



Organisation  
Mondiale  
de la Santé  
Animale

World  
Organisation  
for Animal  
Health

Organización  
Mundial  
de Sanidad  
Animal

Original: Inglés

Septiembre/octubre de 2013

## INFORME DE LA REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS SANITARIAS PARA LOS ANIMALES ACUÁTICOS DE LA OIE

París (Francia), 30 de septiembre–4 de octubre de 2013

La Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Acuáticos de la OIE (Comisión para los Animales Acuáticos) se reunió en la sede de la Organización, en París, del 30 de septiembre al 4 de octubre de 2013.

La lista de participantes y el temario adoptado figuran en los [Anexos 1 y 2](#).

La Comisión pasó revista a los documentos identificados en el temario, abordó los comentarios enviados por los Países Miembros hasta el 30 de agosto de 2013 e introdujo enmiendas en el *Código Sanitario para los Animales Acuáticos* de la OIE (*Código Acuático*) y en el *Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos* (*Manual Acuático*) allí donde lo consideró oportuno. Las enmiendas aparecen señaladas del modo habitual, mediante doble subrayado y tachado, y figuran en los Anexos del informe.

Los Países Miembros deberán tener presente que, salvo indicación contraria, los textos presentados para comentario pueden someterse a aprobación durante la 82ª Sesión General de la OIE, que tendrá lugar en mayo de 2014. En función de los comentarios recibidos sobre cada texto, la Comisión identificará los textos que se presentarán a aprobación en mayo de 2014 en el informe de su reunión de febrero de 2014.

La Comisión para los Animales Acuáticos anima encarecidamente a los Países Miembros a participar en el desarrollo de las normas internacionales de la OIE enviando comentarios sobre este informe. Sería de gran utilidad que las observaciones se presentaran como propuestas específicas de modificación de texto, basadas en argumentos científicos. Las propuestas de supresión de texto deberán indicarse con '~~tachado~~' y las de introducción, con 'doble subrayado'. Los Países Miembros no deberán recurrir a la función automática de 'control de cambios' del procesador de textos, ya que dichos cambios se pierden al compilar las propuestas de los Países Miembros en los documentos de trabajo de la Comisión.

El cuadro presentado a continuación sintetiza los textos recogidos en los anexos. Los [Anexos 3 a 12](#) se presentan para comentario de los Países Miembros; el [Anexo 13](#) se presenta para información de los Países Miembros.

Los comentarios sobre el presente informe deberán hacerse llegar a la sede de la OIE **antes del 24 de enero de 2014**, a fin de que puedan someterse a consideración durante la próxima reunión de la Comisión, que se celebrará en febrero de 2014. Todos los comentarios deberán enviarse al Departamento de comercio internacional: [trade.dept@oie.int](mailto:trade.dept@oie.int)

<b>Textos para comentario de los Países Miembros</b>	<b>Número de anexo</b>
<b><i>Código Acuático:</i></b>	
Glosario	Anexo 3
Notificación de enfermedades y datos epidemiológicos (Capítulo 1.1.)	Anexo 4
Criterios para la inscripción de las enfermedades de los animales acuáticos en la lista de la OIE (Capítulo 1.2.)	Anexo 5
Hepatopancreatitis necrotizante (Capítulo 9.4.)	Anexo 6
Infección por virus de la anemia infecciosa del salmón (Capítulo 10.5.)	Anexo 7
Modelo de artículos que muestran enmiendas horizontales	Anexo 8
Criterios para determinar la susceptibilidad de los animales acuáticos a agentes patógenos específicos (nuevo Capítulo X.X.)	Anexo 9
Infección por el <i>alfavirus de los salmónidos</i> (Nuevo capítulo 10.X.)	Anexo 10
<b><i>Manual Acuático:</i></b>	
Infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón (Capítulo 2.3.5.)	Anexo 11
Infección por la microvariante del herpesvirus-1 de los ostreidos (Capítulo 2.4.9.)	Anexo 12
<b>Anexos para información de los Países Miembros</b>	
Programa de trabajo 2012/2014 de la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Acuáticos	Anexo 13

## 1. **Código Sanitario para los Animales Acuáticos de la OIE**

La Comisión para los Animales Acuáticos deseó enfatizar que la cuestión de las enfermedades emergentes es importante a la luz de la frecuente aparición de enfermedades nuevas en acuicultura, algunas de las cuales tienen un significativo impacto en la productividad, la sostenibilidad de los recursos y el comercio. La emergencia de enfermedades en animales acuáticos es un hecho frecuente debido a las especies recientemente domesticadas, al elevado número de especies criadas y al rápido crecimiento de la producción en acuicultura.

Durante esta reunión, la Comisión para los Animales Acuáticos examinó varias cuestiones relacionadas con las enfermedades emergentes y la manera cómo se abordan en el *Código Acuático*; entre tales cuestiones figuran la definición de enfermedad emergente (Glosario), los mecanismos para la notificación de una enfermedad emergente (Capítulo 1.1.) y los mecanismos para la inscripción de enfermedades emergentes en la lista de la OIE (Capítulo 1.2.). Todas estas secciones del *Código Acuático* contribuyen a ayudar a los Países Miembros a reconocer enfermedades emergentes importantes y a evitar su propagación garantizando un comercio seguro.

En este informe, los puntos pertinentes figuran en los Ítems 1.1., 1.2. y 1.3. (es decir, Glosario, Capítulo 1.1. y Capítulo 1.2., respectivamente). La Comisión para los Animales Acuáticos recomienda que los comentarios de los Países Miembros tengan en cuenta la interrelación de estos puntos.

### 1.1. **Glosario**

#### ***Veterinario***

A la luz de la enmienda recientemente adoptada para la definición de ‘veterinario’ en el *Código Terrestre*, la Comisión para los Animales Acuáticos acordó enmendar la definición en el *Código Acuático* para armonizarla con la definición del *Código Terrestre*.

### *Enfermedad emergente*

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó la propuesta de revisar la definición de ‘enfermedad emergente’ desarrollada por la Comisión del Código con el objetivo primordial de esclarecerla.

La Comisión para los Animales Acuáticos destacó dos circunstancias distintas de enfermedad emergente: agentes patógenos nuevos o un cambio epidemiológico de agentes patógenos conocidos. Esto queda reflejado en la definición enmendada.

En acuicultura, la emergencia de enfermedades causadas por agentes patógenos desconocidos no es algo inusual; por consiguiente, la definición en el contexto acuático debe incluir la situación en que un agente infeccioso está fuertemente asociado a la enfermedad aunque no se haya demostrado que es el agente causal. La Comisión destacó que esta situación se refleja actualmente en los criterios de inscripción de una enfermedad emergente (Capítulo 1.2.). En vista de ello, la Comisión para los Animales Acuáticos enmendó una vez más la definición como sigue:

designa una enfermedad ~~infección nueva que tiene repercusiones importantes en la sanidad de los animales o la salud de las personas~~ consecutiva a: ~~la evolución o la~~

- ≡ una modificación de un agente patógeno ~~existente, una infección conocida o a su propagación~~ a una nueva zona geográfica o a una nueva especie población de la que antes estaba ausente; o
- ≡ un nuevo agente patógeno reconocido o sospechoso, ~~no identificado anteriormente o una enfermedad diagnosticada por primera vez y que tiene repercusiones importantes en la salud de los animales acuáticos o de las personas.~~

La Comisión para los Animales Acuáticos aclaró que esta definición excluye las enfermedades inscritas en la lista del *Código Acuático*. La Comisión para los Animales Acuáticos informa a los Países Miembros de que los comentarios recibidos sobre esta definición enmendada se someterán a la consideración de la Comisión del Código durante su próxima reunión (11-18 de febrero de 2014) a fin de mantener la armonización entre las definiciones utilizadas en los dos *Códigos*, allí donde se considere oportuno. Por consiguiente, la Comisión para los Animales Acuáticos considerará los comentarios de los Países Miembros junto con la propuesta de la Comisión del Código en su próxima reunión.

Otras cuestiones importantes sobre este tema figuran en los Ítems 1.2. y 1.3. (es decir, Capítulos 1.1. y 1.2.). La Comisión para los Animales Acuáticos recomienda que los comentarios de los Países Miembros tengan en cuenta la interrelación de estos puntos.

### *Especie susceptible*

La Comisión para los Animales Acuáticos consideró que la segunda frase de la definición actual de ‘especie susceptible’ no contribuye a definir este término y propuso, por consiguiente, suprimir dicha frase. Además, la Comisión propuso un cambio en la primera frase a fin de esclarecerla.

‘designa una especie de animales acuáticos en la que se ha demostrado una ~~infección ha sido demostrada~~ por casos naturales o por una exposición experimental al agente patógeno que imita las vías naturales de ~~la infección~~. ~~En cada capítulo del Código Acuático y del Manual Acuático relativo a una enfermedad figura la lista de las especies susceptibles que se conocen actualmente.~~

El Glosario revisado figura en el Anexo 3 para comentario de los Países Miembros.

### **1.2. Notificación de enfermedades y datos epidemiológicos (Capítulo 1.1.)**

La Comisión para los Animales Acuáticos consideró las enmiendas a este capítulo propuestas por la Comisión del Código con el objetivo primordial de aportar una mayor claridad. La Comisión para los Animales Acuáticos incorporó las enmiendas propuestas por la Comisión del Código en el capítulo revisado, con excepción de la del punto e) del Artículo 1.1.3. Para este punto, la Comisión del Código había propuesto referirse a ‘especie hospedador inusual’. Sin embargo, la Comisión para los Animales Acuáticos propuso utilizar la denominación ‘nueva especie hospedador’ por considerar que el término ‘inusual’ es ambiguo y que las ‘nuevas especies hospedadoras’ son importantes para el comercio y deben ser notificadas.

La Comisión para los Animales Acuáticos puso de relieve algunos cambios significativos con respecto a las enfermedades emergentes. Entre ellos figuran:

- (i) la supresión del punto f) en el Artículo 1.1.3. (~~‘cualquier enfermedad emergente con un índice de morbilidad o mortalidad importante, o con posibilidades de ser una zoonosis.’~~) para dejar claro que la definición de enfermedad emergente excluye las enfermedades que figuran en la lista de la OIE;
- (ii) el desarrollo de un nuevo Artículo 1.1.3.bis para hacer una distinción clara entre las distintas obligaciones de notificación de una enfermedad emergente, es decir, la obligación de notificar una enfermedad emergente, y las circunstancias bajo las que la notificación deberá darse por concluida.

La Comisión para los Animales Acuáticos apuntó que la información de los Países Miembros sobre una enfermedad emergente se transmite actualmente a través del sistema de la OIE de alerta de Información sobre Enfermedades de la OIE. La Comisión manifestó su preocupación de que este mecanismo pudiera enfatizar excesivamente el impacto o la importancia de ciertos episodios de enfermedades emergentes y desalentar la notificación. La Comisión acordó plantear esta cuestión al Director general de la OIE.

Otras cuestiones relevantes sobre este tema figuran en los Ítems 1.1. y 1.3. (es decir, Glosario y Capítulo 1.2). La Comisión recomendó que los comentarios de los Países Miembros tengan en cuenta la interrelación de estos ítems.

El Capítulo 1.1. revisado figura en el [Anexo 4](#) para comentario de los Países Miembros.

### **1.3. Criterios para la inscripción de una enfermedad emergente (Capítulo 1.2.)**

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó la importancia de reconocer las enfermedades emergentes en un estadio temprano y de comunicar la información sobre estos episodios a los Países Miembros. En particular, la Comisión examinó ejemplos recientes como el síndrome de necrosis hepatopancreática aguda y la infección por la microvariante del herpesvirus-1 de los ostreidos (OsHv-1).

A pesar de las obligaciones actuales de notificación y presentación de informes sobre enfermedades emergentes descritas en el punto 1 f) del Artículo 1.1.3., la notificación y la presentación de informes han resultado incoherentes. La Comisión para los Animales Acuáticos consideró que la definición revisada de enfermedad emergente y el Capítulo 1.1. revisado, incluido el Artículo 1.1.3.bis, aportan mayor claridad a las obligaciones de notificación y presentación de informes sobre enfermedades emergentes.

La Comisión para los Animales Acuáticos reconsideró la utilidad del mecanismo para la inscripción de enfermedades emergentes en la lista de la OIE (que utiliza los criterios mencionados en el Artículo 1.2.3.). La Comisión apuntó que este mecanismo no es lo bastante adecuado como para garantizar una comunicación eficaz sobre la aparición de una enfermedad emergente. Ese artículo proporciona un mecanismo adicional que exige a los Países Miembros la notificación de enfermedades emergentes específicas, inscritas en la lista. Sin embargo, dicho mecanismo ha establecido requisitos para notificar solo un pequeño número de enfermedades emergentes listadas.

La Comisión para los Animales Acuáticos indicó, asimismo, que la definición enmendada de enfermedades emergentes refleja ahora el conjunto de criterios del Artículo 1.2.3.

Teniendo en cuenta la mayor claridad sobre los requisitos para la notificación y la presentación de informes sobre enfermedades emergentes, el esclarecimiento de la definición de enfermedad emergente y el lento mecanismo para la inscripción de una enfermedad emergente en la lista de la OIE, la Comisión para los Animales Acuáticos propuso la supresión del Artículo 1.2.3.

Otras cuestiones relevantes sobre este tema figuran en los Ítems 1.1. y 1.2. (es decir, Glosario y Capítulo 1.1.). La Comisión recomendó que los comentarios de los Países Miembros tengan en cuenta la interrelación de estos puntos.

El Capítulo 1.2. revisado figura en el [Anexo 5](#) para comentario de los Países Miembros.

#### **1.4. Enfermedades de la lista de la OIE (Capítulo 1.3.)**

##### **Síndrome de necrosis hepatopancreática aguda**

Tras los debates mantenidos por la Comisión para los Animales Acuáticos sobre el síndrome de necrosis hepatopancreática aguda durante su reunión de marzo de 2013, la Comisión pasó revista a la información actual sobre este síndrome.

La Comisión para los Animales Acuáticos consideró que la información disponible puede ser insuficiente como para evaluar la inscripción de la enfermedad según los criterios del Artículo 1.2.2. En particular, la incertidumbre sobre la identidad del agente patógeno (entre las cepas de *Vibrio parahaemolyticus*) y la falta de disponibilidad de una prueba de diagnóstico específica (para diferenciar el agente causal de otras cepas de *V. parahaemolyticus*) implican que es poco probable que se cumplan los criterios de inscripción. A la luz de la propuesta de suprimir el Artículo 1.2.3. relativo a los criterios para la inscripción de una enfermedad emergente, la Comisión para los Animales Acuáticos no considera adecuado inscribir el síndrome de necrosis hepatopancreática aguda como una enfermedad emergente.

No obstante, la Comisión para los Animales Acuáticos convino en que esta enfermedad se ajusta a la definición de enfermedad emergente y en que los Países Miembros deberán notificar la aparición de esta enfermedad de acuerdo con el Artículo 1.1.3.

La Comisión redactó una Ficha técnica de la OIE sobre el síndrome de necrosis hepatopancreática aguda con contribución de expertos. Esta ficha técnica se publicará en la página web de la OIE y se revisará con regularidad a medida que surjan conocimientos nuevos.

La Comisión alienta a los Países Miembros a proporcionar toda información pertinente que contribuya a mejorar dicha Ficha técnica y específicamente datos específicos sobre cómo diagnosticar la enfermedad.

#### **1.5. Control de peligros asociados a los alimentos de los animales acuáticos (Capítulo 6.1.)**

La Comisión para los Animales Acuáticos debatió acerca de la manera de revisar el objetivo, el ámbito de aplicación y el contenido del Capítulo 6.1. La Comisión acordó que el principal objetivo de este capítulo es prevenir la propagación de enfermedades infecciosas a través de los alimentos de los animales acuáticos. Convino, además, en que este capítulo deberá ayudar a los Países Miembros a identificar vías de riesgo y a evaluar los riesgos relacionados con los peligros para la sanidad de los animales acuáticos en los alimentos de dichos animales.

La Comisión desarrollará un capítulo revisado para consideración durante su reunión de febrero de 2014. La Comisión da la bienvenida a comentarios de los Países Miembros sobre esta propuesta.

#### **1.6. Hepatopancreatitis necrotizante (Capítulo 9.4.)**

A la luz de las conclusiones del Comité Internacional de Taxonomía de Bacterias con respecto a la nueva denominación de la bacteria de la hepatopancreatitis necrotizante, *Candidatus Hepatobacter penaei*, la Comisión para los Animales Acuáticos propuso enmendar el Artículo 9.4.1. para integrar ese cambio.

El Capítulo 9.4. revisado figura en el [Anexo 6](#) para comentario de los Países Miembros.

#### **1.7. Infección por virus de la anemia infecciosa del salmón (Capítulo 10.5.)**

En respuesta al comentario de un País Miembro durante la Sesión General de la OIE de mayo de 2013, que solicitaba el esclarecimiento del texto del Artículo 10.5.5. punto 1) sobre la ausencia de especies susceptibles y la declaración de país libre de virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, la Comisión para los Animales Acuáticos propuso suprimir este punto y el punto equivalente en el Artículo 10.5.7. (zona o compartimento) por considerar que son redundantes y que el procedimiento de declaración libre de infección está cubierto por los Artículos 10.5.4. y 10.5.6. respectivamente.

Durante la revisión de este capítulo, la Comisión para los Animales Acuáticos se percató también de que faltaba un artículo específico sobre la 'Importación de productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR'. La Comisión introdujo un nuevo Artículo 10.5.15bis para abordar este caso.

La Comisión para los Animales Acuáticos puso de relieve que las enmiendas horizontales propuestas en el Ítem 1.8. también se han integrado en este capítulo modificado.

El Capítulo 10.5. revisado figura en el Anexo 7 para comentario de los Países Miembros.

## 1.8. Cuestiones horizontales

La Comisión para los Animales Acuáticos señaló una serie de incoherencias en la inclusión de texto relevante en algunos de los capítulos sobre enfermedades y propuso las siguientes enmiendas en todos los capítulos sobre enfermedades.

### Enmienda para todos los capítulos sobre enfermedades:

#### Punto 2 de los Artículos 10.X.9. y 10.X.10., como se indica más abajo:

El texto propuesto para el Capítulo 10.2. fue aprobado en la Sesión General de la OIE de mayo 2013, en aras de una armonización de todos los capítulos.

#### Artículo 10.X.9.

- 2) tratamiento del agua utilizada para el transporte y todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación de modo que garantice la inactivación de 'enfermedad x' o eliminación de modo que impida el contacto de los residuos con *especies susceptibles*.

#### Artículo 10.X.10.

- 2) el agua utilizada para el transporte y todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación sean sometidos a un tratamiento que garantice la inactivación de 'enfermedad x'. Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.2.3.

#### Punto 3 de los Artículos 10.X.4. y 10.X.5., como se indica más abajo:

- 3) ~~Un país en el que el último caso de la enfermedad fue observado en el transcurso de los diez últimos años o cuyo estatus sanitario respecto de la enfermedad infección se desconocía antes de que se ejerciera una vigilancia específica (debido, por ejemplo, a la ausencia de condiciones propicias para la manifestación clínica de la enfermedad de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del Manual Acuático)~~ podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de la enfermedad X si:
  - a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad durante, por lo menos, los dos últimos años, y*
  - b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo indicado en el Capítulo 1.4. durante, por lo menos, los dos últimos años y no se ha detectado la enfermedad X.

La Comisión para los Animales Acuáticos propuso estas enmiendas para aclarar en estos puntos las circunstancias que permiten a un país declararse libre de la enfermedad. La referencia a los diez años y la ausencia de condiciones propicias para la expresión clínica son innecesarias y generan ambigüedad.

#### Punto 4 d) de los Artículos 10.X.4. y 10.X.5., como se indica más abajo:

La Comisión para los Animales Acuáticos propuso estas enmiendas por considerar que la implementación de 'condiciones elementales de bioseguridad' modificadas debe realizarse una vez que se erradica la enfermedad y que el período de dos años no es pertinente en este punto.

- 4d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han reunido ininterrumpidamente desde la erradicación de la enfermedad durante, por lo menos, los dos últimos años.

Artículos 10.X.7. (todos los capítulos sobre enfermedades) y Artículos 10.X.11. (capítulos de peces y anfibios) o Artículo 10.X.10. (capítulos de moluscos y crustáceos)

La Comisión para los Animales Acuáticos tomó nota de que en algunos artículos faltaba la correcta referencia cruzada a otros artículos pertinentes. Propuso que el texto se modificara para asegurar un cruce de referencias correcto con otros artículos relativos al mantenimiento del estatus libre de enfermedad.

#### Enfoque 'Infección por el agente patógeno X'

Además, la Comisión para los Animales Acuáticos señaló que varios capítulos sobre enfermedades llevan el título 'Infección por el agente patógeno X', pero que este enfoque no se ha aplicado de manera coherente en todo el capítulo. La Comisión se asegurará de que esas incoherencias se corrijan en todos los capítulos pertinentes sobre enfermedades en la edición de 2014 del *Código Acuático*. La Comisión acordó que se utilizaran los Capítulos 10.2. y 10.5. recientemente revisados como modelo para la aplicación de estos cambios de nomenclatura.

El modelo de artículos figura en el Anexo 8 para comentario de los Países Miembros.

### **1.9. Criterios para determinar la susceptibilidad de los animales acuáticos a agentes patógenos específicos (Nuevo Capítulo X.X.)**

Se recibieron comentarios de Australia, Canadá, Corea, Estados Unidos de América, Japón, Noruega, Nueva Zelanda, Rusia, Suiza, Taipéi Chino y la Unión Europea.

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó los comentarios de los Países Miembros y modificó el proyecto de capítulo allí donde lo consideró oportuno.

La Comisión para los Animales Acuáticos manifestó su acuerdo con varios Países Miembros que opinaban que este capítulo debía centrarse en los criterios de inscripción de especies susceptibles para su inclusión en el Artículo X.X.2. de los capítulos sobre enfermedades del *Código Acuático*. Con el fin de aclarar este punto, la Comisión propuso reemplazar el título del capítulo por 'Criterios de inscripción de especies susceptibles de infección por un agente patógeno específico'.

En respuesta a los comentarios de los Países Miembros, la Comisión para los Animales Acuáticos aclaró que las disposiciones en los capítulos sobre enfermedades del *Código Acuático* solo se aplican a especies que son susceptibles a infecciones que no incluyen vectores mecánicos. Además, la Comisión puntualizó que la definición de 'enfermedad' del *Código Acuático* designa la infección clínica o no y que, por tanto, la susceptibilidad de una especie significa susceptibilidad a la infección por un agente causante. Los criterios propuestos están concebidos para evaluar la susceptibilidad a la infección.

En respuesta a los comentarios de los Países Miembros de que solo se incluyeran en el *Código Acuático* 'especies susceptibles concluyentes', la Comisión para los Animales Acuáticos reconoció la posible ambigüedad resultante al introducir 'especies susceptibles concluyentes' y 'especies susceptibles posibles'. Por consiguiente, la Comisión enmendó el capítulo eliminando tales términos.

Además, el Artículo X.X.7. fue enmendado para indicar claramente que, cuando existan pruebas pero sean insuficientes para demostrar la susceptibilidad de una especie, esta especie se incluirá en la sección 2.2.1. del capítulo correspondiente sobre enfermedades del *Manual Acuático*. La Comisión para los Animales Acuáticos incluyó texto para recalcar que, si se considera que una especie puede plantear un riesgo de transmisión del agente patógeno en cuestión, las Autoridades Competentes deberán llevar a cabo un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del *Código Acuático*. De acuerdo con la intención de la Comisión para los Animales Acuáticos de centrarse solo en especies susceptibles, la Comisión acordó suprimir el Artículo X.X.8. propuesto, 'Relación taxonómica de las especies susceptibles'. Igualmente, aclaró que, una vez aprobado el Capítulo X.X., estos criterios se aplicarán para determinar especies susceptibles para cada enfermedad de la Lista. La Comisión propuso convocar un grupo *ad hoc* para llevar a cabo evaluaciones según los criterios, que luego se transmitirán a los Países Miembros para comentario. Todo cambio subsiguiente en la lista de especies susceptibles del Artículo X.X.2. de los capítulos sobre enfermedades del *Código Acuático*, se difundirá para recabar comentarios de los Países Miembros antes de la propuesta de aprobación.

Si el proyecto de capítulo se aprueba y una vez que se haya completado la determinación de la susceptibilidad de las especies, la Comisión para los Animales Acuáticos propone que el siguiente texto del Artículo X.X.2 (Ámbito de aplicación) de los capítulos sobre enfermedades del *Código Acuático* ‘Las recomendaciones de este capítulo se aplican a todas las demás especies susceptibles mencionadas en el *Manual Acuático* que sean objeto de comercio internacional’ sea eliminado y reemplazado por ‘Cuando las recomendaciones de este capítulo se apliquen a cualquier otra especie, las *Autoridades Competentes* deberán llevar a cabo un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del *Código Acuático*’.

El Capítulo X.X. revisado figura en el [Anexo 9](#) para comentario de los Miembros.

#### **1.10. Infección por el alfavirus de los salmónidos (Nuevo Capítulo 10.X.)**

Tras la aprobación de la ‘Infección por el alfavirus de los salmónidos’ como enfermedad inscrita en la lista de la OIE durante la Sesión General de la OIE de mayo de 2013, la Comisión para los Animales Acuáticos desarrolló un nuevo proyecto de capítulo sobre la ‘Infección por el alfavirus de los salmónidos’ para su inclusión en el *Código Acuático*.

La Comisión para los Animales Acuáticos apuntó que la lista de mercancías en los Artículos 10.X.3., 10.X.12. y 10.X.13. está ‘en estudio’. La Comisión pidió que volviera a convocarse el Grupo *ad hoc* encargado de las mercancías inocuas para llevar a cabo evaluaciones sobre la gama de mercancías comúnmente comercializadas a escala internacional según los criterios mencionados en el Capítulo 5.4. y sobre la inocuidad de los huevos desinfectados. La Comisión pidió que el Grupo *ad hoc* le enviara su informe antes de la reunión de febrero de 2014 para poder actualizar los artículos pertinentes.

La Comisión para los Animales Acuáticos puntualizó que las enmiendas horizontales propuestas en el Ítem 1.8. se han incorporado en el proyecto de capítulo.

El nuevo Capítulo 10.X. figura adjunto al [Anexo 10](#) para comentario de los Países Miembros.

#### **1.11. Futuro trabajo sobre diferenciación de agentes patógenos**

La Comisión para los Animales Acuáticos pasó revista a todas las enfermedades de la Lista y examinó posibles cuestiones relacionadas con el enfoque de la diferenciación de agentes patógenos. La Comisión reconoció que es preciso aclarar el ámbito de aplicación en el capítulo sobre la enfermedad de la cabeza amarilla del *Código Acuático* y armonizar el *Código Acuático* y el *Manual*. La Comisión debatirá más ampliamente sobre este tema en su reunión de febrero de 2014.

