de cepas de cada uno de ellos. Los cebadores se muestran en el Anexo 1 del presente protocolo.
6. **Actuaciones ante resultados positivos para cualquiera de los virus,**
 - a. El fragmento de PCR amplificado se secuenciará con el fin de corroborar el resultado positivo y tener indicios del tipo viral.
 - b. A partir de la réplica de la muestra correspondiente (bajo custodia, congelada, en las Consejerías), se procederá al aislamiento del virus, siguiendo para ello las normativas europeas y OIE.



ANEXO I

Tabla 1.- Cebadores utilizados en el diagnóstico de IPNV, VHSV y betanodavirus. Posición en cepas de referencia y producto de amplificación esperado.

| Virus | Segm | Pareja | Cebador | Secuencia (5'-3') | Posición-Cepa | Producto amplificación |
|---------------|--------------------|---------------------|------------------------|--|---------------------------|-------------------------------------|
| IPNV | A | Heppel ² | F R | AGA-GAT-CAC-TGA-CTT-CAC-AAG-TGA-C CTC-AGT-AGA-AAG-GAC-ACC-ACG-TGT | (1403-1427 (1746-1761) | IPNV Jaspe 358 pb |
| | B | UIP-PV | IPNBA4U IPNBA4R | TGG-GGA-AGT-CGT-TCT-CCA-AC CCC-CCT-TGA-CAA-CCC-TCA-GG | 220-239 524-509 | |
| VHSV | <i>(no aplica)</i> | OIE | Forward Reverse | GGG-GAC-CCC-AGA-CTG-T TCT-CTG-TCA-CCT-TGA-TCC | | 811 pb |
| | | UIP-PV | VHSCM3A VHSCM3B | CAG-GCG-TTG-TCC-GTG-CTT-CT ACC-CTG-CGA-GTT-TCC-TGA-TGG | 278-297 615-635 | VHSV F1 strain Gen N 358 pb |
| Betanodavirus | RNA 2 | OIE ¹ | NODAF2 NODAR3 | CGT-GTC-AGT-CAT-GTG-TCG-CT CGA-GTC-AAC-ACG-GGT-GAA-GA | 604-623 1011-1030 | Nodavirus SJNNV 427 pb |
| | RNA 1 | UIP-PV | NpRNA1_2l NpRNA1_2u | CAGTTCGTATGCAGTGCGGATGTT TTTGGGTGTTCCGATATTGTTGTA | 1113-1090) 546-569 | Nodavir RGNNV AY369136 568 pb |

1.- Nishizawa, T., Mori, K-i., Furuhashi, M., Nakai, T., Furusawa, I., & Muroga, K, 1995. Comparison of the coat protein genes of five fish nodaviruses, the causative agents of viral nervous necrosis in marine fish. *Journal of General Virology*, 76: 1563-1569.

2.- Heppell, J., Berthiaume, L., Tarrab, E., Lecomte, J. and Arella, M., 1992. Evidence of genomic variations between infectious pancreatic necrosis virus strains determined by restriction fragments profiles. *Journal of General Virology*, 73: 2863-

En caso de encontrarse algún positivo, el fragmento de PCR amplificado se enviará a secuenciar al servicio de secuenciación del CISA para corroborar el positivo y determinar el serotipo de virus. Además, a partir de las muestras duplicadas que se encuentran congeladas en las Consejerías, se intentará aislar el virus. Estos duplicados se enviarán al CISA, para realizar los consiguientes homogenados en medio de cultivo celular enriquecido con antibióticos y fungizona, y la inoculación de distintas diluciones de los homogenados en cultivo celular. En caso de ser muestras sospechosas de IPNV o VHSV, las células (EPC, CHSE-214 o RTG-2) inoculadas se incubarán a 14°C, mientras que en caso de ser muestras sospechosas de nodavirus los homogenados se tendrán que inocular en SAF-1 (línea de dorada susceptible a nodavirus) a 20°C.

El RD 1488/94 establece las medidas mínimas de la lucha contra determinadas enfermedades de los peces. Esta normativa regula las medidas a desarrollar por la autoridad sanitaria en caso de aparición de una serie de enfermedades, entre ellas la SHV, así como establece planes de muestreo para declarar explotaciones o zonas como libres de la enfermedad. Establece los métodos oficiales de diagnóstico para el virus de la SHV, entre los cuales no se encuentran las técnicas de PCR. Sin embargo, los objetivos del presente trabajo son bien distintos respecto a esta enfermedad, ya que se aprovecha la toma de muestras para enfermedades emergentes y potencialmente peligrosas como es el caso del VER, para realizar un chequeo frente a la presencia del virus de la SHV en una población en principio libre de este patógeno, como son los peces mediterráneos, tanto de acuicultura como silvestres. Si apareciesen ejemplares positivos frente a esta enfermedad mediante PCR, se remitirían al Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Algete, ya que este es el laboratorio nacional de referencia para esta enfermedad. En el año 2008 está prevista la transposición de la Directiva 2006/88/CE, por lo que las consideraciones respecto a las enfermedades listadas habrá que adaptarlas al nuevo marco normativo.

Muestreo virológico en carnaza de atunes

El estudio diagnóstico de estos ejemplares presenta un problema añadido, pues son peces que están mucho tiempo congelados y las condiciones de almacenamiento y manipulación no son las óptimas por lo que presumiblemente el ARN está dañado, siendo inviable su uso para PCR.

Para estas muestras se plantea la realización de homogenizados e inoculación en cultivo celular para ver si se produce efecto citopático por algún virus que posteriormente se identificaría. La metodología es la siguiente: Las muestras se homogenizan de forma estéril en medio de cultivo suplementado con antibióticos y fungizona. Distintas diluciones de estos homogenizados se inoculan en células EPC de carpa. Tras 7-8 días de incubación a 14 °C de visualizan para detectar posibles efectos virales.

Esta técnica permite demostrar la presencia o no de virus vivos en el alimento de los atunes, lo cual constituye una información epidemiológica de gran valor.

4.4. Estudios parasitológicos

En el proyecto se plantea la realización de estudios parasitológicos, con el fin de recabar la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

Para este estudio piloto se ha escogido el parásito denominado *Enteromyxus leei* que causa la enteromyxosis por tener una incidencia real en las instalaciones de acuicultura marina en la Región de Murcia, tiene un amplio rango de hospedadores y su transmisión es directa, por lo que interesa enormemente valorar la posible transmisión entre peces silvestres y cultivados.

Enteromyxosis: Inicialmente detectado en Chipre, *Enteromyxum leei*, se ha asociado posteriormente con morbilidades y mortalidades en Grecia, Francia, Turquía, Italia y España, no solo en doradas sino también en otros espáridos. El parásito muestra una afinidad muy estricta por el intestino del pez, donde tiene lugar su desarrollo hasta la formación de las esporas. En este proceso produce importantes lesiones, consistentes en una enteritis severa con acumulación de líquido en el tracto digestivo y desprendimiento del epitelio. Los peces dejan de comer casi totalmente y no aprovechan el alimento que ingieren, lo que lleva a la extrema delgadez que se observa y que conduce finalmente a la muerte del pez.

En infecciones leves o moderadas, el parásito se localiza intercelularmente, sin producir daño celular aparente, causando únicamente la compresión mecánica de los enterocitos adyacentes. En infecciones avanzadas, las lesiones son mucho más evidentes, y la estructura de la mucosa intestinal parece claramente alterada, por lo que se llega a producir descamación del epitelio y hemorragias, con la consiguiente liberación de parásitos en el lumen intestinal. La enfermedad progresa con mayor rapidez en el sargo, que además muestra prevalencias e intensidades de infección mayores, y lesiones histopatológicas más marcadas que la dorada.

Aunque no se conoce el ciclo completo de este mixosporidio, ni se ha demostrado la participación de un hospedador intermediario, se ha comprobado que se puede transmitir directamente entre los peces. Este hecho, junto al amplio rango de hospedadores, es sumamente importante desde el punto de vista epidemiológico, ya que contribuye a la rápida dispersión de esta enfermedad para la que no existe tratamiento.

Utilizando los criterios de Dempster *et al.* (2001), se seleccionan para el presente estudio de las especies silvestres las dos especies de mayor frecuencia, es decir alacha y boga y una especie de alta frecuencia, el jurel.

Los grupos a muestrear serán los siguientes:

| | |
|------------------------|---------|
| ACUICULTURA | Doradas |
| | Lubina |
| Silvestres cultivables | Dorada |
| | Lubina |
| Silvestres | Alacha |
| | Boga |
| | Jurel |

También se realizará un control sobre los alevines que vayan a ser introducidos en granjas de nuestra Región. Para ello, en los controles habituales y aleatorios que se realizan en estas operaciones de descarga se recogerá un número de ejemplares muertos o moribundos suficiente. Cuando sea posible, el número será al menos de 20 ejemplares. Los controles serán sobre alevines de dorada.

| Objetivo | Enero/ Febrero | Marzo/ Abril | Mayo/ Junio | Julio/ Agosto | Septiembre/ Octubre | Noviembre/ Diciembre |
|----------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------------|-------------------------|
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| | | | | | | |
| Alevines | | | | | | |

En número de muestras será el siguiente:

| | ESPECIES | NÚMERO DE MUESTREOS | EJEMPLARES POR MUESTREO | TOTALES GRUPOS |
|------------------------|----------|---------------------|-------------------------|----------------|
| Cultivadas | 2 | 1 | 35 | 70 |
| Silvestres cultivables | 2 | 1 | 35 | 70 |
| Silvestres | 3 | 1 | 35 | 105 |
| Alevines | 1 | 1 | 20 | 20 |
| Total | | | | 265 |

Tras la necropsia de los animales y el examen en fresco, se obtendrá fragmentos del intestino posterior que se fijarán en formol al 10%, se incluirán en resina acrílica Technovit 7100 (Kulzer, Heraeus, Alemania) mediante métodos estándar, se cortarán mediante microtomo a 1,5 µm de grosor y se teñirán mediante la técnica Giemsa. La observación microscópica de las muestras obtenidas permitirá establecer la prevalencia de infección en las especies objeto de estudio.

De manera experimental, también se va a realizar un chequeo frente a anisakis en los peces procedentes de la acuicultura.

RESULTADOS

1. TOMA DE MUESTRAS

Las técnicas de PCR son altamente sensibles y permiten procesar gran número de muestras en un tiempo muy adecuado, pero son muy dependientes de la calidad del sustrato sobre el que se realice el análisis.

El caso concreto del ARN, es muy lábil, degradándose en un periodo de tiempo muy corto. La inmensa mayoría de los estudios que se realizan en patología de peces se realiza en condiciones de laboratorio: se mantienen peces en estanques y estos son sacrificados inmediatamente antes de la necropsia. En el caso de los animales de acuicultura, el intervalo entre los animales de acuicultura son sacrificados y la necropsia puede ser más amplio, sobre todo en jaulas flotantes en el mar, si bien dicho intervalo suele ser perfectamente asumible. El problema se plantea en los ejemplares de peces procedentes de la pesca extractiva, en los que el factor periodo de tiempo entre sacrificio del animal y necropsia es más variable y en casi todos los casos más prolongado.

Para estudiar la posible interferencia en los resultados de este estudio del factor tiempo en los ejemplares procedentes de la pesca, se diseñó un ensayo en el cual se procesaron animales procedentes de acuicultura en condiciones “óptimas” y se contrastó con un lote de animales procedentes de pesca extractiva. Las características de los dos lotes son los siguientes:

Acuicultura: se procesaron tres doradas criadas en tanques en las instalaciones que el IES Manuel Tárraga Escribano posee en el Centro de Recursos de San Pedro del Pinatar. Los animales fueron sacrificados mediante sección medular tras su extracción de los tanques de cultivo. Inmediatamente fueron necropsiados extrayendo riñón y encéfalo, que fueron sumergidos en solución conservante y puestos en refrigeración. Las características de los animales se describen en la tabla 1.

Pesca extractiva: se procesaron 4 doradas procedentes de pesca extractiva y desembarcadas en la lonja de Lo Pagán. Los animales fueron transportados en frío hasta el Centro de Recursos Marinos donde fueron procesados de igual manera que los ejemplares procedentes de acuicultura. Los datos se reflejan en la tabla 1.

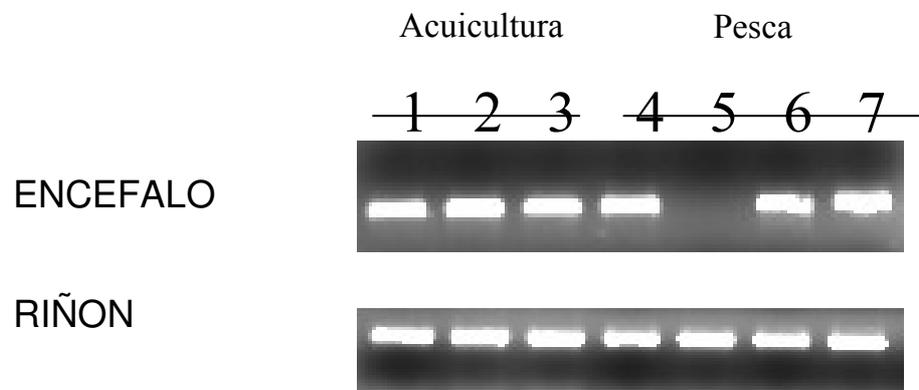
Tabla 1. Características de los peces utilizados en la prueba de estabilidad de ARN.

| Número | Talla | Peso | Origen |
|--------|-------|------|-------------|
| 1 | 21,5 | 128 | Acuicultura |
| 2 | 22 | 130 | Acuicultura |
| 3 | 21 | 127 | Acuicultura |
| 4 | 23,5 | 191 | Pesca |
| 5 | 26,5 | 251 | Pesca |
| 6 | 24 | 184 | Pesca |
| 7 | 25 | 235 | Pesca |

Las muestras fueron enviadas en frío al CISA donde fueron procesadas, realizándose la extracción de RNA, paso a cDNA y amplificación de la β -actina.

El resultado fue satisfactorio en todas las muestras excepto en un cerebro de una dorada de pesca, pero este hecho fue atribuido por los responsables del laboratorio a un problema en la realización de la técnica de PCR. Como resultado de todo ello se comprobó que no había diferencias entre las muestras de acuicultura y las de pesca, por lo que el método seguido se comprobó que era perfecto para el procesado y envío de muestras en los peces de pesca.

Amplificación de **β -actina** de dorada.



Los muestreos se realizaron entre junio y diciembre. En cada toma de muestras se cumplimentó una “Hoja de toma de muestras” en la cual se reflejaban los datos epidemiológicos más relevantes y cuyo modelo fue consensuado entre los distintos grupos participantes.

Los ejemplares fueron procesados tal y como se describe en el procedimiento descrito en el “Protocolo de muestreo y análisis”, el cual fue elaborado por el grupo de expertos representantes de los laboratorios participantes en el proyecto. Fueron 9 los envíos realizados al laboratorio de Valdeolmos.

Los envíos se realizaron mediante una empresa de mensajería urgente y siempre en condiciones de refrigeración. Cada envío agrupaba las muestras recogidas mediante dos a cuatro sesiones de necropsias, las cuales eran conservadas en frigorífico y con su correspondiente conservante de ARN.

2. MUESTREO PECES ACUICULTURA Y PESCA (RUTINARIOS)

El muestreo se realizó entre los meses de junio y diciembre.

Se cumplimentaron las correspondientes hojas de necropsia de las distintas partidas de peces que fueron procesados. En dichas hojas se reflejan los códigos individuales asignados a cada muestra, la especie, peso, talla, la presencia de lesiones compatibles con la linfocitosis y las observaciones que se consideren oportunas.

En la tabla 2 se reflejan las especies utilizadas, así como el número de ejemplares de cada una de ellas. En total se obtuvieron 561 peces para virus. En la tabla 9 se especifican los 150 peces procedente de la carnada de los atunes.

Muestreo de peces

Tabla 2. Especies utilizadas en el muestreo del PVE 2007.

| Espece | Origen | Número |
|--|-------------|--------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 152 |
| | Pesca | 60 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 57 |
| | Pesca | 36 |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | 22 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Pesca | 30 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Pesca | 46 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Pesca | 62 |
| Sargos (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 36 |
| Mújol (<i>Mugil spp</i>) | Pesca | 30 |
| Salpa (<i>Sarpa salpa</i>) | Pesca | 30 |
| Total | | 561 |

Tabla 3. Ejemplares muestreados de acuicultura, con expresión del número de ejemplares total y por zona de producción

| Espece | Zona de origen | | Total especie |
|------------|----------------|---------|---------------|
| | San Pedro | Águilas | |
| Dorada | 112 | 40 | 152 |
| Lubina | 37 | 20 | 57 |
| Total zona | 149 | 60 | 209 |

Se han chequeado 6 granjas.

Tabla 4. Ejemplares muestreados de especies silvestres cultivables, con expresión del número de ejemplares total y por zona de producción

| Especie | Zona de origen | | Total especie |
|------------|----------------|---------|---------------|
| | San Pedro | Águilas | |
| Dorada | 60 | -- | 60 |
| Lubina | 36 | -- | 36 |
| Total zona | 96 | -- | 96 |

Tabla 5. Ejemplares muestreados de peces silvestres que frecuentan las instalaciones de acuicultura, con expresión del número de ejemplares total y por zona de origen.

| Grupo | Especie | Zona de origen | | Total especie |
|------------------|---------|----------------|---------|---------------|
| | | San Pedro | Águilas | |
| Mayor frecuencia | Alacha | 30 | -- | 30 |
| | Boga | 30 | 16 | 46 |
| Subtotal | | 60 | 16 | 76 |
| Alta frecuencia | Jureles | 32 | 30 | 62 |
| | Mújoles | 30 | -- | 30 |
| Subtotal | | 62 | 30 | 92 |
| Descritos | Sargos | 36 | -- | 36 |
| | Salpa | 30 | -- | 30 |
| Subtotal | | 66 | -- | 66 |
| Total zona | | 188 | 46 | 234 |

Tabla 6. Ejemplares muestreados de las especies monitoras para VER.

| Especie | Acuicultura | | Pesca | | Total |
|---------|-------------|---------|-----------|---------|-------|
| | San Pedro | Águilas | San Pedro | Águilas | |
| Lubina | 37 | 20 | 36 | -- | 93 |
| Corvina | -- | -- | 22 | -- | 22 |
| Sargos | -- | -- | 36 | -- | 36 |
| Mújol | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Total | 37 | 20 | 124 | -- | 181 |

Tabla 7. Ejemplares muestreados de las especies monitoras para SHV.

| Especie | Acuicultura | | Pesca | | Total |
|---------|-------------|---------|-----------|---------|-------|
| | San Pedro | Águilas | San Pedro | Águilas | |
| Lubina | 37 | 20 | 36 | -- | 93 |
| Alacha | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Jureles | -- | -- | 32 | 30 | 62 |
| Sargos | -- | -- | 36 | -- | 36 |
| Corvina | -- | -- | 22 | -- | 22 |
| Mújol | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Magre | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Total | 37 | 20 | 216 | 30 | 303 |

Tabla 8. Ejemplares muestreados de las especies monitoras para NPI.

| Especie | Acuicultura | | Pesca | | Total |
|---------|-------------|---------|-----------|---------|-------|
| | San Pedro | Águilas | San Pedro | Águilas | |
| Dorada | 112 | 40 | 60 | -- | 212 |
| Alacha | -- | -- | 30 | -- | 30 |
| Jureles | -- | -- | 32 | 30 | 62 |
| Corvina | -- | -- | 22 | -- | 22 |
| Total | 112 | 40 | 144 | 30 | 326 |

3. MUESTREOS ESPECÍFICOS

CARNADA ATUNES

El muestreo se realizó entre los meses de agosto y octubre del 2007. En las tablas 9 y 10 se reflejan respectivamente los ejemplares utilizados y su origen, tanto de las granjas como de los caladeros donde fueron pescados.

Tabla 9. Muestreo de carnada de atún, con indicación de la especie y la zona de utilización

| Especie | Zona de producción | | Total |
|-----------|--------------------|---------|-------|
| | San Pedro | Gorguel | |
| Caballa | 45 | 30 | 75 |
| Estornino | 30 | 30 | 60 |
| Alacha | 15 | | 15 |
| Total | 90 | 60 | 150 |

Tabla 10. Origen de los ejemplares muestreados de carnada de atún. Esta información se tomó de la información comercial que acompañaba a cada una de las partidas muestreadas.

| Especie | Total ejemplares | Total lote | Origen |
|-----------|------------------|------------|---------------------------------|
| Caballa | 75 | 30 | Zona FAO 27. Atlántico Nordeste |
| | | 30 | Zona FAO 37. Mediterráneo |
| | | 15 | Zona FAO 37. Mediterráneo |
| Estornino | 60 | 30 | Zona FAO 27. Atlántico Nordeste |
| | | 30 | Zona FAO 27. Atlántico Nordeste |
| Alacha | 15 | 15 | Zona FAO 37. Mediterráneo |

MUESTREO NUEVAS ESPECIES.

Durante el año 2007 se ha producido la introducción de gran cantidad de alevines de corvina (*Argirosomus regius*) por parte de una empresa. Esta especie ha sido cultivada durante algunos años por otra empresa pero en pequeñas cantidades, no habiendo producción este año. En la planificación del 2008 se ha incluido esta especie dentro de los controles rutinarios de las especies cultivadas de acuicultura.

MUESTREO IMPORTACIONES.

Todas las importaciones de alevines procedían de países de la Unión Europea. En una de estas importaciones se chequeó un lote de 20 doradas para la realización de análisis parasitológico.

FOCOS DE ENFERMEDAD.

Durante este año no se ha detectado ningún brote de enfermedad en poblaciones silvestres y tampoco ha sido necesario intervenir en ningún foco de enfermedad en las empresas de acuicultura, ya que en todos los casos los peces han respondido adecuadamente a los tratamientos terapéuticos ordinarios, según las informaciones aportadas por los responsables sanitarios de las empresas.

LOTES DE ORIGEN DESCONOCIDO

No ha sido detectado ningún lote de peces de origen desconocido, por lo que no ha sido necesario realizar ningún tipo de muestreo

MUESTREO PARASITOLÓGICO

Dentro de los objetivos del programa, se planteaba la posibilidad de realizar controles parasitológicos siguiendo la idea de valorar la interacción entre peces silvestres y cultivados y obtener la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna

silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

Para este estudio piloto se ha escogido el parásito denominado *Enteromyxus leei* que causa la enteromyxosis por tener una incidencia real en las instalaciones de acuicultura marina en la Región de Murcia, tiene un amplio rango de hospedadores y su transmisión es directa, por lo que interesa enormemente valorar la posible transmisión entre peces silvestres y cultivados.

El muestreo realizado en el 2007 se refleja en la tabla siguiente:

Tabla 11. Muestreo para estudio parasitológico.

| Origen | Especie | Ejemplares |
|--|------------------------------|------------|
| Acuicultura | Dorada | 80 |
| | Lubina | 51 |
| | Total acuicultura | 131 |
| Silvestres de especies cultivables | Dorada | 24 |
| | Lubina | 20 |
| | Total silvestres | 44 |
| Silvestres que interaccionan con acuicultura | Boga | 60 |
| | Jurel | 12 |
| | Alacha | 20 |
| | Total silvestres-acuicultura | 92 |
| Total | | 267 |
| Alevines importación | | 20 |

a. RESULTADOS LABORATORIO.

Los resultados obtenidos en el laboratorio del CISA sobre las 561 muestras de peces silvestres y de acuicultura fueron todos negativos, es decir, no se ha detectado la presencia de virus de la SHV ni de la NPI mediante técnicas de PCR.

Sin embargo, se han detectado dos ejemplares positivos por PCR a nodavirus. Los datos son los siguientes:

| Especie | Peso | Talla | Origen |
|---------|-------|-------|-------------|
| Jurel | 155,4 | 26 | Pesca |
| Dorada | 470,4 | 30 | Acuicultura |

Los resultados obtenidos en el laboratorio del CISA sobre las 150 muestras de carnada para atún tras la realización de los homogenizados e inoculación en cultivo celular fue la ausencia de cualquier efecto citopático que indicase la presencia de algún virus, por lo que no fue necesario realizar ningún tipo de aislamiento con fines de identificación virológica.

Los resultados de los estudios parasitológicos para la detección de *E. leei* no han sido concluidos al cierre del presente informe. Respecto del control sobre presencia de anisakis, no se ha detectado ningún animal positivo en las 152 doradas y 57 lubinas, que es el total de ejemplares procedentes de la acuicultura chequeados este año.

6. DISCUSIÓN.

1. Muestreo

a. Controles rutinarios:

El número global de ejemplares muestreados se ha ajustado de forma adecuada a las previsiones efectuadas: 561 muestreados frente a los 560 previstos, sin embargo ha sido necesario variar el número en algunas ocasiones. En el caso del sargo picudo, no ha habido producción por lo que no se han tomado ejemplares de acuicultura, mientras que los silvestres han sido englobados en el apartado general de sargos. Tampoco ha habido producción de corvina de acuicultura, aunque se han sembrado muchos alevines, por lo que el muestreo de esta especie se realizará en el 2008. Por el contrario se ha incrementado el número de ejemplares de boga y de jurel en lo que se refiere a las especies silvestres y de lubina en lo referente a las especies cultivadas.

Los ejemplares silvestres de las especies de acuicultura han tenido que ser obtenidos en su totalidad de la lonja de Lo Pagán, ya que las técnicas y artes de pesca son más propicios en esta lonja, no obteniéndose de forma habitual en las otras.

b. Control sobre carnada atún:

El número de muestras ha sido inferior al inicialmente previsto: 150 frente a 240. Se había previsto realizar dos controles de 30 ejemplares sobre 4 granjas y finalmente se ha realizado un control sobre 5 granjas. El próximo año, al realizarse los controles sobre dos semestres, se podrá hacer un chequeo mayor en número de muestras.

2. Vigilancia epidemiológica en peces

La sanidad animal tiene una importancia cada vez mayor en la gestión de las empresas de acuicultura. 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”. La administración responsable de la sanidad animal tiene la obligación de tener el mayor conocimiento científico sobre la realidad epidemiológica de las poblaciones de peces, tanto cultivadas como silvestres, ya que el estado sanitario de unos puede repercutir en el estado de los otros. Se plantea un diseño de muestreo que abarca a las especies de acuicultura y a esas mismas especies obtenidas del medio natural, así como a 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 especies objetivo. Los resultados de este muestreo se reflejan en la tabla 2. El número global de ejemplares es satisfactorio para el primer año, si bien el muestreo se ha concentrado

en una sola época del año, y además el número de ejemplares por especie tienen en pocos casos significación estadística (Ossiander y Wedermeyer, 1973).

Los ejemplares de acuicultura (tabla 3) pudieron muestrearse de todas las especies, si bien no pudo completarse el objetivo de un número de muestras más significativo por la estacionalidad del periodo de toma de muestras, ya que se realizó en los cuatro últimos meses del año y determinadas empresas no recolectaron peces durante ese periodo. Respecto a los ejemplares silvestres de las especies cultivables (tabla 4), todos los ejemplares se obtuvieron en la Lonja de Lo Pagán, ya que los artes de pesca empleados en esta zona marítima facilitan la captura de las especies buscadas. Según diversos estudios, las instalaciones de acuicultura marinas ejercen un efecto de atracción de abundantes peces silvestres, debido al efecto combinado de la presencia de alimento artificial, atracción química procedente de los peces estabulados y al efecto que ejercen las jaulas como FADs (Fish Attraction Devices). En estudios sobre granjas del sureste peninsular (Dempster *et al.*, 2001), podemos ver cuales son estas especies y su importancia relativa. En la tabla 5 se observa que para las especies de mayor frecuencia se han tomado 76 muestras, 92 muestras en los de alta frecuencia y 66 para los descritos. En las tablas 6, 7 y 8 se han agrupado las especies según su capacidad de ser monitores frente a cada una de las enfermedades objetivo (Barja, 2005). No podemos contrastar nuestros resultados con trabajos similares, ya que en la literatura científica consultada no hemos encontrado estudios epidemiológicos similares en los que se valorase la presencia de estos virus en el litoral mediterráneo español, excepto proyectos piloto como el realizado por nuestro grupo en el año 2006 (Peñalver *et al.* 2007a).

No se han detectado ejemplares con lesiones compatibles con **linfocitosis**, principalmente porque los análisis se realizaron en invierno, mientras que en el área mediterránea se desarrolla en verano (Barja, 2005). Además no se analizaron ejemplares juveniles, siendo los brotes clínicos en alevines que posteriormente se recuperan, a menos que sufran contaminaciones secundarias, normalmente bacterianas (Bovo, 2004).

No se ha realizado ningún control sobre la **necrosis eritrocitaria viral**, ya que prácticamente todos los ejemplares estudiados estaban muertos en el momento de la toma de muestras, siendo necesario que la sangre esté en perfecto estado para su tinción y análisis microscópico. La técnica debe ser puesta a punto y se deben organizar muestreos sobre ejemplares vivos.

La **septicemia vírica hemorrágica** es una enfermedad de gran importancia en la acuicultura continental en Europa, aunque también se han producido episodios de mortandad en acuicultura marina, como es el caso del rodaballo en el Norte de nuestro continente (Ross *et al.*, 1994). Cada vez con mayor frecuencia se describe la presencia de este virus en poblaciones silvestres de gran cantidad de especies marinas de aguas frías (Munro, 1996; Dixon *et al.*, 1997; Mortensen, 1999; Smail, 2000; King *et al.* 2001; Dopazo, 2002). Las especies cultivadas en el litoral del levante español (dorada, lubina, corvina y atún rojo) no son especies sensibles a este virus según la OIE, lo cual tiene su reflejo en la normativa correspondiente de la Unión Europea. Sin embargo, diversos estudios han demostrado la sensibilidad de algunas de estas especies *in vitro* como ocurre en la lubina. (Castric y Kinkelin, 1984).

El virus de la septicemia hemorrágica está asociado a aguas frías, si bien se ha descrito elevadas mortalidades en focos ocurridos en Turquía en el año 2004 (OIE 2004), lo cual indica que en determinadas circunstancias el virus puede adquirir virulencia en latitudes inferiores a las asumidas inicialmente, sobre todo si se considera que el brote apareció en el mes de junio. Por ello, el estudio de los posibles portadores silvestres del virus tiene una importancia epidemiológica elevada, la cual ha sido analizada en el presente trabajo, con resultados negativos, aunque es necesario realizar estudios más extensos en cuanto al número de especies analizadas y trabajar con tamaños de muestra más significativos estadísticamente. En cualquier caso, estos datos coinciden con la única referencia previa en la que se chequearon peces de características similares (Peñalver *et al.* 2007a).

Estos autores utilizaron para el diagnóstico riñón y los primers descritos por la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE, 2006), sin embargo en nuestro estudio hemos utilizado un doble chequeo: se han empleado dos parejas de primers, con el fin de asegurar la detección de todos los tipos de cepas. Además de los primers de la OIE, se han utilizado los propuestos por el Instituto de Ictiopatología de Galicia con los cuales han obtenido resultados positivos en peces silvestres (Lopez Vazquez *et al.*, 2006). Además se ha chequeado tanto riñón como bazo. Todo ello repercute en una mayor validez y fiabilidad de los resultados obtenidos.

