

Informe de la reunión de la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Acuáticos de la OMSA

Original: inglés

13 al 20 de septiembre de 2023

Introducción y comentarios de los Miembros

Este informe presenta la labor de la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Acuáticos (en adelante, Comisión para los Animales Acuáticos) que se reunió del 13 al 20 de septiembre de 2023.

La Comisión para los Animales Acuáticos agradece a los siguientes Miembros por el envío de sus comentarios sobre los proyectos de texto para el *Código Sanitario para los Animales Acuáticos* de la OMSA (*Código Acuático*) y el *Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos* de la OMSA (*Manual Acuático*) que circularon en la reunión de la Comisión de febrero de 2023: Australia, Canadá, Chile, China (República Popular de), Corea (Rep. de), Eslovenia, España, Estados Unidos de América, Japón, México, Noruega, Nueva Caledonia, Nueva Zelanda, Reino Unido, Suiza, Tailandia, Taipéi Chino, los Miembros de la Oficina Interafricana de Recursos Animales (AU-IBAR) y los Estados miembros de la Unión Europea (UE). Igualmente, expresa su agradecimiento a numerosos expertos de la red científica de la OMSA por su valiosa participación y contribución.

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó todos los comentarios de los Miembros que se presentaron a tiempo y que estaban acompañados por fundamentos. Dada la gran carga de trabajo, no pudo preparar una explicación detallada de las razones que la motivaron a aceptar o rechazar los comentarios recibidos y centró sus explicaciones en las más importantes. Cuando se trata de cambios de naturaleza editorial, no se brinda ningún texto explicativo. La Comisión desea destacar que, en aras de claridad, no se aceptaron todos los textos propuestos por los Miembros; por considerar que el texto era claro tal y como estaba redactado. Las modificaciones se señalan del modo habitual con “subrayado doble” y “~~texto tachado~~” y figuran en los anexos del presente informe. En los anexos, los cambios propuestos en esta reunión se muestran con un fondo de color para distinguirlos de los realizados anteriormente.

Anexos

Los textos de los **Anexos 1 a 6** y **8 a 34** se presentan para comentario de los Miembros y el **Anexo 7** se presenta para información.

Cómo enviar los comentarios

La Comisión para los Animales Acuáticos anima encarecidamente a los Miembros y a las organizaciones internacionales que han suscrito un acuerdo de cooperación con la OMSA a participar en la elaboración de las normas internacionales de la Organización enviando sus comentarios sobre este informe. Todos los comentarios deberán enviarse a la OMSA a través de sus Delegados o de las organizaciones con las que la OMSA tenga un acuerdo de cooperación.

La Comisión llama la atención de los Miembros sobre los temas específicos tratados por un grupo *ad hoc* a petición de la Comisión para los Animales Acuáticos. En tales casos, se insta a los Miembros a examinar estos informes junto con el informe de la Comisión. Se destaca que los informes de los grupos *ad hoc* ya no se adjuntan al informe de la Comisión. En su lugar, podrá consultarlos en las páginas correspondientes del sitio web de la OMSA: [Grupos ad hoc - OMSA - Organización Mundial de Sanidad Animal \(woah.org\)](#)

Se recuerda que los comentarios deberán remitirse en formato Word y no PDF, ya que este último formato es difícil de incorporar en los documentos de trabajo de la Comisión.

Los comentarios se deberán presentar en el anexo pertinente e incluir toda modificación de texto, en base a una justificación estructurada o a partir de referencias científicas publicadas. Las supresiones propuestas deberán indicarse con “~~texto tachado~~” y, las inserciones, con “subrayado doble”. Se ruega a los Miembros que no utilicen la función automática “Resaltar cambios” del procesador de texto, ya que dichos cambios se



pierden en el proceso de recopilación de las propuestas de los Miembros incluidas en los documentos de trabajo de la Comisión.

Fecha límite para enviar los comentarios

Todos los comentarios sobre los textos pertinentes de este informe deberán remitirse a la secretaría de la OMSA hasta el **5 de enero de 2024** para que la Comisión los examine en su reunión de febrero de 2024.

Dónde enviar los comentarios

Todos los comentarios deberán remitirse por correo electrónico al Departamento de Normas:
AAC.Secretariat@woah.org.

Fecha de la próxima reunión

La Comisión indicó que su próxima reunión se realizará del **14 al 21 de febrero de 2024**.