#### **1.12. Código Acuático - Índice**

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó el Índice del *Código Acuático* y acordó que el Capítulo 6.1. estaría mejor ubicado bajo el Título 4. Recomendaciones generales: Prevención y control de las enfermedades. A raíz de esta propuesta de cambio, la Comisión acordó cambiar la denominación del Título 6 para reflejar mejor sus contenidos. La Comisión propuso que el Título 6 ‘Salud pública veterinaria’ pasara a llamarse ‘Recomendaciones para la utilización de agentes antimicrobianos en animales acuáticos’. La Comisión solicitó que el Departamento de comercio internacional de la OIE implementara esta propuesta en la edición del *Código Acuático* de 2014.

## **2. Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos de la OIE**

La Sra. Sara Linnane, del Departamento Científico y Técnico, se incorporó a la reunión para tratar este punto del temario.

### **2.1. Revisión de los capítulos del *Manual Acuático***

Se recibieron comentarios de Australia y de la Unión Europea.

#### **2.1.1. Capítulo 2.3.5. Infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón**

La Comisión para los Animales Acuáticos, en concertación con el experto designado de la OIE, pasó revista a los comentarios de los Países Miembros y enmendó el texto allí donde lo consideró oportuno.



El Capítulo 2.3.5. revisado figura en el [Anexo 11](#), en inglés, para comentario de los Países Miembros. La versión en español estará disponible tras la aprobación del capítulo en 2014.

#### **2.1.2. Capítulo 2.4.9. Infección por la microvariante del herpesvirus-1 de los ostreidos**

La Comisión para los Animales Acuáticos, en concertación los autores del capítulo, pasó revista a los comentarios de los Países Miembros y enmendó el texto allí donde lo consideró oportuno.

El Capítulo 2.4.9. revisado figura en el [Anexo 12](#), en inglés, para comentario de los Países Miembros. La versión en español estará disponible tras la aprobación del capítulo en 2014.

#### **2.1.3. Capítulo 2.1.4. Infección por el alfavirus de los salmónidos**

La Comisión para los Animales Acuáticos señaló que el proyecto de capítulo para el *Manual Acuático* está en proceso de elaboración pero se entregará a la OIE a mediados de noviembre de 2013. Una vez recibido, se enviará a todos los Países Miembros para su examen con la petición de que envíen sus comentarios antes de la reunión de febrero de 2014 a fin de que el capítulo sea aprobado rápidamente.

### **2.2. Documentos de orientación específicos sobre la vigilancia de una enfermedad de los peces, los moluscos y los crustáceos**

La Comisión para los Animales Acuáticos estudió los tres documentos separados que proporcionan ejemplos de cómo desarrollar sistemas de vigilancia específicos para una enfermedad de los peces, los moluscos y los crustáceos. La Comisión acordó que, de estos documentos, el relativo a la septicemia hemorrágica viral se publicara en el sitio web de la OIE. Los ejemplos restantes para la enfermedad de las manchas amarillas y la infección por *Bonamia ostreae* requieren más enmiendas antes de ser publicados en el sitio web de la OIE.

La Comisión emprenderá este trabajo y examinará los documentos revisados durante su próxima reunión en febrero de 2014.

## **3. Centros de Referencia de la OIE**

### **3.1. Comentarios sobre los sistemas de gestión de la calidad de los Laboratorios de Referencia**

La Dra. Min-Kyung Park, del Departamento científico y técnico de la OIE, se incorporó a la reunión para este punto del temario. En la reunión anterior, la Dra. Park había presentado un análisis de las actividades de los Centros de Referencia de la OIE, recopiladas a través de los informes anuales de 2012. La Comisión para los Animales Acuáticos tomó nota de que algunos de los laboratorios están en fase de finalización de un sistema de gestión de la calidad reconocido internacionalmente. La Comisión indicó que se enviaría a esos laboratorios una carta de aliento con la petición de que presentaran a la OIE una actualización de todos los avances realizados durante el año.

La Comisión para los Animales Acuáticos expresó su preocupación por el hecho de que algunos Laboratorios de Referencia de la OIE no tuvieran un sistema de gestión de la calidad ni planes para implementar uno, pese a ser un requisito enunciado en el mandato para los Laboratorios de Referencia de la OIE. La Comisión tomó nota de que se enviara una carta a esos laboratorios indicando que el no cumplimiento del Capítulo 1.1.1. del *Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos* de la OIE titulado: *Gestión de la calidad en los laboratorios de pruebas veterinarias*, podría llevar a que se supriman de la Lista.

### **3.2. Conferencia mundial de los Centros de Referencia de la OIE, Seúl, Corea (República de), 14–16 de octubre de 2014**

La tercera Conferencia mundial de los Centros de Referencia se celebrará en Seúl, Corea (República de) del 14 al 16 de octubre de 2014. Los principales temas del evento serán: el fortalecimiento de la red de Centros de Referencia de la OIE, los sistemas de gestión de la calidad en los laboratorios, la consolidación de los vínculos entre los Centros de Referencia y los Servicios Veterinarios, y las bases de datos mundiales de secuencias de agentes patógenos.

La Comisión recalcó la importancia del primero de dichos temas para los Centros de Referencia de los animales acuáticos y acogió favorablemente el plan para organizar una sesión paralela específicamente dedicada a los Centros de Referencia para los animales acuáticos.

### **3.3. Retirada del estatus de Laboratorio de Referencia de la OIE**

La Comisión apuntó que los siguientes Laboratorios de Referencia de la OIE ya no desean ser designados como tales y serán retirados de la Lista:

- Laboratorio de Referencia de la OIE para la Baculovirus esférica (baculovirus de tipo *Penaeus monodon*) en la Universidad Nacional de Taiwán, en Taipéi Chino.
- Laboratorio de Referencia de la OIE para la Infección por *Batrachochytrium dendrobatidis* en el Laboratorio Australiano de Sanidad Animal, en Australia.

La Comisión para los Animales Acuáticos señaló que actualmente no existe ningún Laboratorio de Referencia de la OIE para la Infección por *Batrachochytrium dendrobatidis* e invita a presentar solicitudes para la designación como Laboratorio de Referencia de la OIE para esta enfermedad de la Lista.

### **3.4. Examen de las nominaciones de expertos sustitutos**

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó y aceptó la siguiente nominación para la sustitución de un experto del Laboratorio de Referencia de la OIE para la necrosis hematopoyética epizootica y para la infección por ranavirus:

El Dr. Nick Moody sustituirá al Dr. Alex Hyatt en el Laboratorio Australiano de Sanidad Animal de Geelong, Victoria, Australia.

## **4. Proyectos de hermanamiento de la OIE**

El Dr. Gounalan Pavade, del Departamento científico y técnico de la OIE, informó a la Comisión sobre tres proyectos de hermanamiento: Estados Unidos/República Popular de China para la necrosis hematopoyética infecciosa; Estados Unidos/Indonesia para las enfermedades de los crustáceos/camarones; y Japón/Indonesia para el herpesvirus de la carpa koi.

## **5. Plan de trabajo 2014 de la Comisión para los Animales Acuáticos**

La Comisión para los Animales Acuáticos estudió y actualizó el plan de trabajo, que proporciona a los Países Miembros una perspectiva general de las actividades futuras.

El plan de trabajo detallado de la Comisión figura en el [Anexo 13](#) para información de los Países Miembros.

## **6. Otras cuestiones**

### **6.1. Conferencia mundial de la OIE sobre sanidad de los animales acuáticos**

La Dra. Gillian Mylrea, jefa adjunta del Departamento de comercio internacional, informó a la Comisión para los Animales Acuáticos que la OIE se ofrece organizar la tercera Conferencia mundial sobre sanidad de los animales acuáticos en enero de 2015, a la espera de confirmación de un posible país anfitrión.

### **6.2. Comentarios en línea**

La Comisión para los Animales Acuáticos debatió acerca de la utilización de sistemas de comentario en línea por parte de la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria y de la CCA, y recomendó al Departamento de comercio internacional que recabara más información acerca de cómo podría utilizarse dicho sistema en la OIE e informara de ello a la Comisión del Código.

## **7. Próximas reuniones**

La Comisión para los Animales Acuáticos propuso celebrar sus próximas reuniones del 24 al 28 de febrero de 2014 y del 29 de septiembre al 3 de octubre de 2014.

---

.../Anexos



**INFORME DE LA REUNIÓN DE LA  
COMISIÓN DE NORMAS SANITARIAS PARA LOS ANIMALES ACUÁTICOS DE LA OIE**

**París (Francia), 30 de septiembre–4 de octubre de 2013**

**Lista de participantes**

**MIEMBROS DE LA COMISIÓN**

---

**Dr Franck Berthe**

*Presidente*

European Food Safety Authority - EFSA  
Head of Animal Health and Animal Welfare  
Unit

Via Carlo Magno 1, Parma  
ITALIA

Tel.: + 39 052 1 036 870

Fax: + 39 052 1 036 0870

Franck.Berthe@efsa.europa.eu

**Dr Jie Huang**

*Vice presidente*

Maricultural Organism Diseases Control &  
Molecular Pathology Laboratory,  
Yellow Sea Fisheries Research Institute,  
Chinese Academy of Fishery Sciences

106 Nanjing Road  
Qingdao, SD 266071

PR CHINA

Tel.: +86 532 582 3062

Fax: +86-532-5811514

huangjie@ysfri.ac.cn

**Dr Victor Manuel Vidal Martínez**

*Vice president*

Centro de Investigación y de  
Estudios Avanzados del Instituto  
Politécnico Nacional  
Carretera Antigua a Progreso Km. 6  
Apartado Postal 73 Cordemex  
Mérida,

Yucatán C.P. 97310

MÉXICO

Tel.: +52 99 99 42 94 72

Fax: +52 99 81 29 17

vvidal@mda.cinvestav.mx

**Dr Ingo Ernst**

Director, Aquatic Animal Health  
Animal Health Policy Branch  
Australian Government Department of  
Agriculture

GPO Box 858

Canberra ACT 2601

AUSTRALIA

Tel.: 02 627 256 15

Fax: 02 627 231 50

ingo.ernst@daff.gov.au

**Dr Brit Hjeltnes**

Deputy Director, Fish and Shellfish Health  
National Veterinary Institute  
PO Box 750 Sentrum, N-0106

Bergen

NORUEGA

Tel.: +47 918 893 76

brit.hjeltnes@vetinst.no

**Dr Alicia Gallardo Lagno**

Subdirectora nacional de acuicultura  
Servicio Nacional de Pesca y  
Acuicultura

Calle Victoria 2832

CHILE

Tel.: +56 32 281 9282

agallardol@semapesca.cl

**SEDE DE LA OIE**

---

**Dr Bernard Vallat**

Director General  
OIE

12, rue de Prony

75017 Paris

FRANCIA

Tel.: 33 - (0)1 44 15 18 88

Fax: 33 - (0)1 42 67 09 87

oie@oie.int

**Dr Derek Belton**

Jefe

Departamento de comercio internacional

OIE

d.belton@oie.int

**Ms Sara Linnane**

Secretaria de redacción científica

Departamento científico y técnico

OIE

s.linnane@oie.int

**Dr Gillian Mylrea**

Comisionado

Departamento de comercio internacional

OIE

g.mylrea@oie.int

**Flavia Godoy**

Intern

Departamento de comercio internacional

University of Sao Paulo

Brazil



**INFORME DE LA REUNIÓN DE LA  
COMISIÓN DE NORMAS SANITARIAS PARA LOS ANIMALES ACUÁTICOS DE LA OIE**

**París (Francia), 30 de septiembre–4 de octubre de 2013**

---

**Temario aprobado**

1. *Código Sanitario para los Animales Acuáticos* de la OIE
  - 1.1. Glosario
  - 1.2. Notificación de enfermedades y datos epidemiológicos (Capítulo 1.1.)
  - 1.3. Criterios para la inscripción de una enfermedad emergente en la lista de enfermedades de los animales acuáticos (Capítulo 1.2.)
  - 1.4. Enfermedades de la lista de la OIE (Capítulo 1.3.)
  - 1.5. Control de peligros asociados a los alimentos de los animales acuáticos (Capítulo 6.1.)
  - 1.6. Hepatopancreatitis necrotizante (Capítulo 9.4.)
  - 1.7. Infección por virus de la anemia infecciosa del salmón (Capítulo 10.5.)
  - 1.8. Cuestiones horizontales
  - 1.9. Criterios para determinar la susceptibilidad de los animales acuáticos a agentes patógenos específicos (nuevo Capítulo X.X.)
  - 1.10. Infección por el *alfavirus de los salmónidos* (Nuevo Capítulo 10.X.)
  - 1.11. Futuro trabajo sobre diferenciación agentes patógenos
  - 1.12. *Código Acuático* - Índice
2. *Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos* de la OIE
  - 2.1. Revisión de los capítulos del *Manual Acuático*
    - 2.1.1. Capítulo 2.3.5 Infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón
    - 2.1.2. Capítulo 2.4.9 Infección por la microvariante del herpesvirus-1 de los ostreidos
    - 2.1.3. Capítulo 2.1.4 Infección por el alfavirus de los salmónidos
  - 2.2. Documentos de orientación específicos sobre la vigilancia de una enfermedad de los peces, los moluscos y los crustáceos

Anexo 2 (cont.)

3. Centros de Referencia de la OIE
  - 3.1. Comentarios sobre los sistemas de gestión de la calidad de los Laboratorios de Referencia
  - 3.2. Conferencia mundial de los Centros de Referencia de la OIE, Seúl, Corea (República de), 14–16 de octubre de 2014
  - 3.3. Retirada del estatus de Laboratorio de Referencia de la OIE
  - 3.4. Examen de las nominaciones de expertos sustitutos
4. Proyectos de hermanamiento de la OIE
5. Plan de trabajo 2014 de la Comisión para los Animales Acuáticos
6. Otras cuestiones
  - 6.1. Conferencia mundial de la OIE sobre sanidad de los animales acuáticos
7. Próximas reuniones



## GLOSARIO

### **Enfermedad emergente**

designa una enfermedad ~~infección nueva que tiene repercusiones importantes en la sanidad de los animales o la salud de las personas~~ consecutiva a: ~~la evolución o la~~

- = una modificación de un agente patógeno existente, ~~una infección conocida~~ o a la propagación de este que se extiende a una zona geográfica o a una especie población de la que antes estaba ausente; o
- = un nuevo agente patógeno reconocido o sospechoso, ~~no identificado anteriormente~~ o una enfermedad diagnosticada por primera vez y que tiene repercusiones importantes en la salud de los animales acuáticos o de las personas.

### **Especie susceptible**

designa una especie de *animales acuáticos* en la que se ha demostrado una ~~infección ha sido demostrada~~ por casos naturales o por una exposición experimental al agente patógeno que imita las vías naturales de ~~la infección~~. En cada capítulo del ~~Código Acuático y del Manual Acuático~~ relativo a una ~~enfermedad~~ figura la lista de las ~~especies susceptibles~~ que se conocen actualmente.

### **Veterinario**

designa a una persona con la debida formación registrada o autorizada por el *organismo veterinario estatutario* de un país para ejercer la medicina o la ciencia veterinaria en dicho país.

---

-----  
— Texto suprimido.



## CAPITULO 1.1.

# NOTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES Y DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

### Artículo 1.1.1.

A efectos del *Código Acuático* y de conformidad con los Artículos 5, 9 y 10 de los Estatutos Orgánicos de la OIE, todos los Países Miembros reconocen a la Sede el derecho de comunicarse directamente con la *Autoridad Competente* de su o sus territorios.

Cualquier *notificación* o información enviada por la OIE a una *Autoridad Competente* se considerará enviada al Estado al que ésta pertenece y cualquier *notificación* o información enviada a la OIE por una *Autoridad Competente* se considerará enviada por el Estado al que ésta pertenece.

### Artículo 1.1.2.

- 1) Los Países Miembros pondrán a disposición de los demás Países Miembros, por mediación de la OIE, la información necesaria para impedir la propagación de *enfermedades* de los *animales acuáticos* importantes y de sus *agentes patógenos* y para facilitar su control a nivel mundial.
- 2) Con dicho fin, los Países Miembros aplicarán lo dispuesto en el Artículo 1.1.3.
- 3) Para que la información transmitida a la OIE sea clara y concisa, los Países Miembros deberán atenerse con la mayor exactitud posible al modelo oficial de declaración de *enfermedades* de la OIE.
- 4) Considerando que los conocimientos científicos sobre la relación entre *agentes patógenos* y la *enfermedad* clínica están en constante evolución y que la presencia de un agente infeccioso no implica necesariamente la presencia clínica de una *enfermedad*, los Países Miembros velarán por que sus informes se atengan al espíritu y objeto del punto 1 arriba citado. Esto implica que deberá notificarse la detección del agente infeccioso de una *enfermedad de la lista de la OIE* en un *animal acuático* incluso en ausencia de signos clínicos ~~de la enfermedad~~.
- 5) Además de las *notificaciones* enviadas en aplicación del Artículo 1.1.3., los Países Miembros proporcionarán información sobre las medidas adoptadas para prevenir la propagación de las *enfermedades*, en particular sobre las medidas de *cuarentena* y restricciones al movimiento de *animales acuáticos*, *productos de animales acuáticos*, *productos biológicos* y objetos diversos que, por su índole, pudieran ser responsables de la transmisión de *enfermedades*. En el caso de *enfermedades* transmitidas por vectores, se deberán indicar también las medidas adoptadas para controlarlos.

### Artículo 1.1.3.

Las *Autoridades Competentes*, bajo la responsabilidad del Delegado, deberán enviar a la Sede:

- 1) ~~en conformidad de acuerdo~~ con las debidas disposiciones ~~pertinentes en de~~ los capítulos específicos de ~~sobre~~ *enfermedades*, una *notificación* a través del Sistema Mundial de Información Zoonosaria (WAHIS) o por ~~facsimil~~ fax o correo electrónico en el plazo de 24 horas de:
  - a) la aparición por primera vez de una *enfermedad de la lista de la OIE* en un país, una zona o un compartimento;
  - b) la reaparición de una *enfermedad de la lista de la OIE* en un país, una zona o un compartimento después de haberse declarado en el informe final que se había extinguido el brote;
  - c) la aparición por primera vez de cualquier cepa nueva de un *agente patógeno* de una *enfermedad de la lista de la OIE* en un país, una zona o un compartimento;

## Anexo 4 (cont.)

- d) ~~el aumento~~ cambio repentino e inesperado de la distribución; ~~o el aumento de~~ la incidencia, la virulencia, la morbilidad o la mortalidad causadas por el agente etiológico de una *enfermedad de la lista de la OIE que prevalece presente* en un país, una zona o un compartimento;
- e) ~~cualquier cambio observado en la epidemiología~~ la aparición por primera vez de una *enfermedad de la lista de la OIE en una nueva especie hospedadora* (cambio de huésped, de patogenicidad o de cepa incluidos); ~~especialmente si puede tener repercusiones zoonóticas;~~
- f) ~~cualquier enfermedad emergente con un índice de morbilidad o mortalidad importante, o con posibilidades de ser una zoonosis.~~

Para decidir si un hallazgo justifica una *notificación* inmediata (en el plazo de 24 horas), los Países Miembros deberán guiarse por el afán de respetar las obligaciones definidas en los Capítulos 5.1. y 5.2. (en particular en el Artículo 5.1.1.) para notificar los cambios que pueden tener repercusiones en el *comercio internacional*;

- 2) informes semanales consecutivos a la *notificación* enviada en aplicación del punto 1 anterior para suministrar información adicional sobre la evolución del episodio que justificó la *notificación*; estos informes deberán seguir enviándose hasta que se haya ~~side~~ erradicado la *enfermedad* o la situación se haya tornado suficientemente estable, momento a partir del cual el País Miembro cumplirá con sus obligaciones con la OIE enviando los informes semestrales mencionados en el punto 3; en cualquier caso, ~~se deberá~~ enviarse un informe final sobre ~~el~~ cada episodio notificado;
- 3) informes semestrales sobre la ausencia o la presencia y la evolución de *enfermedades de la lista de la OIE*, así como sobre hallazgos relativos a otras *enfermedades* que revisten interés epidemiológico para los demás Países Miembros;
- 4) informes anuales relativos a cualquier información importante para los demás Países Miembros.

~~Aunque los Países Miembros sólo tendrán la obligación de notificar las enfermedades de la lista de la OIE y las enfermedades emergentes de acuerdo con los puntos 1 a 4 enumerados anteriormente, se les invita a informar a la OIE de cualesquiera otros episodios zoonosarios epidemiológicamente significativos.~~

## Artículo 1.1.3.bis

Las Autoridades Veterinarias, bajo la responsabilidad del Delegado, deberán enviar a la Sede:

- 1) una notificación a través de WAHIS o por fax o correo electrónico cuando se haya detectado una enfermedad emergente en un país, una zona o un compartimento;
- 2) informes periódicos tras la notificación de una enfermedad emergente descrita en el punto 1; los informes deberán seguir enviándose hasta que se haya erradicado la enfermedad, la situación se haya tornado suficientemente estable o se disponga de información científica para determinar si la enfermedad reúne los criterios de inscripción en la lista.

## Artículo 1.1.4.

- 1) La *Autoridad Competente* de un país en el que está ubicada una *zona infectada* o un *compartimento infectado* avisará a la *Sede* tan pronto como dicha *zona* o dicho *compartimento* quede libre de la *enfermedad*.
- 2) Una *zona infectada* o un *compartimento infectado* por una *enfermedad* determinada podrá considerarse libre de la misma cuando haya transcurrido, después de la declaración del último caso, un período de tiempo superior al *período de infecciosidad* indicado en el *Código Acuático* y se hayan adoptado todas las medidas de profilaxis y las medidas zoonosarias adecuadas para prevenir su reaparición o su propagación. La descripción detallada de estas medidas figura en los diferentes capítulos del *Código Acuático*.
- 3) Podrá considerarse que un País Miembro está de nuevo libre de una *enfermedad* determinada cuando reúna las debidas condiciones previstas en el *Código Acuático*.
- 4) La *Autoridad Competente* de un País Miembro que establezca una o varias *zonas libres* o un o varios *compartimentos libres* deberá notificarlo a la *Sede* facilitando los datos necesarios, entre los cuales deberán figurar los criterios sobre los que se basa el establecimiento del estatus libre y las condiciones para mantenerlo e indicando con claridad la ubicación de las *zonas* o los *compartimentos* en un mapa del territorio del País Miembro.

## Artículo 1.1.5.

- 1) Aunque los Países Miembros sólo tendrán la obligación de notificar las enfermedades de la lista de la OIE y las enfermedades emergentes, se les invita a informar a la OIE de cualesquiera otros episodios zoonosarios significativos.
- 2) La Sede deberá comunicar a las *Autoridades Competentes* por correo electrónico o a través de la base de datos del Sistema Mundial de Información Zoonosaria (WAHID) cuantas *notificaciones* reciba en aplicación de los Artículos 1.1.2. a 1.1.4., así como cualquier otra información pertinente.

---

-----

— Texto suprimido.



## CAPÍTULO 1.2.

## CRITERIOS PARA LA INSCRIPCIÓN DE LAS ENFERMEDADES DE LOS ANIMALES ACUÁTICOS EN LA LISTA DE LA OIE

## Artículo 1.2.1.

**Introducción**

El presente capítulo describe los criterios para la inscripción de las *enfermedades* del Capítulo 1.3. del *Código Acuático*. El objetivo de la inscripción es apoyar los esfuerzos de los Países Miembros en la prevención de la propagación transfronteriza de importantes *enfermedades* de los *animales acuáticos* por medio de una declaración transparente y coherente.

Para las *enfermedades de la lista de la OIE* de acuerdo con el Artículo 1.2.2., los capítulos correspondientes de *enfermedades* del *Código Acuático* recogen las normas aplicables para garantizar el comercio inocuo de los *animales acuáticos* y de sus productos.

~~La finalidad de la inscripción en la lista en virtud del Artículo 1.2.3. consiste en reconocer importantes *enfermedades emergentes* y recopilar información epidemiológica pertinente. Esa información se reúne para permitir contemplar ulteriormente la posibilidad de incluir esa *enfermedad* en la lista de acuerdo con el Artículo 1.2.2. Las *enfermedades* inscritas en virtud del Artículo 1.2.3. no cuentan con un capítulo correspondiente en el *Código Acuático* y, por lo tanto, carecen de normas específicas a efectos del *comercio internacional*. Los Países Miembros únicamente deberán imponer requisitos comerciales específicos para una *enfermedad* cuando éstos se justifiquen en una *evaluación del riesgo* científica.~~

Los requisitos de *notificación* de las *enfermedades de la lista de la OIE* figuran en el Capítulo 1.1.

## Artículo 1.2.2.

**Criterios para inscribir una enfermedad de los animales acuáticos en la lista de la OIE**

Las *enfermedades* que se propongan para inscripción en la lista deberán reunir los criterios pertinentes, tal como se indican en: A. Consecuencias, B. Propagación y C. Diagnóstico. Por consiguiente, para ser inscrita en la lista, una *enfermedad* debe reunir las siguientes características: 1 ó 2 ó 3; y 4 ó 5; y 6; y 7; y 8. Estas propuestas irán acompañadas por una *definición de caso* para la *enfermedad* considerada.

No.	Criterios para la inscripción	Notas explicativas
<b>A. Consecuencias</b>		
1.	Se ha demostrado que la enfermedad causa pérdidas significativas de producción a nivel nacional o multinacional (zonas o regiones).	Se ha establecido un patrón general según el cual la enfermedad provocará pérdidas en las especies susceptibles, y la morbilidad y la mortalidad están relacionadas básicamente con el agente infeccioso y no con factores relativos a la gestión o el medio ambiente. (La morbilidad incluye, por ejemplo, pérdida de producción por falta de desove.) Las repercusiones económicas directas de la enfermedad están relacionadas con su morbilidad, mortalidad y efectos en la calidad de producto.
2.	O Se ha demostrado o pruebas científicas indican que es probable que la enfermedad pueda causar una morbilidad o mortalidad importantes en poblaciones naturales de animales acuáticos.	Las poblaciones naturales de animales acuáticos pueden ser poblaciones que se capturan con fines comerciales (pesquerías naturales) y representan, por lo tanto, desde el punto de vista económico, un capital. Este capital también puede ser ecológico o medioambiental (por ejemplo, si los animales acuáticos que componen la población pertenecen a una especie potencialmente amenazada por la enfermedad).
3.	O El agente infeccioso constituye un peligro para la salud pública.	