El virus de la **necrosis pancreática infecciosa** es un virus que afecta a explotaciones continentales de acuicultura de salmónidos, pero también ha producido pérdidas en algunas granjas de peces marinas como el rodaballo, y además se han descrito infecciones subclínicas en multitud de especies marinas como anguilas, atherinidae, peludas, jureles, cupleiformes y en corvina. En España ha sido aislado el virus especies marinas cultivadas como la dorada, el rodaballo y el lenguado (Barja, 2005). Por ello, el virus tiene un amplio rango de hospedadores y de especies sensibles, de peces, pero además pueden actuar como reservorios determinados moluscos (Mortensen, 1990) e incluso rotíferos (Coms, 1991). Al igual que sucedía con el virus de la Septicemia Hemorrágica, son virus que se considera que no están en nuestras costas, pero que es necesario investigarlo y valorar el peligro potencial que pueden representar para la acuicultura marina de nuestra Región. Este estudio es una aproximación para la realización de la valoración del riesgo epidemiológico, pero que debe ser ampliado en años sucesivos con muestreos más amplios.

Los resultados obtenidos este primer año están en concordancia con experiencias previas en las que tampoco se encontraron animales positivos (Peñalver *et al.*, 2007a). Estos autores utilizaron para el diagnóstico riñón y los primers descritos por Larssen *et al.* (2004), si embargo en nuestro estudio hemos utilizado un doble chequeo: se han empleado dos parejas de primers, con el fin de asegurar la detección de todos los tipos de cepas. Los primers descritos por Heppell *et al.*, (1992) y los propuestos por el Instituto de Ictiopatología de Galicia con los cuales han obtenido resultados positivos en peces silvestres (Cutrín *et al.*, 2008). Además, al igual que para el estudio de la septicemia, se ha chequeado tanto riñón como bazo.

La **encefalopatía retinopatía viral** (VER) o necrosis nerviosa viral afecta a gran número de especies de peces, siendo las más importantes la lubina, el mero, dorada, besugo, dentón, fletán, rodaballo, seriola, bacalao, bonito y salmón (Pérez y Rodríguez, 2006). En los laboratorios de ictiopatología del área mediterránea ha sido descrito principalmente en lubina,

pero también en numerosas especies como corvina silvestre, mújol y mero (Barja, 2005). También se han descrito casos en el Mediterráneo en sargo picudo y en lenguado (Bovo, 2004). En la revisión sobre nodavirus Korsnes (2007), establece la siguiente clasificación:

| | |
|-------|--|
| Tipos | |
| BFNNV | Barfin flounder nervous necrosis virus Tipo de peces de aguas frías: Norte de Europa, Costas Atlánticas de Norteamérica y Japón Barfin flounder (<i>Verasper moseri</i>) es una especie de pez plano, que se distribuye por el norte de Japón. |
| SJNNV | Striped jack nervous necrosis virus Frecuente en Asia. Detectado en zona Atlántica de Península Ibérica. Striped jack (<i>Pseudocaranx dentex</i>) o jurel dentón, distribuido por todo el Mediterráneo, así como por los océanos Atlántico, Pacífico e Índico. |
| TPNNV | Tiger puffer nervous necrosis virus Aislado en condiciones experimentales Tiger puffer (<i>Fugu rubripes</i>), pez globo japonés, de gran interés culinario en Japón. |
| TNV | Turbot nodavirus Recientemente aislado en rodaballo |
| RGNNV | Red grouper Ampliamente distribuido por Australia, Asia, Sur de Europa y Sur de Norteamérica. El tipo más frecuentemente encontrado en cultivos acuícolas del Mediterráneo de lubina, así como en gran número de especies silvestres. |

Bovo (2007), define las siguientes especies sensibles:

| PECES INFECTADOS QUE MUESTRAN SÍNTOMAS Y MORTALIDAD | |
|---|------------------------------------|
| <i>Epinephelus akaara</i> | <i>Lateolabrax japonicus</i> |
| <i>E. taurina</i> | <i>Parasilus asotus</i> |
| <i>E. coioides</i> | <i>Poecilia reticulata</i> |
| <i>E. malabaricus</i> | <i>Sebastes oblungus</i> |
| <i>E. moara</i> | <i>Anguilla anguilla</i> |
| <i>E. lanceolatus</i> | <i>Latris lineada</i> |
| <i>E. awoara</i> | <i>Tandanus tandanus</i> |
| <i>E. fuscoguttatus</i> | <i>Oxyleotrix lineolatus</i> |
| <i>E. septemfasciatus</i> | <i>Pseudopleuroctes americanus</i> |
| <i>Cromileptes altivelis</i> | <i>Atractoscion nobilis</i> |
| <i>Pseudocaranx dentex</i> | <i>Gadus morhua</i> |
| <i>Seriola dumerili</i> | <i>Melanogrammus aeglefinus</i> |
| <i>Trachinotus blochii</i> | <i>Dicentrarchus labrax</i> |
| <i>Trachinotus falcatus</i> | <i>Umbrina cirrosa</i> |
| <i>Sciaenops ocellatus</i> | <i>Diplodus puntazzo</i> |
| <i>Oplegnathus fasciatus</i> | <i>Sciaena umbra</i> |
| <i>Rachycentron canadum</i> | <i>Epinephelus marginatus</i> |
| <i>Liza auratus</i> | <i>Epinephelus aeneus</i> |
| <i>Lutjanus erythroterus</i> | <i>Epinephelus alexandrinus</i> |

| | |
|--|---|
| <i>Verasper moseri</i> <i>Paralichthys olivaceus</i> <i>Takifugu rubripes</i> <i>Lates calcarifer</i> | <i>Hippoglossus hippoglossus</i> <i>Solea solea</i> <i>Acipenser gueldestaedi</i> <i>Scolphthalmus maximus</i> |
|--|---|

| PECES QUE SE INFECTAN | |
|---|---|
| <i>Pagellus acarne</i> <i>Gobius jazo</i> <i>Argyrosomus regius</i> <i>Sparus aurata</i> <i>Trisopterus minutus</i> | <i>Mullus barbatus</i> <i>Mullus surmuletus</i> <i>Scorpaena sp</i> <i>Liza ramada</i> |

| PECES INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE | |
|------------------------------------|-----------------------|
| <i>Oreochromis mossambicus</i> | <i>Anarchis minor</i> |

Por tanto, el rango de especies sensibles es muy elevado, lo cual unido a su gran elevada patogenicidad y su gran difusión en el Mediterráneo hace que esta sea una de las enfermedades víricas potencialmente más peligrosas para las instalaciones en mar abierto. A ello contribuye el gran rango de hospedadores del virus, entre los que se describen la dorada, el mújol, el salmonete, la corvina e incluso bivalvos como el mejillón (Bovo, 2004). Recientemente ha sido realizada una revisión de la incidencia de esta enfermedad en el Mediterráneo, así como del riesgo de transmisión entre peces de ambos lados de las redes de las instalaciones de acuicultura (Bovo, 2007). Sus principales conclusiones son:

- Que afecta a más de 30 especies de peces, principalmente marinas.
- La enfermedad apareció en el Mediterráneo en 1995, afectando a alevines y juveniles.
- La transmisión puede ser horizontal y vertical, viéndose favorecida por la gran persistencia del virus en el medio marino. Esto unido al gran número de especies sensibles explica su tendencia a establecerse como endémico.
- La especie más sensible es la lubina, con brotes agudos en verano (22-25°C).
- No hay datos publicados sobre interacción entre peces de granja y silvestres, si bien la probabilidad parece muy elevada.
- Peces silvestres con sintomatología se han descrito en Grecia e Italia. En Falso Abadejo (*E. alexandrinus*) cerca de granja infectada, pero también Meros (*E. marginatus*) y Cherna de ley o Mero Bronceado (*E. aeneus*) en zona muy alejadas de cualquier granja.
- El genotipo en los ejemplares silvestres, cuando se caracteriza pertenece al grupo RGNNV, que es el habitual en las granjas de lubina infectadas.

A diferencia de las otras dos enfermedades, en las cuales lo previsible era no encontrar la presencia del virus, esta enfermedad tiene, a priori, cierta posibilidad de ser hallada, si bien en experiencias previas no ha sido detectada (Peñalver *et al.*, 2007a). En la realización de dicha experiencia se realizó el diagnóstico con los primers descritos por la Organización Mundial para la Salud Animal (OIE, 2006), si embargo en nuestro estudio hemos utilizado un doble chequeo: se han empleado dos parejas de primers, con el fin de asegurar la detección de todos los tipos de cepas. Además de los primers de la OIE, se han utilizado los propuestos por el Instituto de Ictiopatología de Galicia con los cuales han obtenido resultados positivos en peces silvestres (Cutrín *et al.* 2008). En ambas experiencias el tejido analizado ha sido cerebro.

Este primer año del proyecto se han detectado dos animales positivos a PCR que posteriormente fueron secuenciados. Ninguno de los ejemplares presentaba signos de la enfermedad, por lo que deben ser considerados como portadores asintomáticos.

Como se comprueba en la tabla 6, se han analizado 181 ejemplares de especies considerables como monitoras a la enfermedad, por ser altamente sensibles. A estas habría añadir los 202 ejemplares de dorada, especie que también se ha demostrado como sensible y cuyo número de muestras es muy significativo estadísticamente. Sin embargo, los ejemplares positivos pertenecen a una dorada de acuicultura y a un jurel, siendo esta la primera cita de la presencia de este virus en esta última especie. Si consideramos el total de los ejemplares muestreados, se ha obtenido una positividad del 0,35 % (2 de 561). Es importante mencionar que en ningún caso podemos hablar de brotes de enfermedad ya que los animales positivos a VER no presentaban ningún síntoma de esta patología, por lo que deben ser considerados como portadores asintomáticos. Por ello, podemos hablar de resultados de positividad en principio bajos a esta enfermedad en la zona estudiada, siendo necesario realizar nuevos muestreos en esta especie y muestreos más amplios en el resto de las especies. Además, es necesario realizar un muestreo en verano, cuando las aguas son más cálidas, ya que el virus produce brotes con temperaturas de 22-25 °C (Pérez y Rodríguez, 2006). A continuación se van a describir con más detalle los datos referentes a los dos positivos a VER:

Dorada (*S. aurata*):

La dorada se considera que se infecta de forma natural pero no desarrolla la enfermedad (Castric *et al.*, 2001), pudiendo actuar como hospedador asintomático, lo cual tiene gran importancia en la acuicultura mediterránea, en la que gran parte de las instalaciones tienen un cultivo mixto de dorada y lubina.

En el presente estudio se ha hallado una única dorada infectada, la cual procedía de una granja de acuicultura de Águilas. El ejemplar, perteneciente a un lote de 20 ejemplares, tenía un peso de 470,4 gramos y una longitud de 30 centímetros. El pez fue sembrado dentro de un lote de 165.000 alevines procedentes de granja de Almería en febrero de 2006 y fue capturado el 19 de septiembre a las 22:30, por lo que tenía una edad aproximada de 2 años.

Si consideramos el total de doradas analizadas (212), la positividad se sitúa en el 0,47%, aunque si consideramos exclusivamente los ejemplares de acuicultura (152) el porcentaje se eleva al 0,65%. En águilas se han analizado 40 ejemplares, por lo que el porcentaje de positivos en esta localidad se sitúa en el 2,5%, y este se eleva hasta el 5% dentro de la granja muestreada. Sin embargo, en las dos granjas de Águilas, por problemas logísticos no se obtuvieron los 30 ejemplares mínimos requeridos para obtener una adecuada significación estadística.

De los dos primers utilizados para la búsqueda de nodavirus, el positivo en dorada ha sido detectado con el propuesto por la OIE (2006).

Respecto al tipo de virus hallado, tras la secuenciación podemos afirmar que es del tipo RGNNV, siendo este el tipo normalmente hallado en los brotes de esta patología en granjas de lubina en el Mediterráneo.

Jurel (*T. trachurus*):

No hay ninguna cita en la bibliografía consultada en la que se describa la presencia de nodavirus en esta especie, aunque sí es especies similares como es jurel dentón (*Pseuacaranx dentex*). Este hallazgo tiene una gran importancia epidemiológica ya que el jurel común es una de las principales especies que son atraídas por las jaulas de acuicultura en mar abierto (Dempster *et al.*, 2001), siendo la más frecuentemente hallada en el interior de las jaulas tras la boga y la alacha. Por tanto, podría ser un vector a considerar en la posible transmisión de la enfermedad desde el medio silvestre hacia las granjas.

Hemos encontrado un único ejemplar positivo de los 62 analizados, en concreto un ejemplar de 155,4 gramos y 26 centímetros de longitud, por lo que tendría aproximadamente 3 años de edad. Este positivo supone un 1,61% del total de jureles analizados. Si consideramos exclusivamente los 30 ejemplares del lote de San Pedro del Pinatar, el porcentaje se eleva hasta el 3,12%.

De los dos primers utilizados para la búsqueda de nodavirus, el positivo en jurel ha sido detectado con el propuesto por la Universidad de Santiago de Compostela (Cutrín *et al.*, 2008).

Respecto al tipo de virus hallado, tras la secuenciación se ha verificado que es del tipo SJNNV, es decir, el tipo del jurel dentón (Striped jacket nervous necrosis virus). Este tipo ha sido detectado en granjas de España y Portugal de dorada, lubina y leguado senegalés (Cutrín, 2007), existiendo preocupación por su posible expansión hacia el Mediterráneo.

Vigilancia epidemiológica en carnada de atunes

La alimentación de los atunes en las granjas de engorde del litoral levantino se realiza básicamente mediante carnada que procede de caladeros pesqueros distintos a los de la zona donde están situados las granjas. La importación de este tipo de pescado se realiza en condiciones de congelación, las cuales a priori, no inactivan a los virus de importancia en patología. Resulta, por ello, de gran importancia valorar el posible papel de esta carnada como vehículo para la introducción de enfermedades exóticas en las instalaciones de acuicultura y en la fauna ictícola local, ya que diversos estudios y autores demuestran que ya ha ocurrido en otras zonas del planeta (Jones *et al.*, 1997; Ward *et al.*; 2001).

El muestreo realizado en los peces utilizados como carnada se representa en la tabla 9, expresándose el origen de los mismos en la tabla 10. El muestro tiene poca variabilidad respecto al origen de las muestras, lo cual es consecuencia de la realización aleatoria de los muestreos.

En los resultados que hemos obtenido, en los que la realización de los homogenizados e inoculación en cultivo celular no evidenció efecto citopático en ninguna de las 150 muestras, indican ausencia de cualquier virus viable, y por tanto la imposibilidad de transmisión de este tipo de patógenos. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en experiencias previas (Peñalver *et al.*, 2007b). Estos resultados tienen una gran importancia, ya que la ausencia de virus vivos, elimina el riesgo de introducción de

enfermedades, al menos en los lotes de los que proceden los ejemplares chequeados, ya que se han utilizado lotes estadísticamente significativos de 30 ejemplares (prevalencia del 10 % con un intervalo de confianza del 95 %), La causa de la ausencia de virus viables no podemos distinguir si se debe a una ausencia en origen de infecciones víricas en los peces o por el contrario, si los procesos de congelación industrial a los que se someten este tipo de producto eliminan los virus presentes en los peces.

Todos los peces de carnada chequeados en este trabajo estaban congelados, pero en determinadas circunstancias de mercado las empresas pueden utilizar para la alimentación de los atunes pescado fresco. En próximos estudios va a ser muy importante chequear también algunos lotes de peces frescos para ver si en esas condiciones de conservación se observa algún virus viable. Sin embargo, estas partidas de peces “en fresco” proceden del mismo caladero donde se sitúan las granjas de acuicultura, con lo cual no hay ningún riesgo de introducir virus exóticos en la fauna ictícola local.

Con los datos recopilados en esta campaña, se debe diseñar un plan de muestreo para los años siguientes que abarque al menos dos muestreos por instalación de engorde e intentar que el origen del pescado sea más variado.

CONCLUSIONES

El objetivo general que se definió en la redacción del presente proyecto es la elaboración de estrategias de actuación para el diseño de una Red de Vigilancia Epidemiológica para las enfermedades de interés en acuicultura marina por parte de las autoridades competentes, donde se controlarían ejemplares procedentes de las granjas de acuicultura y ejemplares procedentes del medio silvestre. En el caso de las enfermedades que no están sujetas a programas oficiales de control o vigilancia, la planteaba la creación de redes de vigilancia epidemiológica.

Para la consecución de esos objetivos, se articuló en una serie de objetivos parciales, cuyo cumplimiento y progresos se desarrollan a continuación:

Establecer un modelo teórico/práctico para el establecimiento de una red de vigilancia sanitaria en acuicultura marina. El modelo creado para las enfermedades víricas deberá ser extrapolable, en la medida de posible, al resto de patologías infectocontagiosas.

El primer año de puesta en marcha del plan de vigilancia ha permitido conocer las dificultades, tanto organizativas como de materia y protocolos de trabajo, lo cual supone una gran experiencia para su diseño y desarrollo en años sucesivos. Se han detectado, a modo provisional, los siguientes puntos críticos en la creación de la red de vigilancia:

- Programa de divulgación y sensibilización de los responsables sanitarios de las instalaciones de acuicultura.
- Preparación técnica del personal que interviene en todas y cada una de las fases de la red de vigilancia.
- Elaboración de protocolos de trabajo pormenorizados para los muestreos, transporte, manipulación y diagnóstico.

- Adaptar los muestreos, en la medida de lo posible, al normal desarrollo de actividades de las empresas, con el fin de causar la menor interferencia posible.
- En el caso de los ejemplares silvestres, orientar los muestreos hacia especies identificadas como óptimas en su uso como especies centinela. Los criterios adecuados para la selección de las especies son: sensibilidad al patógeno y disponibilidad de ejemplares.
- Agilidad en el procesado de muestras así como en la comunicación de los resultados a las empresas.

Además de los análisis víricos, la realización de análisis parasitológicos, especialmente a *E. leei* permite adquirir experiencia e información para el diseño de redes de vigilancia epidemiológica para este tipo de enfermedades.

Mejorar el conocimiento sobre los niveles de prevalencia de las principales enfermedades víricas de importancia en acuicultura marina. Creación de bases de datos y mapas epidemiológicos.

El número global de muestras, y especialmente el número de ejemplares en algunas especies no permite extraer conclusiones epidemiológicas definitivas, pero aporta datos muy significativos sobre niveles de incidencia mínimos que deben ser verificados en los próximos años con muestreos más numerosos y distribuidos en distintas épocas del año.

La aparición de ejemplares positivos frente a Encefalopatía y Retinopatía Viral viene a confirmar la preocupación del sector por la posible difusión de esta enfermedad por las instalaciones de acuicultura. El sector ha reconocido la importancia de la realización de controles frente a esta enfermedad y apoyan la puesta a punto de laboratorios regionales que puedan realizar pruebas diagnósticas de forma ágil y operativa. La realización de los chequeos en los próximos años debe contribuir a un conocimiento más detallado de la epidemiología de esta enfermedad que permitan establecer riesgos potenciales y así establecer las medidas oportunas desde la administración y desde los responsables sanitarios de las instalaciones de acuicultura.

La Necrosis Pancreática Infecciosa y la Septicemia Hemorrágica Vírica no son detectadas en ningún ejemplar muestreado en el litoral de la Región de Murcia. Si bien estos son los datos inicialmente esperados, algunos trabajos realizados en las costas atlánticas han encontrado diversos positivos en ejemplares silvestres de diversas especies, pero esta situación no se produce en el Mediterráneo.

El riesgo de transmisión de enfermedades víricas a través de la carnada que se utiliza en la alimentación del atún rojo (*Thunnus thynnus*) en las granjas del litoral levantino resulta prácticamente nulo en las partidas chequeadas, ya que no tenían ningún virus viable que pudiese desarrollar enfermedades. La causa de la ausencia de virus viables no podemos distinguir si se debe a una ausencia en origen de infecciones víricas en los peces o por el contrario, si los procesos de congelación industrial a los que se someten este tipo de producto eliminan los virus presentes en los peces. La realización de nuevos estudios, incrementando el número de chequeos y la variabilidad de los caladeros de origen permitirán conocer con mayor exactitud el riesgo real de introducción de enfermedades exóticas.

Aportar datos sobre niveles de prevalencia de estas enfermedades víricas en las poblaciones silvestres, tanto de las especies cultivadas como de otras que puedan actuar como monitoras.

Podemos aplicar el mismo criterio que para los ejemplares de acuicultura respecto a que el número global de muestras, y especialmente el número de ejemplares en algunas especies no permite extraer conclusiones epidemiológicas definitivas, pero aporta datos muy significativos sobre niveles de incidencia mínimos que deben ser verificados en los próximos años con muestreos más numerosos y distribuidos en distintas épocas del año.

Especialmente importante es la detección en un ejemplar de jurel (*T. trachurus*) el nodavirus del tipo SJNNV, ya que no es el tipo normalmente detectado en las granjas acuícolas del Mediterráneo. Además, al ser el jurel una especie que frecuenta las instalaciones de acuicultura, el valor epidemiológico de este hallazgo puede ser muy valioso. En los próximos años se va a incrementar la presión de muestreo sobre esta especie, con el fin de poder establecer el riesgo real de transmisión de esta enfermedad por esta especie.

Valorar y establecer los procedimientos prácticos para el diagnóstico de enfermedades víricas en acuicultura de forma rutinaria y su aplicación en situaciones de alerta sanitaria. Puesta a punto de técnicas y adiestramiento de personal técnico.

Uno de los primeros cometidos del grupo de trabajo que dirige este proyecto fue el establecimiento de unos criterios comunes de trabajo, de tal forma que los resultados obtenidos por los distintos grupos participantes fuesen comparables y contrastables. Como resultado de la reunión entre los expertos en diagnóstico se elaboró un manual de procedimiento para el muestreo, transporte y procesado en laboratorio de los peces, aplicando los últimos conocimientos y datos publicados de forma específica para las enfermedades objetivo del presente estudio.

En este sentido, para cada una de las enfermedades del estudio se han realizado pruebas por duplicado. Se realizaron para cada muestra dos pruebas distintas utilizando dos parejas de oligonucleótidos que hibridan en distintas regiones conservadas del virus, con el fin de abarcar el mayor abanico posible de variables víricas, lo cual permitirá definir en el futuro la técnica más adecuada para cada patógeno en función de las peculiaridades de cada zona.

Los análisis han sido realizados en el Centro de Sanidad Animal del INIA, situado en Madrid, si bien uno de los objetivos en este apartado es la realización de transferencia tecnológica desde este laboratorio hacia las Comunidades Autónomas con interés en ponerlas a punto. Para ello se han realizado contactos entre los técnicos del CISA y del laboratorio de Sanidad Animal de Murcia para empezar a compartir los análisis en el 2008. Además se ha dotado al Laboratorio de Murcia de un purificador de ácidos nucleicos para el procesado de las muestras.

Confeccionar un mapa epidemiológico para las enfermedades víricas en acuicultura marina.

Con los datos obtenidos se confeccionará, después de los tres años de investigación, un mapa epidemiológico para las enfermedades víricas en acuicultura marina. Este mapa epidemiológico permitirá diseñar futuros planes de vigilancia epidemiológica, seleccionando con mayor eficacia el número de muestras y las especies objetivo.

Como fase previa, se está valorando la posible aplicación de modelos hidrodinámicos y de georeferencias para la confección de dichos mapas.

Divulgación de resultados

En el desarrollo de este proyecto, se realizarán tomas de muestras para el diagnóstico de las enfermedades de los animales de la acuicultura, algunas de las cuales son objeto de programas de vigilancia y control oficial por parte de las autoridades competentes y la sospecha o confirmación implica la comunicación y la adopción de medidas sanitarias, las autoridades correspondientes de sanidad animal deberán estar en todo momento informadas de los resultados de los análisis o de cualquier información que pudiera ser de relevancia para el ejercicio de sus competencias en materia de sanidad animal. Por ello, todos los resultados de este proyecto de investigación, una vez finalizados deben ser presentados a JACUMAR y a la D. G. Ganadería (S.G. de Sanidad Animal) antes de su utilización o publicación final.

De los datos obtenidos este primer año, se ha realizado la siguiente difusión:

a. Difusión a las empresas de acuicultura.

Las empresas de acuicultura han recibido un informe detallado del resultado analítico de los peces procedentes de sus explotaciones, así como un informe globalizado de los datos del conjunto de granjas de nuestra Comunidad Autónoma. Así mismo se les ha informado de los resultados de los análisis sobre los muestreos realizados en peces procedentes de la pesca extractiva.

b. Difusión a los gestores

Una de las finalidades básicas de este estudio es poner en manos de los gestores de la administración responsable de la sanidad animal de información, hasta ahora inédita, de la realidad epidemiológica de una serie de enfermedades víricas en la acuicultura marina mediterránea. Esta información podrá ser muy útil a la hora de diseñar futuras redes de vigilancia y para tener información científica que pueda servir de base en futuras negociaciones sobre sanidad animal en acuicultura dentro del marco de la Unión Europea.

En este sentido, los resultados han sido comunicados a la Subdirección General de Sanidad animal de la D. G. de Ganadería del MAPA y al Servicio de Sanidad Animal de la D. Ganadería y Pesca de Murcia.

c. Difusión a gran público

En la página web de la Consejería de Agricultura y Agua van a ser expuestos el texto íntegro del proyecto, así como los distintos documento de trabajo que se vayan generando, a excepción de momento de los resultados de laboratorio.

AÑO 2008

En el 2008 se entra de lleno en la realización de dos muestreos anuales, lo cual implica duplicar el número de ejemplares a muestrear y procesar respecto al primer año del proyecto.

La entrada en vigor de la Directiva 2006/88/CE y su trasposición al ordenamiento jurídico nacional a través del Real Decreto 1614/2008, de 3 de octubre, relativo a los requisitos zoonosarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos incrementa la importancia de este proyecto y revaloriza los resultados obtenidos por los distintos grupos participantes.

En el Real Decreto se establece la realización de programas de vigilancia zoonosaria sobre las instalaciones de acuicultura para lo cual puede ser de gran utilidad los modelos de planificación y desarrollo de los muestreos que se realizan en este proyecto.

El artículo 17 de la Directiva 2006/88/CE establece que cuando los datos científicos o la experiencia práctica demuestren que especies distintas a las reflejadas como sensibles y señaladas en su anexo, puedan ser causantes de la transmisión de una enfermedad actuando como portadoras, se tendrán en cuenta a la hora de realizar traslados de animales. A tal efecto ha sido publicado recientemente el Reglamento (CE) 1251/2008 referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de especies portadoras. Los resultados de este proyecto pueden aportar nuevos datos científicos y prácticos sobre especies portadoras.

Los ejemplares son sometidos, en la medida de lo posible, a un estudio parasitológico reglado, con el fin de recabar la máxima información sobre su estado sanitario y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina. Con los resultados de los dos primeros años se están obteniendo datos de gran valor sobre la incidencia y presencia de determinados parásitos en la acuicultura mediterránea y en especies silvestres asociadas.

El estudio parasitológico inicialmente era un estudio complementario al vírico, pero la evolución de las patologías en las granjas están dando mayor importancia cada año a este tipo de enfermedades, como ocurre en el Mediterráneo con *E. leei*. Así mismo, el demostrar la ausencia de larvas de anisakis en productos de la acuicultura es una demanda reclamada con intensidad por el sector.

PROGRAMACIÓN 2008

El total previsto de muestras para el 2008 es de 1.100 peces para virus y 300 peces de carnada de atún. El muestreo se va a realizar en dos periodos, coincidentes con los dos semestres del año. La organización global del muestreo es la siguiente:

Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | Número |
|---|-------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 300 |
| | Pesca | 120 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 80 |
| | Pesca | 60 |
| Corvina acuicultura (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | 60 |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | 60 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Pesca | 120 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Pesca | 120 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Pesca | 120 |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 30 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 30 |
| Total | | 1.100 |

a. Descripción ejemplares de acuicultura (Grupo 1)

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 300 |
| Lubina | 80 |
| Corvina | 60 |
| Total | 440 |

b. Especies silvestres cultivables (Grupo 2)

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 120 |
| Lubina | 60 |
| Total | 180 |

c. Especies que frecuentan las granjas (Grupo 3)

| Grupo | Especie | Total especie |
|------------------|---------|---------------|
| Mayor frecuencia | Alacha | 120 |
| | Boga | 120 |
| Alta frecuencia | Jureles | 120 |
| Descritas | Salpa | 30 |
| | Sargo | 30 |
| Total | | 420 |

d. Especies centinela para enfermedades objetivo (Grupo 4)

d.1. Especies monitoras para VER

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|------------|------------|
| Lubina | 80 | 60 | 140 |
| Corvina | 60 | 60 | 120 |
| Salpa | -- | 30 | 30 |
| Sargo | -- | 30 | 30 |
| Total | 140 | 180 | 320 |

d.2. Especies monitoras para SHV

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|------------|------------|
| Lubina | 80 | 60 | 140 |
| Alacha | -- | 120 | 120 |
| Jureles | -- | 120 | 120 |
| Corvina | 60 | 60 | 120 |
| Salpa | -- | 30 | 30 |
| Sargo | -- | 30 | 30 |
| Total | 140 | 420 | 560 |

d.3. Especies monitoras para NPI

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|------------|------------|
| Dorada | 300 | 120 | 420 |
| Alacha | -- | 120 | 120 |
| Jureles | -- | 120 | 120 |
| Corvina | 60 | 60 | 120 |
| Total | 360 | 420 | 780 |

e. Muestro sobre carnada usada en alimentación de atunes (Grupo 5)

Las previsiones se realizan en función de las 5 granjas con actividad en el año 2007. En total se ha previsto la realización de 10 muestreos con 30 muestras en cada uno, aunque depende de la evolución de la presencia de atunes en las instalaciones y se debe considerar que dos granjas carecen de atunes durante el primer semestre, por lo que hace un total de 300 muestras

El porcentaje será de un 50 % en cada una de las zonas de cría de atún: San Pedro y El Gorguel (Cartagena). Cronograma muestreos 2008:

| Objetivo | Enero/ Febrero | Marzo/ Abril | Mayo/ Junio | Julio/ Agosto | Septiembre/ Octubre | Noviembre/ Diciembre |
|----------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------------|-------------------------|
| Grupo 1 | | | | | | |
| Grupo 2 | | | | | | |
| Grupo 3 | | | | | | |
| Grupo 4 | | | | | | |
| Grupo 5 | | | | | | |

DESARROLLO DEL PROGRAMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA 2008.

4.1. Ejemplares analizados.

El origen de los ejemplares analizados fue el siguiente:

- Peces de acuicultura, procedentes de los individuos aparentemente sanos de las granjas.
- Peces de pesca extractiva, procedentes de las lonjas de San Pedro del Pinatar, Mazarrón y de Águilas.
- Peces utilizados como alimento de atunes, obtenidos de la carnada utilizada por las empresas que realizan engorde de atún, que en el 2008 fueron 2, una de ellas de investigación.

4.2. Procesado de las muestras

Cuando se procedía a obtener ejemplares para su posterior análisis, se cumplimentaba una ficha con los datos epidemiológicos más relevantes, tanto en los peces de acuicultura como en los de pesca extractiva. Los peces eran llevados rápidamente, en condiciones de frío, al Centro de Recursos Marinos en San Pedro del Pinatar para ser procesados.

Fueron sometidos de forma rutinaria a un análisis morfopatológico y necropsia lo antes posible anotando cualquier hallazgo significativo, en especial la presencia de lesiones compatibles con linfocitosis. Todos los datos de cada necropsia se reflejaban en la correspondiente hoja de necropsia, la cual tiene un diseño colectivo para los ejemplares de una misma partida y que también fue consensuada por los grupos participantes en el proyecto.