Índice

1. Bienvenida	5
1.1. Bienvenida de la directora general adjunta de la OMSA de Normas Internacionales y Ciencia	5
1.2. Directora general de la OMSA.....	5
1.3. Actualización de la sede de la OMSA	6
1.3.1. Transparencia del proceso de la OMSA para la elaboración de las normas	6
1.3.2. Nueva herramienta de navegación en línea de las normas de la OMSA.....	6
1.3.3. Observatorio	6
1.3.4. Consejo editorial de la <i>Revista Científica y Técnica</i>	7
2. Aprobación del orden del día	7
3. Cooperación con la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Terrestres	7
4. Plan de trabajo y prioridades	8
5. Estrategia de la OMSA sobre la sanidad de los animales acuáticos (la Estrategia)	9
Código Sanitario para los Animales Acuáticos de la OMSA	9
6. Ítems para comentario de los Miembros	9
6.1. Definiciones del Glosario: “servicios de sanidad de los animales acuáticos”, “autoridad veterinaria” y “autoridad competente”	9
6.2. Definiciones del Glosario: “productos de animales acuáticos”	9
6.3. Artículo 1.1.5. del Capítulo 1.1. Notificación de las enfermedades y aportación de datos epidemiológicos	10
6.4. Artículo 1.3.1. del Capítulo 1.3. Enfermedades de la lista de la OMSA	10
6.5. Capítulo 4.3. Aplicación de la compartimentación – documento de debate	11
6.6. Nuevo proyecto de Capítulo 4.X. Preparación ante emergencias sanitarias y nuevo proyecto de Capítulo 4.Y. Gestión de brote de enfermedad	12
6.7. Nuevo proyecto de Capítulo 4.Z. Control de los agentes patógenos en leche y en huevos fecundados comercializados de peces.....	12
6.8. Proyecto del nuevo Capítulo 5.X. Movimientos de animales acuáticos ornamentales	13
6.9. Mercancías seguras – Artículos X.X.3. para los capítulos específicos de enfermedad.....	14
6.9.1. Artículos 8.X.3. para los capítulos específicos de las enfermedades de los anfibios	14
6.9.2. Artículos 9.X.3. para los capítulos específicos de los crustáceos	15
6.9.3. Artículos 10.X.3. para los capítulos específicos de los peces.....	15
6.9.4. Artículos 11.X.3. para los capítulos específicos de los moluscos	16
6.10. Modelos de Artículos X.X.5. y X.X.6. para los capítulos específicos de enfermedad.....	16
6.11. Artículo 9.3.2. del Capítulo 9.3. Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1	17
6.12. Artículo 10.6.2. del Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa	18
6.13. Artículo 10.11.2. del Capítulo 10.11. Infección por el virus de la tilapia del lago	18
6.14. Artículos 11.5.1. y 11.5.2. del Capítulo 11.5. Infección por <i>Perkinsus marinus</i>	18
7. Ítems para información de los Miembros	19
7.1. Enfermedades emergentes	19
7.1.1. Infección por el nodavirus de la mortalidad encubierta (CMNV)	19

7.1.2. Infección por <i>Enterocytozoon hepatopenaei</i>	20
Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos de la OMSA	20
8. Ítems para comentarios de los Miembros	21
8.1. Sección 2.2. Enfermedades de los crustáceos	21
8.1.1. Capítulo 2.2.0. Información general: enfermedades de los crustáceos	21
8.1.2. Capítulo 2.2.2. Infección por <i>Aphanomyces astaci</i> (peste del cangrejo del río)	23
8.1.3. Capítulo 2.2.6. Infección por el nodavirus <i>Macrobrachium rosenbergii</i> (enfermedad de la cola blanca).....	24
8.1.4. Capítulo 2.2.9. Infección por el virus de la cabeza amarilla genotipo 1	27
8.1.5. Capítulo 2.2.X. Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1 (DIV1)	29
8.2. Sección 2.4. Enfermedades de los moluscos.....	29
8.2.1. Capítulo 2.4.0. Información general: enfermedades de los moluscos	29
8.2.2. Capítulo 2.4.1. Infección por el herpesvirus del abalón.....	30
8.2.3. Capítulo 2.4.4. Infección por <i>Marteilia refringens</i>	31
8.2.4. Sección 2.2.1. y 2.2.2. del Capítulo 2.4.5. Infección por <i>Perkinsus marinus</i>	31
9. Ítems para comentario de los Miembros	32
9.1. Desarrollo de un mecanismo destinado a acelerar el proceso de puesta a disposición de los Miembros de las actualizaciones de los métodos de diagnóstico del <i>Manual Acuático</i>	32
10. Grupos ad hoc.....	32
10.1. Grupo <i>ad hoc</i> sobre la susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA	32
10.2. Grupo <i>ad hoc</i> sobre la susceptibilidad de las especies de peces a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA	33
10.3. Grupo <i>ad hoc</i> sobre la susceptibilidad de las especies de crustáceos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA	33
11. Centros de referencia de la OMSA o cambios de expertos.....	33
11.1. Evaluación de las solicitudes para la designación como centro de referencia de la OMSA en temas de sanidad de los animales acuáticos o cambio de expertos	33
11.2. Revisión de los informes anuales de actividades en 2022 de los centros de referencia de la OMSA	33
11.3. Mejorar el compromiso de los laboratorios de referencia para las enfermedades de los animales acuáticos con la Comisión para los Animales Acuáticos	34
11.4. Revisión de las principales áreas de interés y especialidades de los centros colaboradores	34
11.5. Convocatoria de candidaturas para el estatus de laboratorio de referencia de la OMSA	34
12. Otros asuntos.....	35
12.1. Registro de los kits de diagnóstico	35