## Anexo 5 (cont.)

Y B. Propagación		
4.		Se ha demostrado la etiología infecciosa de la enfermedad.
5.	O	Se ha establecido una estrecha relación entre un agente infeccioso y la enfermedad pero se desconoce aún la etiología.
6.	Y	Probabilidad de propagación internacional de la enfermedad por los animales vivos, sus productos o fomites.
7.	Y	Varios países o zonas pueden ser declarados libres de la enfermedad, de conformidad con los principios generales de vigilancia descritos en el Capítulo 1.4.
<p>Al igual que las enfermedades cuya etiología infecciosa ha sido demostrada, las enfermedades infecciosas de etiología desconocida pueden tener consecuencias peligrosas. Mientras se recolectan datos sobre la presencia de la enfermedad, se deben realizar investigaciones a fin de dilucidar la etiología de la enfermedad y los resultados deben darse a conocer en un período de tiempo razonable.</p> <p>El comercio internacional de especies de animales acuáticos susceptibles a la enfermedad está ya establecido o tiene probabilidades de establecerse, siendo probable la introducción y radicación de la enfermedad por el comercio internacional.</p> <p>Los países libres o las zonas libres de enfermedad podrían ser protegidos. La inscripción en la lista de enfermedades presentes en todo el mundo o muy extendidas imposibilitaría la notificación, no obstante, los países que aplican un programa de control pueden proponer la inscripción de estas enfermedades en la lista, siempre que hayan emprendido una evaluación científica para respaldar su solicitud. La protección de los reproductores contra las enfermedades extendidas, o la protección de las últimas zonas libres existentes contra una enfermedad muy extendida serían ejemplos.</p>		
Y C. Diagnóstico		
8.		Existe un método de diagnóstico o de detección fiable y asequible.
<p>Debe existir una prueba de diagnóstico asequible y que, preferentemente, haya sido sometida a un proceso de normalización y validación con muestras de terreno (véase el <i>Manual Acuático</i>), o existe una definición precisa de los casos que permite identificarlos claramente y distinguirlos de otras patologías.</p>		

## Artículo 1.2.3.

**Criterios para inscribir una enfermedad emergente de los animales acuáticos en la lista de la OIE**

Será posible proponer la inscripción en la lista de una *enfermedad emergente* si cumple los criterios 1 ó 2, y 3 ó 4. Estas propuestas irán acompañadas por una *definición de caso* para la *enfermedad* considerada.

No.	Criterios para la inscripción	Notas explicativas
1.	Se ha demostrado la etiología infecciosa de la enfermedad.	
2.	Se ha establecido una estrecha relación entre un agente infeccioso y la enfermedad pero se desconoce aún la etiología.	Al igual que las enfermedades cuya etiología infecciosa ha sido demostrada, las enfermedades infecciosas de etiología desconocida pueden tener consecuencias peligrosas. Mientras se recolectan datos sobre la presencia de la enfermedad, se deben realizar investigaciones a fin de dilucidar la etiología de la enfermedad y los resultados deben darse a conocer en un período de tiempo razonable.



Anexo 5 (cont.)

¥	
3.	<del>El agente patógeno constituye un peligro para la salud pública.</del>
⊖	
4.	<del>Propagación significativa en poblaciones naturales o de cultivo de animales acuáticos inmunológicamente desprotegidas.</del>
	<del>La enfermedad ha causado morbilidad, mortalidad o pérdidas de producción significativas a escala de zona, compartimento o país. Se entiende por "poblaciones inmunológicamente desprotegidas" los animales nunca expuestos a una nueva enfermedad o una forma nueva de una enfermedad conocida.</del>

---

-----

— Texto suprimido.



## CAPÍTULO 9.4.

## HEPATOPANCREATITIS NECROTIZANTE

## Artículo 9.4.1.

A efectos del *Código Acuático*, la hepatopancreatitis necrotizante es la *infección por Candidatus Hepatobacter penaei* ~~debida a la bacteria de la hepatopancreatitis necrotizante~~. Esta bacteria intracelular obligada pertenece al orden de las Proteobacterias alfa.

La información sobre los métodos de ~~diagnóstico de esta enfermedad~~ figura en el *Manual Acuático*.

---

-----

— Texto suprimido.



## CAPÍTULO 10.5.

## INFECCIÓN POR VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN

## Artículo 10.5.1.

A efectos del *Código Acuático*, la *infección* por virus de la anemia infecciosa del salmón designa la *infección* por virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0 (región altamente polifórmica sin supresión) o con supresión en la HPR del género Isavirus de la familia de los Orthomyxoviridos. Ambos genotipos deberán notificarse de conformidad con el *Código Acuático*.

Las formas no patógenas del virus (HPR0) y el virus patógeno con supresión en la HPR están interrelacionadas, y ciertos *brotos* se producen como resultado de la aparición de supresión en la HPR a partir de HPR0.

Las disposiciones del presente capítulo reconocen tres niveles posibles de estatus zoonosanitario con respecto al virus de la anemia infecciosa del salmón:

- 1) libre de virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0 y de virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR;
- 2) virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0 endémico (pero libre de virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR);
- 3) virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0 y virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR endémicos.

La información sobre los métodos de diagnóstico figura en el *Manual Acuático*.

## Artículo 10.5.2.

**Ámbito de aplicación**

Las recomendaciones de este capítulo se aplican a las siguientes especies: salmón del Atlántico (*Salmo salar*), reo (*S. trutta*) y trucha arco iris (*Onchorynchus mykiss*). Estas recomendaciones se aplican también a todas las demás *especies susceptibles* mencionadas en el *Manual Acuático* que sean objeto de *comercio internacional*.

## Artículo 10.5.3.

**Importación o tránsito por el territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan de un país, una zona o un compartimento de exportación no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

- 1) Independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto del virus de la anemia infecciosa del salmón, las *Autoridades Competentes* no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de los siguientes *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* para las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:
  - a) productos de pescado termoesterilizados y sellados herméticamente (es decir, un tratamiento térmico a 121°C durante al menos 3,6 minutos o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura);
  - b) productos de pescado pasteurizados que se hayan sometido a un tratamiento térmico a 90°C durante al menos 10 minutos (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva el virus de la anemia infecciosa del salmón);

Anexo 7 (cont.)

- c) pescado eviscerado, secado por medios mecánicos (es decir, un tratamiento térmico a 100°C durante ~~al~~ ~~menos~~ 30 minutos o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva el virus de la anemia infecciosa del salmón);
  - d) aceite de pescado;
  - e) *harina* de pescado, y
  - f) cueros elaborados con piel de pescado.
- 2) Las *Autoridades Competentes* deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 10.5.10. a 10.5.17. que correspondan al estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto del virus de la anemia infecciosa del salmón cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de cualesquiera *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* relacionados con las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. que no sean unos de los enumerados en el punto 1 del Artículo 10.5.3.
- 3) Las *Autoridades Competentes* deberán proceder a un *análisis del riesgo* acorde con las recomendaciones del *Código Acuático* cuando contemplen la importación o el tránsito por su *territorio* de *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* de cualquier especie no mencionada en el Artículo 10.5.2. pero que se considere que plantea un *riesgo* de transmisión del virus de la anemia infecciosa del salmón, y el país, la *zona* o el *compartimento* de exportación no esté declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón. El *país exportador* deberá ser informado del resultado de la evaluación.

## Artículo 10.5.4.

**País libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a un país libre de *infección* por cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Un país podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2 ó 3 siguientes.

Si el país comparte una *zona* con otro u otros países, no podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón más que a condición que todos los perímetros de aguas compartidas hayan sido declarados países o *zonas* libres de esta *infección* (véase el Artículo 10.5.6.).

- 1) Un país en el que no esté presente ninguna *especie susceptible* podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años.

O

- 2) Un país en el que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. pero en el que no se haya observado la presencia detectable de infección por virus de la *enfermedad* podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si:

- a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y
- b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado infección por virus de la anemia infecciosa del salmón.

O

- 3) Un país que haya hecho una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón pero en el que se haya detectado ésta posteriormente podrá volver a hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si reúne las siguientes condiciones:

Anexo 7 (cont.)

- a) nada más haberse detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, el lugar afectado ha sido declarado *zona infectada* y se ha establecido una *zona de protección*; y
- b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación ~~de la enfermedad~~ del virus de la anemia infecciosa del salmón y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y
- c) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón; y
- d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han reunido ininterrumpidamente ~~durante, por lo menos, los dos años posteriores a~~ desde la erradicación de la *enfermedad*.

Mientras tanto, parte del lugar no afectado podrá ser declarada *zona libre*, siempre que reúna las condiciones descritas en el punto 3 del Artículo 10.5.6.

## Artículo 10.5.5.

**País libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a un país libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, pero no necesariamente libre de *infección* por virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Un país podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2, ~~3~~ 3 ó 4 siguientes.

Si un país comparte una *zona* con otro u otros países, únicamente podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de *infección* por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si todos los perímetros de aguas compartidas han sido declarados países o *zonas* libres de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR (véase el Artículo 10.5.7.).

- ~~1) Un país en el que no esté presente ninguna especie susceptible podrá hacer una autodeclaración de ausencia de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si ha reunido ininterrumpidamente las condiciones elementales de bioseguridad durante, por lo menos, los dos últimos años.~~

⊖

- ~~12) Un país en el que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. pero en el que no se haya observado la presencia de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR durante, por lo menos, los diez últimos años a pesar de unas condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los diez últimos años.~~

○

- ~~23) Un país en el que la última aparición de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR fue observada en el transcurso de los diez últimos años o cuyo estatus sanitario respecto de la *enfermedad* se desconocía antes de que se ejerciera una *vigilancia específica* (debido, por ejemplo, a la ausencia de condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*) podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si:~~
  - a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y
  - b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR.

Anexo 7 (cont.)

O

- 34) Un país que haya hecho una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR pero en el que se haya detectado ésta posteriormente podrá volver a hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si reúne las siguientes condiciones:
- a) nada más detectarse la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, el lugar afectado fue declarado *zona infectada* y se estableció una *zona de protección*; y
  - b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación de virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y
  - c) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años y no se ha detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR; y
  - d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han reunido ininterrumpidamente ~~durante, por lo menos, los dos años posteriores a~~ desde la erradicación de la *enfermedad*.

Mientras tanto, parte del lugar no afectado podrá ser declarado *zona libre*, siempre que reúna las condiciones descritas en el punto 3 del Artículo 10.5.7.

## Artículo 10.5.6.

**Zona o compartimento libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a una *zona* o un *compartimento* libre de *infección* por cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Una *zona* o un *compartimento* establecida(o) en el *territorio* de un país o de un conjunto de países no declarado(s) libre(s) de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón podrá ser declarada(o) libre por la(s) *Autoridad(es) Competente(s)* de dicho(s) país(es) si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2 ó 3 siguientes.

- 1) Una *zona* o un *compartimento* en que no esté presente ninguna *especie susceptible* podrá ser declarada(o) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años.

O

- 2) Una *zona* o un *compartimento* en que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. pero en que no se haya observado la presencia detectable de infección por virus de la *enfermedad* podrá ser declarada(o) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si:
  - a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y
  - b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón.

O

- 3) Una *zona* declarada libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón pero en que se haya detectado ésta posteriormente podrá volver a ser declarada libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si reúne las siguientes condiciones:



- a) nada más detectarse la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, el lugar afectado fue declarado *zona infectada* y se estableció una *zona de protección*; y
- b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación de virus de la anemia infecciosa del salmón y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y
- c) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años y no se ha detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón; y
- d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas en su caso, y se han reunido ininterrumpidamente ~~durante, por lo menos, los dos años posteriores a desde~~ la erradicación de la *enfermedad*.

Artículo 10.5.7.

**Zona o compartimento libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a una *zona* o un *compartimento* libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, pero no necesariamente libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Una *zona* o un *compartimento* establecida(o) en el *territorio* de un país o de un conjunto de países no declarado(s) libre(s) de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR podrá ser declarada(o) *zona* o *compartimento* libre por la(s) *Autoridad(es) Competente(s)* de dicho(s) país(es) si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2, 3 é 4 siguientes.

- ~~1) Una *zona* o un *compartimento* en que no esté presente ninguna *especie susceptible* podrá ser declarada(o) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años.~~

⊖

- ~~12) Una *zona* o un *compartimento* en que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. pero en que no se haya observado la presencia de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR durante, por lo menos, los diez últimos años a pesar de unas condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, podrá ser declarada(o) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los diez últimos años.~~

0

- ~~23) Una *zona* o un *compartimento* en que la última aparición de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR fue observada en el transcurso de los diez últimos años o cuyo estatus sanitario respecto de la *enfermedad* se desconocía antes de que se ejerciera una *vigilancia específica* (debido, por ejemplo, a la ausencia de condiciones propicias para su manifestación clínica de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*) podrá ser declarada(o) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si:~~

- a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y
- b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años y no se ha detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR.

0

- ~~34) Una *zona* declarada libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR pero en que se haya detectado ésta posteriormente podrá volver a ser declarada libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR si reúne las siguientes condiciones:~~

Anexo 7 (cont.)

- a) nada más detectarse la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, el lugar afectado fue declarado *zona infectada* y se estableció una *zona de protección*; y
- b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación de virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y
- c) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años y no se ha detectado la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR; y
- d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas en su caso, y se han reunido ininterrumpidamente ~~durante, por lo menos, los dos años posteriores a~~ desde la erradicación de la *enfermedad*.

Artículo 10.5.8.

**Conservación del estatus de país, zona o compartimento libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a un país, una *zona* o un *compartimento* libre de cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón en virtud del punto 1 de los Artículos 10.5.4. ó 10.5.6. (según proceda) podrá conservar el estatus de país, *zona* o *compartimento* libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón si mantiene ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad*.

Un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón en virtud del punto 2 de los Artículos 10.5.4. ó 10.5.6. (según proceda) podrá conservar el estatus de país, *zona* o *compartimento* libre si mantiene un nivel de *vigilancia específica* que determinará el *Servicio de Sanidad de los Animales Acuáticos* en función de la probabilidad de introducción de la *infección* y si mantiene ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad*.

Artículo 10.5.9.

**Conservación del estatus de país, zona o compartimento libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a un país, una *zona* o un *compartimento* libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, pero no necesariamente libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR en virtud de los puntos 1 ó 2 de los Artículos 10.5.5. ó 10.5.7. (según proceda) podrá conservar el estatus de país, *zona* o *compartimento* libre si mantiene ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad*.

Un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR en virtud del punto 3 de los Artículos 10.5.5. ó 10.5.7. (según proceda) podrá interrumpir la *vigilancia específica* y conservar el estatus de país, *zona* o *compartimento* libre si reúne condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, y mantiene ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad*.

Sin embargo, en las *zonas* o los *compartimentos* declarados libres situados en un país infectado, así como en todos los casos en los que no se reúnan condiciones propicias para su manifestación clínica, deberá mantenerse un nivel de *vigilancia específica* que determinará el ~~los~~ *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* en función de la probabilidad de introducción de la *infección*.

## Artículo 10.5.10.

**Importación de animales acuáticos vivos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a un país, una *zona* o un *compartimento* libre de cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Cuando se importen *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del *país exportador* o por un *certificador oficial* aprobado por el *país importador*, que acredite que, según los procedimientos descritos en los Artículos 10.5.4. ó 10.5.6. (según proceda) y 10.5.8., el lugar de producción de los *animales acuáticos* es un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón.

El *certificado* deberá ser conforme al modelo de *certificado* que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.5.3.

## Artículo 10.5.11.

**Importación de animales acuáticos vivos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a un país, una *zona* o un *compartimento* libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, pero no necesariamente libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Cuando se importen *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del *país exportador* o por un *certificador oficial* aprobado por el *país importador*, que acredite que, según los procedimientos descritos en los Artículos 10.5.5. ó 10.5.7. (según proceda) y 10.5.9., el lugar de producción de los *animales acuáticos* es un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de *infección* por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR.

El *certificado* deberá ser conforme al modelo de *certificado* que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.5.3.

## Artículo 10.5.12.

**Importación, para la acuicultura, de animales acuáticos vivos de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

- 1) Cuando se importen, para la *acuicultura*, *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá evaluar el *riesgo* y aplicar, si se justifican, las siguientes medidas para reducirlo:
  - a) entrega directa de la remesa a instalaciones biológicamente seguras donde permanezca el resto de su vida continuamente aislada del medio local, y
  - b) tratamiento de todos los efluentes y despojos de modo que garantice la inactivación del virus de la anemia infecciosa del salmón.

Anexo 7 (cont.)

- 2) Si el objetivo de la importación es la creación de una población nueva, deberán tomarse en cuenta los aspectos pertinentes del Código de Prácticas para la Introducción y Traslado de Organismos Marinos del Consejo Internacional para la Exploración del Mar (ICES).
- 3) A efectos del *Código Acuático*, los elementos pertinentes que establece el Código del ICES (versión íntegra: <http://www.ices.dk/publications/our-publications/Pages/Miscellaneous.aspx>) son los siguientes:
  - a) identificar la población que interesa (de cultivo o natural) allí donde se encuentra;
  - b) evaluar el historial sanitario de la población;
  - c) tomar y examinar muestras para descartar la presencia del virus de la anemia infecciosa del salmón y de parásitos y para determinar el estado general de salud de la población;
  - d) importar y aislar en instalaciones seguras de *cuarentena* una población fundadora (F-0);
  - e) producir una generación F-1 con la población F-0 mantenida en *cuarentena*;
  - f) criar la población F-1 y tomar y examinar muestras de la misma en los momentos críticos de su desarrollo (ciclo de vida) para descartar la presencia del virus de la anemia infecciosa del salmón y de parásitos y para determinar su estado general de salud;
  - g) si no se detecta la presencia del virus de la anemia infecciosa del salmón ni de parásitos y si se considera que el estado general de salud de la población reúne las *condiciones elementales de bioseguridad* requeridas por el país, la *zona* o el *compartimento* de importación, la población F-1 puede ser reconocida libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón o libre del *agente patógeno* específico de esta *infección*;
  - h) liberar de la *cuarentena* la población F-1 libre del *agente patógeno* específico e introducirla en el país, la *zona* o el *compartimento* para fines de *acuicultura* o de repoblación.
- 4) Con respecto al apartado 3e), las condiciones de *cuarentena* deben ser propicias a la multiplicación del *agente patógeno* y, en última instancia, a la expresión clínica. Si las condiciones de *cuarentena* no son adecuadas para la multiplicación y el desarrollo del *agente patógeno*, el enfoque de diagnóstico recomendado podría no ser lo suficientemente sensible como para detectar un nivel de *infección* bajo.

Este artículo no se aplica a los *animales acuáticos* enumerados en el punto 1 del Artículo 10.5.3.

## Artículo 10.5.13.

**Importación, para transformación para el consumo humano, de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Cuando se importen, para transformación para el consumo humano, *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá evaluar el *riesgo* y ~~aplicar, si se justifican, las siguientes medidas para reducirlo~~ exigir:

- 1) la entrega directa de los animales a centros de *cuarentena* o contención hasta su transformación en uno de los productos enumerados en el punto 1 del Artículo 10.5.3., o en productos descritos en el punto 1 del Artículo 10.5.16., o en otros productos autorizados por la *Autoridad Competente*, y
- 2) el tratamiento del agua utilizada para el transporte y de todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación de modo que garantice la inactivación del virus de la anemia infecciosa del salmón, o eliminación de modo que impida el contacto de los residuos con *especies susceptibles*.

En lo que se refiere a estas *mercancías*, los Países Miembros podrán considerar, si lo desean, la oportunidad de introducir medidas internas para afrontar los *riesgos* asociados a la utilización de cualquiera de ellas para fines que no sean el consumo humano.

Artículo 10.5.14.

**Importación, para alimentación de los animales o para uso agrícola, industrial o farmacéutico, de animales acuáticos vivos destinados a la alimentación de los animales o a un uso agrícola, industrial o farmacéutico y procedentes de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Cuando se importen, para alimentación de los animales o para uso agrícola, industrial o farmacéutico, *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del país importador deberá exigir que:

- 1) la remesa sea entregada directamente a centros de cuarentena y sea mantenida en los mismos para su sacrificio y transformación en productos autorizados por la *Autoridad Competente*; y
- 2) el agua utilizada para el transporte y todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación sean sometidos a un tratamiento que garantice la inactivación del virus de la anemia infecciosa del salmón.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.5.3.

Artículo 10.5.15.

**Importación de productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Cuando se importen *productos de animales acuáticos* de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del país importador deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del país exportador o por un *certificador oficial* aprobado por el país importador, que acredite que, según los procedimientos descritos en los Artículos 10.5.4., 10.5.5., 10.5.6. ó 10.5.7. (según proceda) y 10.5.8., el lugar de producción de la *mercancía* es un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón.

El *certificado* deberá ser conforme al modelo de *certificado* que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.5.3.

Artículo 10.5.15.bis

**Importación de productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a un país, una zona o un compartimento libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, pero no necesariamente libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

Cuando se importen productos de animales acuáticos de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR, la Autoridad Competente del país importador deberá exigir la presentación de un certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos, extendido por la Autoridad Competente del país exportador o por un certificador oficial aprobado por el país importador, que acredite que, según los procedimientos descritos en los Artículos 10.5.5. ó 10.5.7. (según proceda) y 10.5.9., el lugar de producción de la mercancía es un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón con supresión en la HPR.

Anexo 7 (cont.)

El certificado deberá ser conforme al modelo de certificado que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las mercancías enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.5.3.

## Artículo 10.5.16.

**Importación, para venta directa al por menor para el consumo humano, de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

- 1) Independientemente del estatus sanitario del país, de la *zona* o del *compartimento* de exportación respecto del virus de la anemia infecciosa del salmón, las *Autoridades Competentes* no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de las siguientes *mercancías* que han sido elaboradas y envasadas para la venta directa al por menor y reúnen las condiciones contempladas en el Artículo 5.4.2.:
  - a) filetes o rodajas de pescado (congelados o refrigerados).

Se han establecido algunos supuestos a la hora de evaluar la inocuidad de los *animales acuáticos y productos de animales acuáticos* enumerados más arriba. Los Países Miembros deberán referirse a tales supuestos en el Artículo 5.4.2. y analizar si se aplican a sus condiciones.

En lo que se refiere a estas *mercancías*, los Países Miembros podrán considerar, si lo desean, la oportunidad de introducir medidas internas para afrontar los *riesgos* asociados a la utilización de cualquiera de ellas para fines que no sean el consumo humano.

- 2) Cuando se importen *animales acuáticos y productos de animales acuáticos*, aparte de los enumerados en el punto 1 arriba, de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del país *importador* deberá evaluar el *riesgo* y aplicar medidas apropiadas para reducirlo.

## Artículo 10.5.17.

**Importación, para la acuicultura, de huevos desinfectados de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a cualquier virus detectable de la anemia infecciosa del salmón, incluido el virus de la anemia infecciosa del salmón HPR0.

- 1) Cuando se importen, para la *acuicultura*, huevos desinfectados de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del país *importador* deberá evaluar el *riesgo* asociado al menos:
  - a) al estado de contaminación con el virus de la anemia infecciosa del salmón del agua utilizada durante la *desinfección* de los huevos;
  - b) a la prevalencia de la *infección* con el virus de la anemia infecciosa del salmón en la reserva de genitores (líquido ovárico y lechaza), y
  - c) a la temperatura y pH del agua utilizada para la *desinfección*.
- 2) Si la importación se justifica, la *Autoridad Competente* del país *importador* deberá aplicar las siguientes medidas para reducir el *riesgo*:

Anexo 7 (cont.)

- a) los huevos deberán desinfectarse antes de la importación, de acuerdo con los métodos descritos en el Capítulo 1.1.3. del *Manual Acuático* (en estudio) o los especificados por la *Autoridad Competente* del país importador, y
- b) entre la *desinfección* y la importación, los huevos no deberán entrar en contacto con nada que pueda afectar a su estatus sanitario.

Los Países Miembros, si lo desean, podrán contemplar medidas internas, como una nueva *desinfección* de los huevos a su llegada al país importador.

- 3) Cuando se importen, para la *acuicultura*, huevos desinfectados de las especies mencionadas en el Artículo 10.5.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por virus de la anemia infecciosa del salmón, la *Autoridad Competente* del país importador deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del país exportador o por un *certificador oficial* aprobado por el país importador, que acredite el cumplimiento de los procedimientos descritos en el punto 2 del presente artículo.

---

-----

— Texto suprimido.





**MODELO DE CAPÍTULO DE ENFERMEDADES 10.X.  
QUE MUESTRA LOS CAMBIOS HORIZONTALES**

CAPÍTULO X.X.

**ENFERMEDAD X**

[...]

Artículo X.X.4.

**País libre de enfermedad X**

Un país podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de enfermedad X si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2, 3 ó 4 siguientes.

Si el país comparte una *zona* con otro u otros países, no podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de enfermedad X más que a condición que todos los perímetros de aguas compartidas hayan sido declarados países o *zonas* libres de enfermedad X (véase el Artículo X.X.5.).

1) Un país en el que no esté presente ninguna *especie susceptible* podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de enfermedad X si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años.

O

2) Un país en el que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo X.X.2. pero en el que no se haya observado la presencia de la *enfermedad* durante, por lo menos, los diez últimos años a pesar de unas condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de enfermedad X si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los diez últimos años.

O

3) ~~Un país en el que el último caso de la enfermedad fue observado en el transcurso de los diez últimos años o cuyo estatus sanitario respecto de la *enfermedad infección* se desconocía antes de que se ejerciera una *vigilancia específica* (debido, por ejemplo, a la ausencia de condiciones propicias para la manifestación clínica de la enfermedad de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*) podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de enfermedad X si:~~

a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y

b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo indicado en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la enfermedad X.

O

4) Un país que haya hecho una *autodeclaración de ausencia* de enfermedad X pero en el que se haya detectado la *enfermedad* posteriormente podrá volver a hacer una *autodeclaración de ausencia* para ésta si reúne las siguientes condiciones:

## Anexo 8 (cont.)

- a) nada más haberse detectado la *enfermedad*, el lugar afectado ha sido declarado *zona infectada* y se ha establecido una *zona de protección*; y
- b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación de la *enfermedad* y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y
- c) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo indicado en el Capítulo 1.4. del *Código Acuático*, durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la enfermedad X; y
- d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han reunido ininterrumpidamente desde la erradicación de la *enfermedad* durante, por lo menos, los dos últimos años.

Mientras tanto, parte del lugar no afectado podrá ser declarada *zona libre de la enfermedad*, siempre que reúna las condiciones descritas en el punto 3 del Artículo X.X.5.

## Artículo X.X.5.

**Zona o compartimento libre de enfermedad X**

Una *zona* o un *compartimento* establecida(o) en el *territorio* de un país o de un conjunto de países no declarado(s) libre(s) de enfermedad X podrá ser declarada(o) *zona* o *compartimento* libre de la *enfermedad* por la(s) *Autoridad(es) Competente(s)* de dicho(s) país(es) si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2, 3 ó 4 siguientes.

Si la *zona* o el *compartimento* se extiende más allá de las fronteras de un país, no podrá ser declarada(o) *zona* o *compartimento* libre de enfermedad X más que a condición que las *Autoridades Competentes* de todos los territorios que abarca confirmen que reúne las condiciones exigidas para serlo.

- 1) Una *zona* o un *compartimento* en que no esté presente ninguna *especie susceptible* podrá ser declarada(o) libre de enfermedad X si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años.

O

- 2) Una *zona* o un *compartimento* en que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo X.X.2. pero en que no se haya observado la presencia de la *enfermedad* durante, por lo menos, los diez últimos años a pesar de unas condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, podrá ser declarada(o) libre de enfermedad X si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los diez últimos años.

O

- 3) Una *zona* o un *compartimento* ~~en que el último caso de enfermedad X fue observado en el transcurso de los diez últimos años~~ e cuyo estatus sanitario respecto de la ~~*enfermedad*~~ *infección* se desconocía antes de que se ejerciera una *vigilancia específica* ~~(debido, por ejemplo, a la ausencia de condiciones propicias para la manifestación clínica de la *enfermedad* de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*)~~ podrá ser declarada(o) libre de enfermedad X si:
  - a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y
  - b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo indicado en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la enfermedad X.