Se extremaron las medidas de higiene y de asepsia, no utilizando el mismo material de disección para más de un ejemplar, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas entre los ejemplares. Todo el material utilizado era posteriormente lavado y desinfectado mediante un baño con hipoclorito sódico (10%). Posteriormente el material fue esterilizado mediante autoclave.

Se procedió a extraer muestras de riñón, bazo y de encéfalo por duplicado para cada ejemplar. El tamaño de la muestra fue de aproximadamente 0,25 gramos y eran introducidos en tubos eppendorf: riñón y bazo en un tubo y el encéfalo en otro. A uno de los ejemplares de cada muestra se le añadió inmediatamente un conservante específico (ARN later®), siendo esta la muestra que se envió al laboratorio de Valdeolmos (CISA/INIA) para el análisis

virológico. A partir de las muestras de encéfalo se realizará el diagnóstico de encefalopatía y retinopatía viral (VER). Las muestras de riñón y bazo fueron utilizadas para el diagnóstico de septicemia viral hemorrágica (SHV) y de necrosis pancreática infecciosa (NPI).

El segundo ejemplar de cada muestra es llevado rápidamente a temperatura de congelación sin añadirle ningún conservante. Una vez concluidas las extracciones, los ejemplares eran convenientemente identificado e introducidos individualmente en bolsas de plástico y conservados en congelación. Dentro de esas bolsas se guardarán en tubos eppendorf muestras de tejido renal y encefálico restante. En el caso de posibles positivos se podrá realizar así un segundo análisis o bien la realización de técnica oficial de confirmación como ocurre en el caso de la SHV, en cuyo caso habría que remitir los ejemplares al laboratorio oficial de referencia que es el de Sanidad Animal y Producción Animal de Algete (Real Decreto 164/2008). Para el resto de enfermedades, al no ser de declaración obligatoria, podrá ser confirmado por los laboratorios de referencia de cada Comunidad Autónoma.

La información recogida en las fichas de toma de muestras, en las hojas de necropsia, en los boletines analíticos de laboratorio y la información del análisis parasitológico fue centralizada en una base de datos informática.

4.3. Diagnóstico laboratorial

Durante el año 2008, las muestras fueron remitidas, para la realización de los análisis virológicos, al Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), centro de investigación dependiente del INIA. Este centro, situado en Valdeolmos (Madrid), está considerado como el de mayores garantías en cuanto a seguridad biológica, teniendo un equipo con gran experiencia en el diagnóstico virológico en enfermedades de peces mediante técnicas genéticas.

A continuación se describen los procedimientos diagnósticos utilizados por el CISA para SHV, VER y NPI. Tras un año de trabajo, se ha considerado necesario modificar el protocolo de trabajo, incorporando mejoras en el procedimiento y modificando aquellos aspectos mejorables que la puesta en práctica del protocolo ha permitido detectar. Por ello, a finales de 2008 se han unificado criterios por parte de los técnicos de los laboratorios participantes en el proyecto, proponiéndose un nuevo protocolo.

OBJETIVO

Unificar el procedimiento de diagnóstico para el establecimiento de un Mapa Epidemiológico en el que los resultados inter-comunidades puedan ser comparables

PROTOCOLO

4. Toma y transporte de muestras

- a. Las muestras se obtendrán, cuando sea posible, a partir de peces vivos, y en todo caso se hará a partir de peces muertos o moribundos [*Nota*: evitar los que estén en fase de “rigor mortis”].
- b. Los órganos a muestrear en cada pez serán:
 - i. Para el diagnóstico de beta-nodavirus: cerebro
 - ii. Para el diagnóstico de VHSV e IPNV: riñón anterior y bazo
- c. Toma de la muestra
 - i. Los órganos se extraerán asépticamente
 - ii. En el caso de alevines o peces de un tamaño superior a 5 cm, se extraerán los órganos indicados arriba. En el caso de alevines de un tamaño entre 3 y 5 cm, se separan la cabeza y las vísceras (desechando en la medida de posible los intestinos) del resto de la musculatura, y se procesan por separado. En el caso de peces de un tamaño inferior, los individuos se procesan enteros.
 - iii. La mitad (al menos 0,3-0,5 gr) de cada órgano se introducirá en viales estériles de 1,5 – 5 ml
 1. Cuando el transporte de la muestra vaya a durar más de 4 h, como en el caso del estudio correspondiente a Murcia, la porción de órgano citada en el apartado anterior se introducirá en tubos con 1,0 ml de RNAlater (Ambion) [*Nota*: De éste modo, el ácido nucleico de las muestras será estable durante 1 día a 37°C, o durante 1 semana a T^a ambiente].
 - iv. La otra mitad del órgano se mantendrá a 4°C el mínimo tiempo posible, procediendo cuanto antes a su almacenamiento a -80°C (sin ningún aditivo), durante no más de 2 años. [*Nota*: En caso de detectar una muestra positiva por PCR, se utilizaría su homóloga congelada para proceder a la aplicación de la técnica de aislamiento en cultivo celular, para aislar el virus].
- d. Transporte de las muestras al laboratorio de análisis:
 - i. El sistema de transporte debe asegurar, en cualquier caso, la estabilidad de la muestra, y será distinto en cada Comunidad Autónoma, debido a la distancia entre el punto de toma de muestra y el laboratorio de análisis.
 - ii. Murcia: En este caso, las muestras en RNAlater se enviarán refrigeradas al CISA (Madrid), donde se procederá a la extracción de RNA, paso a cDNA y PCR para diagnóstico.
 - iii. Canarias y Galicia: En estos casos, la distancia entre el los puntos de muestreo y el laboratorio de diagnóstico asegura el transporte de la muestra, bajo refrigeración, en menos de 4 h, por lo que no es necesario el uso de RNAlater.
 1. Los órganos podrán ser obtenidos *in situ*, en el propio punto de muestreo, en cuyo caso, las muestras se prepararán como

se indica en los apartados 1.c III y IV, y se enviarán refrigeradas,

2. Los órganos podrán ser extraídos en el laboratorio de diagnóstico, en cuyo caso, los peces muestreados en los puntos de muestreo deberán ser enviados refrigerados.

5. Extracción del RNA

a. Reagrupación de muestras:

- i. En el caso de los peces salvajes, cada pez se analizará individualmente [*Nota*: en el caso concreto de la Comunidad Canaria, esta apartado podrá ser modificado, en función del volumen de peces implicado, pasando a la realización de pools, como se indica a continuación].
- ii. En el caso de los peces cultivados, se llevará a cabo reagrupación, dentro de cada planta de cultivo y lote, en *pools* de 5 individuos, siendo esta la unidad de análisis de diagnóstico [*Nota*: en este caso, la homogenización de los órganos se realizará de modo conjunto, para tener una única extracción de RNA por *pool*].

- b. Extracción de RNA.- La extracción de RNA a partir de los tejidos se realiza mediante el sistema RNeasy® Mini Kit (Qiagen), de la siguiente forma: Hasta un máximo de 200 mg de tejido se homogenizan en 360 µl de tampón RLT [*Nota*: si es necesario, se utilizarán sistemas mecánicos, tipo OMNI o similares]. El resto del proceso se realiza siguiendo las indicaciones del fabricante. Finalmente el RNA se eluye en 75 µl de agua libre de nucleasas, y se conserva, en el caso de que no se vaya a utilizar de inmediato, a -80 °C.

6. Síntesis de cDNA.-

Para obtener el cDNA, las muestras de RNA viral (0,25-5 µg totales) se incuban tal como indica el protocolo de la SuperScript™ III RT (Invitrogen) en presencia de *random primers* durante 5 min a 95°C, y a continuación se transfieren inmediatamente a 4°C. Seguidamente se añaden el resto de los componentes de la reacción: 4 µl de “5X First Strand buffer”, 1 µl de DTT 0,1 M, 1 µl de dNTP mix (10 mM cada uno de ellos), 50 U de SuperScript™ III RT, y agua libre de nucleasas hasta un volumen final de 20 µl. Esta solución se incuba a 25°C durante 10 min seguidos de otra incubación de 50°C durante 50 min (síntesis del cDNA). Finalmente la mezcla de reacción se somete a 85°C durante 5 min para inactivar la reversotranscriptasa. Opcionalmente se puede incubar la mezcla durante 20 min a 37°C en presencia de RNasa H para degradar los restos de RNA presentes. El cDNA obtenido se conserva a -80 °C en el caso de que no vaya a ser utilizado de inmediato.

7. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

- a. Para la reacción de PCR se podrá utilizar el sistema HotMaster® Mix (2,5X), de Eppendorf, la GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega) o la Taq polimerasa de Invitrogen, según los laboratorios y la disponibilidad en cada momento, sin que esto afecte a las condiciones posteriores de

amplificación para cada uno de los virus, las cuales se detallan en el anexo I. Se seguirán en todo momento las condiciones del fabricante.

Todas las PCRs llevarán los siguientes pasos:

7. 95 °C durante 3-5 min
8. 95 °C durante 30 seg
9. T° específica de hibridación durante 30 seg
10. 68 °C-72°C durante 30 seg 35-40 ciclos de paso 2 a 4
11. 68 °C-72°C durante 10 min
12. 4 °C hasta recoger

Los protocolos de amplificación acordados para los 3 virus son de “nested PCR” es decir, dos PCRs encadenadas, por lo que se realiza la primera PCR utilizando 1 µl del cDNA en la muestra y en la segunda PCR interna se utiliza 1 µl del producto de amplificación de la primera reacción.

El resultado de ambas reacciones de PCR se carga en un gel de agarosa 1,5 % y las bandas específicas se visualizan en un transiluminador de UV.

8. Actuaciones ante resultados positivos para cualquiera de los virus,

- a. El fragmento de PCR amplificado de la segunda PCR se secuenciará con el fin de corroborar el resultado positivo y tener indicios del tipo viral.
- b. A partir de la réplica de la muestra correspondiente (bajo custodia, congelada, en las Consejerías), se procederá al aislamiento del virus, siguiendo para ello las normativas europeas y OIE.



PCR para VHSV

| virus | cebador | Secuencia (5'-3') | Posición | Cepa/zona | Producto | T ^a hibridación |
|----------------|------------|-----------------------|----------|-------------------------|----------|----------------------------|
| VHSV | VHSCM3A | CAGGCGTTGTCCGTGCTTCT | 352-371 | VHSV F1 strain gen N | 358 pb | 54°C |
| | VHSCM3B | ACCCTGCGAGTTTCCTGATGG | 689-709 | | | |
| VHSV nested | VHSCM3Aint | CTATGTACTCCAAGGGAAC | 375-395 | VHSV F1 strain gen N | 301 pb | 60°C |
| | VHSCM3Bint | CGGTGAAGTGCTGCAGTTC | 656-676 | | | |

PCR para IPNV

| virus | cebador | Secuencia (5'-3') | Posición | Cepa/zona | Producto | T ^a hibridación |
|-------|-------------|---------------------------|-----------|-----------------------|----------|----------------------------|
| IPNV | Heppel U | AGAGATCACTGACTTCACAAGTGAC | 1403-1427 | IPNV Jaspe Segm. A | 358 pb | 54°C |
| | Heppel L | TGTGCACCACAGGAAAGATGACTC | 1746-1761 | | | |
| | Heppel-intu | TGGGGAAGTCGTTCTCCAAC | 220-239 | IPNV Jaspe Segm.A | 304 pb | 56°C |
| | heppel_intl | CCCCCTTGACAACCCTCAGG | 524-509 | | | |

PCR para noda

| virus | cebador | Secuencia (5'-3') | Posición | Cepa/zona | Producto amplificación | T ^a hibridación |
|----------------|---------|----------------------|-----------|------------|------------------------|----------------------------|
| Betanoda virus | NODAF2 | CGTGTCAGTCATGTGTCGCT | 604-623 | SJNNV/RNA2 | 427 pb | 50°C |
| | NODAR3 | CGAGTCAACACGGGTGAAGA | 1011-1030 | | | |
| | nodaF21 | GATTCGTTCCATTCTCTTG | 735-751 | SJNNV/RNA2 | 157 pb | 58°C |
| | nodaF31 | AGTGTCTCCAGCTTTCTTCT | 889-870 | | | |

En caso de encontrarse algún positivo, el fragmento de PCR amplificado se enviará a secuenciar al servicio de secuenciación del CISA para corroborar el positivo y determinar el serotipo de virus. Además, a partir de las muestras duplicadas que se encuentran congeladas en las Consejerías, se intentará aislar el virus. Estos duplicados se enviarán al CISA, para realizar los consiguientes homogenados en medio de cultivo celular enriquecido con antibióticos y fungizona, y la inoculación de distintas diluciones de los homogenados en cultivo celular. En caso de ser muestras sospechosas de IPNV o VHSV, las células (EPC, CHSE-214 o RTG-2) inoculadas se incubarán a 14°C, mientras que en caso de ser muestras sospechosas de nodavirus los homogenados se tendrán que inocular en SAF-1 (línea de dorada susceptible a nodavirus) a 20°C.

El RD 1614/2008 establece las medidas mínimas de la lucha contra determinadas enfermedades de los peces. Esta normativa regula las medidas a desarrollar por la autoridad sanitaria en caso de aparición de una serie de enfermedades, entre ellas la SHV, así como establece planes de muestreo para declarar explotaciones o zonas como libres de la enfermedad. Establece los métodos oficiales de diagnóstico para el virus de la SHV, entre los cuales no se encuentran las técnicas de PCR. Sin embargo, los objetivos del presente trabajo son bien distintos respecto a esta enfermedad, ya que se aprovecha la toma de muestras para enfermedades emergentes y potencialmente peligrosas como es el caso del VER, para realizar un chequeo frente a la presencia del virus de la SHV en una población en principio libre de este patógeno, como son los peces mediterráneos, tanto de acuicultura como silvestres. Si apareciesen ejemplares positivos frente a esta enfermedad mediante PCR, se remitirían al Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Algete, ya que este es el laboratorio nacional de referencia para esta enfermedad.

Muestreo virológico en carnaza de atunes

El estudio diagnóstico de estos ejemplares presenta un problema añadido, pues son peces que están mucho tiempo congelados y las condiciones de almacenamiento y manipulación no son las óptimas por lo que presumiblemente el ARN está dañado, siendo inviable su uso para PCR.

Para estas muestras se plantea la realización de homogenizados e inoculación en cultivo celular para ver si se produce efecto citopático por algún virus que posteriormente se identificaría. La metodología es la siguiente: Las muestras se homogenizan de forma estéril en medio de cultivo suplementado con antibióticos y fungizona. Distintas diluciones de estos homogenizados se inoculan en células EPC de carpa. Tras 7-8 días de incubación a 14 °C se visualizan para detectar posibles efectos virales.

Esta técnica permite demostrar la presencia o no de virus vivos en el alimento de los atunes, lo cual constituye una información epidemiológica de gran valor.

4.4. Estudios parasitológicos

En el proyecto se plantea la realización de estudios parasitológicos, con el fin de recabar la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

Para este estudio piloto se ha escogido el parásito denominado *Enteromyxus leei* que causa la enteromyxosis por tener una incidencia real en las instalaciones de acuicultura marina en la Región de Murcia, tiene un amplio rango de hospedadores y su transmisión es directa, por lo que interesa enormemente valorar la posible transmisión entre peces silvestres y cultivados.

Tras la necropsia de los animales y el examen en fresco, se obtienen fragmentos del intestino posterior que se fijarán en formol al 10%, se incluirán en resina acrílica Technovit 7100 (Kulzer, Heraeus, Alemania) mediante métodos estándar, se cortarán mediante microtomo a 1,5 μm de grosor y se teñirán mediante la técnica Giemsa. La observación microscópica de las muestras obtenidas permitirá establecer la prevalencia de infección en las especies objeto de estudio.

De manera experimental, también se realiza un chequeo frente a anisakis en los peces procedentes de la acuicultura. También Se realiza un estudio específico sobre la prevalencia de *A. crassus* en anguila.

RESULTADOS

TOMA DE MUESTRAS

Los muestreos se realizaron en dos periodos correspondientes a los dos semestres del año. En el primero el muestreo fue desde febrero hasta abril, recogiendo un total de 477 ejemplares en 5 envíos. El segundo periodo de muestreos abarcó desde agosto hasta diciembre, recolectándose 584 ejemplares que fueron remitidos en 8 envíos. En cada toma de muestras se cumplimentó una “Hoja de toma de muestras” en la cual se reflejaban los datos epidemiológicos más relevantes.

Los ejemplares fueron procesados tal y como se describe en el procedimiento descrito en el “Protocolo de muestreo y análisis”, el cual fue elaborado por el grupo de expertos representantes de los laboratorios participantes en el proyecto. Fueron 14 el total de los envíos realizados al laboratorio de Valdeolmos, pues se enviaron 13 envíos de peces para PCR y un envío con muestras de carnada de atún.

Los envíos se realizaron mediante una empresa de mensajería urgente y siempre en condiciones de refrigeración. Cada envío agrupaba las muestras recogidas mediante dos a cuatro sesiones de necropsias, las cuales eran conservadas en frigorífico y con su correspondiente conservante de ARN.

MUESTREO PECES ACUICULTURA Y PESCA (RUTINARIOS)

Se cumplimentaron las correspondientes hojas de necropsia de las distintas partidas de peces que fueron procesados. En dichas hojas se reflejan los códigos individuales asignados a cada muestra, la especie, peso, talla, la presencia de lesiones compatibles con la linfocitosis y las observaciones que se consideren oportunas.

En la tabla 2 se reflejan las especies utilizadas, así como el número de ejemplares de cada una de ellas. En total se obtuvieron 1.061 peces.

Muestreo de peces

Tabla 2. Especies utilizadas en el muestreo del PVE 2008.

| Especie | Origen | Número |
|---|-------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 251 |
| | Pesca | 125 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 105 |
| | Pesca | 12 |
| Corvina acuicultura (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | 0 |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | 63 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Acuicultura | 70 |
| | Pesca | 20 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Acuicultura | 148 |
| | Pesca | 0 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Acuicultura | 21 |
| | Pesca | 65 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 35 |
| Magre (<i>Lithognathus mormyrus</i>) | Pesca | 33 |
| Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) | Pesca | 34 |
| Salmonete (<i>Mullus surmuletus</i>) | Pesca | 3 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | Acuicultura | 1 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | Acuicultura | 20 |
| Mero (<i>Epinephelus marginatus</i>) | Pesca | 2 |
| Grisa (<i>Labrus viridis</i>) | Pesca | 2 |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 36 |
| Aligote (<i>Pagellus acarne</i>) | Pesca | 12 |
| Caballito (<i>Hippocampus guttulatus</i>) | Pesca | 3 |
| Total | | 1.061 |

Tabla 3. Ejemplares muestreados de acuicultura. Se han incluido en este apartado los peces de origen silvestre que han sido criados involuntariamente en el interior de las jaulas.

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 251 |
| Lubina | 105 |
| Corvina | 0 |
| Alacha | 70 |
| Boga | 148 |
| Jurel | 21 |
| Mújol | 1 |
| Atún | 20 |
| Total | 616 |

Tabla 4. Ejemplares muestreados de especies silvestres cultivables.

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 125 |
| Lubina | 12 |
| Total | 137 |

Tabla 5. Ejemplares muestreados de peces silvestres que frecuentan las instalaciones de acuicultura.

| Grupo | Especie | Total especie |
|------------------|---------|---------------|
| Mayor frecuencia | Alacha | 90 |
| | Boga | 148 |
| Alta frecuencia | Jureles | 86 |
| | Mújol | 1 |
| Descritas | Salpa | 36 |
| | Sargo | 35 |
| | Magre | 33 |
| Total | | 429 |

Tabla 6. Ejemplares muestreados de las especies monitoras para VER.

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|------------|------------|
| Lubina | 105 | 12 | 117 |
| Corvina | 0 | 63 | 63 |
| Salpa | -- | 36 | 36 |
| Sargo | -- | 71 | 71 |
| Mero | -- | 2 | 2 |
| Total | 105 | 184 | 289 |

Tabla 7. Ejemplares muestreados de las especies monitoras para SHV.

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|---------|-------------|-------|------------|
| Lubina | 105 | 12 | 117 |
| Alacha | 70 | 20 | 90 |
| Jureles | 21 | 65 | 86 |
| Corvina | 0 | 63 | 63 |
| Salpa | -- | 36 | 36 |
| Sargo | -- | 35 | 35 |
| Total | 196 | 231 | 427 |

Tabla 8. Ejemplares muestreados de las especies monitoras para NPI.

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|---------|-------------|-------|------------|
| Dorada | 251 | 125 | 376 |
| Alacha | 70 | 20 | 90 |
| Jureles | 21 | 65 | 86 |
| Corvina | 0 | 63 | 63 |
| Total | 342 | 273 | 615 |

MUESTREOS ESPECÍFICOS

CARNADA ATUNES

El muestreo se realizó en el mes de diciembre de 2008. En este año sólo una granja ha tenido de forma comercial atunes más una instalación que mantiene atunes con fines científicos. Se han muestreado ambas granjas, con 30 ejemplares en cada una de ellas, obteniéndose un total de 60 ejemplares. Las dos instalaciones se encuentran situadas en el Gorguel (Cartagena).

MUESTREO NUEVAS ESPECIES.

Durante el año 2008 se ha producido la introducción de gran cantidad de alevines de corvina (*Argirosomus regius*) por parte de varias empresas, y se ha empezado a producir corvina de forma comercial, sin embargo no ha sido posible la obtención de muestras al no coincidir los muestreos con la extracción comercial de ejemplares.

MUESTREO IMPORTACIONES.

Todas las importaciones de alevines procedían de países de la Unión Europea. En una de estas importaciones se chequeó un lote de 20 lubinas y en otra 20 ejemplares de corvina.

FOCOS DE ENFERMEDAD.

Durante este año no se ha detectado ningún brote de enfermedad en poblaciones silvestres y tampoco ha sido necesario intervenir en ningún foco de enfermedad en las empresas de acuicultura, ya que en todos los casos los peces han respondido adecuadamente a los tratamientos terapéuticos ordinarios, según las informaciones aportadas por los responsables sanitarios de las empresas.

LOTES DE ORIGEN DESCONOCIDO

No ha sido detectado ningún lote de peces de origen desconocido, por lo que no ha sido necesario realizar ningún tipo de muestreo.

MUESTREO PARASITOLÓGICO

Dentro de los objetivos del programa, se planteaba la posibilidad de realizar controles parasitológicos siguiendo la idea de valorar la interacción entre peces silvestres y cultivados y obtener la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

Para este estudio piloto se ha escogido el parásito denominado *Enteromyxus leei* que causa la enteromyxosis por tener una incidencia real en las instalaciones de acuicultura marina en la Región de Murcia, tiene un amplio rango de hospedadores y su transmisión es directa, por lo que interesa enormemente valorar la posible transmisión entre peces silvestres y cultivados.

El muestreo realizado en el 2007-2008 se refleja en la tabla siguiente (en el informe correspondiente al 2007 el muestreo estaba incompleto y los resultados aún no eran definitivos):

Tabla 9. Muestreo para estudio parasitológico.

| Origen | Especie | Ejemplares |
|--|------------------------------|------------|
| Acuicultura | Dorada | 183 |
| | Lubina | 135 |
| | Corvina (alevines) | 20 |
| | Total acuicultura | 338 |
| Silvestres de especies cultivables | Dorada | 24 |
| | Lubina | 29 |
| | Total silvestres | 53 |
| Silvestres que interaccionan con acuicultura | Boga | 90 |
| | Jurel | 12 |
| | Alacha | 20 |
| | Total silvestres-acuicultura | 122 |
| Total | | 513 |

RESULTADOS LABORATORIO.

Los resultados obtenidos en el laboratorio del CISA sobre las 1.061 muestras de peces silvestres y de acuicultura fueron todos negativos, es decir, no se ha detectado la presencia de virus de la SHV ni de la Nodavirus mediante técnicas de PCR.

Sin embargo, se han detectado 41 ejemplares positivos por PCR al virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa. Los datos son los siguientes:

| Especie | Número | Origen |
|---------|--------|-------------|
| Lubina | 5 | Acuicultura |
| Dorada | 3 | Acuicultura |
| Dorada | 2 | Pesca |
| Sargo | 6 | Pesca |
| Jurel | 2 | Pesca |
| Alacha | 3 | Pesca |
| Anguila | 20 | Pescs |

Los resultados obtenidos en el laboratorio del CISA sobre las 60 muestras de carnada para atún tras la realización de los homogenizados e inoculación en cultivo celular fue la ausencia de cualquier efecto citopático que indicase la presencia de algún virus, por lo que no fue necesario realizar ningún tipo de aislamiento con fines de identificación virológica.

Los resultados de los estudios parasitológicos para la detección de parásitos intestinales no han sido concluidos totalmente al cierre del presente informe, siendo los datos más importantes los siguientes (prevalencia y número de positivos):

| | Dorada Acuicultura | Dorada Silvestre | Lubina Acuicultura | Lubina Silvestre | Boga | Jurel | Alacha |
|--------------------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|------|-------|--------|
| <i>Enteromyxum leei</i> | 1.84 (3) | -- | -- | -- | -- | -- | -- |
| <i>Sphaerospora dicentrarchi</i> | -- | -- | 1.48 (2) | 33.3 (3) | -- | -- | -- |
| <i>Eimeria sparis</i> | -- | 12.5 (2) | -- | -- | -- | -- | -- |

Se está realizando seguimiento de la presencia de determinados crustáceos parásitos, tanto isópodos como copépodos.

Respecto del control sobre presencia de anisakis, no han sido concluidos los análisis al cierre del presente informe, si bien no se ha detectado ningún animal positivo en las doradas y lubinas chequeadas durante el primer semestre que son las analizadas hasta el momento.

DISCUSIÓN.

1. Muestreo

a. Controles rutinarios:

El número global de ejemplares muestreados se ha ajustado de forma adecuada a las previsiones efectuadas: 1.061 muestreados frente a los 1.100 previstos, sin embargo ha sido necesario variar el número en algunas ocasiones. En lo referente a los animales de acuicultura, se ha muestreado un menor número de doradas y ninguna corvina. De esta última especie ha habido producción este año, si bien problemas organizativos y el intentar no variar los planes de trabajo de las empresas ha ocasionado el no poder obtener ejemplares para su análisis. Respecto a las especies silvestres, se han incorporado diversas especies que si bien en algunos casos el número de ejemplares no es estadísticamente significativo, pero que aportan en conjunto una información epidemiológica de gran valor.

Los ejemplares silvestres de las especies de acuicultura han tenido que ser obtenidos en su totalidad de la lonja de Lo Pagán, ya que las técnicas y artes de pesca son más propicios en esta lonja, no obteniéndose de forma habitual en las otras. Para la obtención de otras especies silvestres se han utilizado las Lonjas de Águilas y la de Mazarrón.

b. Control sobre carnada atún:

El número de muestras ha sido netamente inferior al inicialmente previsto: 60 frente a 300. Se había previsto realizar dos controles de 30 ejemplares sobre 5 granjas y finalmente se ha realizado un control sobre 2 granjas. Este número menos de muestras se debe a que sólo una instalación comercial ha tenido atún este año, siendo la otra instalación un participante en un proyecto de investigación sobre esta especie

2. Vigilancia epidemiológica en peces

Los ejemplares de acuicultura (tabla 3) pudieron muestrearse de todas las especies a excepción de la corvina, incluyéndose en este apartado las especies silvestres que de forma involuntaria por parte de las empresas han sido alimentados y criados en el interior de las jaulas. Respecto a los ejemplares silvestres de las especies cultivables (tabla 4), todos los ejemplares se obtuvieron en la Lonja de Lo Pagán, ya que los artes de pesca empleados en esta zona marítima facilitan la captura de las especies buscadas. Respecto a las especies merodeadoras de las instalaciones de acuicultura, en la tabla 5 se observa que para las especies de mayor frecuencia se han tomado 238 muestras, 87 muestras en los de alta frecuencia y 104 para los descritos. En las tablas 6, 7 y 8 se han agrupado las especies según su capacidad de ser monitores frente a cada una de las enfermedades objetivo (Barja, 2005). No podemos contrastar nuestros resultados con trabajos similares, ya que en la literatura científica consultada no hemos encontrado estudios epidemiológicos similares en los que se valorase la presencia de estos virus en el litoral mediterráneo español, excepto proyectos piloto como el realizado por nuestro

grupo en el año 2006 (Peñalver *et al.* 2007a), así como los resultados obtenidos el en 2007, en el primer año del proyecto, tanto por nuestro grupo como los obtenidos por los restantes grupos participantes en el proyecto.

No se han detectado ejemplares con lesiones compatibles con **linfocitosis**, a excepción de un ejemplar de dorada. La causa principal que justifica este resultado es que no se analizaron ejemplares juveniles, siendo los brotes clínicos en alevines que posteriormente se recuperan, a menos que sufran contaminaciones secundarias, normalmente bacterianas (Bovo, 2004).

No se ha realizado ningún control sobre la **necrosis eritrocitaria viral**, ya que prácticamente todos los ejemplares estudiados estaban muertos en el momento de la toma de muestras, siendo necesario que la sangre esté en perfecto estado para su tinción y análisis microscópico. Únicamente se han analizado de forma experimental algunos ejemplares de anguila, obteniendo resultados negativos a lesiones compatibles con la presencia de este virus.

La **septicemia vírica hemorrágica (VHS)** es una enfermedad de gran importancia en la acuicultura continental en Europa, aunque también se han producido episodios de mortandad en acuicultura marina, como es el caso del rodaballo en el Norte de nuestro continente (Ross *et al.*, 1994). Cada vez con mayor frecuencia se describe la presencia de este virus en poblaciones silvestres de gran cantidad de especies marinas de aguas frías (Munro, 1996; Dixon *et al.*, 1997; Mortensen, 1999; Smail, 2000; King *et al.* 2001; Dopazo, 2002). Las especies cultivadas en el litoral del levante español (dorada, lubina, corvina y atún rojo) no son especies sensibles a este virus según la OIE. Sin embargo, el Reglamento 1251/2008, por el que se aplica la Directiva 2006/88/CE en lo referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de enfermedades portadoras, establece una lista de especies que pueden actuar como portadoras a las enfermedades listadas como es el caso de la septicemia hemorrágica. En esa lista aparecen muchas de las especies analizadas, por lo que es de gran importancia chequearlas y en nuestro caso el determinar los resultados negativos obtenidos:

| Especie | Número |
|--|------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | 376 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 117 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | 35 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | 1 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | 20 |
| Mero (<i>Epinephelus marginatus</i>) | 2 |
| Total | 551 |

Por tanto, el estudio de los posibles portadores silvestres del virus tiene una importancia epidemiológica elevada, la cual ha sido analizada en el presente trabajo, con resultados negativos, aunque es necesario realizar estudios más extensos en cuanto al número de especies analizadas y trabajar con tamaños de muestra más significativos estadísticamente. En cualquier caso, estos datos coinciden con la única referencia previa en la que se chequearon peces de características similares (Peñalver *et al.* 2007a).