Lista de anexos

Anexo 1. Ítem 2 – Orden del día aprobado.....	36
Anexo 2. Ítem 2 – Orden del día aprobado.....	39

1. Bienvenida

1.1. Bienvenida de la directora general adjunta de la OMSA de Normas Internacionales y Ciencia

La Dra. Montserrat Arroyo, directora general adjunta de Normas Internacionales y Ciencia, se reunió el 6 de septiembre de 2023 con los integrantes de la Comisión para los Animales Acuáticos, les dio la bienvenida y agradeció su contribución a la labor de la OMSA. Asimismo, felicitó a la Comisión por su ambiciosa agenda y extendió su agradecimiento a las instituciones empleadoras y a los gobiernos nacionales.

La Dra. Arroyo informó a la Comisión de que, con el objetivo de mejorar la transparencia, la documentación y la trazabilidad del proceso de elaboración de normas, había acordado un enfoque gradual para la publicación de los comentarios examinados por la comisión especializada correspondiente (ver ítem 1.3.1.).

La Dra. Arroyo informó a la Comisión de que, en la actualidad, la Organización dedica sus esfuerzos a varios proyectos informáticos con el objetivo de crear herramientas que faciliten el acceso a la información de la OMSA y a los mecanismos de entrada de datos, que incluyen: i) la evolución del sistema de recopilación de informes anuales de los centros de referencia; ii) un sistema digitalizado de consulta y navegación por las normas internacionales de la OMSA, incluido un mecanismo para la visualización de las medidas sanitarias recomendadas en el ámbito del comercio internacional de mercancías para los animales terrestres; iii) un sistema mejorado para la autodeclaración del estatus sanitario y, iv) un repositorio de informes PVS. El objetivo de todos estos proyectos informáticos es mejorar y simplificar el acceso a la información pertinente, garantizar la transparencia, mejorar la trazabilidad del trabajo de la OMSA y, por último, interconectar todas las herramientas.

La Dra. Arroyo señaló a la Comisión que se había cerrado la convocatoria de expertos para la presentación de candidaturas para el próximo mandato de las comisiones especializadas de la OMSA (2024-2027) y que el siguiente paso consistía en la evaluación de los candidatos elegibles por parte del comité de evaluación de candidaturas. Señaló que, a su debido tiempo, se facilitará más información a los Delegados. La Dra. Arroyo reconoció el refuerzo de la colaboración con las demás comisiones especializadas, destacando la importancia de armonizar y adoptar un enfoque coherente de los temas de trabajo comunes. La Dra. Arroyo destacó los resultados de las reuniones de 2022 y 2023 de los presidentes de las comisiones especializadas y el enfoque acordado para el procedimiento de elaboración de las normas de la Organización.

Los integrantes de la Comisión para los Animales Acuáticos agradecieron a la Dra. Arroyo por la información brindada.

1.2. Directora general de la OMSA

La directora general de la OMSA, la Dra. Monique Eloit, se reunió con la Comisión para los Animales Acuáticos el día 19 de septiembre y agradeció a cada uno de los integrantes por su compromiso a la hora de alcanzar los objetivos de la Organización.

La Dra. Eloit informó a la Comisión de que la OMSA estaba llevando a cabo una consultoría con el fin de evaluar los Textos Fundamentales de la Organización desde un punto de vista tanto técnico como jurídico. La importancia de esta consultoría consiste en introducir un enfoque más sólido y transparente de los procedimientos de la Organización, respaldados por una sólida base jurídica. La revisión de los Textos Fundamentales es esencial para mantener la credibilidad de la OMSA entre los Miembros y las partes interesadas. Señaló que, a su debido tiempo, se facilitaría más información a los Delegados.

La Comisión dio las gracias a la Dra. Eloit por estas actualizaciones y convino en la importancia de evaluar los Textos Fundamentales. La Comisión destacó la importancia de difundir a nivel nacional el proceso de elaboración de normas de la OMSA, con el fin de que los Delegados participen en el proceso de forma sostenible y eficaz. La Comisión consideró que reforzar esta conexión ayudaría a construir un sistema más sólido que, a su vez, permitiría mejorar el conocimiento de las normas de la Organización y de los procesos asociados a escala de los países.

1.3. Actualización de la sede de la OMSA

1.3.1. Transparencia del proceso de la OMSA para la elaboración de las normas

Con el fin de alinearse también con el 7.º Plan Estratégico, la secretaría informó a la Comisión de que la directora general de la OMSA había acordado implementar un enfoque gradual con la voluntad de mejorar la transparencia del proceso de elaboración de normas de la Organización que incluirá la publicación de los comentarios de los Miembros examinados por las comisiones especializadas y sus respuestas y una evolución de los informes de la Comisión para los Animales Acuáticos, la Comisión del Código y la Comisión de Normas Biológicas. Asimismo, la secretaría señaló que esta propuesta se había debatido con los presidentes de las tres comisiones en una reunión posterior a la 90.ª Sesión General de mayo de 2023, quienes respaldaron este enfoque.