O

- 4) Una *zona* declarada libre de enfermedad X pero en la que se haya detectado la *enfermedad* podrá volver a ser declarada libre de ésta si reúne las siguientes condiciones:
- a) nada más haberse detectado la *enfermedad*, el lugar afectado ha sido declarado *zona infectada* y se ha establecido una *zona de protección*; y
  - b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación de la *enfermedad* y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y
  - c) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo indicado en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la enfermedad X; y
  - d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han reunido ininterrumpidamente desde la erradicación de la *enfermedad* durante, por lo menos, los dos últimos años.

[...]

Artículo X.X.7.

#### **Importación de animales acuáticos vivos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de enfermedad X**

Cuando se importen *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo X.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de enfermedad X, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del *país exportador* o por un *certificador oficial* aprobado por el *país importador*, que acredite, según los procedimientos descritos en los Artículos X.X.4. ó X.X.5. (según proceda) y X.X.6., que el lugar de producción de los *animales acuáticos* es un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de enfermedad X.

El *certificado* deberá ser conforme al modelo de certificado que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo X.X.3.

[...]

## Anexo 8 (cont.)

## Artículo X.X.9.

**Importación, para transformación para el consumo humano, de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de enfermedad X**

Cuando se importen, para transformación para el consumo humano, *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* de las especies mencionadas en el Artículo X.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de enfermedad X, la *Autoridad Competente* del país importador deberá evaluar el *riesgo* y aplicar, si se justifican, las siguientes medidas para reducirlo exigir:

- 1) la entrega directa de los animales a centros de *cuarentena* o contención hasta su transformación en uno de los productos enumerados en el punto 1 del Artículo X.X.3., o en productos descritos en el punto 1 del Artículo X.X.12., o en otros productos autorizados por la *Autoridad Competente*, y
- 2) el tratamiento del agua utilizada para el transporte y de todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación de modo que garantice la inactivación del virus de la enfermedad X, o eliminación de modo que impida el contacto de los residuos con *especies susceptibles*.

En lo que se refiere a estas *mercancías*, los Países Miembros podrán considerar, si lo desean, la oportunidad de introducir medidas internas para afrontar los *riesgos* asociados a la utilización de cualquiera de ellas para fines que no sean el consumo humano.

## Artículo X.X.10.

**Importación de animales acuáticos vivos destinados a la alimentación de los animales o a un uso agrícola, industrial o farmacéutico y procedentes de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de enfermedad X**

Cuando se importen, para la alimentación de los animales o para un uso agrícola, industrial o farmacéutico, *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo X.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de enfermedad X, la *Autoridad Competente* del país importador ~~exigirá~~ deberá exigir que:

- 1) los animales sean entregados directamente a centros de *cuarentena* y mantenidos en los mismos para su sacrificio y transformación en productos autorizados por la *Autoridad Competente*, y
- 2) el agua utilizada para el transporte y todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación sean sometidos a un tratamiento que garantice la inactivación del virus de la enfermedad X.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo X.X.3.

Artículo X.X.11. (capítulos sobre peces y moluscos) y Artículo X.X.10. (capítulos sobre moluscos y crustáceos)

**Importación de productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de enfermedad X**

Cuando se importen *productos de animales acuáticos* de las especies mencionadas en el Artículo X.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de enfermedad X, la *Autoridad Competente* del país importador deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del país exportador o por un *certificador oficial* aprobado por el país importador, que acredite, según los procedimientos descritos en los Artículos X.X.4. ó X.X.5. (según proceda) y X.X.6., que el lugar de producción de la *mercancía* es un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de enfermedad X.

El *certificado* deberá ser conforme al modelo de certificado que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo X.X.3.

-----  
— Texto suprimido.

## CAPÍTULO X.X

**CRITERIOS DE INSCRIPCIÓN DE ESPECIES  
SUSCEPTIBLES DE INFECCIÓN POR UN AGENTE  
PATÓGENO ESPECÍFICO PARA DETERMINAR LA  
SUSCEPTIBILIDAD DE LOS ANIMALES ACUÁTICOS A  
AGENTES PATÓGENOS ESPECÍFICOS**

## Artículo X.X.1.

La finalidad del presente capítulo es proponer criterios para determinar las especies ~~susceptibles~~ que pueden figurar en el Artículo X.X.2. de cada capítulo específico de *enfermedad* del *Código Acuático*, y en el Artículo 2.2.1. de cada capítulo específico de *enfermedad* del *Manual Acuático*.

## Artículo X.X.2.

**Ámbito de aplicación**

~~El presente capítulo proporciona los criterios para determinar las especies que deben figurar como susceptibles a una infección por el agente etiológico de las enfermedades inscritas en la lista. La susceptibilidad puede incluir o no una infección clínica o no clínica. Este capítulo no brinda criterios para identificar pero no incluye los vectores mecánicos (es decir, las posibles especies portadoras del patógeno agente etiológico sin replicación).~~

~~La decisión de inscribir una especie como susceptible deberá basarse en pruebas sólidas. No obstante, la posible susceptibilidad de las especies también constituye una información importante, y se deberá incluir en la sección 2.2.1. del capítulo sobre enfermedad del *Manual Acuático*.~~

## Artículo X.X.3.

**Enfoque**

En este capítulo, se describen un enfoque en las tres etapas para la evaluación de la susceptibilidad de una especie a la *infección* por un agente etiológico específico:

- 1) criterios para determinar si la vía de *infección* utilizada es coherente con ~~otras las~~ vías naturales de *infección*, (tal y como se describe en el Artículo X.X.4.);
- 2) criterios para determinar si el agente etiológico se ha identificado empleando una técnica (tal y como se describe descrita en el Artículo X.X.5.);
- 3) criterios para determinar, ~~empleando los criterios del Artículo X.X.6.,~~ si las pruebas que indican que la presencia del agente etiológico ~~bastan para diagnosticar~~ constituye una *infección* (tal y como se describe en el Artículo X.X.6.).

## Artículo X.X.4.

**Etapas 1: criterios para determinar si la vía de infección utilizada es coherente con las vías naturales de infección el modo de transmisión de la infección**

Las pruebas para ~~determinar el modo de transmisión~~ se clasificarán según se trate de: i) aparición natural, ii) procedimiento experimental no invasivo, o iii) procedimiento experimental invasivo.

- a) aparición natural: incluye todas las situaciones en que la infección haya surgido sin intervención experimental directa, p. ej., una infección que aparezca en las poblaciones silvestres o de cría; o

Anexo 9 (cont.)

- b) procedimiento experimental no invasivo: incluye la cohabitación con hospedadores infectados, o la infección por inmersión o ingestión; o
- c) procedimiento experimental invasivo: incluye la inyección, la exposición a cargas de agente patógeno anormalmente elevadas o a factores estresantes (p. ej., temperatura) que no se encuentran en el entorno natural o de cultivo del hospedador.

Es importante determinar si los procedimientos experimentales (por ejemplo: inoculación, carga viral y estrés del hospedador) reproducen las condiciones naturales de transmisión de la *enfermedad*.

Artículo X.X.5.

**Etapa 2: criterios para ~~identificar~~ determinar si el agente etiológico se ha identificado adecuadamente**

El agente etiológico ~~se~~ deberá identificarse y confirmarse ~~de conformidad~~ de acuerdo con los métodos descritos en la sección 7 (criterios de diagnóstico corroborativo) de los capítulos pertinentes de *enfermedad* del *Manual Acuático*, o con otros métodos que hayan demostrado ser equivalentes.

~~En algunas circunstancias, se ha establecido una presunta identificación del agente etiológico, pero la misma no se ha confirmado recurriendo a los métodos del *Manual Acuático*.~~

Artículo X.X.6.

**Etapa 3: criterios para determinar si las pruebas indican que la presencia del agente etiológico constituye una ~~la~~ infección**

Con el fin de determinar la *infección*, ~~se~~ deberán utilizarse una combinación de los siguientes criterios (véase el Artículo X.X.7.):

- A. el agente etiológico se multiplica, ~~se desarrolla~~ o se encuentra en estado ~~latente~~ de desarrollo en el hospedador;
- B. un agente etiológico viable se ha aislado ~~de en~~ las *especies susceptibles* propuestas, o se ha demostrado ~~la~~ viabilidad su infecciosidad a través por medio de la transmisión a individuos inmunológicamente desprotegidos (~~per~~ vías naturales);
- C. los cambios clínicos ~~y~~ patológicos asociados con la *infección*;
- D. la localización del agente patógeno es específica (por ejemplo: en uno o varios tipos de tejido).

El tipo de pruebas que sustentan los criterios dependerá del agente etiológico y de las correspondientes especies hospedadores potenciales.

Artículo X.X.7.

**Resultados de la evaluación**

La decisión de inscribir una especie como susceptible deberá basarse en la conclusión de que las pruebas son definitivas. Deberá demostrarse lo siguiente:

~~Las especies susceptibles se pueden clasificar como: 1) especies susceptibles posibles, o 2) especies susceptibles concluyentes.~~

1- Especies susceptibles posibles:

- a) ~~se ha procedido a la presunta identificación del agente etiológico, pero todavía no se ha confirmado de acuerdo con lo dispuesto en el Artículo X.X.5.;~~

∓

- b) ~~existen pruebas de la infección por el agente etiológico en las especies susceptibles, de acuerdo con lo dispuesto en el Artículo X.X.6. Se cumple, por lo menos, uno de los cuatro criterios A, B, C o D del Artículo X.X.6.~~

- 1.a) la transmisión ~~resulta de procedimientos~~ se ha producido ~~naturalmente~~ o mediante procedimientos experimentales que reproducen las vías naturales de *infección* ~~acorde de acuerdo~~ de acuerdo con lo contemplado en el Artículo X.X.4.;

Y

- 2b) la identificación del agente etiológico se ha confirmado ~~acorde~~ de acuerdo con lo contemplado en el Artículo X.X.5.;

Y

- 3e) existen pruebas de la *infección* por el agente etiológico en las *especies hospedadoras sospechosas susceptibles acorde de acuerdo* con lo contemplado en los criterios A a D del Artículo X.X.6. Las pruebas para confirmar el criterio A son suficientes para determinar la *infección*. En la ausencia de pruebas para cumplir el criterio A, se deberán satisfacerse al menos dos de los criterios B, C, o D para determinar la *infección*.

2) Especies susceptibles concluyentes:

**Especies cuya susceptibilidad no quede completamente demostrada**

Cuando existan pruebas pero estas sean insuficientes para demostrar la susceptibilidad de una especie porque la transmisión no es coherente con las vías naturales de *infección*, o no se ha confirmado la identidad del agente etiológico o la *infección* solo está probada parcialmente, esta información se incluirá en el correspondiente capítulo del *Manual Acuático* dedicado a esa enfermedad.

Si se considera que esas especies pueden plantear un *riesgo* de transmisión del *agente patógeno* en cuestión, las *Autoridades Competentes* deberán llevar a cabo un *análisis del riesgo* acorde con las recomendaciones del *Código Acuático* al respecto.

Artículo X.X.8.

**Relación taxonómica de las especies susceptibles**

~~Para los agentes etiológicos que afectan a un gran número de hospedadores, es posible asumir la susceptibilidad de una especie dada cuando se establece una relación taxonómica con una *especie susceptible* reconocida. Las especies se pueden clasificar en la categoría de 'especie susceptible posible' si pertenecen a un género que incluya al menos dos *especies susceptibles* y en el que no existan pruebas tangibles de resistencia a la *infección*. Definir las especies como posiblemente susceptibles partiendo de una relación taxonómica a un nivel superior que la del género, requiere pruebas sólidas de que el patógeno afecta un gran número de hospedadores.~~

~~Las pruebas de resistencia incluyen:~~

- ~~1) los resultados de las pruebas adecuadas no revelan la presencia de *infección* cuando los animales están expuestos al patógeno en entornos naturales en los que se conoce que el *agente patógeno* está presente y causa enfermedad en las *especies susceptibles*.~~
- ~~2) Los resultados de las pruebas adecuadas revelan la *infección* cuando los animales están expuestos al patógeno en condiciones experimentales que se asemejan a las naturales.~~

-----  
— Texto suprimido.





## CAPÍTULO 10.X.

## INFECCIÓN POR ALFAVIRUS DE LOS SALMÓNIDOS

## Artículo 10.X.1.

**Disposiciones generales**

A efectos del *Código Acuático*, la *infección* por alfavirus de los salmónidos designa toda *infección* por cualquier subtipo de alfavirus de los salmónidos del género *Alphavirus* de la familia de los *Togaviridae*.

La información sobre los métodos de *diagnóstico* figura en el *Manual Acuático*.

## Artículo 10.X.2.

**Ámbito de aplicación**

Las recomendaciones de este capítulo se aplican a las siguientes especies: salmón atlántico (*Salmo salar*), reo (*Salmo trutta*) y trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*). Estas recomendaciones se aplican también a todas las demás *especies susceptibles* mencionadas en el *Manual Acuático* que sean objeto de *comercio internacional*.

## Artículo 10.X.3.

**Importación o tránsito por el territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan de un país, una zona o un compartimento de exportación no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

- 1) Independientemente del estatus sanitario del país, de la *zona* o del *compartimento* de exportación respecto del alfavirus de los salmónidos, las *Autoridades Competentes* no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con la infección por alfavirus de los salmónidos cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de los siguientes *animales acuáticos y productos de animales acuáticos* para las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan, siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:
  - [a] productos de pescado termoesterilizados y sellados herméticamente (es decir, sometidos a un tratamiento térmico a 121°C durante al menos 3,6 minutos o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura);
  - b) productos de pescado pasteurizados que se hayan sometido a un tratamiento térmico a 90°C durante al menos 10 minutos (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva el alfavirus de los salmónidos);
  - c) pescado eviscerado, secado por medios mecánicos (es decir, sometido a un tratamiento térmico a 100°C durante 30 minutos o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva el alfavirus de los salmónidos);
  - d) aceite de pescado;
  - e) *harina* de pescado, y
  - f) cueros elaborados con piel de pescado.] (en estudio)
- 2) Las *Autoridades Competentes* deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 10.X.7. a 10.X.12. que correspondan al estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto del alfavirus de los salmónidos cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de cualesquiera *animales acuáticos y productos de animales acuáticos* relacionados con las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. que no sean unos de los enumerados en el punto 1 del Artículo 10.X.3.

Anexo 10 (cont.)

- 3) Las *Autoridades Competentes* deberán proceder a un *análisis del riesgo* acorde con las recomendaciones del *Código Acuático* cuando contemplen la importación o el tránsito por su *territorio* de *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* de cualquier especie no mencionada en el Artículo 10.X.2. pero que se considere plantea un *riesgo* de transmisión del alfavirus de los salmónidos, y el país, la *zona* o el *compartimento* de exportación no esté declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos. El *país exportador* deberá ser informado del resultado de la evaluación.

## Artículo 10.X.4.

**País libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

Un país podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por alfavirus de los salmónidos si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2, 3 ó 4 siguientes.

Si el país comparte una *zona* con otro u otros países, no podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por alfavirus de los salmónidos más que a condición que todos los perímetros de aguas compartidas hayan sido declarados países o *zonas* libres de infección por alfavirus de los salmónidos (véase el Artículo 10.X.5.).

- 1) Un país en el que no esté presente ninguna *especie susceptible* podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por alfavirus de los salmónidos si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años.

O

- 2) Un país en el que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. pero en el que no se haya observado la presencia de infección por alfavirus de los salmónidos durante, por lo menos, los diez últimos años a pesar de unas condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por alfavirus de los salmónidos si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los diez últimos años.

O

- 3) Un país cuyo estatus sanitario respecto de la *enfermedad* se desconocía antes de que se ejerciera una *vigilancia específica* podrá hacer una *autodeclaración de ausencia* de infección por alfavirus de los salmónidos si:

- a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y
- b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado infección por alfavirus de los salmónidos.

O

- 4) Un país que haya hecho una *autodeclaración de ausencia* de infección por alfavirus de los salmónidos pero en el que se haya detectado la *enfermedad* posteriormente podrá volver a hacer una *autodeclaración de ausencia* para ésta si reúne las siguientes condiciones:

- a) nada más haberse detectado el alfavirus de los salmónidos, el lugar afectado ha sido declarado *zona infectada* y se ha establecido una *zona de protección*; y
- b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación de la *enfermedad* y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y

Anexo 10 (cont.)

- c) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado el alfavirus de los salmónidos; y
- d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han reunido ininterrumpidamente desde la erradicación de la *enfermedad*.

Mientras tanto, parte del lugar no afectado podrá ser declarada *zona* libre de la *enfermedad*, siempre que reúna las condiciones descritas en el punto 3 del Artículo 10.X.5.

## Artículo 10.X.5.

**Zona o compartimento libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

En este artículo, todas las consideraciones se entenderán hechas a una *zona* o un *compartimento* libre de infección por alfavirus de los salmónidos.

Una *zona* o un *compartimento* establecida(o) en el *territorio* de un país o de un conjunto de países no declarado(s) libre(s) de infección por alfavirus de los salmónidos podrá ser declarada(o) *zona* o *compartimento* libre de la *enfermedad* por la(s) *Autoridad(es) Competente(s)* de dicho(s) país(es) si reúne las condiciones descritas en los puntos 1, 2, 3 ó 4 siguientes.

- 1) Una *zona* o un *compartimento* en que no esté presente ninguna *especie susceptible* podrá ser declarada(o) *zona* o *compartimento* libre de infección por alfavirus de los salmónidos si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años.  
O
- 2) Una *zona* o un *compartimento* en que estén presentes las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. pero en que no se haya observado la presencia de infección por alfavirus de los salmónidos durante, por lo menos, los diez últimos años a pesar de unas condiciones propicias para su manifestación clínica, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, podrá ser declarada(o) libre de infección por alfavirus de los salmónidos si ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los diez últimos años.  
O
- 3) Una *zona* o un *compartimento* cuyo estatus sanitario respecto de la *enfermedad* se desconocía antes de que se ejerciera una *vigilancia específica* podrá ser declarada(o) libre de infección por alfavirus de los salmónidos si:
  - a) ha reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante, por lo menos, los dos últimos años; y
  - b) ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la infección por alfavirus de los salmónidos.  
O
- 4) Una *zona* declarada libre de infección por alfavirus de los salmónidos pero en la que se haya detectado la *infección* posteriormente podrá volver a ser declarada libre de ésta si reúne las siguientes condiciones:
  - a) nada más haberse detectado la infección por alfavirus de los salmónidos, el lugar afectado ha sido declarado *zona infectada* y se ha establecido una *zona de protección*; y
  - b) las poblaciones infectadas han sido destruidas o desplazadas de la *zona infectada* con medios que reducen al mínimo el *riesgo* de propagación del alfavirus de los salmónidos y se han aplicado los procedimientos de *desinfección* apropiados (véase el *Manual Acuático*); y

Anexo 10 (cont.)

- c) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de conformidad con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante, por lo menos, los dos últimos años, y no se ha detectado la infección por alfavirus de los salmónidos; y
- d) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han reunido ininterrumpidamente desde la erradicación de la *enfermedad*.

## Artículo 10.X.6.

**Conservación del estatus de país, zona o compartimento libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

Un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, de conformidad con lo dispuesto en los puntos 1 ó 2 de los Artículos 10.X.4. ó 10.X.5. (según proceda), podrá conservar el estatus de país, *zona* o *compartimento* libre de infección por alfavirus de los salmónidos si mantiene ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad*.

Un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, de conformidad con lo dispuesto en el punto 3 de los Artículos 10.X.4. ó 10.X.5. (según proceda), podrá interrumpir la *vigilancia específica* y conservar el estatus de país, *zona* o *compartimento* libre de infección por alfavirus de los salmónidos si reúne condiciones propicias para la manifestación clínica de la *enfermedad*, de acuerdo con lo indicado en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, y mantiene ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad*.

Sin embargo, en las *zonas* o los *compartimentos* declarados libres de infección por alfavirus de los salmónidos y situados en países infectados por la *enfermedad*, así como en todos los casos en los que no se reúnan condiciones propicias para su manifestación clínica, deberá mantenerse un nivel de *vigilancia específica* que determinará el *Servicio de Sanidad de los Animales Acuáticos* en función de la probabilidad de introducción de la *infección*.

## Artículo 10.X.7.

**Importación de animales acuáticos vivos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

Cuando se importen *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del *país exportador* o por un *certificador oficial* aprobado por el *país importador*, que acredite, según los procedimientos descritos en los Artículos 10.X.4. ó 10.X.5. (según proceda) y 10.X.6., que el lugar de producción de los *animales acuáticos* es un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos.

El *certificado* deberá ser conforme al modelo de certificado que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.X.3.

## Artículo 10.X.8.

**Importación, para la acuicultura, de animales acuáticos vivos de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

- 1) Cuando se importen, para la *acuicultura*, *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá evaluar el *riesgo* y aplicar, si se justifican, las siguientes medidas para reducirlo:
  - a) la entrega directa de la remesa a instalaciones biológicamente seguras donde permanezca el resto de su vida continuamente aislada del medio local; y
  - b) el tratamiento de todos los efluentes y despojos de modo que garantice la inactivación del alfavirus de los salmónidos.

Anexo 10 (cont.)

- 2) Si el objetivo de la importación es la creación de una población nueva, deberán tomarse en cuenta los aspectos pertinentes del Código de Prácticas para la Introducción y Traslado de Organismos Marinos del Consejo Internacional para la Exploración del Mar (ICES).
- 3) A efectos del *Código Acuático*, los elementos pertinentes que establece el Código del ICES (versión íntegra: <http://www.ices.dk/publications/our-publications/Pages/Miscellaneous.aspx>) son los siguientes:
  - a) identificar la población que interesa (de cultivo o natural) allí donde se encuentra;
  - b) evaluar el historial sanitario de la población;
  - c) tomar y examinar muestras para descartar la presencia del alfavirus de los salmónidos y de parásitos y para determinar el estado general de salud de la población;
  - d) importar y aislar en instalaciones seguras de *cuarentena* una población fundadora (F-0);
  - e) producir una generación F-1 con la población F-0 mantenida en *cuarentena*;
  - f) criar la población F-1 y tomar y examinar muestras de la misma en los momentos críticos de su desarrollo (ciclo de vida) para descartar la presencia del alfavirus de los salmónidos y de parásitos y para determinar su estado general de salud;
  - g) si no se detecta la presencia del alfavirus de los salmónidos ni de parásitos y si se considera que el estado general de salud de la población reúne las *condiciones elementales de bioseguridad* requeridas por el país, la *zona* o el *compartimento* de importación, la población F-1 puede ser reconocida libre de infección por alfavirus de los salmónidos o libre del *agente patógeno* específico de esta *infección*;
  - h) liberar de la *cuarentena* la población F-1 libre del *agente patógeno* específico e introducirla en el país, la *zona* o el *compartimento* para fines de *acuicultura* o de repoblación.
- 4) Con respecto al apartado 3e), las condiciones de *cuarentena* deben ser propicias a la multiplicación del *agente patógeno* y, en última instancia, a la expresión clínica. Si las condiciones de *cuarentena* no son adecuadas para la multiplicación y el desarrollo del *agente patógeno*, el enfoque de diagnóstico recomendado podría no ser lo suficientemente sensible como para detectar un nivel de *infección* bajo.

Este artículo no se aplica a los *animales acuáticos* enumerados en el punto 1 del Artículo 10.X.3.

## Artículo 10.X.9.

**Importación, para transformación para el consumo humano, de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

Cuando se importen, para transformación para el consumo humano, *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá evaluar el *riesgo* y, si se justifica, exigir:

- 1) la entrega directa de los animales a centros de *cuarentena* o contención hasta su transformación en uno de los productos enumerados en el punto 1 del Artículo 10.X.3., o en productos descritos en el punto 1 del Artículo 10.X.12., o en otros productos autorizados por la *Autoridad Competente*, y
- 2) el tratamiento del agua utilizada para el transporte y de todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación de modo que garantice la inactivación del alfavirus de los salmónidos, o eliminación de modo que impida el contacto de los residuos con *especies susceptibles*.

En lo que se refiere a estas *mercancías*, los Países Miembros podrán considerar, si lo desean, la oportunidad de introducir medidas internas para afrontar los *riesgos* asociados a la utilización de cualquiera de ellas para fines que no sean el consumo humano.

Anexo 10 (cont.)

## Artículo 10.X.10.

**Importación de animales acuáticos vivos destinados a la alimentación de los animales o a un uso agrícola, industrial o farmacéutico y procedentes de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

Cuando se importen, para la alimentación de los animales o para un uso agrícola, industrial o farmacéutico, *animales acuáticos* vivos de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá exigir que:

- 1) los animales sean entregados directamente a centros de *cuarentena* y mantenidos en los mismos para su sacrificio y transformación en productos autorizados por la *Autoridad Competente*, y
- 2) el agua utilizada para el transporte y todos los efluentes y despojos resultantes de la transformación sean sometidos a un tratamiento que garantice la inactivación del alfavirus de los salmónidos.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.X.3.

## Artículo 10.X.11.

**Importación de productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

Cuando se importen *productos de animales acuáticos* de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del *país exportador* o por un *certificador oficial* aprobado por el *país importador*, que acredite, según los procedimientos descritos en los Artículos 10.X.4. ó 10.X.5. (según proceda) y 10.X.6., que el lugar de producción de la *mercancía* es un país, una *zona* o un *compartimento* declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos.

El *certificado* deberá ser conforme al modelo de certificado que figura en el Capítulo 5.11.

Este artículo no se aplica a las *mercancías* enumeradas en el punto 1 del Artículo 10.X.3.

## Artículo 10.X.12.

**Importación, para venta directa al por menor para el consumo humano, de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

- 1) Independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto del alfavirus de los salmónidos, las *Autoridades Competentes* no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con la infección por alfavirus de los salmónidos, cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de las siguientes *mercancías* que han sido elaboradas y envasadas para la venta directa al por menor y reúnen las condiciones descritas en el Artículo 5.4.2.:

[a] filetes o rodajas (congelados o refrigerados).] (en estudio)

Se han establecido algunos supuestos a la hora de evaluar la inocuidad de los *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos* enumerados más arriba. Los Países Miembros deberán referirse a tales supuestos en el Artículo 5.4.2. y analizar si se aplican a sus condiciones.

En lo que se refiere a estas *mercancías*, los Países Miembros podrán considerar, si lo desean, la oportunidad de introducir medidas internas para afrontar los *riesgos* asociados a la utilización de cualquiera de ellas para fines que no sean el consumo humano.

Anexo 10 (cont.)

- 2) Cuando se importen *animales acuáticos y productos de animales acuáticos*, aparte de los enumerados en el punto 1 arriba, de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá evaluar el *riesgo* y aplicar medidas apropiadas para reducirlo.