El virus de la **necrosis pancreática infecciosa** es un virus que afecta a explotaciones continentales de acuicultura de salmónidos, pero también ha producido pérdidas en algunas granjas de peces marinas como el rodaballo, y además se han descrito infecciones subclínicas en multitud de especies marinas como anguilas, atherinidae, peludas, jureles, cupleiformes y en corvina. En España ha sido aislado el virus especies marinas cultivadas como la dorada, el rodaballo y el lenguado (Barja, 2005). Por ello, el virus tiene un amplio rango de hospedadores y de especies sensibles, de peces, pero además pueden actuar como reservorios determinados moluscos (Mortensen, 1990) e incluso rotíferos (Coms, 1991). En nuestro trabajo hemos encontrado 41 ejemplares positivos, tanto procedentes de acuicultura como de pesca extractiva.

| Especie | Número | Origen |
|---------|--------|-------------|
| Lubina | 5 | Acuicultura |
| Dorada | 3 | Acuicultura |
| Dorada | 2 | Pesca |
| Sargo | 6 | Pesca |
| Jurel | 2 | Pesca |
| Alacha | 3 | Pesca |
| Anguila | 20 | Pesca |

La **encefalopatía retinopatía viral** (VER) o necrosis nerviosa viral afecta a gran número de especies de peces, siendo las más importantes la lubina, el mero, dorada, besugo, dentón, fletán, rodaballo, seriola, bacalao, bonito y salmón (Pérez y Rodríguez, 2006). En los laboratorios de ictiopatología del área mediterránea ha sido descrito principalmente en lubina, pero también en numerosas especies como corvina silvestre, mújol y mero (Barja, 2005). También se han descrito casos en el Mediterráneo en sargo picudo y en lenguado (Bovo, 2004), así como en dorada de acuicultura y en jurel (Peñalver *et al.* 2008).

Sin embargo, este año 2008 no se ha hallado ningún animal positivo en el muestreo realizado.

Vigilancia epidemiológica en carnada de atunes

La alimentación de los atunes en las granjas de engorde del litoral levantino se realiza básicamente mediante carnada que procede de caladeros pesqueros distintos a los de la zona donde están situados las granjas. La importación de este tipo de pescado se realiza en condiciones de congelación, las cuales a priori, no inactivan a los virus de



importancia en patología. Resulta, por ello, de gran importancia valorar el posible papel de esta carnada como vehículo para la introducción de enfermedades exóticas en las instalaciones de acuicultura y en la fauna ictícola local, ya que diversos estudios y autores demuestran que ya ha ocurrido en otras zonas del planeta (Jones *et al.*, 1997; Ward *et al.*; 2001).

En los resultados que hemos obtenido, en los que la realización de los homogenizados e inoculación en cultivo celular no evidenció efecto citopático en ninguna de las 60 muestras, indican ausencia de cualquier virus viable, y por tanto la imposibilidad de transmisión de este tipo de patógenos. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en experiencias previas (Peñalver *et al.*, 2007b). Estos resultados tienen una gran importancia, ya que la ausencia de virus vivos, elimina el riesgo de introducción de enfermedades, al menos en los lotes de los que proceden los ejemplares chequeados, ya que se han utilizado lotes estadísticamente significativos de 30 ejemplares (prevalencia del 10 % con un intervalo de confianza del 95 %). La causa de la ausencia de virus viables no podemos distinguir si se debe a una ausencia en origen de infecciones víricas en los peces o por el contrario, si los procesos de congelación industrial a los que se someten este tipo de producto eliminan los virus presentes en los peces. En cualquier caso, el número pequeño de muestras tomadas este año limita el valor epidemiológico de los resultados comentados.

AÑO 2009

En el 2009 se han realizado dos muestreos anuales, lo cual implica, al igual que en el 2008 duplicar el número de ejemplares a muestrear y procesar respecto al primer año del proyecto.

La entrada en vigor de la Directiva 2006/88/CE y su trasposición al ordenamiento jurídico nacional a través del Real Decreto 1614/2008, de 3 de octubre, relativo a los requisitos zoonos sanitarios de los animales y de los productos de la acuicultura, así como a la prevención y el control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos incrementa la importancia de este proyecto y revaloriza los resultados obtenidos por los distintos grupos participantes.

En el Real Decreto se establece la realización de programas de vigilancia zoonos sanitaria sobre las instalaciones de acuicultura para lo cual puede ser de gran utilidad los modelos de planificación y desarrollo de los muestreos que se realizan en este proyecto.

El artículo 17 de la Directiva 2006/88/CE establece que cuando los datos científicos o la experiencia práctica demuestren que especies distintas a las reflejadas como sensibles y señaladas en su anexo, puedan ser causantes de la transmisión de una enfermedad actuando como portadoras, se tendrán en cuenta a la hora de realizar traslados de animales. A tal efecto ha sido publicado recientemente el Reglamento (CE) 1251/2008 referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de especies portadoras. Los resultados de este proyecto puede aportar nuevos datos científicos y prácticos sobre especies portadoras.

Los ejemplares son sometidos, en la medida de lo posible, a un estudio parasitológico reglado, con el fin de recabar la máxima información sobre su estado sanitario y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina. Con los resultados de los dos primeros años se están obteniendo datos de gran valor sobre la incidencia y presencia de determinados parásitos en la acuicultura mediterránea y en especies silvestres asociadas.

El estudio parasitológico inicialmente era un estudio complementario al vírico, pero la evolución de las patologías en las granjas están dando mayor importancia cada año a este tipo de enfermedades, como ocurre en el Mediterráneo con *E. leei*. Así mismo, el demostrar la ausencia de larvas de anisakis en productos de la acuicultura es una demanda reclamada con intensidad por el sector. La presencia de isópodos en acuicultura también ha sido valorada.



DESARROLLO PROGRAMA DE VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA 2009.

1. Ejemplares analizados.

El origen de los ejemplares analizados fue el siguiente:

- Peces de acuicultura, procedentes de individuos aparentemente sanos de las granjas.
- Peces pesca extractiva, procedentes de las lonjas San Pedro del Pinatar y de Águilas.
- Peces utilizados como alimento de atunes, obtenidos de la carnada utilizada por las empresas que realizan engorde de atún, que en el 2009 fueron 2, una de ellas de investigación.

2. Procesado de las muestras

Cuando se procedía a obtener ejemplares para su posterior análisis, se cumplimentaba una ficha con los datos epidemiológicos más relevantes, tanto en los peces de acuicultura como en los de pesca extractiva. Los peces eran llevados rápidamente, en condiciones de frío, al Centro de Recursos Marinos en San Pedro del Pinatar para ser procesados.

Fueron sometidos de forma rutinaria a un análisis morfológico y necropsia lo antes posible anotando cualquier hallazgo significativo, en especial la presencia de lesiones compatibles con linfocitosis. Todos los datos de cada necropsia se reflejaban en la correspondiente hoja de necropsia, la cual tiene un diseño colectivo para los ejemplares de una misma partida y que también fue consensuada por los grupos participantes en el proyecto.

Se extremaron las medidas de higiene y de asepsia, no utilizando el mismo material de disección para más de un ejemplar, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas entre los ejemplares. Todo el material utilizado era posteriormente lavado y desinfectado mediante un baño con hipoclorito sódico (10%). Posteriormente el material fue esterilizado mediante autoclave.

Se procedió a extraer muestras de riñón, bazo y de encéfalo por duplicado para cada ejemplar. El tamaño de la muestra fue de aproximadamente 0,25 gramos y eran introducidos en tubos eppendorf: riñón y bazo en un tubo y el encéfalo en otro. A uno de los ejemplares de cada muestra se le añadió inmediatamente un conservante específico (ARN later®), siendo esta la muestra que se envió al laboratorio de Valdeolmos (CISA/INIA) para el análisis virológico. A partir de las muestras de encéfalo se realizará el diagnóstico de encefalopatía y retinopatía viral (VER). Las muestras de riñón y bazo fueron utilizadas para el diagnóstico de septicemia viral hemorrágica (SHV) y de necrosis pancreática infecciosa (NPI).



El segundo ejemplar de cada muestra es llevado rápidamente a temperatura de congelación sin añadirle ningún conservante. Una vez concluidas las extracciones, los ejemplares eran convenientemente identificado e introducidos individualmente en bolsas de plástico y conservados en congelación. Dentro de esas bolsas se guardarán en tubos eppendorf muestras de tejido renal y encefálico restante. En el caso de posibles positivos se podrá realizar así un segundo análisis o bien la realización de técnica oficial de confirmación como ocurre en el caso de la SHV, en cuyo caso habría que remitir los ejemplares al laboratorio oficial de referencia que es el de Sanidad Animal y Producción Animal de Algete (Real Decreto 1614/2008). Para el resto de enfermedades, al no ser de declaración obligatoria, podrá ser confirmado por los laboratorios de referencia de cada Comunidad Autónoma.

La información recogida en las fichas de toma de muestras, en las hojas de necropsia, en los boletines analíticos de laboratorio y la información del análisis parasitológico fue centralizada en una base de datos informática.

3. Diagnóstico laboratorial

Durante el año 2009, las muestras fueron remitidas, para la realización de los análisis virológicos, al Centro de Investigación en Sanidad Animal (CISA), centro de investigación dependiente del INIA. Este centro, situado en Valdeolmos (Madrid), está considerado como el de mayores garantías en cuanto a seguridad biológica, teniendo un equipo con gran experiencia en el diagnóstico virológico en enfermedades de peces mediante técnicas genéticas.

A continuación se describen los procedimientos diagnósticos utilizados por el CISA para SHV, VER y NPI, después de haber unificado criterios por parte de los técnicos de los laboratorios participantes en el proyecto, en base a la experiencia de los años anteriores:

Se extrajo el RNA total de las muestras de riñón, bazo y encéfalo, para pasarlo a cDNA por transcripción reversa.

- En los riñones y bazo:

Se estudió la presencia de VHSV por medio de PCR, utilizando como control una muestra positiva para el virus. Para cada muestra se realizó una PCR sencilla, seguida de una PCR “nested” en cadena utilizando una pareja de oligonucleótidos que hibridan dentro del primer fragmento amplificado.

Se estudió la presencia de IPNV por medio de PCR, utilizando como control una muestra positiva para el virus. Para cada muestra se realizó una PCR sencilla, seguida de una PCR “nested” en cadena utilizando una pareja de oligonucleótidos que hibridan dentro del primer fragmento amplificado.

- En los encéfalos:

Se estudió la presencia de nodavirus por medio de PCR, utilizando como control una muestra positiva para el virus. Para cada muestra se realizó una PCR sencilla, seguida de una PCR “nested” en cadena utilizando una pareja de oligonucleótidos que hibridan dentro del primer fragmento amplificado.

Todas las técnicas utilizadas se encuentran descritas en el protocolo de trabajo normalizado y previamente aprobado por los grupos de trabajo implicados en el proyecto Jacumar 2007 PNT Jac1/24055507.

En caso de encontrarse algún positivo, el fragmento de PCR amplificado se enviará a secuenciar al servicio de secuenciación del CISA para corroborar el positivo y determinar el serotipo de virus. Además, a partir de las muestras duplicadas que se encuentran congeladas en las Consejerías, se intentará aislar el virus. Estos duplicados se enviarán al CISA, para realizar los consiguientes homogenados en medio de cultivo celular enriquecido con antibióticos y fungizona, y la inoculación de distintas diluciones de los homogenados en cultivo celular. En caso de ser muestras sospechosas de IPNV o VHSV, las células (EPC, CHSE-214 o RTG-2) inoculadas se incubarán a 14°C, mientras que en caso de ser muestras sospechosas de nodavirus los homogenados se tendrán que inocular en SAF-1 (línea de dorada susceptible a nodavirus) a 20°C.

El RD 1614/2008 establece las medidas mínimas de la lucha contra determinadas enfermedades de los peces. Esta normativa regula las medidas a desarrollar por la autoridad sanitaria en caso de aparición de una serie de enfermedades, entre ellas la SHV, así como establece planes de muestreo para declarar explotaciones o zonas como libres de la enfermedad. Establece los métodos oficiales de diagnóstico para el virus de la SHV, entre los cuales no se encuentran las técnicas de PCR. Sin embargo, los objetivos del presente trabajo son bien distintos respecto a esta enfermedad, ya que se aprovecha la toma de muestras para enfermedades emergentes y potencialmente peligrosas como es el caso del VER, para realizar un chequeo frente a la presencia del virus de la SHV en una población en principio libre de este patógeno, como son los peces mediterráneos, tanto de acuicultura como silvestres. Si apareciesen ejemplares positivos frente a esta enfermedad mediante PCR, se remitirían al Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Algete, ya que este es el laboratorio nacional de referencia para esta enfermedad.

Muestreo virológico en carnaza de atunes

El estudio diagnóstico de estos ejemplares presenta un problema añadido, pues son peces que están mucho tiempo congelados y las condiciones de almacenamiento y manipulación no son las óptimas por lo que presumiblemente el ARN está dañado, siendo inviable su uso para PCR.

Para estas muestras se plantea la realización de homogenizados e inoculación en cultivo celular para ver si se produce efecto citopático por algún virus que

posteriormente se identificaría. La metodología es la siguiente: Las muestras se homogenizan de forma estéril en medio de cultivo suplementado con antibióticos y fungizona. Distintas diluciones de estos homogenizados se inoculan en células EPC de carpa. Tras 7-8 días de incubación a 14 °C se visualizan para detectar posibles efectos virales.

Esta técnica permite demostrar la presencia o no de virus vivos en el alimento de los atunes, lo cual constituye una información epidemiológica de gran valor.

4. Estudios parasitológicos

En el proyecto se plantea la realización de estudios parasitológicos, con el fin de recabar la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

Este tercer año de proyecto se realiza un chequeo frente a anisakis en los peces procedentes de la acuicultura. También se realiza un estudio específico sobre la prevalencia de *A. crassus* en anguila, así como valoración de isópodos en instalaciones de acuicultura.

RESULTADOS

A. TOMA DE MUESTRAS

Los muestreos se realizaron en dos periodos correspondientes a los dos semestres del año. En el primero el muestreo fue desde enero hasta junio, recogiendo un total de 492 ejemplares en 6 envíos. El segundo periodo de muestreos abarcó desde septiembre hasta diciembre, recolectándose 408 ejemplares que fueron remitidos en 5 envíos. En cada toma de muestras se cumplimentó una “Hoja de toma de muestras” en la cual se reflejaban los datos epidemiológicos más relevantes.

Cronograma muestreos 2009:

| Objetivo | Enero/ Febrero | Marzo/ Abril | Mayo/ Junio | Julio/ Agosto | Septiembre/ Octubre | Noviembre/ Diciembre |
|----------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|------------------------|-------------------------|
| Grupo 1 | ■ | | ■ | ■ | | ■ |
| Grupo 2 | ■ | | ■ | ■ | | ■ |
| Grupo 3 | ■ | | ■ | ■ | | ■ |
| Grupo 4 | ■ | | ■ | ■ | | ■ |
| Grupo 5 | | | | | | ■ |

Grupo 1. Ejemplares de acuicultura

Grupo 2. Especies silvestres cultivables

Grupo 3. Especies que frecuentan las granjas

Grupo 4. Especies centinela para enfermedades objetivo

Grupo 5. Carnada usada en alimentación de atunes

Los ejemplares fueron procesados tal y como se describe en el procedimiento descrito en el “Protocolo de muestreo y análisis”, el cual fue elaborado por el grupo de expertos representantes de los laboratorios participantes en el proyecto. Fueron 11 el total de los envíos realizados al laboratorio de Valdeolmos, incluyéndose en el último de ellos las muestras de carnada de atún.

Los envíos se realizaron mediante una empresa de mensajería urgente y siempre en condiciones de refrigeración. Cada envío agrupaba las muestras recogidas mediante dos a cuatro sesiones de necropsias, las cuales eran conservadas en frigorífico y con su correspondiente conservante de ARN.

B. MUESTREO PECES ACUICULTURA Y PESCA (RUTINARIOS)

Se cumplimentaron las correspondientes hojas de necropsia de las distintas partidas de peces que fueron procesados. En dichas hojas se reflejan los códigos individuales asignados a cada muestra, la especie, peso, talla, la presencia de lesiones compatibles con la linfocitosis y las observaciones que se consideren oportunas.

El total de muestras recogidas y analizadas en el 2009 ha sido de 900 peces. El muestreo se ha realizado en dos periodos, coincidentes con los dos semestres del año. La organización global del muestreo es la siguiente:

Tabla 1 de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | Número |
|---|-------------|------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 172 |
| | Pesca | 79 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 63 |
| | Pesca | 18 |
| Corvina acuicultura (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | 50 |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | 22 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Acuicultura | 24 |
| | Pesca | 56 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Acuicultura | 56 |
| | Pesca | 18 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Acuicultura | 44 |
| | Pesca | 51 |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 21 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 32 |
| Chanquete (<i>Aphia minuta</i>) | Pesca | 40 |
| Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) | Pesca | 60 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | Pesca | 36 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | Acuicultura | 25 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 13 |
| Piche | Pesca | 7 |
| Grisa (<i>Labrus viridis</i>) | Pesca | 12 |
| Rascacio (<i>Scorpaena porcus</i>) | Pesca | 1 |
| Total | | 900 |

c. Tabla 2. Descripción ejemplares de acuicultura (Grupo 1)

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 172 |
| Lubina | 63 |
| Corvina | 50 |
| Aлча | 24 |
| Boga | 56 |
| Jurel | 44 |
| Atún | 25 |
| Total | 434 |

d. Tabla 3. Especies silvestres cultivables (Grupo 2)

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 79 |
| Lubina | 18 |
| Total | 79 |

c. Tabla 4. Especies que frecuentan las granjas (Grupo 3)

| Grupo | Especie | Total especie |
|------------------|---------|---------------|
| Mayor frecuencia | Alча | 56 |
| | Boga | 18 |
| Alta frecuencia | Jureles | 51 |
| | Mújol | 36 |
| Descritas | Salpa | 21 |
| | Sargo | 32 |
| Total | | 214 |

d. Especies centinela para enfermedades objetivo (Grupo 4)

d.1. Tabla 5. Especies monitoras para VER

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|-----------|------------|
| Lubina | 63 | 18 | 81 |
| Corvina | 50 | 22 | 72 |
| Salpa | -- | 21 | 21 |
| Sargo | -- | 32 | 32 |
| Total | 113 | 93 | 206 |

d.2. Tabla 6. Especies monitoras para SHV

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|---------|-------------|-------|------------|
| Lubina | 63 | 18 | 81 |
| Alacha | 24 | 56 | 80 |
| Jureles | 44 | 51 | 95 |
| Corvina | 50 | 22 | 72 |
| Salpa | -- | 21 | 21 |
| Sargo | -- | 32 | 32 |
| Total | 181 | 200 | 381 |

d.3. tabla 7. Especies monitoras para NPI

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|---------|-------------|-------|------------|
| Dorada | 172 | 79 | 251 |
| Alacha | 24 | 56 | 80 |
| Jureles | 44 | 51 | 95 |
| Corvina | 50 | 22 | 72 |
| Total | 290 | 208 | 498 |

1° Semestre

Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | Número |
|---|-------------|------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 143 |
| | Pesca | 40 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 43 |
| | Pesca | -- |
| Corvina acuicultura (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | -- |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | 22 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Acuicultura | -- |
| | Pesca | 33 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Acuicultura | 14 |
| | Pesca | 15 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Acuicultura | -- |
| | Pesca | -- |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 21 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 25 |
| Chanquete (<i>Aphia minuta</i>) | Pesca | 40 |
| Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) | Pesca | 60 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | Pesca | 25 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | Acuicultura | -- |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 10 |
| Piche | Pesca | -- |
| Grisa (<i>Labrus viridis</i>) | Pesca | -- |
| Rascacio (<i>Scorpaena porcus</i>) | Pesca | 1 |
| Total | | 492 |

a. Descripción ejemplares de acuicultura

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 143 |
| Lubina | 43 |
| Corvina | -- |
| Alacha | -- |
| Boga | 14 |
| Jurel | -- |
| Atún | -- |
| Total | 200 |

b. Especies silvestres cultivables

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 40 |
| Lubina | -- |
| Total | 40 |

c. Especies que frecuentan las granjas

| Grupo | Especie | Total especie |
|------------------|---------|---------------|
| Mayor frecuencia | Alacha | 33 |
| | Boga | 15 |
| Alta frecuencia | Jureles | -- |
| | Mújol | 25 |
| Descritas | Salpa | 21 |
| | Sargo | 25 |
| Total | | 119 |

d. Especies centinela para enfermedades objetivo

d.1. Especies monitoras para VER

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|-----------|------------|
| Lubina | 43 | -- | 43 |
| Corvina | -- | 22 | 22 |
| Salpa | -- | 21 | 21 |
| Sargo | -- | 25 | 25 |
| Total | 43 | 68 | 111 |

d.2. Especies monitoras para SHV

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|---------|-------------|-------|------------|
| Lubina | 43 | -- | 43 |
| Alacha | -- | 33 | 33 |
| Jureles | -- | -- | -- |
| Corvina | -- | 22 | 22 |
| Salpa | -- | 21 | 21 |
| Sargo | -- | 25 | 25 |
| Total | 43 | 101 | 144 |

d.3. Especies monitoras para NPI

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|---------|-------------|-------|------------|
| Dorada | 143 | 40 | 183 |
| Alacha | -- | 33 | 33 |
| Jureles | -- | -- | -- |
| Corvina | -- | 22 | 22 |
| Total | 143 | 95 | 238 |

2º Semestre

Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | Número |
|---|-------------|------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 29 |
| | Pesca | 39 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 20 |
| | Pesca | 18 |
| Corvina acuicultura (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | 50 |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | -- |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Acuicultura | 24 |
| | Pesca | 41 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Acuicultura | 42 |
| | Pesca | -- |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Acuicultura | 44 |
| | Pesca | 36 |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | -- |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 7 |
| Chanquete (<i>Aphia minuta</i>) | Pesca | -- |
| Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) | Pesca | -- |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | Pesca | 11 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | Acuicultura | 25 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 3 |
| Piche | Pesca | 7 |
| Grisa (<i>Labrus viridis</i>) | Pesca | 12 |
| Rascacio (<i>Scorpaena porcus</i>) | Pesca | -- |
| Total | | 408 |

a. Descripción ejemplares de acuicultura

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 29 |
| Lubina | 20 |
| Corvina | 50 |
| Alacha | 24 |
| Boga | 42 |
| Jurel | 44 |
| Atún | 25 |
| Total | 234 |

b. Especies silvestres cultivables

| Especie | Nº Ejemplares |
|--------------|---------------|
| Dorada | 38 |
| Lubina | 18 |
| Total | 56 |

e. Especies que frecuentan las granjas

| Grupo | Especie | Total especie |
|------------------|---------|---------------|
| Mayor frecuencia | Alacha | 41 |
| | Boga | -- |
| Alta frecuencia | Jureles | 36 |
| | Mújol | 11 |
| Descritas | Salpa | -- |
| | Sargo | 7 |
| Total | | 95 |

d. Especies centinela para enfermedades objetivo

d.1. Especies monitoras para VER

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|-----------|-----------|
| Lubina | 20 | 18 | 38 |
| Corvina | 50 | -- | 50 |
| Salpa | -- | -- | -- |
| Sargo | -- | 7 | 7 |
| Total | 70 | 25 | 95 |

d.2. Especies monitoras para SHV

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|------------|------------|
| Lubina | 20 | 18 | 38 |
| Alacha | 24 | 41 | 65 |
| Jureles | 44 | 36 | 80 |
| Corvina | 50 | -- | 50 |
| Salpa | -- | -- | -- |
| Sargo | -- | 7 | 7 |
| Total | 138 | 102 | 240 |

d.3. Especies monitoras para NPI

| Especie | Acuicultura | Pesca | Total |
|--------------|-------------|------------|------------|
| Dorada | 29 | 39 | 68 |
| Alacha | 24 | 41 | 65 |
| Jureles | 44 | 36 | 80 |
| Corvina | 50 | -- | 50 |
| Total | 147 | 116 | 263 |

En 2010 se completó el muestreo del 2009, con los siguientes ejemplares.

Tabla de toma de muestras por especie y origen:

| Especie | Origen | Número |
|--|-------------|------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 31 |
| | Pesca | 1 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 71 |
| | Pesca | 11 |
| Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | 20 |
| Alacha | Pesca | 15 |
| Mújol | Pesca | 17 |
| Magre | Pesca | 10 |
| Sargo | Pesca | 8 |
| Total | | 184 |

Por tanto, el muestreo global 2009 más 2010 es el siguiente:

| Especie | Origen | Número |
|---|-------------|--------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 203 |
| | Pesca | 80 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 134 |
| | Pesca | 29 |
| Corvina acuicultura (<i>Argyrosomus regius</i>) | Acuicultura | 70 |
| Corvina silvestre (<i>Sciaena umbra</i>) | Pesca | 22 |
| Alacha (<i>Sardinella aurita</i>) | Acuicultura | 24 |
| | Pesca | 71 |
| Boga (<i>Boops boops</i>) | Acuicultura | 56 |
| | Pesca | 18 |
| Jurel (<i>Trachurus spp</i>) | Acuicultura | 44 |
| | Pesca | 51 |
| Salpa (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 21 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 40 |
| Chanquete (<i>Aphia minuta</i>) | Pesca | 40 |
| Anguila (<i>Anguilla anguilla</i>) | Pesca | 60 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | Pesca | 53 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | Acuicultura | 25 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 13 |
| Magre (<i>Lithognathus mormyrus</i>) | Pesca | 10 |
| Piche | Pesca | 7 |
| Grisa (<i>Labrus viridis</i>) | Pesca | 12 |
| Rascacio (<i>Scorpaena porcus</i>) | Pesca | 1 |
| Total | | 1.084 |

C. MUESTREOS ESPECÍFICOS

CARNADA ATUNES

El muestreo se realizó en el mes de diciembre de 2009. En este año sólo una granja ha tenido de forma comercial atunes más una instalación que mantiene atunes con fines científicos. Se han muestreado ambas granjas, con 30 ejemplares en cada una de ellas, obteniéndose un total de 60 ejemplares. Las dos instalaciones se encuentran situadas en el Gorguel (Cartagena).

MUESTREO NUEVAS ESPECIES.

Durante el año 2009 se ha producido gran cantidad de corvina (*Argyrosomus regius*) por parte de varias empresas, por lo que esta especie ha sido muestreada este año



por primera vez (el año 2008 se muestrearon alevines de corvina procedentes de importación, pero no ejemplares engordados en granjas de la Región).

MUESTREO IMPORTACIONES.

Todas las importaciones de alevines procedían de países de la Unión Europea.

FOCOS DE ENFERMEDAD.

Durante este año no se ha detectado ningún brote de enfermedad en poblaciones silvestres y tampoco ha sido necesario intervenir en ningún foco de enfermedad en las empresas de acuicultura, ya que en todos los casos los peces han respondido adecuadamente a los tratamientos terapéuticos ordinarios, según las informaciones aportadas por los responsables sanitarios de las empresas.

LOTES DE ORIGEN DESCONOCIDO

No ha sido detectado ningún lote de peces de origen desconocido, por lo que no ha sido necesario realizar ningún tipo de muestreo.

MUESTREO PARASITOLÓGICO

Dentro de los objetivos del programa, se planteaba la posibilidad de realizar controles parasitológicos siguiendo la idea de valorar la interacción entre peces silvestres y cultivados y obtener la máxima información posible de los ejemplares utilizados en los muestreos de las enfermedades víricas y con vistas a plantear futuros trabajos de interacción granjas-fauna silvestre desde el punto de vista del riesgo derivado de este tipo de agentes, de tanto incidencia en la acuicultura marina.

En años anteriores se valoró la presencia de *Enteromyxus leei*. Este año los estudios se han centrado en los estudios sobre ausencia de anisakis e isópodos, así como la presencia de *Anguillicola crassus* en anguila europea.

Ejemplares de acuicultura estudiados sobre la presencia de anisakis: 143 doradas y 43 lubinas, lo cual suponen un total de 186 peces.

Se han chequeado 109 anguilas para seguimiento de la presencia de *Anguillicola crassus*.

RESULTADOS LABORATORIO.

Diagnóstico molecular frente SHV

Todos los ejemplares estudiados fueron sometidos a PCR simple, dando negativo en todos los casos.

A los ejemplares procedentes de los 3 primeros lotes se les realizó una segunda PCR (*nested*), obteniéndose con este método un total de 30 positivos.

| <i>Especie</i> | <i>Número</i> |
|------------------|---------------|
| <i>Dorada</i> | 11 |
| <i>Chanquete</i> | 4 |
| <i>Salpa</i> | 1 |
| <i>Jurel</i> | 4 |
| <i>Alacha</i> | 1 |
| <i>Anguila</i> | 9 |

En vista de estos resultados se enviaron muestras al Laboratorio de Referencia de Enfermedades de los Peces, que es el Laboratorio de Algete (Madrid) para que se realizase la Técnica de Diagnóstico Oficial al ser esta una Enfermedad de Declaración Obligatoria. No se pudo aislar virus VHS en ninguna de las muestras remitidas.

Diagnóstico molecular frente NPI

Todos los ejemplares estudiados fueron sometidos a PCR simple, dando negativo en todos los casos.

A los ejemplares procedentes de los lotes 4, 5 6 y 7 (un total de 381 peces) se les realizó una segunda PCR (*nested*), obteniéndose con este método un total de 52 positivos. Estos ejemplares se detallan en la tabla siguiente:

| <i>Especie</i> | <i>Número</i> | <i>Origen</i> |
|---------------------------|---------------|--------------------|
| <i>Sargo</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Sargo picudo</i> | 3 | <i>Pesca</i> |
| <i>Dorada</i> | 12 | <i>Pesca</i> |
| <i>Dorada</i> | 19 | <i>Acuicultura</i> |
| <i>Míjol</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Boga</i> | 5 | <i>Pesca</i> |
| <i>Boga</i> | 5 | <i>Acuicultura</i> |
| <i>Corvina (S. umbra)</i> | 3 | <i>Pesca</i> |
| <i>Lubina</i> | 3 | <i>Acuicultura</i> |

Diagnóstico molecular frente Nodavirus

Todos los ejemplares estudiados fueron sometidos a PCR simple, dando negativo en todos los casos excepto en 9 casos. Se describen en la siguiente tabla.

| <i>Especie</i> | <i>Número</i> | <i>Origen</i> |
|---------------------|---------------|--------------------|
| <i>Sargo</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Sargo picudo</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Dorada</i> | 2 | <i>Pesca</i> |
| <i>Dorada</i> | 5 | <i>Acuicultura</i> |

A los ejemplares procedentes de los lotes 4, 5 6, 7, 8, 9 y 10 (un total de 616 peces) se les realizó una segunda PCR (*nested*), obteniéndose con este método un total de 25 positivos. Todos los ejemplares que habían dado positivo por PCR simple también dieron positivos en esta segunda PCR. Los ejemplares que sólo dieron positivos mediante la segunda PCR se detallan en la tabla siguiente:

| <i>Especie</i> | <i>Número</i> | <i>Origen</i> |
|---------------------------|---------------|--------------------|
| <i>Sargo picudo</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Jurel</i> | 4 | <i>Pesca</i> |
| <i>Dorada</i> | 6 | <i>Pesca</i> |
| <i>Alacha</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Alacha</i> | 4 | <i>Acuicultura</i> |
| <i>Míjol</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Boga</i> | 1 | <i>Pesca</i> |
| <i>Corvina (S. umbra)</i> | 2 | <i>Pesca</i> |
| <i>Lubina</i> | 5 | <i>Acuicultura</i> |

Esta enfermedad no está sometida a declaración obligatoria, pero se han enviado las muestras positivas al Laboratorio de Nacional de Referencia de Enfermedades de los Peces para intentar el aislamiento del nodavirus.

Diagnóstico vírico sobre carnada de atún.

Los resultados obtenidos en el laboratorio del CISA sobre las 60 muestras de carnada para atún tras la realización de los homogenizados e inoculación en cultivo celular fue la ausencia de cualquier efecto citopático que indicase la presencia de algún virus, por lo que no fue necesario realizar ningún tipo de aislamiento con fines de identificación virológica.