La secretaría explicó que la meta final consiste en garantizar que los Delegados comprendan mejor la complejidad y variedad de las opiniones, así como de las decisiones de la Comisión, lo que también permitirá entender mejor las preocupaciones de los Delegados e incrementar el nivel de la calidad de los comentarios recibidos.

La secretaría explicó que se trata de un proceso progresivo, con su inicio previsto en marzo/abril de 2024 con la publicación únicamente en el sitio web para Delegados de los comentarios sobre las normas nuevas y revisadas durante las reuniones de febrero de 2024 de las respectivas comisiones, al mismo tiempo que el correspondiente informe de febrero de 2024. Este proceso incluirá una evolución de los informes de la Comisión en búsqueda de una total transparencia de los comentarios y de las respuestas de las Comisiones y, por ende, de una mejor documentación y trazabilidad del proceso de elaboración de las normas. La secretaría señaló que, a lo largo de este proceso, se mantendría bien informados a los Delegados, quienes recibirían una comunicación detallada enviada tras la publicación de este informe.

1.3.2. Nueva herramienta de navegación en línea de las normas de la OMSA

El Departamento de Normas de la OMSA informó a la Comisión para los Animales Acuáticos del proyecto de desarrollo de una nueva herramienta de navegación en línea para las normas de la Organización. El objetivo de este proyecto es mejorar la presentación de las normas y de su puesta a disposición de los Miembros y de otros usuarios. El proyecto mejorará la visualización del *Código Acuático*, el *Código Terrestre*, el *Manual Acuático* y el *Manual Terrestre* en el sitio web de la OMSA. Asimismo, se espera que la herramienta simplifique el proceso anual de actualización del contenido de las normas.

El proyecto se ajusta a los objetivos del 7.º Plan Estratégico y aportará importantes beneficios a los Miembros, como una mayor accesibilidad a las normas de la OMSA, eficiencia en la recuperación de información y apoyo en el marco de la implementación de las normas de la OMSA. El proyecto también beneficiará a la Organización, puesto que mejorará la eficacia de los procesos internos y la interoperabilidad entre los diversos datos relacionados con las normas.

La Comisión manifestó su interés, apoyó al proyecto y reconoció la importancia de facilitar el acceso de los Miembros en pos de alcanzar una mejor comprensión y utilización de las normas de la OMSA.

1.3.3. Observatorio

El Observatorio presentó su programa y resumió los principales desarrollos logrados en los últimos doce meses. La Comisión tomó nota de lo que se espera del Observatorio OMSA a partir de ahora:

- Cuadros interactivos: todos los años, se supervisarán y actualizarán los indicadores del Observatorio y los cuadros de mando. Se suspenderá la publicación del informe anual.

-
- Informe de seguimiento exhaustivo: a partir de ahora, se publicará un informe completo cada cinco años. Este calendario permitirá que el informe también proporcione información sobre aspectos específicos de los planes estratégicos de la OMSA.
 - Informe del Observatorio para las comisiones especializadas: cada tres años, se publicará un breve informe. Estos informes acompañarán a las comisiones especializadas recientemente elegidas en la elaboración de sus planes de trabajo.
 - Estudios temáticos: cada año, se realizarán uno o dos estudios temáticos, en función de la carga de trabajo y las necesidades. Los resultados de estos estudios se publicarán en informes y/o cuadros de mando y/u otros tipos de documentos en función del tema.

El Observatorio informó a la Comisión de los avances de los estudios temáticos sobre la implementación de las normas de la OMSA relativas al bienestar animal durante el transporte y a la zonificación y compartimentación.

La Comisión agradeció la presentación del Observatorio y señaló que la valiosa información que estos estudios proporcionan sobre el nivel de aplicación de las normas, así como sobre los retos a los que se enfrentan los Miembros para aplicarlas, resultan de gran valor para ayudarle en la revisión de las normas pertinentes, algunas de las cuales ya están incluidas en su programa de trabajo.

1.3.4. Consejo editorial de la *Revista Científica y Técnica*

El jefe de la Unidad de Publicaciones de la OMSA explicó las razones de la creación de un nuevo consejo editorial para la *Revista Científica y Técnica*. Pese a la revisión por pares, a la gran calidad de su contenido y a los sólidos procesos editoriales, la publicación carece de una gobernanza que garantice su credibilidad científica.

El consejo editorial supervisará y fomentará la calidad y el impacto de la *Revista Científica y Técnica* y, además, brindará asesoría sobre la estrategia general de publicaciones de la OMSA cuando se lo solicite. La función de este consejo será principalmente consultiva, pero también participará ocasionalmente en la revisión del contenido y asistirá a dos reuniones al año.