## Artículo 10.X.13.

**[Importación, para la acuicultura, de huevos desinfectados de un país, una zona o un compartimento no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos**

- 1) Cuando se importen, para la *acuicultura*, huevos desinfectados de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá evaluar el *riesgo* asociado al menos:
- a) al estado de contaminación con el alfavirus de los salmónidos del agua utilizada durante la *desinfección* de los huevos;
  - b) a la prevalencia de la infección por alfavirus de los salmónidos en la reserva de genitores (líquido ovárico y lechaza); y
  - c) a la temperatura y pH del agua utilizada para la *desinfección*.
- 2) Si la importación se justifica, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá aplicar las siguientes medidas para reducir el *riesgo*:
- a) los huevos deberán desinfectarse antes de la importación, de acuerdo con los métodos descritos en el Capítulo 1.1.3. del *Manual Acuático* (en estudio) o los especificados por la *Autoridad Competente* del *país importador*; y
  - b) entre la *desinfección* y la importación, los huevos no deberán entrar en contacto con nada que pueda afectar a su estatus sanitario.

Los Países Miembros, si lo desean, podrán contemplar medidas internas, como una nueva *desinfección* de los huevos a su llegada al *país importador*.

- 3) Cuando se importen, para la *acuicultura*, huevos desinfectados de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarado(a) libre de infección por alfavirus de los salmónidos, la *Autoridad Competente* del *país importador* deberá exigir la presentación de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos*, extendido por la *Autoridad Competente* del *país exportador* o por un *certificador oficial* aprobado por el *país importador*, que acredite el cumplimiento de los procedimientos descritos en el punto 2 de este artículo.] (en estudio)





## CHAPTER 2.3.5.

# INFECTION WITH INFECTIOUS SALMON ANAEMIA VIRUS

---

### 1. Scope

For the purpose of this chapter, infection with infectious salmon anaemia virus (ISAV) means infection with highly polymorphic region (HPR)-deleted ISAV or HPR0 ISAV (with a non-deleted HPR) of the genus *Isavirus* of the family *Orthomyxoviridae*.

Infection with HPR-deleted ISAV may cause infectious salmon anaemia (ISA) in Atlantic salmon (*Salmo salar*), which is a generalised and lethal condition characterised by severe anaemia, and variable haemorrhages and necrosis in several organs. The disease course is prolonged with low daily mortality (0.05–0.1%) typically only in a few cages. Cumulative mortality may become very high for a period lasting several months if nothing is done to limit disease dissemination (Rimstad *et al.*, 2011).

Detection of HPR0 ISAV has never been associated with ISA in Atlantic salmon. This virus genotype is known to cause transient subclinical infection and has mainly been detected localised to the gills. There is evidence of a link between non-pathogenic HPR0 ISAV and pathogenic HPR-deleted ISAV, with some outbreaks potentially occurring as a result of the emergence of HPR-deleted ISAV from HPR0 ISAV.

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

ISAV is an enveloped virus, 100–130 nm in diameter, with a genome consisting of eight single-stranded RNA segments with negative polarity. The virus has haemagglutinating, receptor-destroying and fusion activity (Falk *et al.*, 1997; Mjaaland *et al.*, 1997; Rimstad *et al.*, 2011).

The morphological, physiochemical and genetic properties of ISAV are consistent with those of the *Orthomyxoviridae*, and ISAV has been classified as the type species of the genus *Isavirus* (Kawaoka *et al.*, 2005) within this virus family. The nucleotide sequences of all eight genome segments, encoding at least ten proteins, have been described (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011), including the 3' and 5' non-coding sequences (Kulshreshtha *et al.*, 2010). Four major structural proteins have been identified, including a 68 kDa nucleoprotein, a 22 kDa matrix protein, a 42 kDa haemagglutinin-esterase (HE) protein responsible for receptor-binding and receptor-destroying activity, and a 50 kDa surface glycoprotein with putative fusion (F) activity, encoded by genome segments 3, 8, 6 and 5, respectively. Segment 1, 2, and 4 encode the viral polymerases PB2, PB1 and PA. The two smallest genomic segments, segments 7 and 8, each contain two open reading frames (ORF). The ORF1 of segment 7 encodes a protein with type I interferon antagonistic properties, while ORF2 has been suggested to encode for a nuclear export protein (NEP). Whether the ORF1 gene product is nonstructural or a structural component of the virion remains to be determined. The smaller ORF1 of segment 8 encodes the matrix protein, while the larger ORF2 encodes an RNA-binding structural protein also with type I interferon antagonistic properties.

## Anexo 11 (cont.)

Sequence analysis of various gene segments has revealed differences between isolates both within and between defined geographical areas. According to sequence differences in the 5'-region of the HE gene, ISAV isolates have been divided into two major groups, one European and one North American group. In the HE gene, a small HPR near the transmembrane domain has been identified. This region is characterised by the presence of gaps rather than single-nucleotide substitutions (Cunningham *et al.*, 2002; Mjaaland *et al.*, 2002). A full-length gene (HPR0) has been suggested to represent a precursor from which all ISAV HPR-deleted (pathogenic) variants of ISAV originate. The presence of non-pathogenic HPR0 ISAV has been reported in both apparently healthy wild and farmed Atlantic salmon, but has not been detected in diseased fish with clinical disease and pathological signs consistent with ISA (Christiansen *et al.*, 2011; Cunningham *et al.*, 2002; Lyngstad *et al.*, 2012; Markussen *et al.*, 2008; McBeath *et al.*, 2009; Nylund *et al.*, 2007). A mixed infection of HPR-deleted and HPR0 ISAV variants has been reported (Kibenge *et al.*, 2009). Recent studies show that HPR0 ISAV variants occur frequently in sea-reared Atlantic salmon. The HPR0 ISAV strain seems to be more seasonal and transient in nature and displays a tissue tropism with high prevalence in gills (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011). To date there has been no direct evidence linking the presence of HPR0 ISAV to a subsequent clinical ISA outbreak. The risk of emergence of pathogenic HPR-deleted ISAV variants from a reservoir of HPR0 ISAV is considered to be low but not negligible (Christiansen *et al.*, 2011; EFSA, 2012; Lyngstad *et al.*, 2012).

In addition to the variations seen in the HPR of the HE gene, other gene segments may also be of importance for development of ISA. A putative virulence marker has been identified in the fusion (F) protein. Here, a single amino acid substitution, or a sequence insertion, near the protein's putative cleavage site has been found to be a prerequisite for virulence (Kibenge *et al.*, 2007; Markussen *et al.*, 2008). Aside from insertion/recombination, ISAV also uses gene segment reassortment in its evolution, with potential links to virulence (Devold *et al.*, 2006; Markussen *et al.*, 2008; Mjaaland *et al.*, 2005).

### 2.1.2. Survival outside the host

ISAV has been detected by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in seawater sampled at farming sites with ISAV-positive Atlantic salmon (Kibenge *et al.*, 2004). It is difficult to estimate exactly how long the virus may remain infectious in the natural environment because of a number of factors, such as the presence of particles or substances that may bind or inactivate the virus. Exposing cell culture-propagated ISAV to 15°C for 10 days or to 4°C for 14 days had no effect on virus infectivity (Falk *et al.*, 1997).

### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

ISAV is sensitive to UV irradiation (UVC) and ozone. A 3-log reduction in infectivity in sterile fresh water and seawater was obtained with a UVC dose of approximately 35 Jm<sup>-2</sup> and 50 Jm<sup>-2</sup>, respectively, while the corresponding value for ISAV in wastewater from a fish-processing plant was approximately 72 Jm<sup>-2</sup>. Ozonated seawater (4 minutes with 8 mg ml<sup>-1</sup>, 600–750 mV redox potential) may inactivate ISAV completely. Incubation of tissue homogenate from diseased fish at pH 4 or pH 12 for 24 hours inactivated ISAV infectivity. Incubation in the presence of chlorine (100 mg ml<sup>-1</sup>) for 15 minutes also inactivated virus infectivity (Rimstad *et al.*, 2011). Cell culture-isolated ISAV may survive for weeks at low temperatures, but virus infectivity is lost within 30 minutes of exposure at 56°C (Falk *et al.*, 1997).

### 2.1.4. Life cycle

The main infection route is most likely through the gills for both HPR0 and HPR-deleted ISAV, but infection via the intestine or skin cannot be excluded. HPR-deleted ISAV has been used in the studies referred to below. Endothelial cells lining blood vessels seem to be the primary target cells for ISAV as demonstrated by electron microscopy immunohistochemistry and *in-situ* hybridisation. Virus replication has also been demonstrated in leukocytes, and sinusoidal macrophages in kidney tissue stain positive for ISAV using immunohistochemistry (IHC). As endothelial cells are the target cells (see Section 2.2.4), virus replication may occur in any organ (Aamelfot *et al.*, 2012; Rimstad *et al.*, 2011).

The haemagglutinin-esterase (HE) molecule of ISAV, like the haemagglutinin (HA) of other orthomyxoviruses (influenza A, B and C viruses), is essential for binding of the virus to sialic acid residues on the cell surface. In the case of ISAV, the viral particle binds to glycoprotein receptors containing 4-O-acetylated sialic acid residues, which also functions as a substrate for the receptor-destroying enzyme. Further uptake and replication seem to follow the pathway described for influenza A viruses, indicated by demonstration of low pH-dependent fusion, inhibition of replication by actinomycin D and  $\alpha$ -amanitin, early accumulation of nucleoprotein followed by matrix protein in the nucleus and budding of progeny virions from the cell surface (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011).

The route of shedding of ISAV from infected fish may be through natural excretions/secretions.

The HPR0 variant has hitherto not been isolated in cell culture, which hampers *in-vivo* and *in-vitro* studies of characteristics and the life cycle of this virus variant.

## 2.2. Host factors

### 2.2.1. Susceptible host species

Natural outbreaks of ISA have only been recorded in farmed Atlantic salmon, and in Coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) in Chile (Kibenge *et al.*, 2001). Subclinically infected feral Atlantic salmon, brown trout and sea trout (*S. trutta*) have been identified by RT-PCR (Kibenge *et al.*, 2004; Piarre *et al.*, 2005). In marine fish, detection of ISAV by RT-PCR has been reported in tissues of pollock (*Pollachius virens*) and cod (*Gadus morhua*), but only in fish collected from cages with Atlantic salmon exhibiting ISA (reviewed in Kibenge *et al.*, 2004). Following experimental infection by bath immersion, ISAV has been detected by RT-PCR in herring (*Clupea harengus*) and a subsequent transmission to Atlantic salmon. Attempts have been made to induce infection or disease in pollock, *Pollachius virens*, but with negative results. Replication of ISAV has also been demonstrated in several salmonid species but only after intraperitoneal injection of ISAV-infected material (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.2.2. Susceptible stages of the host

In Atlantic salmon, disease outbreaks are mainly reported in seawater cages, and only a few cases have been reported in the freshwater stage, including one case in yolk sac fry (Rimstad *et al.*, 2011). ISA has been experimentally induced in both Atlantic salmon fry and parr kept in freshwater. Genetics may also play an important role in the susceptibility of Atlantic salmon to ISA, as differences in susceptibility among different family groups have been observed.

### 2.2.3. Species or subpopulation predilection (probability of detection)

ISA is primarily a disease of Atlantic salmon.

### 2.2.4. Target organs and infected tissue

For fish that have developed ISA: endothelial cells in all organs (gills, heart, liver, kidney, spleen and others) (Aamelfot *et al.*, 2012). HPR0 ISAV variants seem primarily to target the gills, but this variant has also been detected in kidney and heart (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011).

### 2.2.5. Persistent infection with lifelong carriers

Persistent infection in lifelong carriers has not been documented in Atlantic salmon, but at the farm level, infection may persist in the population by continuous infection of new individuals that do not develop clinical signs of disease. This may include infection with the HPR0 ISAV variants, which seems to be only transient in nature (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al.*, 2011). Experimental infection of rainbow trout and brown trout with ISAV indicate that persistent infection in these species could be possible (Rimstad *et al.*, 2011).

## Anexo 11 (cont.)

### 2.2.6. Vectors

Passive transfer of ISAV by salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*) has been demonstrated under experimental conditions. Although natural vectors have not been identified, several different vector groups could be possible vectors under certain defined conditions (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.2.7. Known or suspected wild aquatic animal carriers

Wild Atlantic salmon, brown trout and sea trout (*S. trutta*) may be carriers of ISAV (Rimstad *et al.*, 2011). The importance of wild marine fish (see Section 2.2.1) as virus carriers needs to be clarified. The results from a study from the Faroe Islands point to the potential presence of an unknown marine reservoir for this virus (Christiansen *et al.*, 2011).

## 2.3. Disease pattern

### 2.3.1. Transmission mechanisms

Studies of recurrent epidemics of ISA in different salmon-producing areas conclude that the virus spreads locally between adjoining sites. Proximity to sites with ISA outbreaks is a risk of primary importance, and the risk for a susceptible farm increases the nearer it is to an infected farm. Sequence analysis of ISAV from ISA outbreaks in Norway shows a high degree of similarity between viruses isolated from neighbouring ISA affected sites, further supporting ISAV transmission between proximate sites. The risk of transmission of ISAV is dependent on the level of biosecurity measures in place. Suggested pathways for ISAV transmission are through sea water, shipment of live fish, transmission through sea lice, and via infected wild salmonids (Aldrin *et al.*, 2011; Gustafson *et al.*, 2007; Lyngstad *et al.*, 2011; Mardones *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011).

Many ISA outbreaks in Norway appear to be isolated in space and time from other outbreaks with unknown sources of infection (Aldrin *et al.*, 2011). A suggested hypothesis for disease emergence is occasional transition of HPR0 ISAV into HPR-deleted ISAV variants causing solitary outbreaks or local epidemics through local transmission (Lyngstad *et al.*, 2011; 2012). The risk of emergence of HPR-deleted ISAV variants from a reservoir of HPR0 ISAV is considered to be low but not negligible (EFSA, 2012). A direct link between HPR0 variants and HPR-deleted ISAV remains to be demonstrated.

As ISA has also been reported from smolt-producing sites with Atlantic salmon, transmission of ISAV from parent to progeny cannot be excluded. Even though there is no evidence of true vertical transmission, eggs and embryos could be a risk of transmission if ISAV biosecurity measures are not adequate (Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.3.2. Prevalence

In a net pen containing diseased fish, the prevalence of HPR-deleted ISAV may vary widely, while in adjacent net pens ISAV may be difficult to detect, even by the most sensitive methods. Therefore, for diagnostic investigations it is important to sample from net pens containing diseased fish.

There is increasing evidence that the prevalence of the non-pathogenic HPR0 ISAV genotype may be high in Atlantic salmon production areas. HPR0 variants in Atlantic salmon appear to be a seasonal and transient infection (Christiansen *et al.*, 2011). HPR0 variants of ISAV have also been detected in wild salmonids (reviewed in Rimstad *et al.*, 2011).

### 2.3.3. Geographical distribution

Initially reported in Norway in the mid-1980s (Thorud & Djupvik, 1988), ISA in Atlantic salmon has since then been reported in Canada (New Brunswick in 1996; Mullins *et al.*, 1998), the United Kingdom (Scotland in 1998), the Faroe Islands (2000), the USA (Maine in 2001) and in Chile (2007) (Cottet *et al.*, 2011; Rimstad *et al.*, 2011). The presence of the HPR0 ISAV variant has been reported in all countries where ISA has occurred.

#### 2.3.4. Mortality and morbidity

During ISA outbreaks, morbidity and mortality may vary greatly within and between different net pens in a seawater fish farm, and between different fish farms. Morbidity and mortality within a net pen may start at very low levels. Typically, daily mortality ranges from 0.5 to 1% in affected cages. Without intervention, mortality increases and seems to peak in early summer and winter. The range of cumulative mortality during an outbreak is from insignificant to moderate, but in severe cases, cumulative mortality exceeding 90% may be recorded during several months. Initially, an outbreak of ISA may be limited to one or two net pens over a long time period. In such cases, if net pens with clinical ISA are slaughtered immediately, further development of clinical ISA at the site may be prevented. In outbreaks where smolts have been infected in well boats during transport, simultaneous outbreaks may occur.

HPR0 ISAV has not been associated with ISA in Atlantic salmon.

#### 2.3.5. Environmental factors

Generally, outbreaks of ISA tend to be seasonal with most outbreaks in late spring and late autumn. Handling of fish (e.g. sorting or treatment, splitting or moving of cages) may initiate disease outbreaks on infected farms, especially if long-term undiagnosed problems have been experienced in advance (Lyngstad *et al.*, 2008).

### 2.4. Control and prevention

#### 2.4.1. Vaccination

Vaccination against ISA has been carried out in North America since 1999 and the Faroe Islands since 2005. In Norway vaccination against ISA was carried out for the first time in 2009 in a region with a high rate of ISA outbreaks. Chile started vaccinating against ISA in 2010. However, the currently available vaccines do not seem to offer complete protection in Atlantic salmon.

#### 2.4.2. Chemotherapy

Most recently, it has been demonstrated that the broad-spectrum antiviral drug Ribavirin (1- $\beta$ -D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide) is effective in inhibiting ISAV replication both *in vitro* and *in vivo* (Rivas-Aravena *et al.*, 2011).

#### 2.4.3. Immunostimulation

Not applicable.

#### 2.4.4. Resistance breeding

Differences in susceptibility among different family groups of Atlantic salmon in fresh water have been observed in challenge experiments and in field tests, indicating the potential for resistance breeding.

#### 2.4.5. Restocking with resistant species

Not applicable.

#### 2.4.6. Blocking agents

Not applicable.

#### 2.4.7. Disinfection of eggs and larvae

Disinfection of eggs according to standard procedures is suggested as an important control measure.

Anexo 11 (cont.)**2.4.8. General husbandry practices**

The incidence of ISA may be greatly reduced by implementation of legislative measures or husbandry practices regarding the movement of fish, mandatory health control, transport and slaughterhouse regulations. Specific measures including restrictions on affected, suspected and neighbouring farms, enforced sanitary slaughtering, generation segregation ('all in/all out') as well as disinfection of offal and wastewater from fish slaughterhouses and fish processing plants may also contribute to reducing the incidence of the disease. The experience from the Faroe Islands, where the prevalence of HPR0 is high, demonstrates that the combination of good biosecurity and husbandry reduces the risk of ISA outbreaks substantially.

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

The following is primarily for verification of suspected cases based on clinical signs and gross pathology or positive RT-PCR for HPR-deleted ISAV.

For detection of HPR0 ISAV, gill tissue should be sampled in randomly selected individuals at different points of time through the production cycle. Only detection using RT-PCR is possible for this genotype.

**3.2. Preservation of samples for submission**

Haematology:	Heparin or EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid)
Cell culture:	Virus transport medium
Histology and immunohistochemistry:	Fixation in neutral phosphate-buffered 10% formalin
Immunofluorescence (smears):	Either submitted dried, or dried and fixed in 100% acetone
Molecular biology (RT-PCR and sequencing):	Appropriate medium for preservation of RNA

**3.3. Pooling of samples**

~~Pooling of samples may be acceptable under some circumstances, however, the impact on sensitivity and design prevalence must be considered is not recommended for verification of ISAV as it is usually of interest to compare results from the various examinations for each individual. For surveillance purposes, pooling of samples for virological examination (PCR and/or cell culture) may be accepted. However, the number of fish to be pooled may depend on the suggested prevalence of ISAV in the population and of the method used.~~

**3.4. Best organs or tissues****3.4.1. Detection of HPR-deleted ISAV**

Blood is preferred for non-lethal sampling. Generally, as ISA is a generalised infection, internal organs not exposed to the environment should be used for diagnostic testing.

Virological examination (cell culture and PCR): heart (should always be included) and mid-kidney;

Histology (prioritised): mid-kidney, liver, heart, pancreas/intestine, spleen;

Immunofluorescence (smears): mid-kidney;

Immunohistochemistry: mid-kidney, heart (including valves and bulbus arteriosus).

### 3.4.2. Detection of HPR0 ISAV

Gills should be tested by RT-PCR

## 4. Diagnostic methods

### 4.1. Field diagnostic methods

#### 4.1.1. Clinical signs

The most prominent external signs of ISA are pale gills (except in the case of blood stasis in the gills), exophthalmia, distended abdomen, blood in the anterior eye chamber, and sometimes skin haemorrhages especially of the abdomen, as well as scale pocket oedema.

Generally, naturally infected Atlantic salmon with HPR-deleted ISAV appear lethargic and may keep close to the wall of the net pen.

Nutritional status is usually quite normal, but diseased fish have no feed in the digestive tract.

### 4.2. Pathological evaluation

#### 4.2.1. Gross pathology

Fish infected with HPR-deleted ISAV may show a range of pathological changes, from none to severe, depending on factors such as infective dose, virus strain, temperature, age and immune status of the fish. No lesions are pathognomonic to ISA, but anemia and circulatory disturbances are always present. The following findings have been described to be consistent with ISA, though all changes are seldom observed in one single fish.

- Yellowish or blood-tinged fluid in peritoneal and pericardial cavities.
- Oedema of the swim bladder.
- Small haemorrhages of the visceral and parietal peritoneum.
- Focal or diffusely dark red liver. A thin fibrin layer may be present on the surface.
- Swollen, dark red spleen with rounded margins.
- Dark redness of the intestinal wall mucosa in the blind sacs, mid- and hind-gut, without blood in the gut lumen of fresh specimens.
- Swollen, dark red kidney with blood and liquid effusing from cut surfaces.
- Pinpoint haemorrhages of the skeletal muscle.

#### 4.2.2. Clinical chemistry

- Haematocrit <10 in end stages (25–30 often seen in less advanced cases). Haematocrit <10 should always be followed up by investigation for ISA in sea-water reared Atlantic salmon.
- Blood smears with degenerate and vacuolised erythrocytes and the presence of erythroblasts with irregular nuclear shape. Differential counts show a reduction in the proportion of leucocytes relative to erythrocytes, with the largest reduction being among lymphocytes and thrombocytes.

Liver pathology will lead to increased levels of liver enzymes in the blood.

Anexo 11 (cont.)**4.2.3. Microscopic pathology**

Histological changes in clinically diseased Atlantic salmon are variable, but can include the following:

- Numerous erythrocytes in the central venous sinus and lamellar capillaries where erythrocyte thrombi also form in the gills.
- Multifocal to confluent haemorrhages and/or hepatocyte necrosis at some distance from larger vessels in the liver. Focal accumulations of erythrocytes in dilated hepatic sinusoids.
- Accumulation of erythrocytes in blood vessels of the intestinal lamina propria and eventually haemorrhage into the lamina propria.
- Spleen stroma distended by erythrocyte accumulation.
- Slight multifocal to extensive diffuse interstitial haemorrhage with tubular necrosis in the haemorrhagic areas, erythrocyte accumulation in the glomeruli in the kidney.
- Erythrophagocytosis in the spleen and secondary haemorrhages in liver and kidney.

**4.2.4. Wet mounts**

Not applicable.

**4.2.5. Smears**

See Section 4.3.1.1.2

**4.2.6 Fixed sections**

See Section 4.3.1.1.3

**4.2.7. Electron microscopy/cytopathology**

Virus has been observed in endothelial cells and leukocytes by electron microscopy of tissue preparations, but this method has not been used for diagnostic purposes.

**4.2.8. Differential diagnoses**

Other anaemic and haemorrhagic conditions, including erythrocytic inclusion body syndrome, winter ulcer and septicaemias caused by infections with *Moritella viscosa*. Disease cases in Atlantic salmon with haematocrit values below 10 is not a unique finding for ISA, however cases with such low haematocrit values without any obvious explanation should always be tested for the presence of ISAV.

**4.3. Agent detection and identification methods****4.3.1. Direct detection methods**

With the exception of molecular techniques (see 4.3.1.2.3), these direct detection methods are only recommended for fish with clinical signs of infection with HPR-deleted ISAV.

**4.3.1.1. Microscopic methods***4.3.1.1.1. Wet mounts*

Not applicable.



#### 4.3.1.1.2. Smears

##### 4.3.1.1.2.1 Indirect fluorescent antibody test

An indirect fluorescent antibody test (IFAT) using validated monoclonal antibodies (MAbs) against ISAV haemagglutinin-esterase (HE) on kidney smears (imprints) or on frozen tissue sections of kidney, heart and liver has given positive reactions in both experimentally and naturally infected Atlantic salmon. Suspected cases (see Section 7.1) may be confirmed with a positive IFAT.

##### i) Preparations of tissue smears (imprints)

A small piece of the mid-kidney is briefly blotted against absorbent paper to remove excess fluid, and several imprints in a thumbnail-sized area are fixed on poly-L-lysine-coated microscope slides. The imprints are air-dried, fixed in chilled 100% acetone for 10 minutes and stored either at 4°C for a few days or at -80°C until use.

##### ii) Staining procedure

After blocking with 5% non-fat dry milk in phosphate-buffered saline (PBS) for 30 minutes, the preparations are incubated for 1 hour with an appropriate dilution of anti-ISAV MAb, followed by three washes. For the detection of bound antibodies, the preparations are incubated with fluorescein isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-mouse Ig for 1 hour. PBS with 0.1% Tween 20 is used for washing. All incubations are performed at room temperature.

#### 4.3.1.1.2. Fixed sections

##### 4.3.1.1.3.1 Immunohistochemistry (IHC)

Polyclonal antibody against ISAV nucleoprotein is used on paraffin sections from formalin-fixed tissue. This IHC staining has given positive reactions in both experimentally and naturally infected Atlantic salmon. Preferred organs are mid-kidney and heart (transitional area including all three chambers and valves). Suspected cases due to pathological signs are verified with a positive IHC. Histological sections are prepared according to standard methods.

##### i) Preparation of tissue sections

The tissues are fixed in neutral phosphate-buffered 10% formalin for at least 1 day, dehydrated in graded ethanol, cleared in xylene and embedded in paraffin, according to standard protocols. Approximately 5 µm thick sections (for IHC sampled on poly-L-lysine-coated slides) are heated at 56–58°C (maximum 60°C) for 20 minutes, dewaxed in xylene, rehydrated through graded ethanol, and stained with haematoxylin and eosin for pathomorphology and IHC as described below.

##### ii) Staining procedure for IHC

All incubations are carried out at room temperature on a rocking platform, unless otherwise stated.

- a) Antigen retrieval is done by boiling sections in 0.1 M citrate buffer pH 6.0 for 2 × 6 minutes followed by blocking with 5% non-fat dry milk and 2% goat serum in 50 mM TBS (TBS; Tris/HCl 50 mM, NaCl 150 mM, pH 7.6) for 20 minutes.
- b) Sections are then incubated overnight with primary antibody (monospecific rabbit antibody against ISAV nucleoprotein) diluted in TBS with 1% non-fat dry milk, followed by three washes in TBS with 0.1% Tween 20.

Anexo 11 (cont.)

- c) For detection of bound antibodies, sections are incubated with Alkaline phosphatase-conjugated antibodies to rabbit IgG for 60 minutes. Following a final wash, Fast Red (1 mg ml<sup>-1</sup>) and Naphthol AS-MX phosphate (0.2 mg ml<sup>-1</sup>) with 1 mM Levamisole in 0.1 M TBS (pH 8.2) is added to develop for 20 minutes. Sections are then washed in tap water before counterstaining with Harris haematoxylin and mounted in aqueous mounting medium. ISAV positive and ISAV negative tissue sections are included as controls in every setup.

## iii) Interpretation

Negative control sections should not have any significant colour reactions. Positive control sections should have clearly visible red-coloured cytoplasmic and intranuclear staining of endothelial cells in blood vessels or heart endocardium. A test sample section should only be regarded as positive if clear, intranuclear red staining of endothelial cells is found. The intranuclear localisation is particular to the orthomyxovirus nucleoprotein during a stage of virus replication. Concurrent cytoplasmic staining is often dominant. Cytoplasmic and other staining patterns without intranuclear localisation must be considered as nonspecific or inconclusive.