Búsqueda de anisakis

El estudio se ha realizado sobre peces engordados en instalaciones acuícolas en mar abierto de la Región de Murcia entre los años 2.007 y 2.009. Los ejemplares eran de talla comercial o próxima a ella. La distribución temporal y por especies se detalla en la tabla 1.

Distribución temporal y por especies de peces analizados

| Año | Dorada | Lubina | Total Año |
|---------------|--------|--------|-----------|
| 2007 | 152 | 57 | 209 |
| 2008 | 251 | 105 | 356 |
| 2009 | 143 | 43 | 186 |
| Total Especie | 546 | 205 | |
| Total Estudio | | | 751 |

Todos los ejemplares fueron necropsiados por personal del Servicio de Pesca y Acuicultura en las instalaciones del Centro de Recursos Marinos de San Pedro del Pinatar anotándose las características morfométricas habituales. Posteriormente fueron sometidos a un examen visual completo, tanto de la cavidad abdominal como de los órganos del aparato digestivo, para detectar la presencia de larvas libres de anisakis y posteriormente fueron sometidos a una digestión artificial de músculo para detectar la presencia de larvas en dicho tejido siguiendo la sistemática descrita por Osanz (2001).

Estudio sobre isópodos

Se procedió a la recolección de ejemplares de boga, alacha y jurel tanto del exterior de las jaulas de acuicultura como del interior de las mismas, ya que es muy frecuente que las especies merodeadoras, en distintas fases de la cría, pero especialmente en las operaciones de cambio de red, queden atrapados en el interior. También se chequearon ejemplares de dorada y lubina procedentes de las mismas instalaciones, situadas en el Polígono Acuícola de San Pedro de Pinatar en la zona norte del litoral de Murcia. Los peces fueron sometidos a un meticuloso examen de la cavidad bucal para la búsqueda de las formas adultas del parásito. El número de ejemplares por especie se refleja en la tabla siguiente:

| | Exterior Jaulas | Interior Jaulas | Total |
|--------|-----------------|-----------------|-------|
| Boga | 71 | 142 | 213 |
| Jurel | 33 | 5 | 38 |
| Alacha | 29 | 17 | 46 |
| Dorada | -- | 152 | 152 |
| Lubina | -- | 57 | 57 |

Anguillicola

Se muestrearon 109 anguilas (peso medio: 23,79 g) del Mar Menor (salinidad 42-47 g/l). Las formas parasitarias adultas halladas en el lumen de la vejiga natatoria se

conservaron en etanol al 70% hasta su identificación. Las vejigas natatorias se digirieron (45 min, 38 °C), en una solución de pepsina al 1,5% (actividad proteolítica 1:10.000) y ácido clorhídrico al 1,5% en agua destilada. El material digerido se lavó mediante centrifugación (500g, 5 min) y se contaron las distintas fases parasitarias en una cámara de Favatti. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el test estadístico de Mann-Whitney.

DISCUSIÓN.

1. Muestreo

a. Controles rutinarios:

El número global de ejemplares muestreados fue de 900. En lo referente a los animales de acuicultura, se ha muestreado un menor número de doradas y se han muestreado por primera vez corvinas. De esta última especie ha habido alta producción este año, si bien problemas organizativos y el intentar no variar los planes de trabajo de las empresas ha ocasionado el no poder obtener el número previsto de ejemplares para su análisis. Respecto a las especies silvestres, se han incorporado diversas especies que si bien en algunos casos el número de ejemplares no es estadísticamente significativo, pero que aportan en conjunto una información epidemiológica de gran valor.

Los ejemplares silvestres de las especies de acuicultura han tenido que ser obtenidos en su totalidad de la lonja de Lo Pagán, ya que las técnicas y artes de pesca son más propicios en esta lonja, no obteniéndose de forma habitual en las otras. Para la obtención de otras especies silvestres se ha utilizado la Lonjas de Águilas.

b. Control sobre carnada atún:

El número de muestras ha sido netamente inferior al inicialmente previsto: 60 frente a 300. Se había previsto realizar dos controles de 30 ejemplares sobre 5 granjas y finalmente se ha realizado un control sobre 2 granjas. Este número menos de muestras se debe a que sólo una instalación comercial ha tenido atún este año, siendo la otra instalación una partícipe en un proyecto de investigación sobre esta especie

2. Vigilancia epidemiológica en peces

Los ejemplares de acuicultura (tabla 2) pudieron muestrearse de todas las especies, incluyéndose en este apartado las especies silvestres que de forma involuntaria por parte de las empresas han sido alimentados y criados en el interior de las jaulas. Respecto a los ejemplares silvestres de las especies cultivables (tabla 3), todos los ejemplares se obtuvieron en la Lonja de Lo Pagán, ya que los artes de pesca empleados en esta zona marítima facilitan la captura de las especies buscadas. Respecto a las especies merodeadoras de las instalaciones de acuicultura, en la tabla 4 se observa que para las especies de mayor frecuencia se han tomado 74 muestras, 87 muestras en los de

alta frecuencia y 53 para los descritos. En las tablas 5, 6 y 7 se han agrupado las especies según su capacidad de ser monitores frente a cada una de las enfermedades objetivo (Barja, 2005). No podemos contrastar nuestros resultados con trabajos similares, ya que en la literatura científica consultada no hemos encontrado estudios epidemiológicos similares en los que se valorase la presencia de estos virus en el litoral mediterráneo español, excepto proyectos piloto como el realizado por nuestro grupo en el año 2006 (Peñalver *et al.* 2007a), así como los resultados obtenidos en el 2007, en el primer año del proyecto, tanto por nuestro grupo como los obtenidos por los restantes grupos participantes en el proyecto.

No se han detectado ejemplares con lesiones compatibles con **linfocitosis**, a excepción de un ejemplar de dorada. La causa principal que justifica este resultado es que no se analizaron ejemplares juveniles, siendo los brotes clínicos en alevines que posteriormente se recuperan, a menos que sufran contaminaciones secundarias, normalmente bacterianas (Bovo, 2004).

No se ha realizado ningún control sobre la **necrosis eritrocitaria viral**, ya que prácticamente todos los ejemplares estudiados estaban muertos en el momento de la toma de muestras, siendo necesario que la sangre esté en perfecto estado para su tinción y análisis microscópico. Únicamente se han analizado de forma experimental algunos ejemplares de anguila, obteniendo resultados negativos a lesiones compatibles con la presencia de este virus.

La **septicemia vírica hemorrágica (VHS)** es una enfermedad de gran importancia en la acuicultura continental en Europa, aunque también se han producido episodios de mortandad en acuicultura marina, como es el caso del rodaballo en el Norte de nuestro continente (Ross *et al.*, 1994). Cada vez con mayor frecuencia se describe la presencia de este virus en poblaciones silvestres de gran cantidad de especies marinas de aguas frías (Munro, 1996; Dixon *et al.*, 1997; Mortensen, 1999; Smail, 2000; King *et al.* 2001; Dopazo, 2002).

Todos los ejemplares estudiados fueron sometidos a PCR simple, dando negativo en todos los casos. A los ejemplares procedentes de los 6 primeros lotes se les realizó una segunda PCR (*nested*), obteniéndose con este método un total de 102 positivos. En vista de estos resultados se enviaron muestras al Laboratorio de Referencia de Enfermedades de los Peces, que es el Laboratorio de Algete (Madrid) para que se realizase la Técnica de Diagnóstico Oficial al ser esta una Enfermedad de Declaración Obligatoria. No se pudo aislar virus VHS en ninguna de las muestras remitidas.

Las especies cultivadas en el litoral del levante español (dorada, lubina, corvina y atún rojo) no son especies sensibles a este virus según la OIE. Sin embargo, el Reglamento 1251/2008, por el que se aplica la Directiva 2006/88/CE en lo referente a las condiciones y los requisitos de certificación para la comercialización y la importación en la Comunidad de animales de la acuicultura y productos derivados y se establece una lista de enfermedades portadoras, establece una lista de especies que pueden actuar como portadoras a las enfermedades listadas como es el caso de la

septicemia hemorrágica. En esa lista aparecen muchas de las especies analizadas, por lo que es de gran importancia chequearlas y en nuestro caso el determinar los resultados negativos obtenidos:

| Especie | Número |
|--|------------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | 251 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 81 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | 32 |
| Mújol (<i>Mujil spp</i>) | 36 |
| Atún (<i>Thunnus thynnus</i>) | 25 |
| Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) | 50 |
| Total | 475 |

Por tanto, el estudio de los posibles portadores silvestres del virus tiene una importancia epidemiológica elevada, la cual ha sido analizada en el presente trabajo, con resultados negativos. Estos datos coinciden con la única referencia previa en la que se chequearon peces de características similares (Peñalver *et al.* 2007a).

El virus de la **necrosis pancreática infecciosa** es un virus que afecta a explotaciones continentales de acuicultura de salmónidos, pero también ha producido pérdidas en algunas granjas de peces marinos como el rodaballo, y además se han descrito infecciones subclínicas en multitud de especies marinas como anguilas, atherinidae, peludas, jureles, cupleiformes y en corvina. En España ha sido aislado el virus especies marinas cultivadas como la dorada, el rodaballo y el lenguado (Barja, 2005). Por ello, el virus tiene un amplio rango de hospedadores y de especies sensibles, de peces, pero además pueden actuar como reservorios determinados moluscos (Mortensen, 1990) e incluso rotíferos (Coms, 1991).

En nuestro trabajo, mediante PCR simple no hemos hallado ningún ejemplar positivo, si bien al utilizar la PCR *nested* hemos encontrado 52 ejemplares positivos, de un total de 381 peces, tanto procedentes de acuicultura como de pesca extractiva.

La **encefalopatía retinopatía viral** (VER) o necrosis nerviosa viral afecta a gran número de especies de peces, siendo las más importantes la lubina, el mero, dorada, besugo, dentón, fletán, rodaballo, seriola, bacalao, bonito y salmón (Pérez y Rodríguez, 2006). En los laboratorios de ictiopatología del área mediterránea ha sido descrito principalmente en lubina, pero también en numerosas especies como corvina silvestre, mujol y mero (Barja, 2005). También se han descrito casos en el Mediterráneo en sargo picudo y en lenguado (Bovo, 2004), así como en dorada de acuicultura y en jurel (Peñalver *et al.* 2008).

Este año se han hallado los siguientes positivos a nodavirus mediante una PCR simple:

| | | |
|-----------------------|------------------|--|
| Positivos a NODAVIRUS | Acuicultura | Pool de cinco muestras de doradas procedentes de una granja de acuicultura |
| | Pesca extractiva | 1 sargo común 1 sargo picudo 2 doradas |

Así mismo, el mediante PCR *nested* han salido positivos, además de los 9 ejemplares anteriores, otros 25 peces. Esta enfermedad no está sometida a declaración obligatoria, pero se han enviado las muestras positivas al Laboratorio de Nacional de Referencia de Enfermedades de los Peces para intentar el aislamiento del nodavirus.

Los datos obtenidos confirman la preocupación del sector por esta enfermedad, que también ha sido diagnosticada por otros laboratorios, si bien, al menos en granjas de la Región de Murcia, no ha ocasionado ningún brote de enfermedad. Con los datos que manejamos, es muy probable la aparición los años próximos de mortalidades debidas directamente a este virus, por lo que es importante instaurar medidas de prevención tanto activas como pasivas para evitar la aparición de estos focos.

Vigilancia epidemiológica en carnada de atunes

La alimentación de los atunes en las granjas de engorde del litoral levantino se realiza básicamente mediante carnada que procede de caladeros pesqueros distintos a los de la zona donde están situados las granjas. La importación de este tipo de pescado se realiza en condiciones de congelación, las cuales a priori, no inactivan a los virus de importancia en patología. Resulta, por ello, de gran importancia valorar el posible papel de esta carnada como vehículo para la introducción de enfermedades exóticas en las instalaciones de acuicultura y en la fauna ictícola local, ya que diversos estudios y autores demuestran que ya ha ocurrido en otras zonas del planeta (Jones *et al.*, 1997; Ward *et al.*; 2001).

En los resultados que hemos obtenido, en los que la realización de los homogenizados e inoculación en cultivo celular no evidenció efecto citopático en ninguna de las 60 muestras, indican ausencia de cualquier virus viable, y por tanto la imposibilidad de transmisión de este tipo de patógenos. Estos resultados están en consonancia con los obtenidos en experiencias previas (Peñalver *et al.*, 2007b). Estos resultados tienen una gran importancia, ya que la ausencia de virus vivos, elimina el riesgo de introducción de enfermedades, al menos en los lotes de los que proceden los ejemplares chequeados, ya que se han utilizado lotes estadísticamente significativos de 30 ejemplares (prevalencia del 10 % con un intervalo de confianza del 95 %). La causa de la ausencia de virus viables no podemos distinguir si se debe a una ausencia en origen de infecciones víricas en los peces o por el contrario, si los procesos de congelación industrial a los que se someten este tipo de producto eliminan los virus presentes en los peces. En cualquier caso, el número pequeño de muestras tomadas este

año limita el valor epidemiológico de los resultados comentados. Este hecho se debe al declive que ha sufrido durante los años del proyecto el número de granjas de engorde de esta especie, pues se ha pasado de 5 granjas en el 2007 a sólo una en el 2009 (más otra de investigación).

Anisakis

La presencia de larvas de anisakis en el pescado de consumo humano supone un riesgo para la salud pública. Con el fin de disminuir la incidencia de esta zoonosis, las autoridades sanitarias a nivel europeo promulgaron diversa normativa la cual ha tenido su reflejo a nivel nacional en el Real Decreto 1420/2006. La aplicación de esta normativa ha provocado reacciones contrarias en diversos sectores y ha suscitado una polémica sobre la ausencia o no de este parásito en los ejemplares procedentes de la acuicultura. No hay estudios sobre la presencia de anisakis en ejemplares procedentes de acuicultura marina mediterránea, justificándose por el sector su ausencia en estudios realizados básicamente en el Norte de Europa (Lunestad, 2003). Resulta de gran interés

verificar la ausencia de larvas de este parásito en los productos de la acuicultura, lo cual puede aportar un valor añadido a estas producciones.

No se encontró ninguna larva de anisakis en los ejemplares examinados, ni mediante la inspección visual ni en la prueba de la digestión de tejido muscular. Nuestros resultados coinciden con los de Lunestad (2003) en salmones, quien muestreo 1180 peces, realizando también inspección visual y digestión artificial de músculo. Excepcionalmente, Marty (2008) encontró una larva de anisakis en intestino de salmón cultivado en Canadá.

Existen muchos estudios sobre prevalencia de larvas de anisakis en peces procedentes de pesca extractiva. En estos estudios se analizan multitud de especies, estableciéndose en algunos trabajos recopilatorios las especies más frecuentemente infestadas (Ferre, 2001), no apareciendo la dorada ni la lubina entre ellos.

La ausencia de anisakis en pescados de acuicultura de nuestro litoral puede deberse a diversos factores: El más importante parece ser la alimentación. Lo cierto es que la alimentación artificial mediante pienso limita enormemente que los peces criados en jaulas en mar abierto entren en contacto con la fuente de infestación que serían pequeños crustáceos o incluso peces de menor tamaño como ocurre en los peces silvestres. Las especies cultivadas tradicionalmente en nuestras costas son la dorada y la lubina, las cuales no se citan como especies normalmente infectadas (Ferre, 2001). Aunque se trata de una parasitosis cosmopolita, tal y como cita el anterior autor, la temperatura del agua parece ser de gran importancia, siendo más frecuente en aguas frías y polares, lo cual implica que las aguas del Mediterráneo, bastante cálidas, sean menos favorables para el ciclo de vida de estos nematodos. Los datos de distintos estudios, como el de Fernández-Buendía (2005), corroboran que el grado de infestación en los peces del Atlántico es mucho mayor que el de los peces procedentes del Mediterráneo. La prevalencia más baja en el Mediterráneo también puede estar influida por un menor número de hospedadores definitivos.

Isópodos

La cría intensiva de peces conlleva sistemas de cultivo con elevadas concentraciones de ejemplares, lo cual facilita la aparición y difusión de enfermedades. La presencia de crustáceos parásitos en los peces silvestres es un hallazgo relativamente frecuente. Dentro de este tipo de parásitos, *Ceratothoa oestroides* (Riso, 1826) es un isópodo que se desarrolla en el interior de la cavidad bucal, lo cual provoca trastornos mecánicos e irritativos en el hospedador, pero además puede producir anemia, inmunosupresión y en determinados casos la muerte del pez. Este parásito supone un potencial riesgo para la acuicultura mediterránea, pudiendo producir graves perjuicios económicos en las instalaciones afectadas. Esta patología no ha sido descrita en instalaciones de acuicultura de nuestro litoral, pero sí lo ha sido con consecuencias graves en cultivos de dorada y lubina en Grecia, Turquía y en el Mar Adriático.

C. oestroides tiene una amplia variedad de hospedadores, entre los que destaca la boga (*B. boops*), diversas especies de Centranchidae y otros Sparidae, en menor medida sardina (*C. pilchardus*), jurel (*Trachurus sp.*), salmonete (*Mullus sp.*) y brótola (*Phycis sp.*) (Kirkim *et al.* 2008). Dorada (*S. aurata*) y lubina (*D. labrax*) no parecen ser hospedadores naturales. Las instalaciones de acuicultura marinas ejercen un efecto de atracción de abundantes peces silvestres. Esta atracción se debe al efecto combinado de la presencia de alimento artificial, atracción química procedente de los peces estabulados y al efecto que ejercen las jaulas como FADs (*Fish Attraction Devices*). Estudios sobre granjas del sureste peninsular (Dempster *et al.*, 2002) sitúan como las especies más frecuentes: boga, alacha (*S. aurata*), jurel, mújol (Mugilidae), palometa (*T. ovatus*) y oblada (*O. melanura*). Resulta por ello de gran interés comprobar el nivel de prevalencia de este parásito en estas especies merodeadoras.

De las tres especies silvestres analizadas, sólo se encontró el parásito (parejas de macho y hembra) en boga. En el caso de las bogas obtenidas en el exterior de las jaulas, la prevalencia fue de un 9,8% (7 de 71) frente a una prevalencia del 3,5% en los ejemplares procedentes del interior de las jaulas (5 de 142). Matasin y Vucinic (2008) encuentran en el Adriático una prevalencia en boga no asociada a jaulas del 12,8 %, lo cual está en concordancia con nuestros resultados. En la bibliografía consultada se considera a esta especie como la que presenta una prevalencia netamente superior que el resto de especies. Para el total de los ejemplares de esta especie, la prevalencia fue de un 5,6 %. Los ejemplares de jurel y alacha no estaban infestados, hecho sí descrito por otros autores tanto en jurel como en sardina (Kirkim *et al.* 2008).

Los ejemplares de acuicultura, tanto dorada como lubina, no presentaban en ningún caso el parásito. Hasta la fecha no ha sido descrita esta patología en nuestras costas, pero sí han acaecido episodios graves en piscifactorías marinas de Grecia (Sarusic, 1999), Turquía (Horton y Akamura, 2001) y en el Adriático (Mladineo, 2003). Las instalaciones de acuicultura de nuestro litoral están normalmente situadas lejos de paredes y fondos rocosos, sobre una columna de agua elevada y con gran renovación de agua, todo lo cual dificulta la infestación de los ejemplares de acuicultura, que pasan toda su fase de engorde en esas condiciones. Además los adultos de *C. oestroides* no

pueden migrar de un hospedador a otro. En cualquier caso, es necesario realizar un seguimiento sobre la epidemiología de este parásito.

Anguillicola

La infección por el nematodo *Anguillicola crassus* es considerada uno de los factores que han contribuido al descenso de las poblaciones naturales de anguilas europeas. Varios estudios han demostrado que *A. crassus* está bastante extendido en España (Korta y Díaz, 2008). No obstante, existen todavía algunos ríos españoles que no han sido colonizados por este nematodo y otros ecosistemas, tales como el Mar Menor, en los que se desconoce su prevalencia. Los ecosistemas marinos fueron inicialmente considerados una barrera natural para la diseminación de *A. crassus* (Van Banning y Haenen, 1990), pero estudios posteriores demostraron la existencia de anguilas infectadas por este nematodo en mar abierto y en aguas costeras salobres (Koie 1991, Höglund *et al.* 1992).

Este es el primer estudio que demuestra que *A. crassus* puede completar su ciclo biológico en ecosistemas con salinidades por encima de 35 g/l. Kirk *et al.* (2002) demostraron que un 15-21% de los ejemplares de *A. crassus* adultos utilizados en una infección experimental con anguilas marinas no fueron capaces de soportar el estrés osmótico. No obstante, de acuerdo con Kirk (2003), las únicas limitaciones para la diseminación de *A. crassus* son temperaturas menores a 4 °C y la falta de un hospedador intermediario adecuado. En aguas continentales se han descrito varios hospedadores intermediarios. *Eurytymora affinis*, el copépodo considerado hospedador intermediario de *A. crassus* en aguas marinas, no ha sido descrito entre el zooplancton del Mar Menor (Gilbert, 2001). Por tanto, la elevada salinidad de las aguas del Mar Menor, además de la falta de un hospedador intermediario adecuado, podrían explicar la baja prevalencia de *A. crassus* en las anguilas procedentes de esta laguna salada.

Tabla 1. *Anguillicola crassus*. Prevalencia, intensidad de parasitación y abundancia en anguilas europeas procedentes del Mar Menor.

| | | Mar Menor (N =109) |
|----------------------------|----------------------------|---------------------|
| Adultos | Prevalencia total (%) | 3,67 |
| | Prevalencia de hembras (%) | 41,66 |
| | Prevalencia de machos (%) | 16,66 |
| | Sexo sin determinar (%) | 41,66 |
| | Intensidad | 3 (1-9) |
| | Abundancia (DS) | 0,11 (5,3) |
| Larvas L2 ^a | Prevalencia (%) | 4,59 |
| | Intensidad | 8.666 (1- 42.960) |
| | Abundancia (DS) | 397,52 (22.232,92) |
| Larvas L3 | Prevalencia (%) | 0,92 |
| | Intensidad | 1 (1) |
| | Abundancia (DS) | 0,01 (0) |
| Larvas L4 | Prevalencia (%) | 0 |
| | Intensidad | 0 |
| | Abundancia (DS) | 0 |
| L3+L4+Adultos ^b | Prevalencia (%) | 4,59 |
| | Intensidad | 2,6 (1-9) |
| | Abundancia (DS) | 0,12 (5,3) |
| Carga total parasitaria | Prevalencia (%) | 7,34 |
| | Intensidad | 5.417,87 (1-42.969) |
| | Abundancia (DS) | 397,64 (19.007) |

^a Huevos conteniendo larva L2 o larva L2 eclosionada, ^b para facilitar la comparación con la bibliografía se ha calculado la carga total parasitaria sin incluir los estadios de larva L2. DS = Desviación estándar.

BIBLIOGRAFÍA

BARJA, J.L. (2005) Mediterranean Aquaculture Diagnostic Laboratories. Options méditerranéennes. FAO-CIHEAM . Serie B: *Etudes et Recherches*, 49.

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.

CASTRIC J.; KINKELIN P. (1984). Experimental study of the susceptibility of two marine fish species, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) to viral haemorrhagic septicaemia. *Aqua* 41: 203-212.

CASTRIC J.; THIERY R.; JEFFROY J.; RAYMOND JC. (2001). Sea bream *Sparus aurata*, an asymptomatic contagious fish host for nodavirus. *Diseases of Aquatic Organisms*, 47: 33-38.

COMISION EUROPEA (2002). Estrategia para el desarrollo sostenible de la acuicultura europea. COM (2002) 511 final, Bruselas.

COMPS M.; MENU B.; BRENIL J.; BONAMI JR. (1991). Viral infection associated with rotifer mortalities in mass culture. *Aquaculture* 93: 1-7.

CUTRÍN, J.M.; LOPEZ-VAZQUEZ C.; OLVEIRA, J.G.; CASTRO, S.; DOPAZO CP.; BANDIN I. (2005). Isolation in cell culture and detection by PCR based technology of IPN-like virus from leucocytes of carrier turbot *Scophthalmus maximus* (L). *Journal of Fish Diseases* 28: 713-722.

CUTRÍN J. M.; DOPAZO C. P.; THIERY R.; LEAO, P.; OLVEIRA J. G.; BARJA J. L.; BANDÍN I. (2007). Emergence of pathogenic betanodaviruses belonging to the SJNNV genogroup in farmed fish species from the Iberian Peninsula. *Journal of Fish Diseases*, 30 (4): 225-232.

CUTRÍN J. M.; THIERY R.; OLVEIRA J. G.; BARJA J. L.; DOPAZO C. P.; BANDÍN I. (2008). Phylogenetic análisis of fish nodaviruses from the Iberian Peninsula. *Applied Environmental Microbiology* (En prensa)



DEMPSTER , T.; P. SANCHEZ; J. BAYLE; F. GIMENEZ. (2001) Efecto de agregación de las jaulas de cultivos marinos sobre la comunidad íctica en el SE Ibérico. Informe de la Universidad de Alicante.

DIXON PF.; FEIST S.; KEHOE E.; PARRY L.; STONE DM.; WAY K. (1997). Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus from Atlantic herring *Clupea harengus* from the English Channel. *Dis. Aquat. Org.* 30: 81-89.

DOPAÑO CP.; BANDIN I.; LOPEZ-VAZQUEZ C.; LAMAS J.; NOYA M.; BARJA JL. (2002). Isolation of viral hemorrhagic septicemia virus from Greenland halibut *Reinhardtius hippoglossoides* caught at the Flemish Cap. *Dis. Aquat. Org.* 50: 171-179.

EIRAS y col. (2003) Métodos de Estudio y Técnicas Laboratoriales en Parasitología de Peces. Ed. Acribia.

FAO-CIHEAM (2005) Mediterranean Aquaculture Diagnostic Laboratories. Options méditerranéennes. Serie B: *Etudes et Recherches*, 49.

GILBELLO y col. (2001). Utilización de la PCR para el diagnóstico en ictiopatología. *Revista AcuaTIC*, nº 15.

HEPPELL, J., BERTHIAUME, L., TARRAB, E., LECOMTE, J. AND ARELLA, M., (1992). Evidence of genomic variations between infectious pancreatic necrosis virus strains determined by restriction fragments profiles. *Journal of General Virology*, 73: 2863.

JONES, J.B.; HYATT, A.D.; HINE, P.M.; WHITTINGTON, R.J.; GRIFFIN, D.A.; BAX, D.N. (1997). Special topic review: Australasian pilchard mortalities. *World J. Microbiol. Biotech.* 13: 383-392.

KING JA.; SNOW M.; SMAIL DA.; RAYNARD RS. (2001). Distribution of viral haemorrhagic septicaemia virus in wild fish species of the North Sea, North East Atlantic Ocean and Irish Sea. *Dis. Aquat. Org.* 47: 81-86.

KORSNES K. (2007). Review of disease interactions and pathogen exchange between farmed and wild finfish and shellfish in Europe. www.dipnet.info.

LARSEN, R.; P.R. TORUNN; R. BØRRE. (2004). Inhibition of infectious pancreatic necrosis virus replication by Atlantic salmon Mx1 protein. *Journal of Virology* 2004. Vol. 78. No. 15. p. 7938-7944.

LEY 8/2003, de 24 de abril, de Sanidad Animal. *BOE nº 99 (25-04-2003)*

LÓPEZ-VAZQUEZ, C; DOPAÑO, C.P.; OLVEIRA, J. G.; BARJA, J.L.; BANDIN, I.; (2006). Development of a rapid, sensitive and non-lethal diagnostic assay for the detection of viral haemorrhagic septicaemia virus. *Journal of Virological Methods* 133: 167-174.



MORTENSEN SH.; HJELTNESS B. ; RODSETH O. ; KROGSRUD J. ; CHRISTIE KE. (1990). Infectious pancreatic necrosis virus, serotipo N1, isolated from Norwegian halibut (*Hippoglossus hippoglossus*), turbot (*Scophthalmus maximus*) and scallops (*Pecten maximus*). *Bull. Eur. Ass. Fish Pathol.*, 10 : 42-43.

MORTENSEN HF (1999). Isolation of viral haemorrhagic septicaemia virus (VHSV) from wild marine fish species in the Baltic Sea, Kattegat, Skagerrak and the North Sea. *Virus Res.* 63 : 95-106.

MUNRO ALS (1996). First recorded outbreak of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) in GB and subsequent actions to contain, eradicate and investigate the origins of the infection. Scottish Office Agriculture, Environment and Fisheries Department, Aberdeen. *Scottish Aquaculture Research Report n° 3*.

NISHIZAWA, T., MORIKI, I., FURUHASHI, M., NAKAI, T., FURUSAWA, I., & MUROGA, K. (1995). Comparison of the coat protein genes of five fish nodaviruses, the causative agents of viral nervous necrosis in marine fish. *Journal of General Virology*, 76:1563-1569.

OIE (2004). Septicemia Viral Hemorrágica en Turquía. *Informaciones Sanitarias*, vol.17 35 y 36.

OIE (2005). Código Sanitario para los Animales Acuáticos.

OSSIANDER y WEDERMAYER (1973). Computer program for sample size required to determine disease incidence in fish populations. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 30: 1383-1384.

PEÑALVER, J.; E. MARÍA-DOLORES, C. TAFALLA, R. DÍAZ, L. BERMÚDEZ, O. GÓMEZ.(2007). Resultados preliminares del programa piloto de vigilancia epidemiológica frente a enfermedades víricas en la Región de Murcia *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura (1025-1028)*.

PEÑALVER, J.; E. MARÍA-DOLORES, C. TAFALLA, R. DÍAZ, L. BERMÚDEZ, O. GÓMEZ.(2007). Valoración del riesgo de transmisión de enfermedades víricas a través de carnada usada en la alimentación del atún rojo (*Thunnus thynnus*). *Actas del XI Congreso Nacional de Acuicultura (1097-1100)*.

PEÑALVER, J.; E. MARÍA-DOLORES, C. TAFALLA, E. VIUDA, O. BLANCO, R. DÍAZ, O. GÓMEZ, L. BERMÚDEZ. (2008). Experiencia en desarrollo de plan piloto de vigilancia epidemiológica frente a enfermedades víricas en acuicultura marina. *IV Jornadas de Acuicultura del Litoral Suratlántico*.

PÉREZ I.; RODRÍGUEZ S. (2006). Enfermedades virales en peces objeto de cultivo. En *Inmunología e Inmunopatología en Piscicultura*. Actas de la Universidad Internacional del Mar de Murcia.



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).

ROSS K.; Mc CARTHY U.; HUNTLY PJ.; WOOD BP; STUARD D; ROUGH EI.; SMAIL DA.; BRUNO DW. (1994). An outbreak of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) IN TURBOT (*Scophthalmus maximus*) in Scotland. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* 14: 213-214.

SECRETARÍA GENERAL DE PESCA MARÍTIMA (2001) "Libro blanco de la acuicultura en España". Centro de Publicaciones del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Tomos I y II: 521 p.

SMAIL DA. (2000). Isolation and identification of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from cod *Gadus morhua* with the ulcer syndrome and from haddock *Melanogrammus aeglefinus* having skin haemorrhages in the North Sea. *Dis. Aquat. Org.* 41: 231-235.

