CENAIM INFORMA

Boletín Informativo No 142 Junio 15 del 2007

Por José Melena, Ph. D.
Investigador Virología

Avances de la investigación sobre el agente causal de la necrosis muscular en *Penaeus vannamei* en Ecuador

La Fundación CENAIM-ESPOL divulgó la detección en Ecuador, por parte del Laboratorio de Patología Acuática de la Universidad de Arizona, del *Litopenaeus vannamei* nodavirus (*Lv*NV), también llamado *Penaeus vannamei* nodavirus (*Pv*NV), específicamente en camarón adulto procedente de una camaronera de la provincia del Guayas (http://www.cenaim.espol.edu.ec/publicaciones/quincenal/bquinc140.pdf). Desde entonces, el CENAIM ha estado realizando estudios complementarios que permitan confirmar en forma concluyente la presencia de este patógeno viral en muestras locales de camarones cultivados afectados por necrosis muscular.

En forma inicial, CENAIM solicitó nuevamente al Laboratorio de la Universidad de Arizona que proceda al análisis por RT-PCR de un nuevo lote de muestras de camarones cultivados, conformado por 13 muestras de diversos tejidos provenientes de camarones individuales, particularmente branquias. Este material fue enviado a Arizona a fines del mes de abril. Como parte del grupo de muestras sometidas al análisis, una muestra testigo fue incluída en este lote. Este testigo estuvo conformado por una porción diferente de branquias del mismo camarón que fue reportado como positivo previamente (marzo). Para ello, el testigo fue incluído sin notificar al Laboratorio de Patología Acuática de la Universidad de Arizona sobre su contenido. Las muestras resultaron ser **negativas**, incluyendo el testigo.

Este resultado hizo necesario que se solicite una explicación al Laboratorio de Patología Acuática de la Universidad de Arizona sobre la discrepancia de resultados entre el análisis positivo (marzo) y el análisis negativo (abril). Por propia decisión, en mayo el Laboratorio de Patología Acuática de la Universidad de Arizona volvió a analizar el tejido restante de la muestra diagnosticada como positiva, almacenada desde marzo. Una branquia de esta muestra fue analizada nuevamente para *Pv*NV pero el resultado volvió a ser negativo. Estas evidencias han originado una inconsistencia entre los resultados de las diferentes muestras provenientes del mismo animal, analizadas entre marzo y mayo. El reporte oficial emitido por el Laboratorio de Patología Acuática de la Universidad de Arizona sugiere 3 posibles explicaciones a la discrepancia observada entre los resultados obtenidos:

- Bajo nivel de infección del *Pv*NV en la muestra analizada

- El *Pv*NV no estuvo presente en la branquia analizada

- El primer resultado diagnosticado como positivo para *Pv*NV fue causado por una contaminación durante la prueba efectuada en marzo.

Complementariamente, el Dr. D. V. Lightner, Director del Laboratorio de Patología Acuática de la Universidad de Arizona, señala que las branquias para el análisis de RT-PCR puede no ser el tejido más adecuado para la detección de virus que afectan músculo y por ello, el envío de muestras subsecuentes a base de pleópodos o músculo de camarones que presenten necrosis muscular ayudará a resolver si el resultado cuestionado es un positivo verdadero o un positivo falso.

A pesar de las dificultades presentadas para hallar más casos positivos por RT-

Por José Melena, Ph. D.
Investigador Virología

PCR, el CENAIM se encuentra desarrollando actualmente un bioensayo cuyo objetivo es confirmar los Postulados de Koch, es decir, reproducir la necrosis muscular bajo condiciones experimentales. Para tal efecto, dos grupos de camarones Specific pathogen-free (SPFs) levantados en CENAIM y libres de patógenos virales han sido infectados experimentalmente por dos vías: inyección e inmersión, con material proveniente de camarones con necrosis muscular. Este bioensayo tiene una duración de 4 semanas y al final de este periodo secciones de tejido muscular y pleópodos de los animales desafiados serán examinados por Microscopía Electrónica, RT-PCR e Histología.

Paralelamente, investigadores del CENAIM han visitado entre abril y junio al menos 12 instalaciones comerciales ubicadas en la provincia del Guayas, a fin de recolectar muestras de camarones (músculo y pleópodos) con necrosis muscular para conformar un nuevo lote de muestras que será enviado al Laboratorio de Patología Acuática de la Universidad de Arizona para su análisis por RT-PCR.

Del mismo modo, el laboratorio de Biología Molecular del CENAIM ya se encuentra desarrollando los protocolos de detección para *Pv*NV por RT-PCR y por Hibridación *In situ* (ISH). La implantación de tales herramientas en CENAIM permitiría ampliar la posibilidad de examinar muestras sospechosas locales en forma más completa. En una próxima edición se divulgarán los resultados de estas iniciativas.