Se solicitó a la Comisión para los Animales Acuáticos que propusiera un candidato para el consejo editorial que pudiera comprometerse a desempeñar esta función. Dado que el mandato de la actual Comisión finaliza en mayo de 2024, el del primer candidato propuesto se extenderá hasta dicha fecha.

La Comisión convino en que la creación de un nuevo consejo editorial constituye un paso positivo para las publicaciones de la OMSA y acordó transmitir una posible candidatura al jefe de la Unidad de Publicaciones.

2. Aprobación del orden del día

El proyecto de orden del día fue aprobado por la Comisión. El orden del día y la lista de participantes figuran en el [Anexo 1](#) y el [Anexo 2](#), respectivamente.

3. Cooperación con la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Terrestres

Las mesas (es decir, el presidente y los dos vicepresidentes) de la Comisión del Código y de la Comisión para los Animales Acuáticos celebraron una reunión el 14 de septiembre de 2023, presidida por la directora general adjunta de Normas Internacionales y Ciencia, con el objetivo de compartir información y garantizar un enfoque armonizado para la revisión de los capítulos horizontales. Con el fin de garantizar una mayor coordinación, ambas Comisiones se comprometieron a convocar reuniones de las mesas al menos una vez al año. Las mesas debatieron diversas cuestiones de interés mutuo en el *Código Acuático* y el *Código Terrestre*, en particular:

-
- el enfoque adoptado por ambas Comisiones en el desarrollo de sus respectivos planes de trabajo y criterios de priorización de temas, así como un procedimiento por etapas para la elaboración de las normas de la OMSA;
 - la actualización del uso de los términos "autoridad competente", "autoridad veterinaria", "servicios veterinarios" y "servicios de sanidad de los animales acuáticos", en aras de armonización;
 - la elaboración de un marco para los capítulos específicos de enfermedad del *Código Terrestre*, con el fin de proporcionar una estructura normalizada que permita una redacción y comprensión coherentes en dichos capítulos;
 - un plan propuesto para revisar la Guía del usuario del *Código Terrestre*, a fin de mejorar la utilidad de esta sección entre los Miembros;
 - un nuevo proyecto de Capítulo 4.X. *Bioseguridad del Código Terrestre*, que se difundirá para comentario de los Miembros. La mesa de la Comisión del Código acordó compartir los documentos de trabajo a medida que se reciban comentarios;
 - un nuevo proyecto de Capítulo 4.X. *Preparación ante emergencias sanitarias* y nuevo proyecto de Capítulo 4.Y. *Gestión de brote de enfermedad del Código Acuático* que se enviarán para comentario de los Miembros. La mesa de la Comisión para los Animales Acuáticos acordó difundir para comentario los documentos de trabajo a medida que se reciban;
 - un plan para avanzar en el trabajo sobre el Capítulo 4.2. *Zonificación y compartimentación* y el Capítulo 4.3. *Aplicación de la compartimentación del Código Acuático*. La Comisión para los Animales Acuáticos está elaborando un documento de debate con las modificaciones propuestas, que se transmitirá para comentario de los Miembros. La mesa de la Comisión para los Animales Acuáticos acordó difundir los documentos de trabajo a medida de su elaboración;
 - la actualización de la revisión de los Capítulos 5.4. a 5.7. del *Código Terrestre*, el proyecto de Capítulo 5.4. *Medidas y procedimientos aplicables a la exportación de mercancías* y el proyecto de Capítulo 5.6. *Medidas y procedimientos aplicables a la importación de mercancías*. La mesa de la Comisión del Código acordó compartir los proyectos de capítulo y los documentos de trabajo a medida de su elaboración y de la recepción de los comentarios;
 - la revisión del Capítulo 6.10. *Uso responsable y prudente de agentes antimicrobianos en medicina veterinaria del Código Terrestre*. La mesa de la Comisión del Código acordó seguir compartiendo los documentos de trabajo a medida que se reciban los comentarios de los Miembros.

4. Plan de trabajo y prioridades

Se recibieron comentarios de Australia, Noruega, Nueva Caledonia, Nueva Zelanda y la UE.

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó los comentarios recibidos y tomó nota del apoyo al desarrollo del Capítulo 4.X. *Preparación de emergencia frente a las enfermedades*, el Capítulo 4.Y. *Gestión de los brotes de enfermedades*, el Capítulo 4.Z. *Control de los agentes patógenos en leche y huevos fecundados comercializados de peces* y el Capítulo 5.X. *Movimientos de animales acuáticos ornamentales* e informó a los Miembros que estos cuatro proyectos de capítulos se difundirían para comentario de los Miembros en este informe.

La Comisión revisó la situación de los ítems actuales de su plan de trabajo y acordó las etapas para su finalización. La Comisión examinó las prioridades de los nuevos temas de trabajo, en base a una serie de criterios, entre ellos la mejora de las normas y su impacto, el beneficio para los Miembros, sus comentarios, la pertinencia para las actividades de la Estrategia de la OMSA sobre la Sanidad de los Animales Acuáticos, los comentarios de la sede de la OMSA y el progreso de los temas del plan de trabajo en curso.