The strongest positive staining reactions are usually obtained in endothelial cells of heart and kidney. Endothelial staining reactions within very extensive haemorrhagic lesions can be slight or absent, possibly because of lysis of infected endothelial cells.

**4.3.1.2. Agent isolation and identification***4.3.1.2.1. Cell culture*

ASK cells (Devold *et al.*, 2000) are recommended for primary ISAV isolation, but other susceptible cell lines, such as SHK-1 (Dannevig *et al.*, 1995), may be used. However, strain variability and the ability to replicate in different cell lines should be taken into consideration. The ASK cells seem to support isolation and growth of the hitherto known virus isolates. A more distinct cytopathic effect (CPE) may appear in ASK cells. Both the SHK-1 and ASK cell lines appear to lose susceptibility for ISAV with increasing passage level.

The SHK-1 and ASK cells are grown at 20°C in Leibovitz's L-15 cell culture medium supplemented with fetal bovine serum (5% or 10%), L-glutamine (4 mM), gentamicin (50 µg ml<sup>-1</sup>) and 2-mercapto-ethanol (40 µM) (this latter may be omitted).

For virus isolation, cells grown in 25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks or multi-well cell culture plates, which may be sealed with parafilm or a plate sealer to stabilise the pH of the medium, may be used. Cells grown in 24-well plates may not grow very well into monolayers, but this trait may vary between laboratories and according to the type of cell culture plates used. Serially diluted ISAV-positive controls should be inoculated in parallel with the tissue samples as a test for cell susceptibility to ISAV (this should be performed in a separate location from that of the test samples).

## i) Inoculation of cell monolayers

Prepare a 2% suspension of tissue homogenate using L-15 medium without serum or other medium with documented suitability. Remove growth medium from actively growing monolayers (1–3 day old cultures or cultures of 70–80 % confluency) grown in 25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks or multi-well cell culture plates (see above). Inoculate monolayers (25 cm<sup>2</sup> tissue culture flasks) with 1.5 ml of the 2% tissue homogenate. Adjust volume to the respective surface area in use. Allow 3–4 hours incubation at 15°C followed by removal of the inoculum, and addition of fresh, L-15 medium supplemented with 2–5% FCS. Alternatively, a 1/1000 dilution and direct inoculation without medium replacement can be used.

When fish samples come from production sites where infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) is regarded as endemic, the tissue homogenate supernatant should be incubated (for a minimum of 1 hour at 15°C) with a pool of antisera to the indigenous serotypes of IPNV prior to inoculation.

## ii) Monitoring incubation

Inoculated cell cultures (kept at 15°C) are examined at regular intervals (at least every 7 days) for the occurrence of CPE. Typical CPE due to ISAV appears as vacuolated cells that subsequently round up and loosen from the growth surface. If CPE consistent with that described for ISAV or IPNV appears, an aliquot of the medium for virus identification, as described below, must be collected. In the case of an IPNV infection, re-inoculate cells with tissue homogenate supernatant that has been incubated with a lower dilution of IPNV antisera. If no CPE has developed after 14 days, subculture to fresh cell cultures.

## iii) Subcultivation procedure

Aliquots of medium (supernatant) from the primary cultures are collected 14 days (or earlier when obvious CPE appears) after inoculation. Supernatants from wells inoculated with different dilutions of identical samples may be pooled for surveillance purposes.

Supernatants are inoculated into fresh cell cultures as described for the primary inoculation: remove growth medium, inoculate monolayers with a small volume of diluted supernatant (1/5 and higher dilutions) for 3–4 hours before addition of fresh medium. Alternatively, add supernatants (final dilutions 1/10 and higher) directly to cell cultures with growth medium.

Inoculated cell cultures are incubated for at least 14 days and examined at regular intervals, as described for the primary inoculation. At the end of the incubation period, or earlier if obvious CPE appears, the medium is collected for virus identification, as described below. Cell cultures with no CPE should always be examined for the presence of ISAV by immunofluorescence (IFAT), haemadsorption or by PCR because virus replication may occur without development of apparent CPE.

The procedure described below has been successful for isolation of HPR-deleted ISAV from fish with clinical signs or from suspected cases. HPR0 has hitherto not been isolated in cell culture.

#### 4.3.1.2.2. Antibody-based antigen detection methods

##### 4.3.1.2.2.1 Virus identification by IFAT

All incubations are carried out at room temperature unless otherwise stated.

- i) Prepare monolayers of cells in appropriate tissue culture plates (e.g. 96-well or 24-well plates), in slide flasks or on cover-slips dependent on the type of microscope available (an inverted microscope equipped with UV light is necessary for monolayers grown on tissue culture plates). SHK-1 cells grow rather poorly on glass cover-slips. The necessary monolayers for negative and positive controls must be included.
- ii) Inoculate the monolayers with the virus suspensions to be identified in tenfold dilutions, two monolayers for each dilution. Add positive virus control in dilutions known to give a good staining reaction. Incubate inoculated cell cultures at 15°C for 7 days or, if CPE appears, for a shorter time.
- iii) Fix in 80% acetone for 20 minutes after removing cell culture medium and rinsing once with 80% acetone. Remove the fixative and air dry for 1 hour. The fixed cell cultures may be stored dry for less than 1 week at 4°C or at –20°C for longer storage.
- iv) Incubate the cell monolayers with anti- ISAV MAb in an appropriate dilution in PBS for 1 hour. and rinse twice with PBS/0.05% Tween 20. If unspecific binding is observed, incubate with PBS containing 0.5% dry skimmed milk.

## Anexo 11 (cont.)

- v) Incubate with FITC-conjugated goat anti-mouse immunoglobulin for 1 hour (or if antibody raised in rabbits is used as the primary antibody, use FITC-conjugated antibody against rabbit immunoglobulin), according to the instructions of the supplier. To increase the sensitivity, FITC-conjugated goat anti-mouse Ig may be replaced with biotin-labelled anti-mouse Ig and FITC-labelled streptavidin with the described rinsing in between the additional step. Rinse once with PBS/0.05% Tween 20, as described above. The nuclei can be stained with propidiumiodid ( $100 \mu\text{g ml}^{-1}$  in sterile distilled water). Add PBS (without Tween 20) and examine under UV light. To avoid fading, the stained plates should be kept in dark until examination. For long periods of storage (more than 2–3 weeks) a solution of 1,4-diazabicyclooctane (DABCO 2.5% in PBS, pH 8.2) or similar reagent may be added as an anti-fade solution. .

## 4.3.1.2.3. Molecular techniques

## 4.3.1.2.3.1 Reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

The primers described below for RT-PCR and real-time RT-PCR will detect both European and North-American HPR-deleted ISAV, and also HPR0 ISAV.

RT-PCR may be used for detection of ISAV from total RNA (or total nucleic acid) extracted from recommended organs/tissues (see Section 3.4). The real-time RT-PCR for the detection of ISAV is recommended as it increases the specificity and, probably, also the sensitivity of the test. Though several primer sets for ISAV real-time RT-PCR have been reported, recommended primer sets are presented in the table below. The primer sets derived from genomic segment 8 and segment 7 have been used by several laboratories and have been found suitable for detection of ISAV during disease outbreaks and in apparently healthy carrier fish

With the widespread occurrence of HPR0 ISAV variants, it is essential to follow up any positive PCR results based on segment 7 or 8 primer sets by sequencing the HPR of segment 6 in order to determine the ISAV HPR variant present (HPR-deleted or HPR0 or both). Adequate primers, designed and validated by the OIE Reference Laboratory are given in the table below. Validation of the HPR primer set for the North American isolates is restricted by the limited sequence data available in the Genbank for the 3' end of ISAV segment 6.

The primers for segment 7 and 8 as well as sequencing primers for segment 6 HPR, are listed below and may also be used for conventional RT-PCR if necessary.

Real-time RT-PCR: Primer and probe sequences	Named	Genomic segment	Product size	Reference
5'-CAG-GGT-TGT-ATC-CAT-GGT-TGA-AAT-G-3' 5'-GTC-CAG-CCC-TAA-GCT-CAA-CTC-3' 5'-6FAM-CTC-TCT-CAT-TGT-GAT-CCC-MGBNFQ-3'	forward primer reverse primer Taqman@probe	7	155 nt	Snow <i>et al.</i> , 2006
5'-CTA-CAC-AGC-AGG-ATG-CAG-ATG-T-3' 5'-CAG-GAT-GCC-GGA-AGT-CGA-T-3' 5'-6FAM-CAT-CGT-CGC-TGC-AGT-TC-MGBNFQ-3'	forward primer reverse primer Taqman@probe	8	104 nt	Snow <i>et al.</i> , 2006
5'-GAC-CAG-ACA-AGC-TTA-GGT-AAC-ACA-GA-3' 5'-GAT-GGT-GGA-ATT-CTA-CCT-CTA-GAC-TTG-TA-3'	forward primer reverse primer	6 (HPR)	304 nt if HPR0	Designed by OIE Ref. Lab.

## 4.3.1.2.4. Agent purification

ISAV propagated in cell culture can be purified by sucrose gradient centrifugation (Falk *et al.*, 1997) or by affinity purification using immunomagnetic beads coated with anti-ISAV MAb.

### 4.3.2. Serological methods

Both Atlantic salmon and rainbow trout develop a humoral immune response to the ISAV infection. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs) with either purified virus or lysates from ISAV-infected cell cultures have been established for detection of ISAV-specific antibodies. ELISA titres can be very high and appear to be quite specific for the nucleoprotein in Western blots (K. Falk, pers. comm.). The test is not standardised for surveillance or diagnostic use, but may be used as a supplement to direct virus detection and pathology in obscure cases. Furthermore, the level and distribution of seroconversion in an ISAV-infected population may give some information about the spread of infection, particularly in cases where vaccination is not practised, and in wild fish.

## 5. Rating of tests against purpose of use

As an example, the methods currently available for targeted surveillance for infection with HPR-deleted ISAV and diagnosis of ISA are listed in Table 5.1. For surveillance of infection with HPR0 ISAV, real-time RT-PCR followed by sequencing is the only recommended method (not included in the table). The designations used in the Table indicate: a = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity; b = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; c = the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; and d = the method is presently not recommended for this purpose. These are somewhat subjective as suitability involves issues of reliability, sensitivity, specificity and utility. Although not all of the tests listed as category a or b have undergone formal standardisation and validation, their routine nature and the fact that they have been used widely without dubious results, makes them acceptable.

*Table 5.1. Methods for targeted surveillance and diagnosis\**

Method	Targeted surveillance for infection with HPR-deleted ISAV				Presumptive diagnosis	Confirmatory diagnosis
	Larvae	PLs	Juveniles	Adults		
Gross signs	d	d	d	d	c	b
Histopathology	d	d	d	b	b	b
IFAT on kidney imprints	d	d	d	d	b	a
Immunohistochemistry	d	d	d	d	b	a
Isolation in cell culture with virus identification	a	a	a	a	a	a
RT-PCR or real-time RT-PCR followed by sequencing	a	a	a	a	b	a

\*As the diagnosis of ISA is not based on the results of a single method, the information in this Table should be used with care. See Section 7 for the criteria for ISA diagnosis.

PLs = postlarvae; IFAT = indirect fluorescent antibody test; EM = electron microscopy;  
RT-PCR = reverse-transcription polymerase chain reaction.

Anexo 11 (cont.)**6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from infectious salmon anaemia virus**

Regular health inspections combined with investigation for ISA when increased mortality is associated with one of the given clinical signs and/or pathological changes consistent with ISA is an efficient way of obtaining data on the occurrence of ISA in farmed populations. In addition to regular health inspections, testing for HPR-deleted ISAV, preferentially by PCR-based methodology, at certain intervals may be carried out. However, due to the uneven spread of infection within a farm, large numbers of samples need to be tested. The significance of positive findings of ISAV by PCR alone for the risk of developing ISA disease is not clear, and therefore any positive findings would have to be followed up by either further testing and/or surveillance of the production site.

Because of the transient nature of HPR0 ISAV, large sample sizes need to be tested at time points through the production cycle to be able to document freedom of this infection.

**7. Corroborative diagnostic criteria**

Reasonable grounds to suspect fish of being infected with ISAV (HPR-deleted or HPR0) are outlined below. The Competent Authority should ensure that, following the suspicion of fish infected with ISAV on a farm, an official investigation to confirm or rule out the presence of the disease will be carried out as quickly as possible, applying inspection and clinical examination, as well as collection and selection of samples and using the methods for laboratory examination as described in Section 4.

**7.1. Definition of suspect case (HPR-deleted ISAV)**

ISA or infection with HPR-deleted ISAV would be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Clinical signs consistent with ISA or pathological changes consistent with ISA (Section 4.2) whether or not the pathological changes are associated with clinical signs of disease;
- ii) Isolation and identification of ISAV in cell culture from a single sample (targeted or routine) from any fish on the farm, as described in Section 4.3.1.2.1;
- iii) Evidence for the presence of ISAV from two independent laboratory tests such as RT-PCR (Section 4.3.1.2.3) and IFAT on tissue imprints (Section 4.3.1.1.2.1) or IHC (Section 4.3.1.1.3.1)

**7.2. Definition of confirmed case (HPR-deleted ISAV)****7.2.1. Definition of confirmed ISA**

The following criteria should be met for confirmation of ISA: Mortality, clinical signs and pathological changes consistent with ISA (Section 4.2), and detection of ISAV in tissue preparations by means of specific antibodies against ISAV (IHC on fixed sections [Section 4.3.1.1.3.1] or IFAT on tissue imprints [Section 4.3.1.1.2] or fixed sections as described in Section 4.3.1.1.3) in addition to either:

- i) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least one sample from any fish on the farm, as described in Section 4.3.1.2.1
- or
- ii) Detection of ISAV by RT-PCR by the methods described in Section 4.3.1.2.3;

## 7.2.2 Definition of confirmed HPR-deleted ISAV infection

The criteria given in i) or ii) should be met for the confirmation of infection with HPR-deleted ISAV.

- i) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least two independent samples (targeted or routine) from any fish on the farm tested on separate occasions as described in Section 4.3.1.2.1.
- ii) Isolation and identification of ISAV in cell culture from at least one sample from any fish on the farm with corroborating evidence of ISAV in tissue preparations using either RT-PCR (Section 4.3.1.2.3) or IFAT/IHC (Sections 4.3.1.1.2 and 4.3.1.1.3).

## 7.3. Definition of confirmed infection with HPR0 ISAV

### 7.3.1. Definition of confirmed infection with HPR0 ISAV

The criteria given in i) and ii) should be met for the confirmation of HPR0 ISAV infection.

- i) An absence of clinical signs consistent with ISA disease or mortality (= apparently healthy fish).
- ii) Detection of ISAV by RT-PCR followed by independent amplification and sequencing of the HPR region of segment 6 to confirm the presence of HPR0 only.

## 8. References

- AAMELFOT M., DALE O.B., WELI S., KOPPANG E.O. & FALK K. (2012). Expression of 4-O-acetylated sialic acids on Atlantic salmon endothelial cells correlates with cell tropism of Infectious salmon anemia virus. *J. Virol.*, **86**, 10571–10578.
- ALDRIN M., LYGSTAD T.M., KRISTOFFERSEN A.B., STORVIK B., BORGAN O. & JANSEN P.A. (2011). Modelling the spread of infectious salmon anaemia among salmon farms based on seaway distances between farms and genetic relationships between infectious salmon anaemia virus isolates. *J.R. Soc. Interface*, **8**, 1346–1356.
- CHRISTIANSEN D.H., ØSTERGAARD P.S., SNOW M., DALE O.B & FALK K. (2011). A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV1 - HPR0) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in the Faroe Islands. *J. Gen. Virol.*, **92**, 909–918.
- COTTET L., RIVAS-ARAVENA A., CORTEZ-SAN MARTIN M., SANDINO A.M. & SPENCER E. (2011) Infectious salmon anemia virus – genetics and pathogenesis. *Virus Res.*, **155**, 10-19.
- CUNNINGHAM C.O., GREGORY A., BLACK J., SIMPSON I. & RAYNARD R.S. (2002). A novel variant of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) haemagglutinin gene suggests mechanisms for virus diversity. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **22**, 366–374.
- DANNEVIG, B.H., FALK, K. & NAMORK E. (1995). Isolation of the causal virus of infectious salmon anemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney. *J. Gen. Virol.*, **76**, 1353–1359.
- DEVOLD M., KARLSEN M. & NYLUND A. (2006). Sequence analysis of the fusion protein gene from infectious salmon anemia virus isolates: evidence of recombination and reassortment. *J. Gen. Virol.*, **87**, 2031–2040.
- DEVOLD M., KROSSOY B., ASPEHAUG V. & NYLUND A. (2000). Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout *Salmo trutta* after experimental infection. *Dis. Aquat. Org.*, **40**, 9–18.
- EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2012) EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on infectious salmon anaemia. *EFSA Journal*, **10** (11), 2971.

Anexo 11 (cont.)

FALK K., NAMORK E., RIMSTAD E., MJAALAND S. & DANNEVIG B.H. (1997). Characterization of infectious salmon anemia virus, an orthomyxo-like virus isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Virol.*, **71**, 9016–9023.

GUSTAFSON L.L., ELLIS S.K., BEATTIE M.J., CHANG B.D., DICKEY D.A., ROBINSON T.L., MARENGHI F.P., MOFFETT P.J. & PAGE F.H. (2007). Hydrographics and the timing of infectious salmon anemia outbreaks among Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) farms in the Quoddy region of Maine, USA and New Brunswick, Canada. *Prev. Vet. Med.*, **78**, 35–56.

KAWAOKA Y., COX N.J., HALLER O., HONGO S., KAVERIN N., KLENK H.D., LAMB R.A., MCCAULEY J., PALESE P., RIMSTAD E. & WEBSTER R.G. (2005). Infectious Salmon Anaemia Virus. *In: Virus Taxonomy – Eight Report of the International Committee on Taxonomy Viruses*, Fauquet C.M., Mayo M.A., Maniloff J., Desselberger U., Ball L.A., eds. Elsevier Academic Press, New York, USA, pp 681–693.

KIBENGE F.S.B., GARATE O.N. JOHNSON G., ARRIAGADA K., KIBENGE M.J.T. & WADOWAKA D. (2001). Isolation and identification of infectious salmon anaemia virus (ISAV) from Coho salmon in Chile. *Dis. Aquat. Org.*, **45**, 9–18.

KIBENGE F.S.B., GODOY M.G., WANG Y., KIBENGE M.J.T., GHERARDELLI V., MANSILLA S., LISPERGER A., JARPA M., LARROQUETE G., AVENDAÑO F., LARA M. & GALLARDO A. (2009). Infectious salmon anaemia virus (ISAV) isolated from the ISA disease outbreaks in Chile diverged from ISAV isolates from Norway around 1996 and was disseminated around 2005, based on surface glycoprotein gene sequences. *Virol. J.*, **6**, 88.

KIBENGE F.S.B., KIBENGE M.J.T., WANG Y., QIAN B., HARIHARAN S. & MCGEACHY S. (2007). Mapping of putative virulence motifs on infectious salmon anaemia virus surface glycoprotein genes. *J. Gen. Virol.*, **88**, 3100–3111.

KIBENGE F.S.B., MUNIR K., KIBENGE M.J.T., MONEKE T.J. & MONEKE E. (2004). Infectious salmon anemia virus: causative agent, pathogenesis and immunity. *Anim. Health Res. Rev.*, **5**, 65–78.

KULSHRESHTHA V., KIBENGE M., SALONIUS K., SIMARD N., RIVEROLL A. & KIBENGE F. (2010). Identification of the 3' and 5' terminal sequences of the 8 RNA genome segments of European and North American genotypes of infectious salmon anaemia virus (an orthomyxovirus) and evidence for quasispecies based on the non-coding sequences of transcripts. *Virol. J.*, **7**, 338.

LYNGSTAD T.M., HJORTAAS M.J., KRISTOFFERSEN A.B, MARKUSSEN T., KARLSEN E.T., JONASSEN C.M. & JANSEN P.A. (2011). Use of molecular epidemiology to trace transmission pathways for infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Norwegian salmon farming. *Epidemics*, **3**, 1–11.

LYNGSTAD T.M., KRISTOFFERSEN A. B., HJORTAAS M. J., DEVOLD, M., ASPEHAUG, V., LARSEN, R. B. & JANSEN, P. A. (2012). Low virulent infectious salmon anaemia virus (ISAV-HPR0) is prevalent and geographically structured in Norwegian salmon farming. *Dis. Aquat. Org.*, **101**, 197–206.

LYNGSTAD T.M., JANSEN P.A., SINDRE H., JONASSEN C.M., HJORTAAS M.J., JOHNSEN S. & BRUN E. (2008). Epidemiological investigation of infectious salmon anaemia (ISA) outbreaks in Norway 2003–2005. *Prev. Vet. Med.*, **84**, 213–227.

MARDONES F.O., PEREZ A.M., VALDES-DONOSO P. & CARPENTER T.E. (2011). Farm-level reproduction number during an epidemic of infectious salmon anaemia virus in southern Chile in 2007–2009. *Prev. Vet. Med.*, **102** (3), 175–184.

MARKUSSEN T., JONASSEN C.M., NUMANOVIC S., BRAAEN S., HJORTAAS M., NILSEN H. & MJAALAND S. (2008). Evolutionary mechanisms involved in the virulence of infectious salmon anaemia virus (ISAV), a piscine orthomyxovirus. *Virology*, **374**, 515–527.

MCBEATH A. J., BAIN N. & SNOW M. (2009). Surveillance for infectious salmon anaemia virus HPR0 in marine Atlantic salmon farms across Scotland. *Dis. Aquat. Org.*, **87**, 161–169.



MJAALAND S., HUNGNES O., TEIG A., DANNEVIG B.H., THORUD K. & RIMSTAD E. (2002). Polymorphism in the infectious salmon anemia virus hemagglutinin gene; importance and possible implications for evolution and ecology of infectious salmon anemia disease. *Virology*, **302**, 379–391.

MJAALAND S., MARKUSSEN T., SINDRE H., KJOGLUM S., DANNEVIG B.H., LARSEN S. & GRIMHOLT U. (2005). Susceptibility and immune responses following experimental infection of MHC compatible Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) with different infectious salmon anaemia virus isolates. *Arch. Virol.*, **150**, 2195–2216.

MJAALAND S., RIMSTAD E., FALK K. & DANNEVIG B.H. (1997). Genomic characterisation of the virus causing infectious salmon anemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): an orthomyxo-like virus in a teleost. *J. Virol.*, **71**, 7681–7686.

MULLINS J.E, GROMAN D.B & WADOWSKA D (1998) Infectious salmon anaemia in salt water Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in New Brunswick, Canada. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **18**, 110–114.

NYLUND A., PLARRE H., KARLSEN M., FRIDELL F., OTTEM K.F., BRATLAND A., & SAETHER P.A. (2007). Transmission of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in farmed populations of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Arch. Virol.*, **152**, 151–179.

PLARRE H., DEVOLD M., SNOW M. & NYLUND A. (2005). Prevalence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in wild salmonids in western Norway. *Dis. Aquat. Org.*, **66**, 71–79.

RIMSTAD E., DALE O.B., DANNEVIG B.H. & FALK K. (2011). Infectious Salmon Anaemia. *In: Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*, Woo P.T.K. & Bruno D., eds. CAB International, Oxfordshire, UK, 143–165.

RIVAS-Aravena A., VALLEJOS-VIDAL E., MARTIN M.C., REYES-LOPEZ F., TELLO M., MORA P., SANDINO A.M., SPENCER E. (2011). Inhibitory effect of a nucleotide analog on ISAV infection. *J. Virol.*, **85**, 8037–8045.

SNOW M., MCKAY P., McBEATH A. J. A., BLACK J., DOIG F., KERR R., CUNNINGHAM C. O., NYLUND A. & DEVOLD M. (2006). Development, application and validation of a taqman® real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar*), Vannier P. & Espeseth D., eds. *New Diagnostic Technology: Applications in Animal Health and Biologics Controls*. *Dev. Biol.*, Basel, Karger. **126**, 133–145.

THORUD K.E. & DJUPVIK H.O. (1988). Infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **8**, 109–111.

\*  
\* \*

**NB:** There is an OIE Reference Laboratory for Infection with infectious salmon anaemia virus (see Table at the end of this *Aquatic Manual* or consult the OIE Web site for the most up-to-date list: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/> ). Please contact the OIE Reference Laboratory for any further information on Infection with infectious salmon anaemia virus



## CHAPTER 2.4.9

## INFECTION WITH OSTREID HERPESVIRUS 1 MICROVARIANTS

---

### 1. Scope

For the purpose of this chapter, infection with ostreid herpesvirus 1 microvariants is considered a viral infection of bivalve molluscs caused by ostreid herpesvirus 1 microvariants, variants of OsHV-1 (ostreid herpesvirus 1) defined by a deletion in a microsatellite locus upstream from ORF4 (Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010) when compared with the reference type OsHV-1.  $\mu$ Var is a microvariant ~~Ostreid herpesvirus 1  $\mu$ Var is strictly defined by a 12 bp deletion in a microsatellite locus upstream of the ORF4 and additional mutations in ORF4 and ORF2/43; however, the scope of this chapter includes related variants with a deletion of around 12 base pairs in this the microsatellite locus region. The term OsHV-1 microvariants is used in this chapter to refer to the OsHV-1  $\mu$ Var microvariant and these related variants. Until now, mortality associated with OsHV-1 microvariants has only been reported in the Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* and and in the Portuguese cupped oyster *C. angulata*. Infection with OsHV 1 microvariant mainly affects the Pacific cupped oyster, *Crassostrea gigas*.~~

### 2. Disease information

#### 2.1. Agent factors

OsHV-1 is the aetiological agent of a contagious viral disease of Pacific cupped oysters, *Crassostrea gigas*, also affecting other bivalve species. The genome of the virus was sequenced from infected Pacific oyster larvae collected in France in 1995 (Davison *et al.*, 2005). As this specimen was the first to be described (through complete genome sequencing), it can be considered as the reference type.

##### 2.1.1. Aetiological agent, agent strains

OsHV-1 particles have been purified from French *C. gigas* larvae (Le Deuff & Renault, 1999) and were observed by transmission electron microscopy to be enveloped icosahedral with electron dense cores and a diameter around 120 nm. The intranuclear location of the virus particles, their size and ultrastructure are characteristic of members of the *Herpesvirales*.

The genome structure and sequence, and the capsid morphology (Davison *et al.*, 2005) have been further studied in order to assess OsHV-1 phylogenetic status in relation to vertebrate herpesviruses. The entire virus DNA was sequenced (GenBank accession number AY509253) and OsHV-1 capsids appear structurally similar to those of other herpes viruses that have been studied (Davison *et al.*, 2005). The virus was classified under the name *Ostreid herpesvirus 1* (OsHV-1) as the first known species in the family *Malacoherpesviridae* (Davison *et al.*, 2009).