WARD, T.M.; HOEDT, F.; McLEAY, L.; DIMMLICH, W.F.; KINLOCH, M.; JACKSON, G.; McGARLEY, R.; ROGERS, P.J.; JONES, H. (2001). Effects of the 1995 and 1998 mass mortality events on the spawning biomass of sardine, *Sardinops sagax*, in South Australian waters. *ICES Journal of Marine Science* 58: 865-875.

WWF (2005). Risk on local fish populations and ecosystems posed by the use of imported farmed fish by the tuna farming industry in the Mediterranean. WWF Mediterranean Programme, april 2005.

Plan de investigación JACUMAR GESTIÓN SANITARIA - Subproyecto Murcia
2007-2010

INFORME FINAL DEL GRUPO DE TRABAJO DE GALICIA

Antecedentes: Galicia libre de SHV y NHI.
Histórico de muestreos patológicos.

Plan Jacumar: Evaluación de ANEP.
Red de Vigilancia Epidemiológica.

Grupo de trabajo: Ciencias del Mar – Biología – Veterinaria.

Muestreos: Piscifactorías. Merodeadores. Pesca extractiva.

Técnicas analíticas: Cultivo celular.
Técnicas moleculares: PCR.
Cultivo bacteriano.
Anatomía patológica. Parásitos.

Resultados y discusión: Resultados analíticos de virus.
Genotipo de SHV no patógeno.
Medidas de vigilancia.
Especies de peces.
Difusión de resultados.
Ensayos interlaboratorios.

Conclusión del trabajo.

Galicia, Navidad de 2010.

Anexo I: Informe de muestreos patológicos de Galicia.

Anexo II: Tablas de resultados analíticos de Galicia.

INFORME FINAL GRUPO DE TRABAJO DE GALICIA

Antecedentes

Galicia comenzó los trámites para declararse libre de Septicemia hemorrágica vírica (SHV) y Necrosis hematopoyética infecciosa (NHI) en diciembre de 1996. A tales efectos se cursó ante la UE la oportuna solicitud y se logró el reconocimiento del estatuto de zona autorizada frente a estas patologías para nuestras cuencas fluviales y zona litoral.

Esta situación varió en 2009, con la desaparición del concepto de zona litoral, pasando a mantener todas las piscifactorías de Galicia, de forma individual, el estatuto sanitario de compartimento marítimo libre de estas patologías.

Desde entonces, y durante estos años, se acumula en Galicia un importante registro histórico de muestreos de agentes patológicos de peces.

Primero con el fin de lograr la calificación sanitaria y luego para mantenerla, el Servicio de Sanidad Animal de la Consellería de Medio Rural de la Xunta de Galicia, como autoridad competente en el tema, viene haciendo anualmente los muestreos epidemiológicos que establece la normativa, siendo las muestras enviadas al Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia (LASAPAGA). Se toman muestras anualmente por rotación en el 50% de las piscifactorías de especies sensibles de Galicia, incluidas marítimas y continentales, para descartar, por el procedimiento oficial, la presencia de virus causantes de SHV y NHI.

Paralelamente el Instituto Tecnológico para el Control del Medio Marino de Galicia (INTECMAR), de la Consellería do Mar, también de la Xunta de Galicia, dadas sus funciones de investigación para el conocimiento y control de las patologías de los organismos marinos sometidos a explotación comercial. A través de un convenio para analizar las muestras en los laboratorios de la Unidad de Ictiopatología del Instituto de Acuicultura (UIP-IA), de la Universidad de Santiago de Compostela, realiza anualmente, desde enero de 1998, dos muestreos patológicos de todas las piscifactorías marinas de Galicia. Tanto para determinar la presencia de los mencionados virus, como de otros virus, los causantes de Necrosis pancreática infecciosa (IPN) y Anemia infecciosa del salmón (ISA), así como de bacterias patógenas de peces en acuicultura marina.

Desde hace más de una década, el mismo laboratorio de la UIP-IA de la Universidad de Santiago de Compostela también viene realizando para el Departamento de Medio Ambiente de la Xunta de Galicia, analíticas patológicas en todas las piscifactorías continentales de la comunidad autónoma, aunque en los últimos años su estudio se centra exclusivamente en las plantas de repoblación de las que es titular la propia Xunta. Sin embargo, no fue posible la incorporación de los resultados de ese trabajo con el argumento de que de esa parte del estudio se encarga JACUCON (Junta Asesora de Cultivos Continentales); Esto a pesar de tratarse, en algunos casos, de especies de peces migratorias, que comparten no solo algunas de las patologías víricas, sino también, el mismo medio acuático y ser Galicia la productora de más del 30% de la trucha de cultivo a nivel nacional.

Plan JACUMAR

A finales de 2006, la excelente evaluación que hizo la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP) del Plan Jacumar de Gestión Sanitaria presentado por las CCAA

de Murcia y Cataluña, impulsó su aprobación dentro de la línea estratégica que para JACUMAR era la sanidad animal en acuicultura.

Destacaba la ANEP, que se trata de un momento muy oportuno, pues se acaba de publicar la nueva directiva relativa a los requisitos zoonosológicos de los animales y de los productos de la acuicultura, y a la prevención y control de determinadas enfermedades de los animales acuáticos. Y también comienza el proceso de su transposición al ordenamiento nacional, motivo por el que se incorporó al Plan la Subdirección General de Sanidad Animal del Ministerio, aunque ya se contaba con la presencia en el mismo del Laboratorio Nacional de Referencia de Algete para patologías de peces .

Galicia, dado el peso específico de su sector y su importancia económica y sociológica, se sumó al Plan por lo oportuno que suponía para organizar el ejercicio de la competencia en la sanidad animal del sector en su territorio, al ser uno de sus objetivos estudiar estrategias para el diseño de una red de vigilancia epidemiológica.

Como ya hemos comentado, muchas analíticas ya se estaban haciendo y la logística de los muestreos de piscifactorías con los laboratorios ya estaba en marcha desde hacía unos años, por lo que con un poco de presupuesto más de JACUMAR, pudimos aumentar las patologías analizadas en los peces, emplear más técnicas diagnósticas, analizar peces salvajes y, en suma, coordinar todos los trabajos para llegar a elaborar un mapa epidemiológico de las piscifactorías marinas gallegas, a partir del programa de muestreo patológico de peces más amplio que hasta ahora se ha planteado la administración en Galicia.

Grupo de trabajo

La primera labor a realizar fue la de constituir un grupo de trabajo interdisciplinario con licenciados en Ciencias del Mar, en Veterinaria y en Biología, y no sólo de investigadores, sino también de funcionarios –no investigadores–, de los distintos departamentos de la administración autonómica relacionados con el tema.

Para poder muestrear dos veces al año peces de todas las piscifactorías marinas, así como especímenes de pesca extractiva de toda Galicia, se integraron en el grupo de trabajo, veterinarios de las tres provincias con costa, pertenecientes a los Servicios Veterinarios Oficiales de Pesca, que dependen de la Consellería del Mar desde que se establecieron sus funciones en el Decreto 200 de 1991 de la Xunta de Galicia.

Por su experiencia en anteriores planes JACUMAR y para poder incorporar la actividad que ya estaba en marcha y pagada, también se incorporó personal investigador de INTECMAR, con formación en Ciencias del Mar y del Centro de Investigaciones Marinas (CIMA) en Biología.

También se consideró imprescindible la incorporación de funcionarios de la Autoridad Competente en Sanidad Animal de Galicia; no sólo para disponer de su colaboración en el desarrollo del proyecto, sino para que estuvieran en todo momento informados de los resultados analíticos obtenidos, por tratarse, en muchos casos, de enfermedades de comunicación obligatoria y dada la sensibilidad existente en el tema en cuanto a la difusión de trabajos de investigación.

Como laboratorio encargado de las analíticas se estableció un convenio con la Unidad de Ictiopatología del Instituto de Acuicultura de la Universidad de Santiago de Compostela por su dilatada experiencia, contrastada capacidad técnica y por ser los únicos capaces de realizar todas las analíticas propuestas.

Muestreos

Según la memoria presentada por Galicia, estaba previsto hacer dos muestreos anuales durante los tres años de duración del Plan.

Los muestreos serían completos: de todas las explotaciones y de peces silvestres en cada uno de ellos; y estacionales: el primero entre los meses de abril y julio, coincidiendo con las temperaturas del agua más altas y el segundo entre octubre y diciembre, para hacerlo coincidir con la temporada de aguas frías.

Los grupos de peces muestreados fueron:

- Ejemplares de piscifactorías.
- Ejemplares merodeadores del entorno de piscifactorías.
- Ejemplares procedentes de pesca extractiva:

Ejemplares de piscifactorías:

Se tomaron un gran número de muestras, 30 peces de cada una de las especies presentes en todas las piscifactorías marinas de Galicia, además de muestras de alevines, huevos y fluido ovárico en los criaderos donde fue posible, según el momento del muestreo.

En las explotaciones marinas que ese mismo año eran muestreadas por los Servicios Oficiales Veterinarios de Sanidad Animal de la Consellería do Medio Rural, para el mantenimiento de la calificación sanitaria de la explotación, las muestras recogidas fueron analizadas paralelamente también en su Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia (LASAPAGA).

Ejemplares merodeadores del entorno de piscifactorías.

Repartidos en tres grupos según su localización geográfica: norte, centro y sur de Galicia. Para el muestreo de peces merodeadores, estos se capturaron, con la colaboración de los técnicos de las empresas, en el entorno de las pocas explotaciones con jaulas que hay en Galicia.

Para el muestreo de ejemplares salvajes de pesca extractiva se seleccionaron dos tipos de ejemplares:

- de las especies que se cultivan en Galicia
- de las especies que consideraron como posibles centinelas o monitores de las patologías analizadas.

Dividiendo Galicia en cuatro zonas, adquirimos peces de estos dos grupos de especies procedentes de pesca extractiva de bajura lo más frescos posible, repartidos homogéneamente entre las principales lonjas: A Coruña, Ribeira y Vigo en el Atlántico y Burela-Celeiro en el Cantábrico.

Naturalmente, a lo largo de los tres años de duración del plan se produjeron incidencias en el desarrollo de los muestreos, detalladamente descritas en los informes de muestreos anuales¹. Pero, salvo la primera incidencia, que impidió, por retraso en la liberación de fondos a la Comunidad Autónoma, la realización del muestreo del primer semestre de 2007, las demás apenas hicieron variar, levemente en ocasiones, el número y en otras ocasiones, las localizaciones de las tomas de muestras.

Las menores variaciones se produjeron en las piscifactorías, y sólo en casos de cese de actividad de alguna de las que empleaban el sistema de jaulas en el mar, lo que también provocó una reducción de las localizaciones donde era posible tomar muestras de merodeadores. En el caso de los peces de pesca extractiva, las

¹ Ver Anexo I: Informe de muestreos de Galicia

dificultades se centraron en la imposibilidad de que con fondos de la Administración, se pudiera hacer el pago inmediato, tal y como es costumbre en las lonjas, lo que motivó que en el último año de muestreos sólo se pudieran adquirir peces en las lonjas de Vigo y Celeiro-Burela.

Técnicas Analíticas

De todos los peces obtenidos en piscifactorías se tomaron muestras de bazo, riñón anterior y encéfalo para detectar las enfermedades listadas en la normativa (SHV, NHI y también IPN y enfermedades bacterianas, que al inicio del Plan, con la anterior directiva de 1991, aun figuraban en las listas), además de betanodavirus.

Las analíticas fueron, mediante las técnicas oficiales para las enfermedades de las que están declaradas libres; por PCR, para detectar betanodavirus; y mediante siembra, en condiciones asépticas, de los mencionados órganos, en dos medios de cultivo para el aislamiento e identificación de bacterias.

Todo ello in situ, en la explotación, y de acuerdo con los protocolos legales y los acordados para este muestreo en la reunión de laboratorios en lo referente a betanodavirus por PCR.

En los peces salvajes (merodeadores y procedentes de pesca extractiva), las analíticas se realizaron para la detección de betanodavirus y de virus responsables de IPN, y SHV por PCR en todos los muestreos. En los muestreos de 2008, por cortesía del laboratorio, también se llevó a cabo detección por PCR del virus de NHI. Todas ellas a partir de los mismos órganos analizados que en los peces de cultivo y que fueron extraídos en una necropsia reglada, con recogida de datos de los ejemplares, en el laboratorio del Instituto de Acuicultura, tras su transporte refrigerado desde las lonjas.

El motivo de emplear PCR es por ser más operativo a nivel laboratorial, al evitar los periodos de espera del cultivo celular y para ir avanzando, en el caso de betanodavirus, en el proceso de validación de este método.

Dado que en las necropsias de los primeros muestreos (2007, 2008 y primer semestre de 2009) de peces salvajes no pudimos constatar, salvo excepciones, más que se trataba de peces aparentemente sanos, y debido a que, últimamente, en algunas plantas se dieron mortalidades por parásitos, presuntamente procedentes del medio externo, decidimos realizar un estudio mas completo en el último de los muestreos, el correspondiente al segundo semestre de 2009.

Para ello, un fracción de las muestras de los órganos extraídos para el análisis virológico, así como fragmentos de otros órganos de cada uno de los peces, identificados individualmente, fueron sometidos a un estudio anatomopatológico y de detección de parásitos con el fin de completar la información obtenida de las muestras. El estudio fue realizado por el Grupo de Ictiopatología de la Facultad de Veterinaria de Lugo – Universidad de Santiago de Compostela.

Es de destacar que las analíticas financiadas con cargo al presupuesto del Plan JACUMAR, tan sólo son las de betanodavirus por PCR en peces de acuicultura y las de SHV por PCR en peces salvajes. Siendo el tamaño de la muestra, número de peces salvajes a analizar, bastante limitado, unos 200 peces salvajes de pesca extractiva en cada muestreo, debido a lo exiguo que nos ha resultado el presupuesto de que disponemos, sobre todo por el coste de las analíticas.

El resto de los análisis realizados continuaron siendo financiados, como hasta entonces, por los presupuestos del Intecmar de la Consellería do Mar y aportadas por este organismo para la realización del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria en Galicia. Suponen algo más del 90% de los análisis realizados en el Plan.

Resultados y discusión

A lo largo de los tres años de desarrollo del Plan, cada vez que los responsables del laboratorio del Instituto de Acuicultura concluían las analíticas de los dos muestreos anuales, se llevó a cabo una reunión en la Consellería do Mar con el grupo de trabajo constituido. En estas reuniones, presentaban los resultados analíticos obtenidos, que dieron lugar a su Informe sobre “Prevalencia de enfermedades víricas en acuicultura y peces silvestre”, y se debatía sobre esos resultados y sus implicaciones.

En estas reuniones se acordó que, tal y como figuraba en el Convenio por el que se les contrataban las analíticas, los responsables del laboratorio acompañasen para asesorar técnicamente a los representantes de Galicia en las reuniones de presentación de resultados que tuvieron lugar en la sede del Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino, en Madrid, ante la Subdirección General de Sanidad Animal, dentro del seguimiento del Plan JACUMAR – Subproyecto de Murcia.

Entre los temas debatidos en estas reuniones destacan:

Resultados analíticos de virus

En acuicultura, el grupo de peces más numeroso de los analizados, se confirma el estatus sanitario de nuestras piscifactorías al no aparecer ni virus de la SHV, ni virus de la NHI. Y ni siquiera se detectó betanodavirus por PCR.

El único virus detectado en algunos peces fue el de IPN, que no es epidemiológicamente preocupante, y fue detectado tanto por PCR como por aislamiento en cultivo.

Estos resultados contrastan con los obtenidos en peces salvajes, lo que aporta una mayor garantía sobre la situación sanitaria de las piscifactorías gallegas.

En los análisis de IPN, betanodavirus y SHV realizados por PCR en los peces salvajes (merodeadores y de pesca extractiva) aparecieron algunos positivos, algunos peces con más de un virus, e incluso, algún ejemplar que portaba todos los virus².

Tal y como se estableció en el punto 6 del protocolo normalizado de trabajo aprobado en la reunión de laboratorios de este Plan Jacumar (PNT Jac1/240507). Ante un resultado positivo para cualquiera de los virus, y a partir de la réplica de la muestra correspondiente, bajo custodia congelada, se procedió al aislamiento del virus por cultivo celular, siguiendo la técnica analítica de la normativa europea.

Al aplicar la técnica oficial de cultivo celular a los PCR positivos de estos tres virus, solo se aisló el de IPN.

En el caso de SHV en los muestreos de 2007, se suscitaron unos resultados analíticos que, en las reuniones de trabajo de Galicia, todos estuvimos de acuerdo en calificar como negativos por el procedimiento oficial de diagnóstico, en todos los casos. Pues, si bien se han dado algunos, muy pocos, aislamientos en cultivos celulares confirmatorios de los PCRs, estos han sido en todos los casos prolongando el tiempo de observación del cultivo celular, para comprobar si se detectaría efecto citopático mucho más allá del tiempo establecido en la normativa.

Por tratarse de un plan de investigación con fines científicos y no de diagnóstico oficial se prolongó la observación incluso más de un mes, siendo el tiempo más corto en que apareció un aislamiento en el primer pase, a los 30 días de observación. De este

² Ver Anexo II: Tablas de resultados analíticos de Galicia.

modo se consiguieron aislamientos en cultivo celular que confirman algunos de los PCRs previos, pero que no pueden considerarse oficialmente positivos.

Esta interpretación de las analíticas también se sustenta en que se trata de peces salvajes perfectamente sanos, sin síntomas ni lesiones patológicas, que no podríamos considerar sospechosos de estar enfermos. Los resultados analíticos sólo pueden hacer que los consideremos, como mucho, como portadores asintomáticos, pues indican que tienen una carga viral baja, con virus poco activos. Hay virus, pero en muy pequeña cantidad y que no replican lo suficiente, por el motivo que sea, como para producir la enfermedad y mucho menos para transmitirla por los canales de comercialización del pescado. La probabilidad de transmisión a la acuicultura es remota.

Si el aislamiento en cultivo celular se produjese dentro de los límites establecidos por el procedimiento oficial, sí podríamos afirmar que presentan una carga viral alta y con el virus replicándose muy activamente. Y aun así el riesgo para las piscifactorías en plantas con tanques de agua en tierra firme podría considerarse muy bajo.

La misma explicación es válida para NHI, detectados siempre tras reamplificar por Nested PCR, lo que indica claramente una muy baja carga viral.

Según estos resultados, las prevalencias de infección en las poblaciones silvestres marinas son más altas que en las de cultivo, contrariamente a lo que se podría pensar por las diferencias que hay en los niveles de predación y estrés entre ambas poblaciones. Sin embargo, que no sea así, podría explicarse porque en el mar la presión de predación propicia la eliminación sólo de los peces realmente enfermos, con alta carga viral, a causa de que estos virus neurotróficos suelen afectar a la natación y los convierten en presas fáciles.

Pero los peces que tengan baja carga viral, tolerarán la presencia de estos virus durante más tiempo, en equilibrio con el patógeno, al no producirles lesiones ni síntomas manifiestos de la enfermedad, propagándose por la población, que estará en gran parte infectada, pero que no sufre la enfermedad.

Genotipos de SHV no patógenos.

Tal y como se estableció en el punto 6 del PNT Jac1/240507, ante un resultado positivo para cualquiera de los virus, el fragmento de PCR amplificado se secuenció con el fin de corroborar el resultado positivo y tener indicios del tipo viral.

En el caso de los virus de VHS de estos aislamientos celulares se concluyó que son del genotipo III, que es uno de los dos genotipos no patógenos (el II y III) que también se han aislado en lubina en el sur de Europa, cuya presencia no resulta de riesgo o peligro por estar descrito como muy ubicuo y no patógeno. A diferencia de los genotipos patógenos, el I que aparece en el norte de Europa y el IV el más patógeno y mortal en peces salvajes y de acuicultura, que se encontró en Canadá y en USA.

Ya en el informe de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), adoptado el 11 de octubre de 2007 a petición de la Comisión, se afirma al respecto que hay muchas imprecisiones e indefiniciones dadas las variaciones en la patogenicidad de estos virus e incluso una amplia distribución de formas no patógenas, por ejemplo en el caso del virus causante de SHV. Se recomienda caracterizar estos patógenos y clasificarlos, así como perfeccionar las herramientas diagnósticas, como puede ser la validación de técnicas diagnósticas de PCR, por la necesidad de poder distinguir, desde un punto de vista técnico y de gestión, los distintos tipos del virus de la SHV en función de su patogenicidad.

Podría pues, ser razonable proponer que se excluya este genotipo ubicuo, no patógeno, de la lista de enfermedades aplicando el tipado por PCR, ante el riesgo que puede suponer la aparición de un positivo de este genotipo en acuicultura, igual que aquí en peces salvajes, y que sea preciso tomar medidas oficiales frente a un virus que en realidad no es patógeno ni provoca mortandades.

Todos estos datos procedentes de planes de investigaciones sobre distribución epidemiológica de agentes infecciosos y sus riesgos de transferencia hay que verlos como una oportunidad de poner sobre la mesa de trabajo la realidad de la situación actual en peces salvajes, que es que se encuentran los virus pero no la enfermedad. Probablemente, en un futuro próximo, esta información y su debate, serán útiles para defender nuestra acuicultura con argumentos y posicionamientos claros, que protejan esta producción animal.

Las dudas surgidas con las definiciones de “enfermedad” e “infección” que figuran en el anexo I de la nueva Directiva, definidas de forma que prácticamente son lo mismo. Llevó a los miembros del grupo de trabajo EFSA a determinar que estas definiciones no están de acuerdo con la terminología patológica o epidemiológica estándar empleada en la literatura científica. Hasta el punto de que en su dictamen recomiendan a la UE armonizar las definiciones científicas, diferenciando bien: vectores, especies sensibles y no sensibles, portadores mecánicos y biológicos, agentes y enfermedad, que desafortunadamente no lo están en el caso en las enfermedades acuáticas.

Medidas de vigilancia

De todos modos, estos positivos no los consideramos epidemiológicamente preocupantes porque se trata de peces salvajes, y ni siquiera peces salvajes de una zona declarada libre, pues actualmente, en acuicultura marina ha desaparecido este concepto de zona libre de la normativa. El mar es un medio abierto sin fronteras; algunas de estas especies son migratorias, su población no está confinada aquí, si no que es común por migración con la de otros países de Europa.

El problema de la detección de virus por técnicas no oficiales más sensibles tiene que estar sucediendo en más países de Europa en los que se hagan analíticas.

En el caso de tratarse de positivos oficiales, en salvajes hay poco que hacer, puesto que no se puede erradicar. De lo que se trataría sería de fortalecer la vigilancia, algo que ya se está llevando a cabo desde hace años, y seguir controlando los salvajes para ver si aumenta el número de portadores, tratando de proteger el comercio de las explotaciones.

La transferencia de patógenos del medio salvaje a la acuicultura se podrá evitar, sobre todo, con el control sanitario de los criaderos y del movimiento de peces vivos entre explotaciones.

Por ello, es importante controlar los peces salvajes que se incorporan como reproductores al ciclo productivo de la acuicultura. Aunque la transmisión vertical de SHV aun no está demostrada, las empresas lo están haciendo porque saben que en el medio hay virus y parásitos de alto riesgo. En este sentido les preocupa más evitar la entrada de parásitos con el agua, que de hecho en los últimos años ha provocado el cese de actividad de alguna planta en Galicia, por ser más difícil de controlar, que la entrada de reproductores con virus, que si se produce es con una muy baja carga viral.

No obstante, podría ser conveniente, que la autoridad competente en sanidad animal, introdujese en los planes de inspección, el control de la cuarentena de estos peces salvajes capturados como futuros reproductores. Así como controlar la autorización de su inmersión, algo que ahora mismo hace la autoridad competente de la ordenación del sector, pero incluso condicionando la autorización de la inmersión a un diagnóstico negativo previo.

El problema es que no hay centros de cuarentena autorizados, tal y como están ahora regulados. Y que las analíticas tendrían que ser mediante técnica PCR muy novedosa, en vivo, a partir de sangre, para no tener que sacrificar al futuro reproductor en la obtención de la muestra y dado que el cultivo celular no es posible a partir de muestras de sangre.

Técnicas diagnósticas

El diagnóstico por serología detecta proteínas y por PCR detecta ácidos nucleicos, en ambos casos partículas víricas o fragmentos de virus que a veces no son viables.

Pero en animales acuáticos se busca aislar el patógeno mediante cultivo celular como técnica diagnóstica para lograr las calificaciones sanitarias de las explotaciones.

Cuando se estableció la técnica oficial de diagnóstico para VHS y NHI en 2001, que no ha variado desde entonces, ya hubo controversia entre el empleo del cultivo celular y los métodos moleculares. Finalmente como la PCR no estaba estandarizada y había que validarla para cada virus, solo se consideró adecuada para la identificación de los virus, pero no para hacer diagnóstico.

El hecho de que en Galicia hayamos encontrado virus por PCR, pero que a diferencia de Noruega o UK no tengamos sintomatología ni mortandades por estos virus, nos tendría que prevenir sobre que postura sería mas conveniente adoptar ante propuestas, como la que figuraba en algún borrador SANCO, de establecer PCR como procedimiento diagnóstico ante sospechas de enfermedad para la pérdida de la calificación sanitaria de libre de estas virologías.

Especies de peces

Al igual que en el resto de las aguas de los países del sur de Europa, el virus de la SHV aparece en gran variedad de especies salvajes, posiblemente por la reinfección que se da con las vísceras de pesca extractiva arrojadas al mar.

Es muy posible que en pocos años se llegue a la conclusión de que muchos de los virus se encuentran en ejemplares de la mayoría de las especies de peces, en equilibrio entre el huésped y el virus.

Como exponía el informe EFSA, hay evidencias científicas que demuestran que especies no enumeradas como sensibles sí lo son y son pues una vía no controlada de introducción y extensión de patógenos.

Difusión de resultados

Debido a la confidencialidad acordada en la reunión previa a la aprobación del Plan, en la Subdirección General de Sanidad Animal, sobre la publicación de resultados analíticos que atañen a la calificación sanitaria de las explotaciones acuícolas. Durante el desarrollo del mismo, sólo se realizaron actividades de difusión generales sobre el Plan Jacumar de Gestión Sanitaria que se estaba llevando a cabo (notas de prensa). Y comunicaciones en diversos foros científicos, reflejadas en el apartado 2.7. Difusión, del Informe Final del Plan, sobre resultados que no tenían que ver con los

mencionados; y siempre con autorización y mención expresa de quien financió los trabajos, así como comunicación previa a la autoridad competente, para su conocimiento, tal y como debe ser.

No obstante, es necesario reflexionar, que el único modo de prevenir los riesgos sanitarios, será profundizando en su conocimiento y compartiendo ese conocimiento con quien tiene que afrontar esos riesgos. Es pues, muy importante mejorar el grado de comunicación y coordinación alcanzado entre los distintos actores implicados en el tema, para evitar malos entendidos y propiciar la difusión de ese conocimiento que hace avanzar en el control de la transmisión de enfermedades, aun tratándose de información sensible.

Interlaboratorios

Un logro importante de este Plan JACUMAR ha sido, precisamente, restablecer y mejorar la comunicación de algunos interlocutores destacados en el tema que nos concierne: laboratorios, autoridades competentes e incluso distintos departamentos dentro de la misma comunidad autónoma.

En el caso de los laboratorios, en el subproyecto de Cataluña se identificó la paradoja de que, no solo en patología de peces sino que en acuicultura en general, hay bastantes laboratorios muy prestigiosos que aplican técnicas de diagnóstico oficiales, trabajando aislados entre si y sin apenas contacto con los pocos laboratorios reconocidos u oficiales.

Esto puede dar una imagen de descoordinación, sobre todo de cara al exterior, y llegar a generar problemas, por lo que en el subproyecto de Cataluña, se abordó la elaboración, dentro de la guía de buenas prácticas, de un directorio de laboratorios, a modo de "quien es quien" laboratorial.

Se concluyó que es conveniente consolidar esta red e incorporarla para facilitar la aplicación de las normas. Aunque las CCAA ya tengan su laboratorio oficial autorizado, puede que le interese tener una red de laboratorios contrastados más amplia, que así podrán aparecer en los programas de vigilancia como laboratorios de refuerzo de estos.

Que los Laboratorios Nacionales de Referencia estuvieran en este plan JACUMAR ayudó mucho. Pues aunque en el caso de peces, con Algete no se contemplaba más que un ring test teórico. En el ecuador del Plan, a raíz de los resultados analíticos y de que el laboratorio de la Universidad de Santiago de Compostela (USC) manifestara su interés en participar en los ensayos interlaboratorios, tras la autorización de la Autoridad Competente en Sanidad Animal de Galicia, participaron junto con el laboratorio que hace las analíticas del Plan para Canarias, en los dos últimos ensayos de Algete

Los ensayos organizados por Algete son para la comparación de los procedimientos diagnósticos de los laboratorios oficialmente autorizados para enfermedades de los peces en las CCAA de Aragón, Asturias, Cantabria, Castilla-León y Galicia. Para evaluar la capacidad de los laboratorios en el aislamiento e identificación de los virus notificables no-exóticos de SHV y NHI, su aptitud para diferenciarlos de otros virus de peces como IPN, y se solicita también la titulación de virus, para evaluar la susceptibilidad de las células de los laboratorios a la infección de estos virus.

A la vista de los buenos resultados obtenidos por el laboratorio de la USC en estos ensayos y lo estratégicas que para la acuicultura gallega serán en un futuro, para la argumentación de la defensa de sus intereses, las técnicas moleculares de PCR.

Puede ser importante que, además de seguir participando en los ensayos del LNR de Algete, al menos, mientras continúe analizando peces para la Administración de Galicia, se facilite la participación de este laboratorio, en el circuito de intercalibrado para PCR que organiza periódicamente el Laboratorio Comunitario de Referencia de Dinamarca, dado que el Laboratorio de Algete no incluye estas técnicas de PCR en sus ensayos.

Con la nueva normativa, las CCAA declararán la calificación sanitaria de sus zonas y compartimentos, tomando sus muestras oficiales y acudiendo a quien esté acreditado para su análisis. La Administración Central lo comunicará al Comité Permanente de la Cadena Alimentaria y de la Sanidad Animal en Bruselas, que aceptará o no esa declaración, según los resultados analíticos y la acreditación de la técnica con la que se han obtenido.

Conclusión del trabajo

Se ha hecho todo lo posible por desarrollar este Plan Jacumar tratando de extraer el máximo provecho al presupuesto asociado, consiguiendo que se realizase el mayor número posible de analíticas, incluso algunas no contempladas en el proyecto inicial, de virus por diversas técnicas, de parásitos y de bacterias, tanto en peces de acuicultura como silvestres. Trabajando en él, hemos conseguido mejorar la formación del personal que participó en su desarrollo, asistiendo a cursos y congresos, y que todos los implicados, directa e indirectamente, tratásemos de avanzar en el conocimiento de lo relacionado con la Sanidad Animal de Organismos Acuáticos. Todo ello en un ambiente de colaboración interdisciplinaria muy productivo, que ha sido motivo de especial satisfacción.

Esperamos contribuir con este Plan Jacumar de Gestión Sanitaria a aumentar la sensibilización, concienciación y preparación, de los organismos y autoridades competentes respecto a la prevención, el control y la erradicación de las enfermedades de los animales acuáticos.

Tal y como establece el preámbulo y el artículo 1º de la Directiva 2006/88/CE, y tal y como el RD 1614/2008 que traspone esta directiva, establece como su Objeto en el Capítulo I. Disposiciones Generales. Artículo 1º.

Deseamos mostrar nuestro agradecimiento, a todos los que colaboraron en el desarrollo del Plan, especialmente al personal técnico encargado de extraer las muestras y a los técnicos de las empresas que tienen jaulas en Galicia.