La Comisión tomó nota de que la progresión de los puntos del plan de trabajo que dependían de la convocatoria de grupos *ad hoc* avanzaba según lo previsto para 2023. La lista de grupos *ad hoc* actuales y programados para 2023 está disponible en el sitio web de la OMSA.

El plan de trabajo actualizado figura en el [Anexo 3](#) para comentario de los Miembros.

5. Estrategia de la OMSA sobre la sanidad de los animales acuáticos (la Estrategia)

La coordinadora de la Estrategia presentó una actualización de su implementación. Informó a la Comisión de los principales hitos y logros alcanzados desde la última actualización en febrero de 2023, las nuevas actividades en curso, las iniciativas de comunicación y las prioridades para 2024. Asimismo, la Comisión acordó aportar observaciones sobre una serie de actividades propuestas de relevancia para el desarrollo de normas y los centros de referencia.

Código Sanitario para los Animales Acuáticos de la OMSA

6. Ítems para comentario de los Miembros

6.1. Definiciones del Glosario: “servicios de sanidad de los animales acuáticos”, “autoridad veterinaria” y “autoridad competente”

Se recibieron comentarios de Australia, China (Rep. Pop. de), Reino Unido, AU-IBAR y la UE.

Contexto

En la 89.^a Sesión General, en mayo de 2022, se adoptaron las definiciones revisadas del Glosario para “servicios de sanidad de los animales acuáticos”, “autoridad competente” y “autoridad veterinaria” en el *Código Acuático*.

En su reunión de septiembre de 2022, la Comisión para los Animales Acuáticos y la Comisión del Código se pusieron de acuerdo para coordinar la revisión de su uso en el *Código Acuático* y el *Código Terrestre*, respectivamente, en aras de coherencia y cuando fuera pertinente.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión para los Animales Acuáticos revisó todas las apariciones de los términos "servicios de sanidad de los animales acuáticos", "autoridad competente" y "autoridad veterinaria" en el *Código Acuático* y difundió los cambios propuestos para comentario de los Miembros.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de septiembre de 2022 (ítem 6.1., página 12) e informe de febrero de 2023 (ítem 8.1., página 17).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó los comentarios recibidos y tomó nota de que, en general, los Miembros respaldaban los cambios propuestos. La Comisión convino en que la expresión "servicios de sanidad de los animales acuáticos" debía incluirse nuevamente en el apartado 6 del Artículo 4.2.3., ya que los "servicios de sanidad de los animales acuáticos" tienen responsabilidades en materia de bioseguridad dentro de un compartimento.

Las enmiendas propuestas a las definiciones de “servicios de sanidad de los animales acuáticos”, “autoridad competente” y “autoridad veterinaria” figuran en el [Anexo 4](#) para comentario de los Miembros.

6.2. Definiciones del Glosario: “productos de animales acuáticos”

Reunión de septiembre de 2023

Al mismo tiempo que se garantizó la armonización de los términos del Glosario en todo el *Código Acuático* tras la evaluación de la seguridad sanitaria de las mercancías, se observó que, en algunos casos, la expresión "productos derivados de animales acuáticos" debía sustituirse por el término del Glosario "productos de animales acuáticos". La Comisión para los Animales Acuáticos convino en revisar el texto pertinente para garantizar la utilización del término del Glosario "productos de animales acuáticos" en todo el *Código Acuático*.

Las enmiendas propuestas a las definiciones de “productos de animales acuáticos” figuran en el [Anexo 5](#) para comentario de los Miembros.

6.3. Artículo 1.1.5. del Capítulo 1.1. Notificación de las enfermedades y aportación de datos epidemiológicos

Se recibieron comentarios de Australia, Noruega, Reino Unido y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2019, la Comisión del Código acordó suprimir el Artículo 1.1.5. del *Código Terrestre* por considerar que la información ya se incluía en el Capítulo 1.6. *Procedimientos para el reconocimiento oficial del estatus zoonosario, la validación de un programa oficial de control y la publicación de una autodeclaración de ausencia de enfermedad por la OMSA*. La modificación del Capítulo 1.1. del *Código Terrestre*, que suprime el Artículo 1.1.5., fue adoptada en mayo de 2021.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión para los Animales Acuáticos convino en que los requisitos incluidos en el Artículo 1.1.5. del Capítulo 1.1. *Notificación de enfermedades y presentación de datos epidemiológicos*, se abordaban ahora en el Capítulo 1.4. *Vigilancia de las enfermedades de los animales acuáticos*, recientemente revisado y aprobado en mayo de 2022. La Comisión decidió suprimir el Artículo 1.1.5. para eliminar la duplicación en el *Código Acuático* y garantizar la armonización con el Capítulo 1.1. del *Código Terrestre*.