A variant of OsHV-1 has been identified in France (Arzul *et al.*, 2001b) in *C. gigas*, *Ruditapes philippinarum* and *Pecten maximus*. Friedman *et al.* (2005) and Moss *et al.* (2007) also described differences in the sequences of OsHV-1 from California and Asia, respectively. Moss *et al.* (2007) suggested that there are at least two strains in Japan, one in South Korea and two in China (the People's Rep. of). One of the strains that occurred in China and South Korea was similar in sequence to the OsHV-1 strain from California described by Friedman *et al.* (2005), and the other strain from China was similar to OsHV-1 from France.

## Anexo 12 (cont.)

More recently, polymerase chain reactions (PCRs) using different primer sets and PCR product sequencing enabled the detection of a ~~variant called~~  $\mu$ Var and ~~other related~~ variants in association with high mortality events reported in Europe, Australia and New Zealand (Lynch *et al.*, 2012; Martenot *et al.*, 2011; Peeler *et al.*, 2012; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010). The term microvariant is used to define a single variant presenting all the mutations reported by Segarra *et al.* (2010) in two different virus genome areas. The term OsHV-1 microvariants is used to refer to OsHV-1 microvariant and these related variants.

Although the aetiological agent is represented by all specimens or variants of OsHV-1 (Arzul *et al.*, 2001b; Davison *et al.*, 2005; Martenot *et al.*, 2011; Moss *et al.*, 2007; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010; Shimahara *et al.*, 2012), increased mortality outbreaks recently reported in Europe, Australia and New Zealand among *C. gigas* spat in association with the variant OsHV-1 microvariant or related viral variants suggested differences in terms of virulence among OsHV-1 variants. However, the detection of the ~~variant~~ microvariant or related variants have also been reported in absence of mortality events (Dundon *et al.*, 2011; EFSA, 2010; Shimahara *et al.*, 2012) suggesting that viral infection is influenced by both host and environmental factors.

### 2.1.2. Survival outside the host

Maximum survival time outside the host is unknown.

Schikorski *et al.* (2011a; 2011b) presented data on detection by real-time PCR of OsHV-1  $\mu$ Var DNA in seawater following cohabitation experiments. The copy numbers of virus DNA in the water in the first 48 hours after injecting spat with virus reached  $1 \times 10^5 \text{ ml}^{-1}$ , and reached a maximum of  $1 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$  following infection of cohabiting oysters. The amount of infectious virus is unknown.

### 2.1.3. Stability of the agent (effective inactivation methods)

The lack of cell cultures for OsHV-1 has meant that *in-vitro* studies on the stability of the virus with regard to infectivity have not been done. ~~As an alternative, extracted viral DNA was seeded into seawater and  $10 \text{ pg } \mu\text{l}^{-1}$  was detected for 16, 9 and 1 day at 4, 11 and  $20^\circ\text{C}$  respectively, and in a second experiment,  $100 \text{ pg } \mu\text{l}^{-1}$  was detected after 51 days at each temperature.~~

The longest time for DNA detection in OsHV-1 released from macerated larvae and seeded into seawater was 22 days at  $4^\circ\text{C}$  and 12 days at  $20^\circ\text{C}$  (Vigneron *et al.*, 2004). However, the relationship between detection of DNA in the PCR and infectivity of the virus is unknown. As a general rule, the survival of many aquatic animal viruses outside the host is greatest at lower temperatures.

### 2.1.4. Life cycle

Transmission ~~The life cycle~~ is direct from host to host (Le Deuff *et al.*, 1994; Schikorski *et al.*, 2011a; 2011b).

## 2.2. Host factors

### 2.2.1. Susceptible host species

OsHV-1 has been reported from the Pacific oyster, *C. gigas*, Portuguese oyster, *C. angulata*, suminoe oyster, *C. ariakensis*, European flat oyster, *O. edulis*, Manila clam, *R. philippinarum*, carpet shell clam, *R. decussatus*, and scallops, *P. maximus* (Arzul *et al.*, 2001a; 2001b; Renault *et al.*, 2000). Until now, mortality attributable to OsHV-1 microvariants ~~Ostreid herpesvirus 1  $\mu$ Var~~ (Segarra *et al.*, 2010; Renault *et al.*, 2012) has been mainly reported ~~as affecting in~~ the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* and in the Portuguese cupped oyster *Crassostrea angulata* (Batista *et al.*, pers. comm.).

### 2.2.2. Susceptible stages of the host

Although OsHV-1 microvariants can be detected in all oyster stages, mortality due to OsHV-1 microvariants only concern spat and juveniles in a lesser extent.

~~OsHV-1 infection may cause mortality in larvae and juveniles of several bivalve species. The virus can be found in adult bivalves most often in absence of mortality.~~

### 2.2.3. Species or subpopulation predilection (probability of detection)

*Crassostrea gigas* and *O. edulis*, *R. philippinarum*, *R. decussatus* and *P. maximus* *C. angulata* are naturally infected by OsHV-1 microvariants. Young stages including larvae, spat and juveniles seem to be more susceptible to the infection. The virus is easier to detect in moribund animals than in healthy ones.

### 2.2.4. Target organs and infected tissue

The infection-associated lesions in juveniles are mainly observed in connective tissues of all organs in which fibroblastic-like cells exhibit enlarged nuclei with perinuclear chromatin (Arzul *et al.*, 2002; Lipart & Renault, 2002; Renault *et al.*; 1995; Schikorski *et al.*, 2011a).

### 2.2.5. Persistent infection with lifelong carriers

Apparently healthy oysters, including adults, have been shown to be PCR-positive for OsHV-1 (Arzul *et al.*, 2002; Moss *et al.*, 2007; Sauvage *et al.*, 2009). Pépin *et al.* (2008) showed that DNA copy numbers  $\text{mg}^{-1}$  tissue were high (up to  $10^7$ ) in oysters from populations with abnormal mortalities and low (lowest number detected  $10^1$ ) in populations with no abnormal mortalities. Determining the levels of viral DNA in oysters by quantitative PCR (qPCR) might be a summation means to differentiate between mechanical carriage of virus and low level of infection.

As the virus (DNA, protein or particles) has been detected in tissues of adult oysters, including the gonad (Arzul *et al.*, 2002; Lipart & Renault, 2002), adults may be a source of infection for larvae or spat, particularly under stressful conditions, e.g. from high temperature (Le Deuff *et al.*, 1996). However, what is not certain is whether true vertical transmission (transmission within the gametes) occurs or whether transmission is horizontal (Barbosa-Solomieu *et al.*, 2005).

### 2.2.6. Vectors

No vectors are required: the life cycle is direct (Schikorski *et al.*, 2011a; 2011b).

### 2.2.7. Known or suspected wild aquatic animal carriers

Several bivalve species may act as subclinical and healthy carriers (see Section 2.2.3).

OsHV-1 microvariant DNA has been recently detected in France and in Ireland in blue mussel, *Mytilus edulis*, and in *Donax trunculus* (Renault *et al.*, comm. pers.). However, in these cases, it remains unknown if these bivalve species are susceptible, resistant or may act as vector species.

## 2.3. Disease pattern

### 2.3.1. Transmission mechanisms

~~OsHV-1 DNA has been detected by qPCR in the water around diseased Pacific oysters (Sauvage *et al.*, 2009) and the disease induced by the variant OsHV-1 microvariant can be experimentally transmitted horizontally via the water (Schikorski *et al.*, 2011a), which presumably is the main natural mode of OsHV-1 transmission.~~

## Anexo 12 (cont.)

The first published report (Le Deuff *et al.*, 1994) described rapid transmission of the virus from an extract of diseased larvae to axenic larvae of *C. gigas*. Inter-species transmission from infected axenic larvae of *C. gigas* to axenic larvae of *C. rivularis* and *Ostrea edulis* was demonstrated experimentally (Arzul *et al.*, 2001b). A suspension of OsHV-1 from *R. philippinarum* was shown to infect axenic larvae of *C. gigas*, and a virus suspension from *C. gigas* was shown to infect axenic larvae of *C. angulata* (Arzul *et al.*, 2001b).

Experimental transmission of OsHV-1  $\mu$ Var has been described by Schikorski *et al.* (2011a; 2011b). The disease can be transmitted to spat at 22°C following intramuscular injection of an extract of naturally infected oysters, and also by cohabiting injected oysters with healthy oysters. Based on qPCR detection, results suggest that the virus may enter the digestive gland and haemolymphatic system, following which the virus was disseminated to other organs.

### 2.3.2. Prevalence

Reported mortality rates and OsHV-1 microvariants prevalence vary considerably between sites and countries and depend on the age of affected stocks (Lynch *et al.*, 2012; Martenot *et al.*, 2011; Peeler *et al.*, 2012; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010). To better understand the implication of OsHV-1 in *C. gigas* spat mortality outbreaks regularly reported both in the field and in nurseries in France, samples were collected yearly through the French National Network for Surveillance of Mollusc Health between 1997 and 2006 (Garcia *et al.*, 2011). Analyses were carried out by PCR for OsHV-1 detection. Virus DNA was frequently detected in samples collected during mortality events with OsHV-1 detection frequency varying from 9 to 65% depending on the year. Data also demonstrated a particular seasonality and topography of spat oyster mortalities associated with OsHV-1 detection. In the field, mortality outbreaks appeared in summer, preferentially in sheltered environments.

More recently, increased mortality notifications (from 40 to 100%) were reported in 2008–2011 in Europe affecting Pacific oysters. These increased mortalities were associated with the detection of OsHV-1 microvariant or related variants depending of geographical locations (Lynch *et al.*, 2012; Martenot *et al.*, 2011; Peeler *et al.*, 2012; Renault *et al.*, 2012; Segarra *et al.*, 2010).

### 2.3.3. Geographical distribution

OsHV-1 has been reported from Europe (France, Ireland, Italy, Netherlands, Portugal, Spain, Sweden, United Kingdom), Australia, Brazil, China (People's Rep. of), Korea, Japan, Morocco, Tunisia, Mexico, New Zealand and United States of America. OsHV-1 microvariants have been reported associated with Pacific oyster mass mortalities in Europe, Australia, New Zealand, and Korea, but is known to occur elsewhere in the absence of oyster mortalities.

### 2.3.4. Mortality and morbidity

Infection by all strains is often lethal for *C. gigas* spat and juveniles. Death usually occurs 1 week after infection, during or shortly after the warmest annual water temperatures (Friedman *et al.*, 2005; Garcia *et al.*, 2011; Renault *et al.*, 1994b).

Infected larvae show a reduction in feeding and swimming activities, and mortality can reach 100% in a few days.

### 2.3.5. Environmental factors

Mortality outbreaks associated with the detection of OsHV-1 microvariants are more frequent during summer, which might suggest a link between seawater temperature and OsHV-1 microvariants infection. The temperature influence on OsHV-1 detection and virus expression was demonstrated for *C. gigas* larvae (Le Deuff *et al.*, 1996) and strongly suspected for *C. gigas* spat (Burge *et al.*, 2007; Friedman *et al.*, 2005; Renault *et al.*, 1995; Sauvage *et al.*, 2009). A temperature threshold related to enhanced OsHV-1 expression or mortality appears difficult to define precisely. In the literature, according to the site, the temperature threshold was variable: 22°C to 25°C on the west coast of the USA (Friedman *et al.*, 2005; Burge *et al.*, 2007) and 18 to 20°C in France (Samain *et al.*, 2007; Soletchnik *et al.*, 1999). High seawater temperatures appear to be one of the potential factors influencing OsHV-1 infection.

Moreover, stressful conditions particularly rearing techniques seem to favour OsHV-1 infection. In France, during summer, many oyster transfers occur and might also amplify OsHV-1 transmission.

~~Spat mortality outbreaks associated with OsHV-1 detection generally presented a patchy distribution in the field (Garcia *et al.*, 2011). This particular pattern could be partly explained by the nature of the virus. Herpes viruses are enveloped and are assumed to be relatively labile in their environment. Thus, their transmission relies generally on direct contact. These data suggest that when OsHV-1 is excreted by oysters, it would mainly infect nearby oysters. The probable limited dissemination of OsHV-1 in seawater could partly explain the observation of the patchy mortality distribution rather than a uniform distribution as observed in nurseries. In nurseries, oysters are reared at high densities, are very close together and the seawater is often sequentially renewed.~~

## 2.4. Control and prevention

### 2.4.1. Vaccination

Not applicable

### 2.4.2. Chemotherapy

None

### 2.4.3. Immunostimulation

Not applicable

### 2.4.4. Resistance breeding

Based on recent data, it has been demonstrated that Pacific cupped oyster families less susceptible to OsHV-1 including ~~the variant~~ OsHV-1 microvariants µVar can be obtained (Degremont, 2011; Sauvage *et al.*, 2009).

### 2.4.5. Restocking with resistant species

In France, a project of restocking with selected Pacific oysters is ongoing.

Anexo 12 (cont.)**2.4.6. Blocking agents**

None

**2.4.7. Disinfection of eggs and larvae**

None

**2.4.8. General husbandry practices**

Biosecurity may be successfully applied in confined and controlled facilities such as hatcheries and nurseries in order to protect the facility and the surrounding environment from the introduction of the virus.

As a herpesvirus, OsHV-1 may be assumed to be fragile outside its hosts. High temperature, chemicals or sunlight (UV) may destroy its lipid-containing envelope, capsid or DNA. However, it has been demonstrated that individual herpesvirus species may have different levels of stability to inactivation treatment. Inorganic salts such as Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> present in seawater may stabilise herpesviruses (Wallis & Melnick, 1965).

In controlled rearing conditions (mollusc hatchery/nursery), OsHV-1 outbreaks may therefore be controlled through quarantine and hygienic measures including virus inactivation through adapted treatments such as ultraviolet irradiation of the recirculating water and water filtration technologies. However, it is necessary to keep in mind that reduction of virus load depends on the initial titre and the virus reduction capacity of the techniques used for inactivation. ~~If there was an initial concentration of 1 million viruses per litre and the inactivation method used allowed inactivation of 100,000 viruses per litre, there would still be numerous infective particles in the treated product.~~

Moribund and dead oysters should be removed and destroyed whenever feasible. Equipment used in an infected zone should not be sent and used in a non-affected zone without adequate cleaning and disinfection.

**3. Sampling****3.1. Selection of individual specimens**

Live or moribund individuals should be sampled.

**3.2. Preservation of samples for submission**

For histology, the best preservative is Davidson's AFA, but 10% buffered formalin or other standard histology fixatives are also acceptable. For PCR assays, samples must be preserved in 95–100% ethanol or kept frozen (–80°C).

**3.3. Pooling of samples**

~~Pooling of small spat is acceptable for PCR/qPCR analyses. However, the effect of pooling samples on PCR/qPCR sensitivity has not been evaluated. samples may be acceptable under some circumstances, however, the impact on sensitivity and design prevalence must be considered.~~

**3.4. Best organs or tissues**

For histology, ~~a 2-µm thick~~ sections through the visceral mass that include digestive gland, gill and mantle are used. For PCR, mantle tissue is best.



### 3.5. *Samples/tissues that are not suitable*

Gonad tissues may be not reliable for PCR assays because of the presence of inhibitors.

## 4. Diagnostic methods

### 4.1. *Field diagnostic methods*

#### 4.1.1. Clinical signs

Infection by OsHV-1 microvariants may cause an acute disease. Animals are likely to die within a few days of manifesting clinical signs of the disease. Clinical signs may be dead or gaping bivalves but these are not specific to infection with OsHV-1 microvariants.

#### 4.1.2. Behavioural changes

Infected hosts may be slow to close their valves when disturbed but these behavioural changes are not specific to infection with OsHV-1.

### 4.2. *Clinical methods*

#### 4.2.1. Gross pathology

Clinical signs may be dead or gaping bivalves but these clinical signs are not specific to infection with OsHV-1.

#### 4.2.2. Clinical chemistry

None

#### 4.2.3. Microscopic pathology

See Section 4.2.6. Fixed sections

#### 4.2.4. Wet mounts

Not applicable

#### 4.2.5. Smears

Not applicable

#### 4.2.6. Fixed sections

The most consistent features of infection with OsHV-1 are nuclear changes including hypertrophy, nuclear margination and pycnosis. The infection-associated lesions in spat are mainly observed in connective tissues in which fibroblastic-like cells exhibit enlarged nuclei with perinuclear chromatin. Highly condensed nuclei (apoptosis features) were also reported in other cells interpreted as haemocytes. These cellular abnormalities are not associated with massive haemocyte infiltration.

Anexo 12 (cont.)

Histological examination of the animal is not sufficient to identify infection with herpesvirus. Whilst Cowdry type A inclusions (eosinophilic intranuclear inclusions with perinuclear chromatin) are typical of many herpesvirus infections they are not a diagnostic feature of herpesvirus infections of oysters (Arzul *et al.*, 2002). Cowdry type A inclusions have never been reported following histological examination of infected Pacific cupped oysters in France (Renault *et al.*, 1994a; 1994b). Moreover, intranuclear inclusion bodies were not observed, although there was other cellular/nuclear pathology, in association with OsHV-1 infections in oysters in Mexico (Vásquez-Yeomans *et al.*, 2010) or USA (California) (Friedman *et al.*, 2005).

#### 4.2.7. Electron microscopy/cytopathology

See Section 4.3.1.1.4.

### 4.3. Agent detection and identification methods

#### 4.3.1. Direct detection methods

##### 4.3.1.1. Microscopic methods

###### 4.3.1.1.1. Wet mounts

Not applicable

###### 4.3.1.1.2. Smears

Not applicable

###### 4.3.1.1.3. Fixed sections

*Samples to be taken:* live or moribund oysters.

*Technical procedure:* Sections of tissue that include mantle, digestive gland, gills and adductor muscle should be fixed for 24 hours in 10% formaldehyde fixatives such as Davidson's AFA or other suitable fixative followed by normal processing for paraffin histology and staining with haematoxylin and eosin. Observations are made at increasing magnifications up to ×400.

*Positive controls:* These are recommended and are available from the Genetics and Pathology Laboratory, Ifremer, La Tremblade, France. Positive controls are tissue sections from any *OsHV-1* infected mollusc.

*Levels of validation:*

- *Specificity and sensitivity:* Specificity is very low, and sensitivity is good for moderate- to high-intensity infections, but low for low-intensity infections.
- *Gold standard:* None

*Interpretation of results:*

- A positive result is the occurrence of cell abnormalities in tissue sections: Fibroblastic-like cells exhibiting enlarged nuclei with perinuclear chromatin. Highly condensed nuclei are also reported in other cells interpreted as haemocytes. These cellular abnormalities are not associated with massive haemocyte infiltration.
- In susceptible host species, within the known range for *OsHV-1*, a positive result is presumptive evidence of *OsHV-1* infection only and should be confirmed by species-specific PCR, *in-situ* hybridisation (ISH) and/or DNA sequencing.

*Availability of commercial tests:* No commercially available tests

#### 4.3.1.1.4. Electron microscopy/cytopathology

Transmission electron microscopy can be used to confirm the presence of viral particles in infected animals.

Tissue samples (containing connective tissue such as mantle) for examination by electron microscopy should be fixed using 2.5% (v/v) glutaraldehyde in 0.1 M cacodylate buffer and post-fixed in 1% (w/v) osmium tetroxide, washed in 0.1 M cacodylate buffer (3 × 10 minutes), dehydrated in a graded series of ethanol (70%, 1 × 10 minutes; 95%, 2 × 15 minutes; 100%, 3 × 20 minutes), washed in propylene oxide (2 × 15 minutes), pre-infiltrated in 50% propylene oxide/50% Epon resin (1 hour), infiltrated in 100% Epon resin (1 hour) and then embedded in Epon resin.

Virus replication mainly takes place in fibroblastic-like cells throughout connective tissues especially in mantle, labial palps, gills and digestive gland (Renault *et al.*, 1994b; 1995; Schikorski *et al.*, 2011a). Virogenesis begins in the nucleus of infected cells where capsids and nucleocapsids are observed. Viral particles then pass through the nuclear membrane into the cytoplasm and enveloped particles are released at the cell surface. Intranuclear and cytoplasmic capsids present a variety of morphological types including electron lucent capsids, toroidal core-containing capsids, and brick-shaped core-containing capsids.

#### 4.3.1.2. Agent isolation and identification

##### 4.3.1.2.1. Cell culture/artificial media

To date, attempts to culture the virus in both vertebrate and invertebrate cell lines and in primary oyster cell cultures have been unsuccessful.

##### 4.3.1.2.2. Antibody-based antigen detection methods

Specific antibodies have been developed (Arzul *et al.*, 2002). However, they are not currently available for diagnostic purposes.

##### 4.3.1.2.3. Molecular techniques

At present there are a number of different PCR methods available for the detection of OsHV-1. These include both conventional and real-time PCRs (Martenot *et al.*, 2010; Pépin *et al.*, 2008; Renault *et al.*, 2000).

A protocol for quantifying OsHV-1 in Pacific oysters based on a Sybr<sup>®</sup> Green real-time PCR was first developed (Pepin *et al.*, 2008). Martenot *et al.* (2010) developed an alternative protocol based on TaqMan<sup>®</sup> chemistry. The quantitation limits were 1000 and 18 UG mg<sup>-1</sup> of tissues for the Sybr<sup>®</sup> Green-based method and the TaqMan<sup>®</sup> method, respectively, and the latter protocol has a detection limit of 6 UG mg<sup>-1</sup> of tissues. Comparing the two protocols using DNA samples obtained from 210 spat, the kappa index (0.41) indicated a moderate concordance between the protocols, according to the measures of Landis and Koch. All samples that were positive by the reference protocol were also positive by the alternative protocol. Of the 76 samples that were negative by the reference protocol, 49 were positives by the alternative protocol. Although these results may suggest that the alternative protocol can be more sensitive than the reference protocol, formal validation is needed. A protocol based on TaqMan<sup>®</sup> chemistry is under development and validation for the detection of virus specimens or variants presenting the deletion reported in the microsatellite upstream from the ORF4 area (microsatellite) for OsHV-1 the variant microvariants (Pepin *et al.*, pers. comm.).

A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay was also developed for OsHV-1 DNA detection (Ren *et al.*, 2010). A set of four primers was designed, based on the sequence of the ATPase subunit of the OsHV-1 DNA-packaging terminase gene. This LAMP technique can be used both in the laboratory and on farms.

Anexo 12 (cont.)

*Samples to be taken:* Live or moribund molluscs. Larvae (100–200 mg), spat (100–200 mg) or 2–3 mm<sup>2</sup> tissue pieces are excised aseptically from mantle, placed into 1.5 ml tubes, preserved in 95° alcohol or kept frozen (–80°C). Dissecting utensils should be flamed between samples to prevent cross-contamination.

4.3.1.2.3.1. *Conventional PCR assays*

Conventional PCR assays have been used successfully to detect OshV-1 DNA in bivalves and different primer pairs have been designed (see Batista *et al.*, 2007 for a review).

Two pairs of primers (A3/A4 and A5/A6) were designed and used to detect virus DNA in Pacific oyster larvae and spat via nested PCR (Renault *et al.*, 2000). The specificity of these primer pairs was evaluated using DNA from *C. gigas* as well as DNA from vertebrate herpesviruses; 500 fg of virus DNA extracted from purified particles was routinely detected. The one-step PCR assay with the A3/A4 primer pair not only allowed amplification of OshV-1 DNA but also the detection of a variant of this virus in *C. gigas* and *R. philippinarum* larvae (Arzul *et al.*, 2002).

Other primers were then designed including C2/C6. The combination of primer pairs A3/A4 and A5/A6 allowed less PCR amplification than C2/C6 (21.4% vs 32.4%) when the same larval samples were analysed (Renault & Arzul, 2001). C2/C6 primer pair systematically allowed the detection of 1 fg of purified viral DNA (Renault *et al.*, 2004). A detection limit of 10 fg of purified viral DNA for both primer pairs C13/C5 and Gp3/Gp4 has been reported (Vigneron *et al.*, 2004). As little as 1 pg and 10 pg allowed the C9/C10 and the OsHVDPFor/OsHVDPRev primer pairs, respectively, to detectably amplify a specific product (Webb *et al.*, 2007).

Although PCR specificity has been assessed for some of the primer pairs used to detect virus DNA (see above), this has not been done for all designed primer pairs. Moreover, the amplification conditions that have been used in PCR assays using different primer pairs were based on the conditions optimised for A3/A4 and A5/A6 (Renault *et al.*, 2000). An experimental procedure scheme used for the detection of OshV-1 DNA by conventional PCR has been proposed by Bastista *et al.* (2007).

4.3.1.2.3.2. *OshV-1 specific Sybr® Green PCR assay* (Pepin *et al.*, 2008)

Fifty mg of larvae/spat/mantle tissue are ground in 50 µl double-distilled water using a disposable piston. The crushed tissues are diluted six-fold and clarified at 10,000 *g* for 5 minutes. One hundred µl recovered supernatant are treated using a commercial DNA tissue kit (QIAGEN – QIAamp tissue mini kit®) according to the manufacturer's protocol. Final elution of the DNA is performed with 100 µl TE buffer. The DNA is stored at –20°C. Prior to PCR, DNA concentrations can be measured by absorbance at 260 nm. According to total DNA concentration measured in samples, they are diluted in order to obtain 20 ng total DNA per PCR reaction.

Three sets of primers can be used targeting three regions of viral DNA: (ORF4, ORF88 and ORF99). Primer pairs B4/B3 (Arzul *et al.*, 2001b; ORF99 encoding a BIR protein) and C9/C10 (Barbosa-Solomieu *et al.*, 2004; ORF4) were previously designed for single PCR, whereas the Gp4/Gp7 primer pair (ORF88 encoding a class I membrane protein) was assessed for qPCR. The primer pairs B4/B3, C9/C10 and Gp4/Gp7 yield PCR products of 207, 197 and 85 bp, respectively.

B4: 5'-ACT-GGG-ATC-CGA-CTG-ACA-AC-3'

B3: 5'-GTG-GAG-GTG-GCT-GTT-GAA-AT-3'

C9: 5'-GAG-GGA-AAT-TTG-CGA-GAG-AA-3'

C10: 5'-ATC-ACC-GGC-AGA-CGT-AGG-3'

Gp4: 5'-GGC-GTC-CAA-ACT-CGA-TTA-AA-3'

Gp7: 5'-TTA-CAC-CTT-TGC-CGG-TGA-AT-3'

The C9/C10 primer pair yield reliable parameters for qPCR with OsHV-1 DNA, as well as the B3/B4 primer pair, which show closely similar parameters with a slightly lower  $E$  value (96.3%). The Gp4/Gp7 primer pair is less efficient ( $E = 91.3\%$ ) and less sensitive ( $\geq 50$  copies  $\mu\text{l}^{-1}$ ). The primer pair C9/C10 appears to be the most sensitive and efficient.

An additional primer pair DPFor/DPrev can be also used producing a 197 bp product (ORF100, DNA polymerase).

DPFor: 5'-ATT-GAT-GAT-GTG-GAT-AAT-CTG-TG-3'

DPrev: 5'-GGT-AAA-TAC-CAT-TGG-TCT-TGT-TCC-3'

Targeting different OsHV-1 DNA is important in order to define more precisely viral strains and isolates. Although ORF4 is an interesting candidate to describe diversity because virus polymorphism has been already reported in this area, ORF100 (DNA polymerase) appears to be less polymorphic.