Galicia, Navidad de 2010.



MUESTREO PATOLÓGICO 2007 **PLAN JACUMAR DE GESTIÓN SANITARIA EN GALICIA**

1. EJEMPLARES DE ACUICULTURA

Se muestrearon todas las explotaciones gallegas de acuicultura marina de peces, en total 23 explotaciones y un centro de investigación.

Se tomaron muestras de 30 peces de cada una de las especies presentes en cada explotación, salvo pocas excepciones como en el caso de algunas especies cuyos lotes eran los mismos ya muestreados en su hachery de procedencia o cuando los peces ya estaban a punto de ser comercializados...

De los **940 peces** obtenidos se tomaron muestras de bazo, riñón anterior y encéfalo para detectar las enfermedades de las listas I, II y III de la Directiva 91/67, mediante las técnicas oficiales recogidas en la normativa vigente y de Betanodavirus por PCR. Además se realizó siembra de los mencionados órganos en dos medios de cultivo para aislamiento e identificación de bacterias. Todo ello in situ, en la explotación, y de acuerdo con los protocolos legales y los acordados para este muestreo en la reunión de laboratorios en lo referente a Betanodavirus por PCR.

En 9 explotaciones y el centro de investigación, las muestras recogidas fueron compartidas con los Servicios Oficiales Veterinarios de Sanidad Animal de la Consellería do Medio Rural, que paralelamente enviaron a su Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia (LASAPAGA) para su análisis, dentro del programa anual oficial de control establecido en la Directiva 91/67 (muestrean anualmente el 50% del total de explotaciones de acuicultura marina y continental) para el mantenimiento de la calificación sanitaria de Galicia como libre de VHS y NHI.

De las 23 explotaciones muestreadas, 18 son en tierra firme, y de estas, 5 tienen alguna actividad de hachery, en las cuales además de alevines, cuando fue posible por los periodos de puesta de las distintas especies, se tomaron muestras para analizar de huevos o larvas:

Solo 1 funciona exclusivamente como háchery de rodaballo y lenguado, sin hacer engorde de ninguna especie.

Las otras 4 hacherías además hacen engorde en planta: una es hachery de rodaballo, de besugo, de abadejo e intenta la puesta con reproductores de cherna desde hace años, además de dedicarse al engorde de rodaballo y como nursery de besugo y abadejo, para su posterior inmersión en jaulas flotantes en el mar.

En otra hay hachery de rodaballo y lenguado y engorde sólo de rodaballo.

Y las otras dos son hachery de rodaballo y hacen engorde de la misma especie.

De las 13 plantas en tierra que hacen exclusivamente engorde, hay 5 que tienen rodaballo y lenguado y las otras 8 sólo rodaballo.

De las 23 explotaciones totales, sólo 5 son de jaulas en el mar, y se dedican al engorde de varias especies.



De las explotaciones con jaulas, 4 son de tipo flotantes: 1 de besugos, 2 solo de rodaballo y 1 de rodaballo y lubina (el único lote de lubina que en estos meses se engorda en Galicia, procedentes los alevines de Valencia, no se muestreó por estar listo para comercializar) Y finalmente solo hay una explotación con jaulas posada en el fondo que se dedica al engorde de rodaballos.

2. PECES SALVAJES QUE MERODEAN EN EL ENTORNO DE LAS PISCIFACTORIAS

En el entorno de estas jaulas de las explotaciones mencionadas, se capturaron un total de **71 peces** merodeadores para muestrear, fundamentalmente múgeles pero también algunas bogas, repartidos en tres grupos según su situación geográfica en Galicia (norte, centro y sur). Siendo las analíticas que se les van a realizar: detección de IPN, Betanodavirus y VHS por PCR, además de cultivo e identificación de bacterias, todas ellas a partir de los mismos órganos analizados en los peces de cultivo..

3. PECES SALVAJES, DE ESPECIES QUE SE CULTIVAN EN GALICIA

Dividiendo Galicia en tres zonas, A Coruña al norte, Riveira en el centro y Vigo en el sur, conseguimos un total de **73 peces** de estas especies repartidas homogéneamente entre las lonjas de las tres zonas, para someterlos a la misma analítica que mencionamos para los merodeadores de las jaulas. Su distribución por especies fue la siguiente:
4 Rodaballos, 28 lenguados, 13 abadejos, 12 besugos y 16 lubinas.

4. PECES SALVAJES CONSIDERADOS CENTINELA O MONITORES

Se consiguieron del mismo modo, con la misma distribución geográfica y para ser sometidos a los mismos análisis que el grupo anterior, un total de **57 peces**, distribuidos por especies de la siguiente manera:

14 Salmonetes de roca, 10 remoles (coruxos), 6 sargos, 5 jurelos, 5 rallas, 4 corvinas, 4 acedias, 3 bogas, 3 palometas, 1 solla, 1 aguja y 1 caballa.

- Total de peces muestreados: 1.141.
- Periodo de muestreo: del 16/10/2007 al 20/12/2007.
- Las analíticas financiadas con cargo al presupuesto del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria para Galicia de 2007, a través del convenio firmado con la Universidade de Santiago de Compostela para tal fin, son las de Betanodavirus por PCR en peces procedentes de explotaciones de acuicultura y de VHS por PCR en peces salvajes.



- El resto de las analíticas (listas II y III de la Directiva 91/67 en peces de acuicultura y Betanodavirus e IPN por PCR en peces salvajes) son financiadas con cargo a los presupuestos del INTECMAR de la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos.
- Fecha prevista de entrega de resultados analíticos por parte de la USC: finales de febrero de 2008.



MUESTREO PATOLÓGICO 2008 **PLAN JACUMAR DE GESTIÓN SANITARIA EN GALICIA**

PRIMER MUESTREO PATOLÓGICO ABRIL-MAYO 2008

1. EJEMPLARES DE ACUICULTURA

Se muestrearon todas las explotaciones gallegas de acuicultura marina de peces, en total 22 explotaciones (una menos que en el muestreo de 2007) y un centro de investigación. Se tomaron muestras de 30 peces de cada una de las especies presentes en cada explotación, salvo pocas excepciones como en el caso de algunas especies cuyos lotes eran los mismos ya muestreados en su hachery de procedencia o cuando los peces ya estaban a punto de ser comercializados.

De todos los peces obtenidos se tomaron muestras de bazo, riñón anterior y encéfalo para detectar las enfermedades de las listas I, II y III de la Directiva 91/67, mediante las técnicas oficiales recogidas en la normativa vigente y de Betanodavirus por PCR. Además se realizó siembra de los mencionados órganos en dos medios de cultivo para aislamiento e identificación de bacterias. Todo ello in situ, en la explotación, y de acuerdo con los protocolos legales y los acordados para este muestreo en la reunión de laboratorios en lo referente a Betanodavirus por PCR.

En 2 explotaciones, las muestras recogidas fueron compartidas con los Servicios Oficiales Veterinarios de Sanidad Animal de la Consellería do Medio Rural, que paralelamente enviaron a su Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia (LASAPAGA) para su análisis, dentro del programa anual oficial de control establecido en la Directiva 91/67 (muestran anualmente el 50% del total de explotaciones de acuicultura marina y continental) para el mantenimiento de la calificación sanitaria de Galicia como libre de VHS y NHI.

De las 22 explotaciones muestreadas, 18 son en tierra firme, y de estas, 5 tienen alguna actividad de hachery, en las cuales además de alevines, cuando fue posible por los periodos de puesta de las distintas especies, se tomaron muestras para analizar de huevos o larvas. Solo 1 funciona exclusivamente como háchery de rodaballo y lenguado, sin hacer engorde de ninguna especie.

Las otras 4 hacheries además hacen engorde en planta: una es hachery de rodaballo, de besugo, de abadejo e intenta la puesta con reproductores de cherna desde hace años, además de dedicarse al engorde de rodaballo y como nursery de besugo y abadejo, para su posterior inmersión en jaulas flotantes en el mar. En otra hay hachery de rodaballo y lenguado y engorde sólo de rodaballo. Y las otras dos son hachery de rodaballo y hacen engorde de la misma especie.

De las 13 plantas en tierra que hacen exclusivamente engorde, hay 5 que tienen rodaballo y lenguado y las otras 8 sólo rodaballo.

De las 22 explotaciones muestreadas, sólo 4 son de jaulas en el mar, y se dedican al engorde de varias especies. Son jaulas flotantes: 1 de besugos, 2 solo de rodaballo y 1 de rodaballo y lubina (el único lote de lubina que en estos años se engorda en Galicia,



precedentes los alevines de Valencia, no se muestreó por estar listo para comercializar)

2. PECES SALVAJES QUE MERODEAN EN EL ENTORNO DE LAS PISCIFACTORIAS

En el entorno de estas jaulas de las explotaciones mencionadas, se capturaron un total de 75 múgeles merodeadores para muestrear, repartidos en tres grupos según su situación geográfica en Galicia (norte, centro y sur). Siendo las analíticas que se les van a realizar: detección de IPN, Betanodavirus y VHS por PCR, además de cultivo e identificación de bacterias, todas ellas a partir de los mismos órganos analizados en los peces de cultivo.

3. PECES SALVAJES, DE ESPECIES QUE SE CULTIVAN EN GALICIA

4. PECES SALVAJES CONSIDERADOS CENTINELA O MONITORES

Dividiendo Galicia en cuatro zonas, tres de la costa Atlántica (A Coruña al norte, Riveira en el centro y Vigo en el sur) y una de la costa Cantábrica (Celeiro), adquirimos un total de 200 peces de estas especies repartidas homogéneamente entre las lonjas de las cuatro zonas, para someterlos a la misma analítica que mencionamos para los merodeadores de las jaulas.

- Las analíticas financiadas con cargo al presupuesto del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria para Galicia de 2007, a través del convenio firmado con la Universidade de Santiago de Compostela para tal fin, son:

1. Betanodavirus por PCR en peces de explotaciones de acuicultura
2. VHS por PCR en peces salvajes.

- El resto de las analíticas (listas II y III de la Directiva 91/67 en peces de acuicultura y Betanodavirus e IPN por PCR en peces salvajes) son financiadas con cargo a los presupuestos del INTECMAR de la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos, y aportadas por este organismo para la realización del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria en Galicia.

SEGUNDO MUESTREO PATOLÓGICO NOVIEMBRE-DICIEMBRE 2008

5. EJEMPLARES DE ACUICULTURA

Se muestrearon todas las explotaciones gallegas de acuicultura marina de peces:

16 plantas dedicadas al engorde de rodaballo, de las cuales tres corresponden a sistemas de jaulas flotantes en el mar.

4 plantas dedicadas a la producción y/o engorde de lenguado y rodaballo.

1 planta de engorde de besugo en jaulas.

1 planta dedicada a la producción de alevines de rodaballo y lenguado.

1 centro de investigación en acuicultura.

1 centro de formación en acuicultura.



Destaca el constante incremento de la producción y/o engorde de lenguado en plantas. Continua la obtención y distribución de alevines de lenguado de la especie *Solea solea*. Y por el contrario se confirma el descenso del engorde de besugo y la desaparición del engorde de abadejo.

Se tomaron muestras de 30 peces de cada una de las especies presentes en cada explotación.

De todos los peces obtenidos se tomaron muestras de bazo y riñón anterior para detectar ISA, VHS, NHI e IPN mediante las técnicas oficiales recogidas en la normativa vigente y de encéfalo para detectar Betanodavirus por PCR. Además se realizó siembra de los mencionados órganos en dos medios de cultivo para aislamiento e identificación de bacterias. Todo ello in situ, en la explotación, y de acuerdo con los protocolos legales y los acordados para este muestreo en la reunión de laboratorios en lo referente a Betanodavirus por PCR.

En 2 explotaciones, las muestras recogidas fueron compartidas con los Servicios Oficiales Veterinarios de Sanidad Animal de la Consellería do Medio Rural, que paralelamente enviaron a su Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia (LASAPAGA) para su análisis, dentro del programa anual oficial de control establecido en la legislación (muestran anualmente el 50% del total de explotaciones de acuicultura marina y continental) para el mantenimiento de la calificación sanitaria de Galicia como libre de VHS y NHI.

De las explotaciones muestreadas, en las que tienen actividad como hatchery, además de alevines, cuando fue posible por los periodos de puesta de las distintas especies, se tomaron muestras para analizar de huevos o larvas.

6. PECES SALVAJES QUE MERODEAN EN EL ENTORNO DE LAS PISCIFACTORIAS

En el entorno de estas jaulas de las explotaciones mencionadas, se capturaron un total de **93 múgeles** merodeadores para muestrear, repartidos en cuatro grupos según su situación geográfica en Galicia. Siendo las analíticas que se les van a realizar: detección de IPN, Betanodavirus y VHS por PCR, además de cultivo e identificación de bacterias, todas ellas a partir de los mismos órganos analizados en los peces de cultivo..

7. PECES SALVAJES, DE ESPECIES QUE SE CULTIVAN EN GALICIA

8. PECES SALVAJES CONSIDERADOS CENTINELA O MONITORES

Dividiendo Galicia en cuatro zonas, tres de la costa Atlántica (A Coruña al norte, Riveira en el centro y Vigo en el sur) y una de la costa Cantábrica (Celeiro), adquirimos un total de **201 peces** de estas especies repartidas homogéneamente entre las lonjas de las cuatro zonas, para someterlos a la misma analítica que mencionamos para los merodeadores de las jaulas.



- Las analíticas financiadas con cargo al presupuesto del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria para Galicia de 2007, a través del convenio firmado con la Universidade de Santiago de Compostela para tal fin, son:
 - Betanodavirus por PCR en peces de explotaciones de acuicultura
 - VHS por PCR en peces salvajes.
- El resto de las analíticas (las de las antiguas listas I, II y III de la derogada Directiva 91/67 en peces de acuicultura y Betanodavirus e IPN por PCR en peces salvajes) son financiadas con cargo a los presupuestos del INTECMAR de la Consellería de Pesca e Asuntos Marítimos, y aportadas por este organismo para la realización del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria en Galicia.

Muestreo patológico JACUMAR Galicia 2008

Tabla 1.- Especies utilizadas en el muestreo según su procedencia:

| Especie | Origen | | | | | | total |
|-----------|-------------|--------------|--|-------------|---------|------|-------|
| | Acuicultura | Merodeadores | Cultivables y monitoras, de Lonjas de | | | | |
| | | | Celeiro y Burela | A Coruña | Ribeira | Vigo | |
| Abadejo | | | 7 | 16 | 15 | 8 | 46 |
| Acedía | | | 4 | 24 | 15 | 5 | 38 |
| Besugo | 60 | | 4 | 26 | 10 | 10 | 110 |
| Coruxo | | | 1 | 1 | | 13 | 15 |
| Corvina | | | 1 | | | 2 | 3 |
| Dorada | | | | | 1 | 2 | 3 |
| Escalo | | 1 | | | | | |
| Juliana | | | 2 | | | | 2 |
| Lenguado | 480 | | 15 | 8 | 15 | 22 | 540 |
| Lubina | | | 15 | 2 | 5 | 10 | 32 |
| Mero | | | | | | 1 | 1 |
| Mújel | | 188 | | | | | |
| Pargo | | | 5 | | | | 5 |
| Raya | | | | | 12 | | 12 |
| Rodaballo | 1380 | | 11 | 3 | 6 | 5 | 1405 |
| Salmonete | | | 32 | 31 | 4 | 17 | 84 |
| Sargo | | | 7 | 33 | 9 | 8 | 57 |
| Solla | | | | | 10 | | 10 |
| | | | | | | | |
| TOTALES | | | 104 | 102 | 134 | 103 | |
| | 1920 | 189 | 443 | | | | 2552 |



Tabla 2.- Ejemplares muestreados de acuicultura:

| Especie | Nº de ejemplares |
|--|------------------|
| Rodaballos (<i>Scophthalmus máximus</i>) | 1380 |
| Lenguado (<i>Solea senegalensis</i>) | 360 |
| Lenguado (<i>Solea solea</i>) | 120 |
| Besugos (<i>Pagellus bogaraveo</i>) | 60 |
| Total de peces | 1920 |

Tabla 3.- Otras muestras tomadas en acuicultura:

| Tipo de muestra | Nº de muestras |
|---|----------------|
| Larvas de rodaballos(<i>Scophthalmus máximus</i>) | 3 |
| Fluido ovárico de rodaballos(<i>S. máximus</i>) | 2 |
| Larvas de lenguado (<i>Solea senegalensis</i>) | 1 |
| Total de muestras | 6 |

Tabla 4.- Ejemplares muestreados de especies silvestres cultivables:

| Especie | Nº de ejemplares |
|--|------------------|
| Rodaballos (<i>Scophthalmus máximus</i>) | 25 |
| Lenguados (<i>Solea spp.</i>) | 60 |
| Besugos (<i>Pagellus bogaraveo</i>) | 50 |
| Abadejo (<i>Pollachius pollachius</i>) | 46 |
| Total de peces | 181 |

Tabla 5.- Ejemplares muestreados de especies silvestres que frecuentan las instalaciones de acuicultura (merodeadores):

| Especie | Nº de ejemplares |
|-----------------------------------|------------------|
| Mújel (<i>Chebron labrosus</i>) | 188 |
| Escalo | 1 |
| Total de peces | 189 |

Tabla 6.- Ejemplares muestreados de las especies consideradas monitoras para las patologías víricas analizadas:

| Especie | Nº de ejemplares |
|---|------------------|
| Solla (<i>Pleuronectes platesa</i>) | 10 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | 32 |
| Corvina (<i>Argyrosomus regius</i>) | 3 |
| Raya (<i>Raja sp, Dasyatis pastinaca</i>) | 12 |
| Coruxos (<i>Scophthalmus rombus</i>) | 15 |
| Salmonete (<i>Mullus spp</i>) | 84 |
| Acedía (<i>Lophius piscatorius</i>) | 38 |



| | |
|--|-----|
| Sargo (<i>Diplodus sargus</i>) | 57 |
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | 3 |
| Juliana (<i>Lophius piscatorius</i>) | 2 |
| Mero (<i>Epinephelus marginatus</i>) | 1 |
| Pargo (<i>Pagrus pagrus</i>) | 5 |
| Total de peces | 262 |



INFORME DE LOS MUESTREOS PATOLÓGICOS DE GALICIA EN 2009 PLAN JACUMAR DE GESTIÓN SANITARIA

A lo largo de 2009 se realizaron dos muestreos en Galicia:

- El primero entre febrero y abril, con temperaturas del agua de 11 a 17´5°C.
- El segundo en octubre y noviembre, con temperaturas del agua entre 14 y 15 °C.

En ambos casos, ajustándonos al Plan, se muestrearon cuatro grupos de peces:

9. EJEMPLARES DE ACUICULTURA:

En las dos épocas del año se muestrearon todas las instalaciones gallegas de acuicultura marina de peces, en total en el primer muestreo **25** y en el segundo **24 localizaciones**. Todas ellas explotaciones de producción, salvo un centro de investigación y otro de formación en acuicultura marina, este último de la Consellería do Mar, que lleva a cabo un programa de repoblación de rodaballos.

Primer muestreo:

- 16 plantas dedicadas al engorde de rodaballos, de las cuales tres corresponden a sistemas de jaulas flotantes en el mar y el resto en tanques de agua marina en tierra.
- 4 plantas dedicadas a la producción y/o engorde de lenguado y rodaballo.
- 1 planta de engorde de besugo en jaulas.
- 1 jaula de engorde de salmón.
- 1 planta dedicada a la producción de alevines de rodaballo y lenguado.
- 1 centro de formación en acuicultura.
- 1 centro de investigación en acuicultura.

Segundo muestreo:

- 15 plantas dedicadas al engorde de rodaballos, de las cuales dos corresponden a sistemas de jaulas flotantes en el mar y el resto en tanques de agua marina en tierra.
- 4 plantas dedicadas a la producción y/o engorde de lenguado y rodaballo.
- 1 planta de engorde de besugo en jaulas.
- 1 planta de engorde de trucha salmonada en jaulas.
- 1 planta dedicada a la producción de alevines de rodaballo y lenguado.
- 1 centro de formación en acuicultura.
- 1 centro de investigación en acuicultura.

Diferencias entre el primer y segundo muestreo:

- 1 planta de jaulas que en el primer muestreo tenía rodaballos, en el segundo tenía trucha salmonada.
- 1 planta nueva de engorde de rodaballo en tierra en el segundo muestreo.
- 2 plantas de engorde de rodaballos que en el segundo muestreo no tenían actividad, una de ellas en tierra y la otra en jaulas.
- En el primer muestreo, en el centro de formación no había lenguados.
- En el segundo muestreo no fue posible capturar salmones en la única jaula de engorde de esta especie que hay en Galicia.

En todos los emplazamientos se tomaron muestras de **30 peces** de cada una de las especies presentes, salvo pocas excepciones como en el caso de algunos lotes que eran los mismos ya muestreados en su hatchery de procedencia o cuando los peces ya estaban a punto de ser comercializados.



De todos los peces obtenidos se tomaron muestras de bazo y riñón anterior para detectar VHSV, NHIV e IPNV, mediante las técnicas oficiales recogidas en la normativa vigente y por PCR, y de encéfalo para detectar Betanodavirus por PCR. Además, se realizó siembra de los mencionados órganos en dos medios de cultivo para aislamiento e identificación de bacterias. Todo ello in situ, en la explotación, y de acuerdo con los protocolos legales y los acordados para este muestreo en la reunión de laboratorios en lo referente a Betanodavirus por PCR.

En el primer muestreo, en **9** explotaciones y en el centro de investigación, y en el segundo muestreo en **3** de las explotaciones, las muestras recogidas fueron compartidas con los Servicios Oficiales Veterinarios de Sanidad Animal de la Consellería do Medio Rural. Las cuales paralelamente fueron enviadas a su Laboratorio de Sanidad y Producción Animal de Galicia (LASAPAGA), para su análisis dentro del programa anual oficial de control establecido en la normativa para el mantenimiento de la calificación sanitaria de Galicia como libre de VHS y NHI (muestran anualmente el 50% del total de explotaciones de acuicultura marina y continental de Galicia).

De las explotaciones muestreadas en ambas ocasiones, 5 tienen alguna actividad de hatchery, en las que además de alevines, cuando fue posible por los periodos de puesta de las distintas especies, se tomaron para analizar muestras de huevos o larvas. De estas, sólo 1 funciona exclusivamente como hatchery de rodaballo y lenguado, sin hacer engorde de ninguna especie. Y de las otras cuatro, una es hatchery de rodaballo y de besugo e intenta la puesta con reproductores de cherna desde hace años, además de hacer engorde de rodaballo en planta. En otra hay hatchery de rodaballo y lenguado y engorde sólo de rodaballo. Y las otras dos son hatchery de rodaballo y hacen engorde de la misma especie.

10. PECES SALVAJES QUE MERODEAN EN EL ENTORNO DE LAS GRANJAS:

En el entorno de las jaulas de tres de estas explotaciones, se capturaron en el primer muestreo un total de **23 múgeles** y en el segundo muestreo **28 múgeles merodeadores** para muestrear, repartidos en tres grupos según su situación geográfica en Galicia (norte, centro y sur). Siendo las analíticas realizadas para detección de IPN, Betanodavirus y VHS por PCR, además de cultivo e identificación de bacterias, todas ellas a partir de los mismos órganos analizados en los peces de cultivo.

El número de merodeadores y emplazamientos de estos muestreados en 2009 es sensiblemente inferior a los de años anteriores simplemente porque no se consiguió capturar peces en el entorno de una de las explotaciones de jaulas y en las demás no se pudo capturar un número tan elevado de individuos como en otras ocasiones.

11. PECES SALVAJES, DE ESPECIES QUE SE CULTIVAN EN GALICIA

Y

12. PECES SALVAJES CONSIDERADOS CENTINELA O MONITORES:

Dividiendo Galicia en dos zonas, una en la costa Atlántica (**Lonja de Vigo**) y la otra en la costa Cantábrica (**Lonjas de Celeiro y Burela**), adquirimos en el primer muestreo un total de **103 peces** y en el segundo muestreo un total de **221 peces** de estos dos grupos de especies repartidos homogéneamente entre las dos zonas, para someterlos a la misma analítica que mencionamos para los merodeadores de las jaulas.

Con respecto a años anteriores que se muestrearon peces de cuatro zonas distintas de Galicia, este año no fue posible adquirir peces en las lonjas de A Coruña y Ribeira por el retraso que en el pago de los peces supone el procedimiento de gestión de fondos públicos.

En el segundo muestreo de 2009 para evitar que el nº de peces de pesca extractiva de estos dos grupos fuera muy diferente a los de los dos años anteriores se decidió adquirir todos ellos en las



tres lonjas mencionadas en las que, a costa de un mayor precio, a los comercializadores que nos los suministraban no les importaba retrasar el cobro.

EXTRACCIÓN DE MUESTRAS:

Como en los dos años anteriores las muestras de órganos se obtuvieron a partir de peces vivos, y en todo caso, a partir de peces recién muertos o moribundos.

La toma de muestras comienza con el registro de la talla de cada uno de los peces, del peso aproximado y también del sexo del ejemplar en el caso de los peces salvajes.

Tras la eutanasia, se realiza la necropsia tomando nota de cualquier anomalía o lesión macroscópica que se presente.

En el 2º muestreo de 2009 y dado que en las necropsias de muestreos anteriores de los tres grupos de peces que no proceden de acuicultura (los merodeadores, los de pesca extractiva de especies que se cultivan en Galicia y los de las especies que se consideran monitoras), salvo excepciones, no habíamos podido consignar mas que se trataba de peces aparentemente sanos , decidimos realizar un estudio mas completo.

Por este motivo un fragmento de las muestras de los órganos extraídos para el análisis virológico, y además, fragmentos de otros órganos de cada uno de los peces identificados individualmente, fueron sometidos a un estudio anatomopatológico y de detección de parásitos con en fin de completar la información que tendremos de cada uno de los peces.

FINANCIACIÓN DEL MUESTREO:

- Las analíticas financiadas con cargo al presupuesto del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria de Galicia, a través del convenio firmado con la Universidade de Santiago de Compostela para tal fin, son:
 1. Betanodavirus por PCR en peces de explotaciones de acuicultura
 2. VHS por PCR en peces salvajes.
 3. Anatomopatología y parasitología de peces salvajes
- El resto de las analíticas (VHS, IPN, NHI y cultivo bacteriano en peces de acuicultura y Betanodavirus e IPN por PCR en peces salvajes) son financiadas dentro de otro convenio con la USC con cargo a los presupuestos del INTECMAR de la Consellería do Mar, y aportadas por este organismo para la realización del Plan JACUMAR de Gestión Sanitaria en Galicia.



TABLAS de MUESTREOS de 2009

(Nota : " 150+120 " significa que en el primer muestreo del año se procesaron 150 peces y en el segundo muestreo 120 peces)

Tabla 1.- Especies utilizadas en el muestreo según su procedencia:

| Especie | Origen | | | | total |
|------------------|-------------|--------------|-----------------------------|---------------|-------|
| | Acuicultura | Merodeadores | Que se cultivan y monitoras | | |
| | | | Lonjas de Celeiro y Burela | Lonja de Vigo | |
| Abadejo | | | 4+13 | 2+7 | 26 |
| Besugo | 30+30 | | 0+6 | 4+10 | 80 |
| Coruxo | | | | 5+11 | 16 |
| Corvina | | | 0+7 | | 7 |
| Jurel | | | 0+3 | 0+4 | 7 |
| Lenguado | 150+210 | | 8+22 | 13+16 | 419 |
| Lubina | | | 4+10 | 12+11 | 37 |
| Mújel | | 23+28 | | | 51 |
| Pargo | | | 4+6 | | 10 |
| Rodaballo | 720+660 | | 4+3 | 9+9 | 1.405 |
| Rubio | | | | 3+11 | 14 |
| Salmón | 30+0 | | | | 30 |
| Salmonete | | | 20+20 | 5+0 | 45 |
| Sargo | | | 5+13 | 0+10 | 28 |
| Solla | | | 0+5 | 0+4 | 9 |
| Trucha salmonada | 0+30 | | | | 30 |
| TOTALES | 930+930 | 23+28 | 49+108 | 53+93 | 2.214 |
| | 1.860 | 51 | 157 | 146 | |

Tabla 2.- Ejemplares muestreados procedentes de acuicultura:

| Especie | Nº de ejemplares |
|------------------|------------------|
| Rodaballos | 1380 |
| Lenguados spp | 360 |
| Besugos | 60 |
| Salmón | 30 |
| Trucha salmonada | 30 |
| Total de peces | 1.860 |



Tabla 3.- Otras muestras tomadas en acuicultura:

| Tipo de muestra | Nº de muestras |
|---|----------------|
| Sangre de rodaballos reproductores (muestreo incruento) | 25+0 |
| Huevos de besugo | 1+0 |
| Larvas de rodaballos | 1+1 |
| Fluido ovárico de rodaballos | 2+2 |
| Larvas de lenguado | 2+1 |
| Total de muestras | 35 |

Tabla 4.- Ejemplares muestreados de especies silvestres cultivables:

| Especie | Nº de ejemplares |
|------------------|------------------|
| Abadejo | 26 |
| Rodaballos | 25 |
| Lenguados spp | 59 |
| Besugos | 20 |
| Salmón | 0 |
| Trucha salmonada | 0 |
| Total de peces | 130 |

Tabla 5.- Ejemplares muestreados de especies silvestres que frecuentan las instalaciones de acuicultura, merodeadores:

| Especie | Nº de ejemplares |
|---------|------------------|
| Mújel | 51 |

Tabla 6.- Ejemplares muestreados de las especies consideradas monitoras para las patologías víricas analizadas:

| Especie | Nº de ejemplares |
|----------------|------------------|
| Solla | 9 |
| Lubina | 37 |
| Corvina | 7 |
| Coruxo | 16 |
| Jurel | 7 |
| Pargo | 10 |
| Rubio | 14 |
| Salmonete | 45 |
| Sargo | 28 |
| Solla | 9 |
| Total de peces | 182 |

Resultados de análisis virológico Jacumar 2007-Galicia

Tabla 1.

| Tabla Resultados 2007-Proyectos Jacumar+Intecmar: Resultados por especie | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--------|------|-------|------|---------|-------|--------|-----------|----------|-------|---------|------|--------|----------|-------|---------|--------|--------|-------|---------|--------|
| | n° de: | | Mugel | Boga | Abadejo | Sargo | Lubina | Rodaballo | Lenguado | Jurel | Corbina | Raya | Coruxo | Salmonet | Aguja | Caballa | Acedía | Besugo | Solía | Palomet | TOTAL |
| | Aisl. | pcr+ | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| IPNV | 16 | 28 | 2/6 | 3/0 | 1/5 | 1/0 | 5 | 2 | 1/3 | 1 | 0 | 0 | 1/1 | 2/0 | 0 | 0 | 3/2 | 2/2 | 0 | 1 | 16/28 |
| VHSV | 12 | 76 | 2/6 | 4/3 | 1/4 | 2/2 | 5 | 1 | 13 | 3 | 3 | 5 | 2/6 | 1/13 | 1 | 1 | 0/2 | 8 | 0 | 1/0 | 13/76 |
| IHNV | 0 | 5 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0/5 |
| Noda | 0 | 28 | 14 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 7 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0/28 |
| No Id | 16 | 0 | 0 | 3/0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 4/0 | 0 | 1/0 | 1/0 | 2/0 | 1/0 | 0 | 1/0 | 1/0 | 0 | 0 | 1/0 | 16/0 |
| n° peces | | | 58 | 15 | 13 | 6 | 17 | 4 | 27 | 5 | 4 | 5 | 10 | 21 | 1 | 1 | 11 | 12 | 1 | 3 | 214,00 |
| Libres | | | 37 | 6 | 4 | 2 | 8 | 2 | 10 | 1 | 1 | 0 | 2 | 6 | 0 | 0 | 4 | 4 | 1 | 1 | 89,00 |
| % Infects | | | 38,2 | 60,0 | 69,2 | 66,7 | 52,9 | 50,0 | 63,0 | 80,0 | 75,0 | 100 | 80,0 | 71,4 | 100 | 100 | 63,6 | 66,7 | 0 | 66,7 | 58,4 |