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión examinó los comentarios recibidos, no propuso ninguna modificación adicional y tomó nota de que los Miembros apoyaban los cambios propuestos.

El Artículo revisado 1.1.5. del Capítulo 1.1. *Notificación de enfermedades y aportación de datos epidemiológicos* figura en el [Anexo 6](#) para comentario de los Miembros.

6.4. Artículo 1.3.1. del Capítulo 1.3. Enfermedades de la lista de la OMSA

Se recibieron comentarios de Australia, Canadá, Chile, China (Rep. Pop.), Estados Unidos de América, Japón, Noruega, Tailandia, Taipéi Chino, Reino Unido, AU-IBAR y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2022, la Comisión para los Animales Acuáticos señaló que otros virus del género *Megalocytivirus*, además del iridovirus de la dorada japonesa (RSIV), pueden causar enfermedades importantes en los peces. Estos virus incluyen otros dos genogrupos del virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV): el genogrupo del iridovirus del cuerpo rojizo del rodaballo (TRBIV) y el genogrupo del ISKNV. Los genogrupos ISKNV y TRBIV no se incluyen en el ámbito de aplicación del Capítulo 10.8. *Infección por el iridovirus de la dorada japonesa* del *Código Acuático*.

La Comisión evaluó las especies del virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (especie ISKNV), incluidos sus tres genogrupos RSIV, ISKNV y TRBIV, con arreglo a los criterios del Capítulo 1.2. *Criterios para la inclusión de las enfermedades de los animales acuáticos en la lista de la OMSA*.

La Comisión convino en que la especie ISKNV, incluido el genogrupo RSIV (actualmente inscrito en el *Código Acuático*), así como los dos genogrupos ISKNV y TRBIV cumplen los criterios de inclusión 1, 2, 3 y 4b. Por consiguiente, propuso cambiar el nombre de la enfermedad de la lista por *Infección por todos los genogrupos de las especies de virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV)* y definirá si se incluyen los tres genogrupos de la especie ISKNV (es decir, ISKNV, RSIV y TRBIV), pero no incluirá el virus de la enfermedad de la caída de escamas o descamación (SDDV), la otra especie reconocida de *Megalocytivirus*.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión reiteró que la propuesta consistía en modificar el nombre de la enfermedad de la lista del Artículo 1.3.1. de “infección por el iridovirus de la dorada japonesa” por “infección por las especies del virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón”. Esta propuesta

mantendrá el genogrupo RSIV como enfermedad de la lista e incluirá también el genogrupo del virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón y el genogrupo TRBIV.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2022 (Parte B, ítem 3.1.2.3., página 13); informe de septiembre de 2022 (ítem 5.1., página 7) e informe de febrero de 2023 (ítem 8.3., página 19).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión examinó los comentarios y tomó nota de que la mayoría apoyaban la propuesta de cambiar el nombre de la lista de infección por RSIV por "infección por el virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón".

La Comisión destacó la solidez de la información indicada en la evaluación de la infección por el virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón en relación con los criterios del Capítulo 1.2. *Criterios para la inclusión de las enfermedades de los animales acuáticos* y reiteró que la evaluación apoyaba la inclusión en la lista de todos los genogrupos, incluidos RSIV, ISKNV y TRBIV.

La Comisión examinó los comentarios que indicaban que, actualmente, el Comité Internacional de Taxonomía de Virus (ICTV) estaba revisando la clasificación y nomenclatura del género *Megalocyticvirus* y que, en la lista de la enfermedad, debía utilizarse el nuevo nombre para evitar confusiones entre las especies del ISKNV y el genogrupo del ISKNV. La Comisión confirmó que la nueva nomenclatura estaba siendo estudiada por el ICTV, pero señaló que estaba pendiente su publicación. La Comisión continuará examinando este tema y adoptará la nueva nomenclatura después de que la publique el ICTV.

La Comisión reconoció la existencia de algunas limitaciones a la hora de validar las pruebas de diagnóstico para la detección del genogrupo del TRBIV debido a la disponibilidad de tejidos infectados por TRBIV. Sin embargo, la Comisión reiteró que existían diversos métodos que incluyen los tres genogrupos (Kawato *et al.*, 2021a, Koda *et al.*, 2023 y Kim *et al.*, 2022). Si bien se justifican más estudios de precisión diagnóstica, en particular utilizando tejidos infectados por TRBIV, esto no representa un impedimento para el cumplimiento de este criterio.

En cuanto a la solicitud de revisar la redacción del criterio número dos del Artículo 1.2.2. sobre la demostración de la ausencia de enfermedad del país y la solicitud de cambiar en la versión en inglés "may" ("puede") por "has" ("tiene"), la Comisión señaló que se habían tenido en cuenta comentarios similares en el marco de la revisión del Capítulo 1.2. en 2015-2016. La Comisión reiteró que "may" es más apropiado si se quiere evitar que un Miembro tenga que demostrar la ausencia de enfermedad (en ausencia de normas específicas para la enfermedad) antes de que se puedan aplicar los criterios de inclusión en la lista. Además, en un comentario, un Miembro indicó que disponían de un programa de vigilancia para las especies del ISKNV y que estaban libres de la infección por las especies del ISKNV en una de las especies susceptibles cultivadas.