All amplification reactions are performed in a total volume of 25  $\mu\text{l}$  with 96-microwell plates. Each well (25  $\mu\text{l}$ ) contains 5  $\mu\text{l}$  extracted DNA dilution (sample) or OsHV-1 genomic DNA (positive control), 12.5  $\mu\text{l}$  Brilliant® SYBR® Green I PCR Master Mix or FullVelocity® Master Mix (Stratagene), 2.5  $\mu\text{l}$  each diluted primer (final concentration 200 nM) and 2.5  $\mu\text{l}$  distilled water. Thermal cycle conditions are: 1 cycle of pre-incubation at 95°C for 10 minutes; 40 cycles of amplification at 95°C for 30 seconds (15 seconds with FullVelocity® Master Mix), 60°C for 45 seconds (30 seconds with FullVelocity® Master Mix) and 72°C for 45 seconds with Brilliant® Master Mix; and melting temperature curve analysis at 95°C for 60 seconds, 60°C for 30 seconds and 95°C for 30 seconds. Real time PCR analysis should be performed in triplicate with 5  $\mu\text{l}$  sample dilutions as DNA template or a viral DNA control.

Absolute quantitation of copies of OsHV-1 DNA (copies  $\mu\text{l}^{-1}$ ) is carried out by comparing CT (threshold cycle) values obtained with the standard curve, using the Thermocycler software. Each experiment includes a positive DNA control (OsHV-1 genomic DNA for absolute quantitation) and blank controls (NTC, no template control consisting of deionised sterile water). PCR efficiency ( $E$ ) is calculated from standard curves as the percentage of template molecules that is doubled during each cycle ( $[10^{-1/\text{slope}} - 1] \times 100$ ), with requirements that it fell into the range 95–105% and that the coefficient of determination ( $R^2$ ) is  $>0.98$ . In order to allow detection of non-specific products, a dissociation protocol (melt curve) takes place after the amplification cycles. The temperature at which SYBR®Green fluorescence is generated by the double-stranded amplicon dissociation is recorded.

Regarding the test's sensitivity, it is considered that it can detect systematically 4 DNA copies  $\mu\text{l}^{-1}$ . The dynamic range for the qPCR was estimated from several standard curve assays, and a linear relationship was obtained between input copy number of the viral DNA template and CT value for over 5 log 10 dilutions. It was possible to quantitate OsHV-1 DNA copy numbers at least from 10 to  $5 \times 10^6$  copies  $\mu\text{l}^{-1}$ .

#### 4.3.1.2.3.3. OsHV-1 specific TaqMan® PCR assay (Martenot et al., 2010)

The target was the B region of the OsHV-1 genome, which encodes a putative apoptosis inhibitor (Arzul et al., 2001b). Primer pairs and two TaqMan® probes were designed to detect simultaneously the target gene and an internal control (IC). The IC was a synthesised sequence containing at each end the forward OsHV1BF (5'-GTC-GCA-TCT-TTG-GAT-TTA-ACA-A-3') and reverse B4 (5'-ACT-GGG-ATC-CGA-CTG-ACA-AC-3') primers. The B4 primer used for the TaqMan PCR was the same as that published by Pepin et al. (2008).

The amplification of the targeted region and IC was performed by using the OsHV1BF and B4 primers. The B (5'-TGC-CCC-TGT-CAT-CTT-GAG-GTA-TAG-ACA-ATC-3') and the IC (5'-ATC-GGG-GGG-GGG-GGT-TTT-TTT-TTT-ATC-G-3') probes were labelled at the 5' end with the fluorescent reporter dyes TxR and FAM, respectively, and at the 3' end with an appropriate quencher (BHQI or BHQII).

Anexo 12 (cont.)

The reaction mixture contained 12.5 µl premix ExTaq<sup>®</sup> 2× Takara<sup>®</sup> (Lonza, Verviers, Belgium), 0.5 µl each primer (20 µM), 0.5 µl TaqMan<sup>®</sup> probes (10 µM) and 9 µl water. Two µl DNA sample was added to 23 µl reaction mixture. The amplification was performed in two stages under the following conditions: 1 cycle of 95°C for 10 seconds, followed by 40 cycles of amplification at 95°C for 5 seconds, 60°C for 20 seconds. The virus quantitation was carried out by comparison with standard curve values.

4.3.1.2.3.4. *OsHV-1 specific in-situ hybridisation*

The *in-situ* hybridisation (ISH) procedure described here uses a digoxigenin (DIG)-labelled DNA probe to detect OsHV-1 in formalin-fixed, paraffin-embedded tissue (Arzul *et al.*, 2002; Lipart & Renault, 2002). This assay can detect the generic and emergent strains.

Sections of tissue that include mantle, digestive gland, gills and adductor muscle should be fixed for 24 hours in Davidson's AFA or other suitable fixative and processed using standard procedures for histological examination.

~~Seven µm thick~~ Tissue sections on silane-prep<sup>TM</sup> slides are dewaxed in xylene (2 × 5 minutes), treated in absolute ethanol (2 × 5 minutes) and air dried at room temperature (15 minutes). Sections are then permeabilised with proteinase K (100 µg ml<sup>-1</sup> in distilled water) for 30 minutes at 37°C in a humid chamber. Proteolysis is stopped by one 3-minute wash in 0.1 M Tris, 0.1 M NaCl buffer (pH 7.5) at room temperature. Sections are dehydrated in 95° ethanol for 1 minute, absolute ethanol for 1 minute and air dried (15 minutes).

A prehybridisation step is carried out with pre-hybridisation buffer (50% formamide, 10% dextran sulfate, 4 × SSC [0.06 M Na<sub>3</sub>citrate, 0.6 NaCl, pH 7], 250 µg ml<sup>-1</sup> yeast tRNA and 10% Denhart) for 30 minutes at 42°C in a humid chamber. The prehybridisation buffer solution is replaced with 100 µl hybridisation buffer solution containing 50 µl digoxigenin-labelled probe (5 ng µl<sup>-1</sup>) and 50 µl hybridisation buffer (50% formamide, 10% dextran sulfate, 4× SSC, 250 µg ml<sup>-1</sup> yeast tRNA and 10% Denhart). Slides are covered with plastic coverslips (Polylabo, France). DIG-labelled probes are synthesised from OsHV-1 genomic DNA (100 pg per reaction) by incorporation of digoxigenin-11-dUTP (Boehringer Mannheim, Germany) during conventional PCR. The primer pair C1/C6 is used:

C1: 5'- TTC-CCC-TCG-AGG-TAG-CTT-TT -3'

C6: 5'- GTG-CAC-GGC-TTA-CCA-TTT-TT -3'

Target DNA and digoxigenin-labelled probe are denatured at 95°C for 5 minutes and the hybridisation is carried out overnight at 42°C in a humid chamber.

After hybridisation, coverslips were removed carefully and slides were washed for 10 minutes in 1 × SSC (0.2% BSA) at 42°C. Specifically bound probe was detected using a peroxidase-conjugated mouse IgG antibody against digoxigenin (Boehringer Mannheim, Germany) diluted 1:250 in 1 × PBS (1 hour at room temperature). Unbound peroxidase-conjugated antibody was removed by six washes in 1 × PBS (5 minutes). Diaminobenzidine (DAB) tetrahydro-chloride was diluted in 1 × PBS (0.7 mg ml<sup>-1</sup>). The colour solution was added to tissue sections (500 µl) and incubated at room temperature in the dark for 20 minutes. The reaction was stopped with two 1 × PBS washes. Slides were stained for 20 seconds in Unna Blue (RAL, France) followed by ethanol dehydration and mounted in Eukitt via xylene.

Specific dark brown intra-cellular staining is indicative of the presence of viral DNA.

Thirty Pacific oyster adults have been analysed using three different techniques: PCR, ISH and immunochemistry, in order to detect OsHV-1 in subclinical individuals (Arzul *et al.*, 2002). PCR and ISH allowed detection of oyster herpes virus DNA in 93.3% and 86.6%, respectively, of analysed oysters while polyclonal antibodies allowed detection of viral proteins in 76.6% of analysed adult oysters.

#### 4.3.1.2.4. Agent purification

OsHV-1 can be purified from infected animals using a previously developed technique (Le Deuff & Renault, 1999)

#### 4.3.2. Serological methods

None applicable.

### 5. Rating of tests against purpose of use

Should perinuclear chromatin be observed by histology, electron microscopy at least should be undertaken to identify any virus-like particles present and demonstrate their location within cells. Viruses observed by EM should be described as e.g. herpesvirus-like until further investigations are done to provide further evidence of the identity of the virus. As different herpesviruses are morphologically similar, a virus should only be described as OsHV-1 if it had been shown to have identity with the latter virus using OsHV-1 specific primers or probes.

For OsHV- 1, the presence of intracellular viral proteins, specific OsHV-1 messenger RNA, non-structural proteins and TEM demonstrating virions within cells constitute evidence for replication, but detection of viral presence by PCR alone does not. As many moribund/dead oysters from populations with abnormal mortalities had high copy numbers of viral DNA, it may be possible in some cases to extrapolate those data to infer that OsHV-1 has replicated in animals (from known or new host species) with such high levels of viral DNA. However, rigorous evaluation and validation is required before those data could be used in that way.

It may be possible to demonstrate viral infectivity by passage to a susceptible host with appropriate control animals (bioassay). Detection of mortality or characteristic changes associated with detection of the virus is an important consideration in the assessment but not conclusive evidence of host susceptibility. The anatomical location of the pathogen is important also to exclude potential passive contamination of the host. This information can be obtained by techniques such as TEM, immunohistochemistry or ISH.

As an example, the methods currently available for targeted surveillance and diagnosis are listed in Table 5.1. The designations used in the Table indicate: a = the method is the recommended method for reasons of availability, utility, and diagnostic specificity and sensitivity; b = the method is a standard method with good diagnostic sensitivity and specificity; c = the method has application in some situations, but cost, accuracy, or other factors severely limits its application; and d = the method is presently not recommended for this purpose.

**Table 5.1. Methods for targeted surveillance and diagnosis**

Method	Targeted surveillance			Presumptive surveillance			Confirmatory diagnosis		
	Larvae	Juveniles	Adults	Larvae	Juveniles	Adults	Larvae	Juveniles	Adults
Gross signs	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>
Bioassay	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>c</u>	<u>c</u>	<u>d</u>
Histopathology	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>
Transmission EM	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
Antibody-based assays	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>
DNA probes – <i>in situ</i>	c	c	c	<u>c</u>	<u>c</u>	<u>c</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
PCR	a	a	a	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
qPCR	a	a	a	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>b</u>	<u>b</u>	<u>b</u>
Sequence	d	d	d	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>d</u>	<u>a</u>	<u>a</u>	<u>a</u>

EM = electron microscopy; PCR = polymerase chain reaction; qPCR = real-time PCR.

Anexo 12 (cont.)**6. Test(s) recommended for targeted surveillance to declare freedom from OsHV-1 infection**

~~Not applicable. PCR and real-time PCR are recommended.~~

**7. Corroborative diagnostic criteria****7.1. Definition of suspect case**

A suspect case of infection with OsHV-1 microvariants is a case of mortality of susceptible species associated with detection of OsHV-1 by PCR, qPCR, or *in-situ* hybridisation.

**7.2. Definition of confirmed case**

A confirmed case is defined as a suspect case followed by sequencing of the microsatellite locus upstream the ORF4 (Segarra *et al.*, 2010) leading to sequences consistent with the definition of microvariants.

**8. References**

ARZUL I., RENAULT T. & LIPART C. (2001a). Experimental herpes-like viral infections in marine bivalves: demonstration of interspecies transmission. *Dis. Aquat. Org.*, **46**, 1–6.

ARZUL I., RENAULT T., LIPART C. & DAVISON A.J. (2001b) Evidence for inter species transmission of oyster herpesvirus in marines bivalves. *J. Gen. Virol.*, **82**, 865–870.

ARZUL I., RENAULT T., THÉBAULT A. & GÉRARD A. (2002). Detection of oyster herpesvirus DNA and proteins in asymptomatic *Crassostrea gigas* adults. *Virus Res.*, **84**, 151–160.

BARBOSA-SOLOMIEU V., DÉGREMONT L., VÁZQUEZ-JUÁREZ R., ASCENCIO-VALLE F., BOUDRY P. & RENAULT T. (2005). Ostreid herpesvirus 1 (OsHV-1) detection among three successive generations of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Virus Res.*, **107**, 47–56.

BARBOSA-SOLOMIEU V., MIOSSEC L., VÁZQUEZ-JUÁREZ R., ASCENCIO-VALLE F. & RENAULT T. (2004). Diagnosis of Ostreid herpesvirus 1 in fixed paraffin-embedded archival samples using PCR and *in situ* hybridisation. *J. Virol. Methods*, **119**, 65–72.

BATISTA F.M., ARZUL I., PEPIN J.F., RUANO F., FREIDMAN C., BOUDRY P. & RENAULT T. (2007) Detection of ostreid herpesvirus-1 DNA in bivalve molluscs: a critical review. *J. Virol. Methods*, **139** (1), 1–11.

~~BURGE C.A., JUDAH L.R., CONQUEST L.L., GRIFFIN F.J., CHENEY D.P., SUHRBIER A., VADOPALAS B., OLIN P.G., RENAULT T. & FRIEDMAN C.S. (2007). Summer seed mortality of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* Thunberg grown in Tomales Bay, California, USA: The influence of oyster stock, planting time, pathogens, and environmental stressors. *J. Shellfish Res.*, **26**, 163–172.~~

DAVISON A.J., EBERLE R., EHLERS B., HAYWARD G.S., MCGEOCH D.J., MINSON A.C., PELLETT P.E., ROIZMAN B., STUDDERT M.J. & THIRY E. (2009). The order Herpesvirales. *Arch. Virol.*, **154**, 171–177.

DAVISON A.J., TRUS B.L., CHENG N., STEVEN A.C., WATSON M.S., CUNNINGHAM C., LE DEUFF R.M. & RENAULT T. (2005). A novel class of herpesvirus with bivalve hosts. *J. Gen. Virol.*, **86**, 41–53.

DEGREMONT L. (2011). Evidence of herpesvirus (OsHV-1) resistance in juvenile *Crassostrea gigas* selected for high resistance to the summer mortality phenomenon. *Aquaculture*, **317** (1–4), 94–98.



DUNDON W.G., ARZUL I., OMNES E., ROBERT M., MAGNABOSCO C., ZAMBON M., GENNARI L., TOFFAN A., TERREGINO C., CAPUA I., & ARCANGELI G. (2011). Detection of Type 1 Ostreid Herpes variant (OsHV-1 mu var) with no associated mortality in French-origin Pacific cupped oyster *Crassostrea gigas* farmed in Italy. *Aquaculture*, **314**, (1–4), 49–52.

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2010). Scientific opinion on the increased mortality events in Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *EFSA J.*, **8**, 1–59.

FRIEDMAN C.S., ESTES R.M., STOKES N.A., BURGE C.A., HARGOVE J.S., BARBER B.J., ELSTON R.A., BURRESON E.M. & REECE K.S. (2005). Herpes virus in juvenile Pacific oysters *Crassostrea gigas* from Tomales Bay, California, coincides with summer mortality episodes. *Dis. Aquat. Org.*, **63** (1), 33–41.

GARCIA C., THÉBAULT A., DÉGREMONT L., ARZUL I., MIOSEC L., ROBERT M., CHOLLET B., FRANÇOIS C., JOLY J.-P., FERRAND S., KERDUDOU N. & RENAULT T. (2011). OsHV-1 detection and relationship with *C. gigas* spat mortality in France between 1998 and 2006. *Vet. Res.*, **42**, 73–84.

LE DEUFF R.M., NICOLAS J.L., RENAULT T. & COCHENNEC N. (1994) Experimental transmission of a herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **14**, 69–72.

LE DEUFF R.-M. & RENAULT T. (1999). Purification and partial genome characterization of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Gen. Virol.*, **80**, 1317–1322.

LE DEUFF R.-M., RENAULT T. & GÉRARD A. (1996). Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Dis. Aquat. Org.*, **24**, 149–157.

LIPART C. & RENAULT T. (2002). Herpes-like virus detection in *Crassostrea gigas* spat using DIG-labelled probes. *J. Virol. Methods*, **101**, 1–10.

LYNCH S.A., CARLSON J., REILLY A.O., COTTER E. & CULLOTY S.C. (2012). A previously undescribed ostreid herpes virus 1 (OsHV-1) genotype detected in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in Ireland. *Parasitol.*, **139**, 1526-1532.

MARTENOT C., ODEN E., TRAVAILLÉ E., MALAS J.P. & HOUSSIN M. (2010). Comparison of two real-time PCR methods for detection of ostreid herpesvirus 1 in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *J. Virol. Methods*, **70** (1–2), 86–99.

MARTENOT C., ODEN E., TRAVAILLÉ E., MALAS J.P. & HOUSSIN M. (2011). Detection of different variants of Ostreid Herpesvirus 1 in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Virus Res.*, **160**, 25-31.

MOSS J.A., BURRESON E.M., CORDES J.F., DUNGAN C.F., BROWN G.D., WANG A., WU X. & REECE K.S. (2007). Pathogens in *Crassostrea ariakensis* and other Asian oyster species: implications for non-native oyster introduction to Chesapeake Bay. *Dis. Aquat. Org.*, **77**, 207–223.

PEELER J.E., REESE R.A., CHESLETT D.L., GEOGHEGAN F., POWER A. & TRUSH M.A. (2012). Investigation of mortality in Pacific oysters associated with Ostreid herpesvirus-1  $\mu$ Var in the Republic of Ireland in 2009. *Preventive Vet. Med.*, **105**, 136-143.

PÉPIN J. F., RIOU A. & RENAULT T. (2008). Rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 in oyster samples by real-time PCR. *J. Virol. Methods*, **149**, 269–276.

REN W., RENAULT T., CAI Y. & WANG C. (2010) Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of ostreid herpesvirus 1 DNA. *J. Virol. Methods*, **170**, 30–36.

Anexo 12 (cont.)

RENAULT T. & ARZUL I. (2001). Herpes-like virus infections in hatchery-reared bivalve larvae in Europe: specific viral DNA detection by PCR. *J. Fish Dis.*, **24** (3), 161.

RENAULT T., ARZUL I. & LIPART C. 2004. Development and use of an internal standard for oyster herpesvirus 1 detection by PCR. *J. Virol. Method*, **121**, 17–23.

RENAULT T., COCHENNEC N., LE DEUFF R.M. & CHOLLET B. (1994a) Herpes-like virus infecting Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) spat. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **14**, 64–66.

RENAULT T., LE DEUFF R.M., COCHENNEC N., CHOLLET B. & MAFFART P. (1995). Herpes-like viruses associated with high mortality levels in larvae and spat of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*: A comparative study, the thermal effects on virus detection in hatchery-reared larvae, reproduction of the disease in axenic larvae. *Vet. Res.*, **26**, 539–543.

RENAULT T., LE DEUFF R.-M., COCHENNEC N. & MAFFART P. (1994b). Herpesviruses associated with mortalities among Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in France – comparative study. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **145**, 735–742.

RENAULT T., LE DEUFF R.-M., LIPART C. & DELSERT C. (2000). Development of a PCR procedure for the detection of a herpes-like virus infecting oysters in France. *J. Virol. Methods*, **88**, 41–50.

RENAULT T., MOREAU P., FAURY N. PEPIN J.-F., SEGARRA A. & WEBB S. (2012). Analysis of Clinical Ostreid Herpesvirus 1 (*Malacoherpesviridae*) Specimens by Sequencing Amplified Fragments from Three Virus Genome Areas. *J. Virol.*, **86**(10), 5942-5947.

ROQUE A., CARRASCO N., ANDREE K.B., LAGUESTA B., ELANDALOUSSI L., GAIRIN I., RODGERS C.J. & FURONES M.D. (2012). First report of OsHV-1 microvar in Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) cultured in Spain. *Aquaculture*, **324–325**, 303–306.

SAMAIN J.F., DÉCREMONT L., SOLETCHEK P., HAURE J., BÉDIER E., ROPERT M., MOAL J., HUVET A., BAGGA H., VAN WORMHOUDT A., DELAPORTE M., COSTIL K., POUVREAU S., LAMBERT C., BOULO V., SOUDANT P., NICOLAS J.L., LE ROUX F., RENAULT T., GAGNAIRE B., GERTET F., BOUTET I., BURGEOT T. & BOUDRY P. (2007). Genetically based resistance to summer mortality in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and its relationship with physiological, immunological characteristics and infection processes. *Aquaculture*, **268** (1–4), 227–243.

SAUVAGE C., PÉPIN J.F., LAPÈGUE S., BOUDRY P. & RENAULT T. (2009). Ostreid herpes virus 1 infection in families of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, during a summer mortality outbreak: difference in viral DNA detection and quantification using real-time PCR. *Virus Res.*, **142**, 181–187.

SCHIKORSKI D., FAURY N., PEPIN J.F., SAULNIER D., TOURBIEZ D. & RENAULT T. (2011a). Experimental ostreid herpesvirus 1 infection of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*: kinetics of virus DNA detection by q-PCR in seawater and in oyster samples. *Virus Res.*, **155** (1), 28–34.

SCHIKORSKI D., RENAULT T., SAULNIER D., FAURY N., MOREAU P. & PEPIN J.F. (2011b). Experimental infection of Pacific oyster *Crassostrea gigas* spat by ostreid herpesvirus 1: demonstration of oyster spat susceptibility. *Vet. Res.*, **42**, 1–13.

SEGARRA A., PEPIN J.F., ARZUL I., MORGA B., FAURY N. & RENAULT T. (2010). Detection and description of a particular *Ostreid herpesvirus 1* genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. *Virus Res.*, **153**, 92–95.

SHIMATA Y., KURITA J., KIRYU I., NISHIOKA T., YUASA K., KAWANA M., KAMAISHI T. & OSEKO N. (2012). Surveillance of Type 1 Ostreid Herpesvirus (OsHV-1) variants in Japan. *Fish Pathol.*, **47** (4), 129–136.

~~SOLETCHNIK P., LE MOINE O., FAURY N., RAZET D., GEAIRON P. & GOULLETQUER P. (1999). Mortalité de l'huître *Crassostrea gigas* dans le bassin de Marennes-Oléon : étude de la variabilité spatiale de son environnement et de sa biologie par un système d'informations géographiques (SIG), *Aquatic Living Resources*, **12**, 131–143.~~

VÁSQUEZ-YEOMANS R., GARCÍA-ORTEGA M. & CÁCERES-MARTÍNEZ J. (2010). Gill erosion and herpesvirus in *Crassostrea gigas* cultured in Baja California, Mexico. *Dis. Aquat. Org.*, **89**, 137–144.

VIGNERON V., SOLLIEC G., MONTANIÉ H. & RENAULT T. (2004). Detection of ostreid herpes virus 1 (OsHV-1) DNA in seawater by PCR: influence of water parameters in bioassays. *Dis. Aquat. Org.*, **62**, 35–44.

WALLIS C. & MELNICK J. (1965). Thermostabilization and thermosensitization of herpesvirus. *J. Bacteriol.*, **90**, 1632–1637.

WEBB S.C., FIDLER A. & RENAULT T. (2007). Primers for PCR-based detection of ostreid herpes virus-1 (OsHV-1): Application in a survey of New Zealand molluscs. *Aquaculture*, **272**, 126–139.

\*  
\* \*



## AQUATIC ANIMALS COMMISSION WORK PLAN 2013–2014

### Aquatic Code:

Task	Oct 2013	February 2014	May GS 2014	Sept 2014
<b>OsHV-1 <math>\mu</math>var</b> - listed as an emerging disease		Review status as a listed emerging disease		
<b>Chapter 10.X. – Infection with salmonid alphavirus</b>	AAC developed new <i>Code</i> chapter and circulated for Member comments	Review Member comments	Propose for adoption	
<b>Chapter 6.1. – Chapter on control of hazards in feed</b>	AAC agreed on the structure of a revised chapter. AAC to develop revised chapter	Review draft chapter (developed by AAC) and circulate for Member comments		Review Member comments
<b>Chapter 6.X. – Risk analysis for antimicrobial resistance in aquaculture (new)</b>	Request report from AHG re progress	Review AHG report		
<b>Chapter X.X. – Criteria for listing susceptible species (new)</b>	Review Member comments and circulate revised text for Member comments	Review Member comments	Propose for adoption	
<b>Chapter on Evaluation of AAHS (new)</b>				Consider the development of a new chapter
<b>Revision of Section 4 to improve guidance on the control of disease</b>	Develop Concept Note for revision of this section	Review new introductory chapter for this section (to be developed by AAC)		
<b>Article 1.2.3. –Criteria for listing a disease and an emerging disease</b>	AAC proposed deletion and circulated for Member comments	Review Member comments	Propose for adoption	
<b>Chapter 1.1.</b>	AAC revised text and circulated for Member comments	Review Member comments	Propose for adoption	
<b>Glossary</b>	AAC revised definitions for emerging disease, susceptible species and veterinarian. Circulated for Member comments	Review Member comments	Propose for adoption	

Anexo 13 (cont.)**Aquatic Manual:**

Manual Tasks	Oct. 2013	Feb 2014	May GS 2014	Sept 2014
<b>Chapter 2.3.5. – Infection with ISAV</b>	AAC revised chapter and circulated for comments	Review Member comments	Propose for adoption	
<b>Chapter 2.4.9. – OshV-1 <math>\mu</math>var</b>	AAC revised chapter and circulated for comments	Review Member comments	Propose for adoption	
<b>Chapter 1.1.3. – Disinfection</b>	<b><u>November 2013:</u></b> Circulate revised text for Member comments	Review Member comments	Propose for adoption	
<b>Chapter X.X.X. – Infection with salmonid alphavirus</b>	<b><u>November 2013:</u></b> Circulate new chapter for Member comments.	Review Member comments	Propose for adoption	

**Other items:**

Tasks	Oct. 2013	Feb. 2014	late 2014	early 2015
<b>OIE Global Aquatic Animal Health Conference (January 2015, TBC)</b>	Establish Scientific Committee. Develop the programme.	Finalise programme		Conference
<b>OIE Ref. Lab. Conference (7–9 October 2014)</b>	AAC to provide input into the programme and Scientific Committee.		Conference (7-9 October 2014)	

---

© **Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), 2013**

El presente documento fue preparado por especialistas a solicitud de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE). Excepto en el caso de su adopción por la Asamblea Mundial de Delegados de la OIE, lo expresado refleja únicamente las opiniones de dichos especialistas.

Todas las publicaciones de la OIE están protegidas por un Copyright internacional. Se pueden copiar, reproducir, traducir, adaptar o publicar extractos en publicaciones periódicas, documentos, libros o medios electrónicos y en cualquier otro medio destinado al público, con intención informativa, didáctica o comercial, siempre y cuando se obtenga previamente una autorización escrita por parte de la OIE.

Las designaciones y nombres utilizados y la presentación de los datos que figuran en esta publicación no constituyen de ningún modo el reflejo de cualquier opinión por parte de la OIE sobre el estatuto legal de los países, territorios, ciudades o zonas ni de sus autoridades, fronteras o límites territoriales.

La responsabilidad de las opiniones profesadas en los artículos firmados incumbe exclusivamente a sus autores. La mención de empresas particulares o de productos manufacturados, sean o no patentados, no implica de ningún modo que estos se beneficien del apoyo o de la recomendación de la OIE, en comparación con otros similares que no hayan sido mencionados.