Tabla 2.-

| | Lonxa Vigo | | | | | | | | | | | | Loita Mar | |
|---------|-------------------|--------|----------------------|---------|-------|--------|-------------------|-----------------------------|--------|-------------------|-------------------|-------|-----------|----------------------------------|
| | Lubina | Besugo | enguad | Abadejç | Jurel | Lubina | Corbina | Raya | Coruxo | almone | Boga | Aguja | Caballa | Moaña |
| IPNV | 5 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 4 |
| VHSV | 5 | 2 | 6 | 2 | 3 | 0 | 4 | 5 | 2 | 5 | 2 | 1 | 1 | 4 |
| IHNV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Noda | 0 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 8 |
| Nold | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| Coinf | 2 (VP) | 1 (VP) | 5 (3VN) (2VPN) | 1 (VN) | 0 | 0 | 1 (V/Noid) | 2 (1VN) (1V/Noi d) | 0 | 1 (V/Noid) | 1 (V/Noid) | 0 | 1 | 6 (2 PN) (3 VN) 1 (VPN) |
| Neg | 2 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| Total | 10 | 3 | 9 | 2 | 5 | 0 | 4 | 5 | 4 | 6 | 3 | 1 | 1 | 20 |
| % Negts | 20 | 33,3 | 22,2 | 0 | 20 | - | 25 | 0 | 50 | 16,7 | 0 | 0 | 0 | 55 |
| Global | % +: 81,1 (43/53) | | | | | | | % -: 18,9(10/53) | | | | | %+: 45 | |

| | Lonxa Ribeira | | | | | | | | | |
|---------|---------------------------------|----------------------|--------|------------|--------|-------------------|--------|---------------------------------|-------|--------|
| | Sargo | Coruxo | almone | odaball | Acedía | Abadejç | Besugo | enguad | Solla | Lubina |
| IPNV | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 0 | 0 |
| VHSV | 4 | 4 | 5 | 1 | 0 | 1 | 6 | 5 | 0 | 0 |
| IHNV | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Noda | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |
| Nold | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |
| Coinf | 3 (1 VP) (1 VN) (1 VH) | 2 (PVHN /NOID) | 0 | 1 (PVN) | 0 | 0 | 0 | 3 (2VP) (1 V/NOID) | 0 | 0 |
| Neg | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 | 1 | 3 | 4 | 1 | 2 |
| Total | 4 | 4 | 8 | 3 | 2 | 3 | 9 | 9 | 1 | 2 |
| % Negts | 0 | 0 | 25 | 66,7 | 0 | 33,3 | 33,3 | 44,4 | 100 | 100 |
| Global | % +: 66,7 (30/45) | | | | | % -: 33,3 (15/45) | | | | |

| | Lonxa-A Coruña | | | | | | | | | | Lorbé |
|---------|-----------------|--------|-------------------|---------|-------|-----------------|---------------------|--------|--------|----------|---------|
| | Abadejç | Lubina | odaball | enguad | Sargo | Coruxo | Palomet | Acedía | almone | Múgel | Oleiros |
| IPNV | 5 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 3 | 1 | 3 | |
| VHSV | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 1 | 1 | 2 | 3 | 2 | |
| IHNV | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | |
| Noda | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 6 | |
| Nold | 0 | 0 | 1 | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | |
| Coinf | 2 (VP) | 0 | 1 (P/Noid) | 1 (V/N) | 0 | 0 | 1 (H/P/N oid) | 1 (VP) | 2 | 1 (PN) | |
| Neg | 3 | 5 | 0 | 4 | 2 | 0 | 1 | 4 | 3 | 18 | |
| Total | 6 | 5 | 1 | 9 | 2 | 2 | 3 | 9 | 7 | 28 | |
| % Negts | 50 | 100 | 0 | 44,4 | 100 | 0 | 33,3 | 44,4 | 42,9 | 64,3 | |
| Global | % +: 50 (22/44) | | | | | % -: 50 (22/44) | | | | %+: 35,7 | |

| | Sismundi | |
|---------|----------|------------------------------|
| | Múgel | Boga |
| IPNV | 1 | 2 |
| VHSV | 2 | 4 |
| IHNV | 0 | 1 |
| Noda | 0 | 0 |
| Nold | 0 | 2 |
| Coinf | 1 (VP) | 3 (2 VP) (1 H/Noid) |
| Neg | 8 | 6 |
| Total | 11 | 12 |
| % Negts | 72,7 | 50 |
| Global | %+: 39,1 | %-: 60,9 |

Resultados de análisis virológico Jacumar 2008-Galicia

Datos anuales. Resultados de RT-PCR/Nested PCR

Total muestras analizadas 632

Positivos IHNV =42/78

| Especie | No. Positivos PCR/nested | Total analizados | % positivos PCR/nested | Localización | No.peces positivos |
|-----------|--------------------------|------------------|------------------------|--------------|--------------------|
| Abadejo | 2/4 | 46 | 4.3/8.6 | A Coruña | 3 |
| | | | | Vigo | 1 |
| Acedía | 0/0 | 38 | | | |
| Besugo | 4/9 | 51 | 7.8/17.6 | A Coruña | 4 |
| | | | | Ribeira | 4 |
| | | | | Vigo | 1 |
| Corvina | 0/0 | 2 | | | |
| Coruxo | 0/0 | 15 | 7/7 | Vigo | |
| Dorada | 0/0 | 3 | | | |
| Escalo | 0/1 | 1 | | | |
| Lenguado | 3/9 | 60 | 5/15 | A Coruña | 2 |
| | | | | Ribeira | 5 |
| | | | | Vigo | 2 |
| Lubina | 2/2 | 32 | 6.2/6.2 | Burela | 1 |
| | | | | Vigo | 1 |
| Mero | 0/1 | | | | |
| Múgel | 16/21 | 188 | 8.5/11.2 | Esteiro | 1 |
| | | | | Moaña | 4 |
| | | | | Ortigueira | 16 |
| Pargo | 1/1 | 5 | 20/20 | Burela | |
| Raya | 4/4 | 12 | 33/33 | Ribeira | |
| Rodaballo | 1/3 | 25 | 4/12 | A Coruña | 1 |
| | | | | Burela | 2 |
| Salmonete | 5/14 | 84 | 5.9/16.6 | A Coruña | 2 |
| | | | | Burela | 6 |
| | | | | Celeiro | 3 |
| | | | | Ribeira | 1 |
| | | | | Vigo | 2 |
| Sargo | 4/9 | 57 | 7/15.8 | A Coruña | 4 |
| | | | | Burela | 2 |
| | | | | Ribeira | 2 |
| | | | | Vigo | 1 |
| Solla | 0/0 | 10 | | | |
| Xuliana | 0/0 | 2 | | | |

Datos anuales. Resultados de RT-PCR/Nested PCR

Total muestras: 632

Positivos IPNV=54/63

| Especie | No. Positivos PCR/nested | Total analizados | % Positivos PCR/nested | Localización | No. |
|-----------|--------------------------|------------------|------------------------|--------------|-----|
| Abadejo | 2/2 | 46 | 4.3/4.3 | Burela | 1 |
| | | | | Ribeira | 1 |
| Acedía | 1/3 | 38 | 2.6/7.8 | Ribeira | |
| Besugo | 7/7 | 51 | 13.7/13.7 | Ribeira | |
| Corvina | 0/0 | 2 | | | |
| Coruxo | 2/2 | 15 | | Vigo | |
| Dorada | 0/0 | 3 | | | |
| Escalo | 0/0 | 1 | | | |
| Juliana | 0/0 | 2 | | | |
| Lenguado | 4/4 | 60 | | Burela | 1 |
| | | | | Vigo | 3 |
| Lubina | 0/0 | 32 | | | |
| Mero | 0/0 | 1 | | | |
| Múgel | 20/23 | 188 | 10.6/12.3 | Esteiro | 2 |
| | | | | Moaña | 15 |
| | | | | Ortigueira | 5 |
| | | | | Oleiros | 1 |
| Pargo | 2/2 | 5 | 40/40 | Burela | |
| Raya | 1/1 | 12 | 8.3/8.3 | Ribeira | |
| Rodaballo | 5/5 | 25 | 20/20 | Burela | 3 |
| | | | | Celeiro | 2 |
| Salmonete | 7/9 | 84 | 8.3/10.7 | A Coruña | 4 |
| | | | | Burela | 3 |
| | | | | Celeiro | 2 |
| Sargo | 3/5 | 57 | 5.3/8.7 | A Coruña | 2 |
| | | | | Ribeira | 2 |
| | | | | Vigo | 1 |
| Solla | 0/0 | 10 | | | |
| | | | | | |
| | | | | | |

Datos anuales. Resultados de RT-PCR/ Nested PCR

Total muestras: 632

Positivos VHSV= 64/256

| Especie | No. Positivos PCR/nested | Total analizados | %positivos PCR/nested | Localización | No. |
|-----------|--------------------------|------------------|-----------------------|--------------|-----|
| Abadejo | 5/28 | 46 | 11/61 | A Coruña | 11 |
| | | | | Burela | 2 |
| | | | | Ribeira | 11 |
| | | | | Vigo | 4 |
| Acedía | 5/9 | 38 | 13/24 | Ribeira | |
| Besugo | 7/18 | 51 | 14/35 | A Coruña | 7 |
| | | | | Burela | 1 |
| | | | | Ribeira | 5 |
| | | | | Vigo | 5 |
| Corvina | 1/1 | 1 | 50/50 | Celeiro | |
| Coruxo | 3/7 | 15 | 20/47 | Burela | 1 |
| | | | | Vigo | 6 |
| Dorada | 0/1 | 3 | 0/33 | Ribeira | |
| Escalo | | | | | |
| Juliana | 1/1 | 2 | 50/50 | Celeiro | |
| Lenguado | 3/23 | 60 | 5/38 | A Coruña | 3 |
| | | | | Burela | 2 |
| | | | | Celeiro | 3 |
| | | | | Ribeira | 5 |
| | | | | Vigo | 10 |
| Lubina | 12/18 | 32 | 37.5/56 | Burela | 7 |
| | | | | Ribeira | 5 |
| | | | | Vigo | 6 |
| Mero | 0/0 | 1 | | | |
| Múgel | 7/39 | 188 | 3.7/20.7 | Esteiro | 3 |
| | | | | Moaña | 25 |
| | | | | Oleiros | 7 |
| | | | | Ortigueira | 4 |
| Pargo | 1/2 | 5 | 20/40 | Burela | |
| Raya | 0/10 | 12 | 0/83 | Ribeira | |
| Rodaballo | 5/8 | 25 | 20/32 | Burela | 3 |
| | | | | Ribeira | 2 |
| | | | | Vigo | 3 |
| Salmonete | 15/46 | 84 | 18/55 | A Coruña | 18 |
| | | | | Burela | 14 |
| | | | | Celeiro | 2 |
| | | | | Ribeira | 4 |

| | | | | | |
|---------|------|----|--------|----------|----|
| | | | | Vigo | 8 |
| Sargo | 3/39 | 57 | 5.3/68 | A Coruña | 25 |
| | | | | Burela | 4 |
| | | | | Ribeira | 5 |
| | | | | Vigo | 5 |
| Solla | 0/5 | 10 | 0/50 | Ribeira | |
| Juliana | 0/1 | 2 | 0/50 | Celeiro | |

Datos anuales. Resultados de RT-PCR/Nested PCR

Total muestras: 632

Positivos Nodavirus=101

| Especie | No. Positivos PCR/nested | Total analizados | % positivos PCR/nested | Localización | No. |
|-----------|--------------------------|------------------|------------------------|--------------|-----|
| Abadejo | 0/9 | 46 | 0/19 | A Coruña | 2 |
| | | | | Ribeira | 5 |
| | | | | Vigo | 2 |
| Acedía | 0/3 | 38 | 0/8 | A Coruña | 1 |
| | | | | Ribeira | 2 |
| Besugo | 0/14 | 51 | 0/27 | A Coruña | 8 |
| | | | | Ribeira | 2 |
| | | | | Vigo | 4 |
| Corvina | 0/1 | 2 | 0/50 | Celeiro | |
| Coruxo | 0/0 | 15 | | | |
| Dorada | 0/0 | 3 | | | |
| Escalo | 0/0 | 1 | | | |
| Juliana | 0/0 | 2 | | Juliana | 0/2 |
| Lenguado | 0/3 | 60 | 0/5 | Burela | 1 |
| | | | | Vigo | 2 |
| Lubina | 0/3 | 32 | 0/9 | A Coruña | 1 |
| | | | | Ribeira | 1 |
| | | | | Vigo | 1 |
| Mero | 0/0 | 1 | | | |
| Múgel | 0/14 | 188 | 0/7.4 | Esteiro | 7 |
| | | | | Moaña | 4 |
| | | | | Oleiros | 8 |
| | | | | Ortigueira | 5 |
| Pargo | 0/0 | 15 | | | |
| Raya | 0/1 | 12 | 0/8.3 | Ribeira | |
| Rodaballo | 0/8 | 25 | 0/32 | A Coruña | 1 |
| | | | | Burela | 2 |
| | | | | Ribeira | 2 |
| | | | | Vigo | 3 |
| Salmonete | 0/16 | 84 | 0/19 | A Coruña | 6 |

| | | | | | |
|-------|------|----|------|----------|----|
| | | | | Burela | 4 |
| | | | | Celeiro | 1 |
| | | | | Ribeira | 1 |
| | | | | Vigo | 4 |
| Sargo | 0/18 | 57 | 0/31 | A Coruña | 15 |
| | | | | Burela | 2 |
| | | | | Vigo | 1 |
| Solla | 0/1 | 10 | 0/1 | Ribeira | |
| | | | | | |
| | | | | | |

Datos anuales. Aislamiento en cultivo celular

Aislamiento de IHNV= 0

Aislamiento de IPNV=68

| Especie | No. Positivos/Analizados (%) | Localización | No. |
|-----------|------------------------------|--------------|-----|
| Abadejo | 10 /46 (21.7) | A Coruña | 4 |
| | | Celeiro | 3 |
| | | Ribeira | 1 |
| | | Vigo | 2 |
| Acedía | 3/38 (7.9) | Ribeira | 3 |
| Besugo | 13/51 (25) | A Coruña | 5 |
| | | Ribeira | 4 |
| | | Vigo | 4 |
| Corvina | 0/2 | | |
| Coruxo | 6/15 (40) | A Coruña | 1 |
| | | Vigo | 5 |
| Dorada | 0/3 | | |
| Escalo | 0/1 | | |
| Juliana | 0/2 | | |
| Lenguado | 11/60 (18) | Celeiro | 3 |
| | | Ribeira | 3 |
| | | Vigo | 5 |
| Lubina | 0/32 | | |
| Mero | 0/1 | | |
| Múgel | 25/188 (13.3) | Esteiro | 6 |
| | | Moaña | 10 |
| | | Ortigueira | 6 |
| | | Sada | 3 |
| Pargo | 0/5 | | |
| Raya | 0/12 | | |
| Rodaballo | 4/25 (16) | A Coruña | 1 |



Instituto de Acuicultura
Resultados Análisis Medio Salvaje Marino
Jacumar-Intecmar

| | | | |
|-----------|------------|----------|---|
| | | Burela | 2 |
| Salmonete | 14/84 (17) | Ribeira | 1 |
| | | Vigo | 3 |
| Sargo | 13/57 (23) | A Coruña | 6 |
| | | Burela | 2 |
| | | Ribeira | 3 |
| | | Vigo | 2 |
| Solla | 0/10 | | |

Aislamiento de VHSV = 0

Aislamiento de Nodavirus = 0

Resultados de análisis virológico Jacumar 2009-Galicia

Datos anuales IPNV. Total muestras: 355 Merodeadores: 51 Lonjas: 304

Positivos PCR = 45/355 = 13% PCR + Nested = 140/355 = 39%

1º M 22/ 126= 17% 75/126= 59%

2º M 23/ 229= 10% 65/229= 28%

| | 1º muestreo | | | | 2º muestreo | | | | Total | | | |
|-----------|---------------|----|------------------|-----|---------------|----|------------------|----|---------------|----|------------------|----|
| | PCR (+/total) | % | Nested (+/total) | % | PCR (+/total) | % | Nested (+/total) | % | PCR (+/total) | % | Nested (+/total) | % |
| Abadejo | 2/7 | 28 | 6/7 | 86 | 3/20 | 15 | 6/20 | 30 | 5/27 | 18 | 12/27 | 44 |
| Besugo | 0/4 | 0 | 2/4 | 50 | 2/16 | 12 | 8/16 | 50 | 2/20 | 10 | 10/20 | 50 |
| Corvina | No peces | | No peces | | 0/7 | 0 | 1/7 | 14 | 0/7 | 0 | 1/7 | 14 |
| Coruxo | 0/5 | 0 | 4/5 | 80 | 0/11 | 0 | 5/11 | 45 | 0/16 | 0 | 9/16 | 56 |
| Jurel | No peces | | No peces | | 1/7 | 14 | 2/7 | 28 | 1/7 | 14 | 2/7 | 28 |
| Lenguado | 0/21 | 0 | 11/21 | 52 | 5/38 | 13 | 11/38 | 29 | 5/59 | 8 | 22/59 | 37 |
| Lubina | 0/16 | 0 | 2/16 | 12 | 0/21 | 0 | 4/21 | 19 | 0/37 | 0 | 6/37 | 16 |
| Múgel | 16/23 | 69 | 18/23 | 78 | 2/28 | 7 | 3/28 | 11 | 18/51 | 35 | 21/51 | 41 |
| Pargo | 0/4 | 0 | 4/4 | 100 | 2/6 | 30 | 3/6 | 50 | 2/10 | 20 | 7/10 | 70 |
| Rodaballo | 0/13 | 0 | 8/13 | 61 | 3/12 | 25 | 5/12 | 42 | 3/25 | 12 | 13/25 | 52 |
| Rubio | 0/3 | 0 | 2/3 | 67 | 0/11 | 0 | 3/11 | 27 | 0/14 | 0 | 5/14 | 36 |
| Salmonete | 3/25 | 12 | 14/25 | 56 | 2/20 | 10 | 5/20 | 25 | 5/45 | 11 | 19/45 | 42 |
| Sargo | 1/5 | 20 | 4/5 | 80 | 4/23 | 17 | 7/23 | 30 | 5/28 | 18 | 11/28 | 39 |
| Solla | No peces | | No peces | | 0/9 | 0 | 2/9 | 22 | 0/9 | 0 | 2/9 | 22 |

Datos anuales VHSV. Total muestras: 355 Merodeadores: 51 Lonjas: 304

Positivos PCR = 3/355 = 0.8% PCR + Nested = 30/355 = 8%

1º M 1/ 126= 0.7% 11/126= 9%

2º M 2/ 229= 0.8% 19/229= 8%

| | 1º muestreo | 2º muestreo | Total |
|--|-------------|-------------|-------|
|--|-------------|-------------|-------|

| | PCR (+/total) | % | Nested (+/total) | % | PCR (+/total) | % | Nested (+/total) | % | PCR (+/total) | % | Nested (+/total) | % |
|-----------|---------------|----|------------------|----|---------------|---|------------------|----|---------------|---|------------------|----|
| Abadejo | 1/7 | 14 | 2/7 | 28 | 0/20 | 0 | 1/20 | 5 | 1/27 | 4 | 3/27 | 11 |
| Besugo | 0/4 | 0 | 0/4 | 0 | 0/16 | 0 | 1/16 | 6 | 0/20 | 0 | 1/20 | 5 |
| Corvina | No peces | | No peces | | 0/7 | 0 | 0/7 | 0 | 0/7 | 0 | 0/7 | 0 |
| Coruxo | 0/5 | 0 | 0/5 | 80 | 1/11 | 9 | 2/11 | 18 | 1/16 | 6 | 2/16 | 12 |
| Jurel | No peces | | No peces | | 0/7 | 0 | 1/7 | 14 | 0/7 | 0 | 1/7 | 14 |
| Lenguado | 0/21 | 0 | 1/21 | 5 | 0/38 | 0 | 2/38 | 5 | 0/59 | 0 | 3/59 | 5 |
| Lubina | 0/16 | 0 | 2/16 | 12 | 0/21 | 0 | 2/21 | 9 | 0/37 | 0 | 4/37 | 11 |
| Múgel | 0/23 | 0 | 0/23 | 0 | 1/28 | 3 | 1/28 | 3 | 1/51 | 2 | 1/51 | 2 |
| Pargo | 0/4 | 0 | 0/4 | 0 | 0/6 | 0 | 0/6 | 0 | 0/10 | 0 | 0/10 | 0 |
| Rodaballo | 0/13 | 0 | 0/13 | 0 | 0/12 | 0 | 0/12 | 0 | 0/25 | 0 | 0/25 | 0 |
| Rubio | 0/3 | 0 | 0/3 | 0 | 0/11 | 0 | 0/11 | 0 | 0/14 | 0 | 0/14 | 0 |
| Salmonete | 0/25 | 0 | 6/25 | 24 | 0/20 | 0 | 1/20 | 5 | 0/45 | 0 | 7/45 | 15 |
| Sargo | 0/5 | 0 | 0/5 | 0 | 0/23 | 0 | 5/23 | 22 | 0/28 | 0 | 5/28 | 18 |
| Solla | No peces | | No peces | | 0/9 | 0 | 1/9 | 11 | 0/9 | 0 | 1/9 | 11 |

Datos anuales Nodavirus. Resultados de Nested PCR

Total muestras: 355 Merodeadores: 51 Lonjas: 304

Positivos = 76/355 = 21%

1ºM 34/126 = 27%

2ªM 42/229 = 18%

| | 1º muestreo | | 2º muestreo | | Total | |
|-----------|-------------|----|-------------|----|--------|----|
| | Nested | % | Nested | % | Nested | % |
| Abadejo | 1/7 | 14 | 3/20 | 15 | 4/27 | 15 |
| Besugo | 0/4 | 0 | 7/16 | 44 | 7/20 | 35 |
| Corvina | No peces | | 1/7 | 14 | 1/7 | 14 |
| Coruxo | 0/5 | 0 | 2/11 | 18 | 2/16 | 12 |
| Jurel | No peces | | 0/7 | 0 | 0/7 | 0 |
| Lenguado | 9/21 | 43 | 6/38 | 16 | 15/59 | 25 |
| Lubina | 8/16 | 50 | 4/21 | 19 | 12/37 | 32 |
| Múgel | 2/23 | 9 | 4/28 | 14 | 6/51 | 12 |
| Pargo | 1/4 | 25 | 2/6 | 33 | 3/10 | 30 |
| Rodaballo | 1/13 | 8 | 3/12 | 25 | 4/25 | 16 |
| Rubio | 0/3 | 0 | 5/11 | 45 | 5/14 | 36 |



Instituto de Acuicultura
Resultados Análisis Medio Salvaje Marino
Jacumar-Intecmar

| | | | | | | |
|-----------|----------|----|------|----|-------|----|
| Salmonete | 12/25 | 48 | 2/20 | 10 | 14/45 | 31 |
| Sargo | 1/5 | 20 | 3/23 | 13 | 4/28 | 14 |
| Solla | No peces | | 0/9 | 0 | 0/9 | 0 |

4.- ANEXO II. INFORME CANARIAS

Durante el desarrollo de este proyecto hemos analizado un total de 4.554 muestras, correspondiéndose con 885 ejemplares de acuicultura, y los restantes 3.669 con ejemplares de peces silvestres que se encontraban en los alrededores de las jaulas.

En la Figura 1 se muestran las zonas de muestreo en las diferentes islas del archipiélago canario. Los muestreos del primer año, se realizaron en las islas de Tenerife, Gran Canaria y La Palma. A partir del segundo año, se incorporó la isla de Lanzarote al comenzar actividad comercial una empresa productora de peces de acuicultura.

Figura 1.- Localización de los muestreos en el archipiélago canario



Durante el primer año, la isla de Tenerife presentaba dos zonas de muestreo, a estar concentrada toda la producción de la isla en dos polígonos industriales, una en el noreste de la isla, y la otra en el suroeste. A partir del segundo año se eliminó la zona noreste de Tenerife como zona de muestreo debido a los incumplimientos de las cofradías de pescadores de la zona norte y a que sólo existían dos empresas de acuicultura, por más de 20 empresas en la zona sur.

En la Tabla 1 se muestran los muestreos realizados por cada uno de los tres años de duración del presente proyecto. Como observamos en dicha tabla, los ejemplares de acuicultura muestreados se corresponden con 885, siendo las especies doradas y lubinas las mayoritarias (Tabla 2). Los 3.669 restantes se corresponden con especies silvestres, siendo la boga y la cabrilla las especies mayoritarias (Tabla 2).

Tabla 1.- Muestreos realizados por origen y año

| Año | Origen Peces | Total |
|--------------|--------------------|--------------|
| 2007 | Acuicultura | 300 |
| | Silvestres | 890 |
| | Total año | 1.190 |
| 2008 | Acuicultura | 265 |
| | Silvestres | 1.322 |
| | Total año | 1.587 |
| 2009 | Acuicultura | 320 |
| | Silvestres | 1.457 |
| | Total año | 1777 |
| Total | | 4.554 |

Tabla 2.- Tabla de toma de muestras por especie y origen

| Especie | Origen | 2007 | 2008 | 2009 | Total |
|--|-------------|------|------|------|-------|
| Dorada (<i>Sparus aurata</i>) | Acuicultura | 120 | 115 | 155 | 390 |
| | Pesca | 2 | 0 | 0 | 2 |
| Lubina (<i>Dicentrarchus labrax</i>) | Acuicultura | 120 | 105 | 150 | 375 |
| | Pesca | 3 | 0 | 0 | 3 |
| Corvina acuicultura (<i>A. regius</i>) | Acuicultura | 60 | 15 | 0 | 75 |
| | Pesca | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Lenguado (<i>Solea solea</i>) | Acuicultura | 0 | 30 | 15 | 45 |
| | Pesca | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Salema (<i>Salpa salpa</i>) | Pesca | 53 | 45 | 58 | 156 |
| Sargo (<i>Diplodus spp</i>) | Pesca | 97 | 85 | 71 | 253 |
| Besugo | Pesca | 72 | 60 | 55 | 187 |
| Bicuda | Pesca | 45 | 18 | 7 | 70 |
| Caballa (<i>Scomber scombrus</i>) | Pesca | 94 | 70 | 62 | 226 |
| Boga | Pesca | 90 | 195 | 211 | 496 |
| Fula | Pesca | 60 | 70 | 105 | 235 |
| Medregal | Pesca | 1 | 5 | 0 | 6 |
| Palometa | Pesca | 43 | 42 | 47 | 132 |
| Chopa | Pesca | 40 | 71 | 126 | 237 |
| Sardina | Pesca | 107 | 90 | 52 | 249 |
| Mujil (<i>Mujil spp</i>) | Pesca | 66 | 90 | 73 | 229 |
| Cabrilla | Pesca | 72 | 110 | 86 | 268 |
| Pejeverdes | Pesca | 15 | 75 | 92 | 183 |

| | | | | | |
|---------------|-------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| Jurel | Pesca | 0 | 1 | 4 | 5 |
| Pejepeine | Pesca | 0 | 20 | 26 | 46 |
| Tamboriles | Pesca | 10 | 50 | 48 | 108 |
| Bocinegros | Pesca | 0 | 95 | 145 | 240 |
| Brecas | Pesca | 0 | 95 | 145 | 240 |
| Roncadores | Pesca | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Seifios | Pesca | 0 | 2 | 0 | 2 |
| Sama de pluma | Pesca | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Herrerías | Pesca | 0 | 5 | 4 | 9 |
| Lagartos | Pesca | 0 | 15 | 21 | 36 |
| Mojarras | Pesca | 0 | 10 | 6 | 16 |
| Galanas | Pesca | 15 | 0 | 13 | 28 |
| Pejerrey | Pesca | 5 | 0 | 0 | 5 |
| Total | Pesca | 1190 | 1587 | 1777 | 4.554 |

Año 2007

Respecto a las analíticas realizadas, durante el primer año del proyecto, no se detectaron ejemplares positivos para las enfermedades virales objeto de estudio en las 1190 muestras analizadas, tanto de acuicultura como de especies silvestres.

Año 2008

Durante el segundo año del proyecto (2008), encontramos varios ejemplares positivos a nodavirus. Todos estos aislamientos positivos se correspondían con ejemplares de lubina, corvina y lenguados de una misma explotación. De las 30 lubinas analizadas en dicha explotación, un total de 15 lubinas dieron un resultado positivo a la técnica de la nested-PCR. De las 15 corvinas analizadas en la explotación, un total de 10 ejemplares dieron un resultado positivo frente a nodavirus por nested-PCR. De los 15 ejemplares de lenguado analizados, todos dieron un resultado positivo frente a nodavirus por nested-PCR. Tras informar a la empresa de los resultados obtenidos a través de la Consejería de Pesca del gobierno de Canarias, solicitan un contraanálisis al estar en desacuerdo con los resultados obtenidos. Se vuelven a tomar muestras de las jaulas afectadas, y se toman muestras por triplicado. Una muestra es remitida por parte de la empresa al laboratorio de referencia europeo para el nodavirus en Italia. Una segunda muestra es enviada al laboratorio del Doctor Dopazo del Instituto de Acuicultura de la Universidad de Santiago. Una tercera muestra es remitida a nuestro laboratorio. Una vez realizado el contraanálisis, los tres laboratorios confirman que los ejemplares remitidos eran positivos para la nodaviriosis. El resto de los peces analizados

durante el año 2008 presentaron un resultado negativo para las enfermedades investigadas.

Año 2009

Durante el último año del proyecto, no se detectaron ejemplares positivos para las enfermedades virales estudiadas en las 1777 muestras analizadas, tanto de acuicultura como de especies silvestres.

COMENTARIOS GLOBALES

Tras 3 años de muestras, donde hemos analizado un total de 4554 muestras, únicamente hemos encontrado muestras positivas en 40 de ellas, correspondiéndose con un 0,8% del total de las muestras analizadas. Todos los positivos se correspondieron con nodavirus detectados en una misma explotación, viéndose afectadas varias jaulas con lubinas y corvinas, así como varios tanques en tierra con lenguados. Los ejemplares de doradas analizadas de la misma explotación ofrecieron un resultado negativo.

Durante los 3 años de toma de muestras, todos los ejemplares dieron un resultado negativo frente a IPN y VHS, cosa que no ocurre en las demás comunidades autónomas participantes en este proyecto en donde han encontrado varios casos positivos para estas enfermedades. Una posible explicación puede deberse a las particularidades de estos virus, al ser considerados virus de aguas frías, presentando manifestaciones clínicas con temperaturas inferiores a los 14-16°C. En Canarias, difícilmente se alcanzan estas temperaturas, por lo que estos virus no encuentran condiciones óptimas para su desarrollo.