En el documento de evaluación para la inclusión en la lista, la Comisión acordó añadir que cada genogrupo se subdivide a su vez en dos clados, incluidas las referencias pertinentes.

La evaluación revisada de la infección por todos los genogrupos de las especies de virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón según los criterios del Capítulo 1.2. *Criterios para la inclusión de las enfermedades de los animales acuáticos en la lista de la OMSA* figura en el [Anexo 7](#) para información de los Miembros.

El Artículo revisado 1.3.1. del Capítulo 1.3. *Enfermedades de la lista de la OMSA* figura en el [Anexo 8](#) para comentario de los Miembros.

6.5. Capítulo 4.3. Aplicación de la compartimentación – documento de debate

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos acordó elaborar un documento de debate para fomentar la participación de los Miembros en las cuestiones relativas a la revisión del Capítulo 4.3. *Aplicación de la compartimentación*.

La Comisión destacó que la compartimentación ofrecía la oportunidad para el comercio de mercancías de animales acuáticos libres de enfermedades procedentes de zonas o países que no hayan sido declarados libres de las enfermedades en cuestión. Si bien la compartimentación es fundamental en el caso de las enfermedades de los animales acuáticos, debido a la imposibilidad de erradicarlas, los Miembros no la han aplicado ni reconocido ampliamente. La Comisión hizo hincapié en que la revisión del Capítulo 4.3. pretendía aportar claridad sobre los requisitos de los compartimentos, mejorar su aceptación y la atractividad de las inversiones del sector privado en este ámbito.

Este documento de debate propone una serie de finalidades para la aplicación de los compartimentos, al igual que principios de alto nivel para orientar tanto su aplicación como el concepto de compartimentos dependientes e independientes. En resumidas cuentas, estas propuestas pretenden aumentar la comprensión y la claridad en la aplicación de los compartimentos para una gestión eficaz del riesgo, al tiempo que amplían la gama de circunstancias de su implementación.

El documento de debate se elaboró a partir de las respuestas de los Miembros a un breve cuestionario incluido en el informe de la reunión de septiembre de 2022 de la Comisión, así como de los comentarios de los talleres de los centros de referencia.

La Comisión explicó que se habían incluido preguntas para recabar la opinión de los Miembros sobre cuestiones de particular importancia en cuanto a la revisión del capítulo. En el marco de la revisión del Capítulo 4.3, se invita a los Miembros a enviar sus comentarios sobre el documento de debate, incluidas las respuestas a las preguntas y otros asuntos pertinentes.

El documento de debate sobre el Capítulo 4.3. *Aplicación de la compartimentación* figura en el [Anexo 9](#) para comentario de los Miembros.

6.6. Nuevo proyecto de Capítulo 4.X. Preparación ante emergencias sanitarias y nuevo proyecto de Capítulo 4.Y. Gestión de brote de enfermedad

Contexto

En su reunión de septiembre de 2022, la Comisión para los Animales Acuáticos sometió a debate la labor del Grupo *ad hoc* sobre la preparación ante emergencias sanitarias y la gestión de brotes de enfermedades de los animales acuáticos, que se reunió dos veces durante 2021-2022, y acordó continuar el trabajo de elaboración de un nuevo Capítulo 4.X. *Preparación ante emergencias sanitarias* y un nuevo Capítulo 4.Y. *Gestión de brote de enfermedad*.

Estos capítulos acompañarán la implementación de otras normas del *Código Acuático*, en particular el proceso para recuperar la ausencia de enfermedad.

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión finalizó los trabajos sobre el proyecto del nuevo Capítulo 4.X. *Preparación ante emergencias sanitarias* y el proyecto del nuevo Capítulo 4.Y. *Gestión de brote de enfermedad*.

La Comisión destacó que ambos proyectos estaban estrechamente vinculados. El Capítulo 4.X. esboza lo esencial de la preparación ante emergencias sanitarias que engloba todos los elementos que permitirán a la autoridad competente activar una respuesta eficaz frente a un brote de enfermedad. El Capítulo 4.Y. describe las acciones específicas necesarias para poner en marcha el marco en caso de brote.

El nuevo proyecto de Capítulo 4.X. *Preparación ante emergencias sanitarias* y el nuevo proyecto de Capítulo 4.Y. *Gestión de brote de enfermedad* figuran para comentario en el [Anexo 10](#) y el [Anexo 11](#), respectivamente, para comentario de los Miembros.

6.7. Nuevo proyecto de Capítulo 4.Z. Control de los agentes patógenos en leche y en huevos fecundados comercializados de peces

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó el proyecto del nuevo Capítulo 4.Z. *Control de los agentes patógenos en leche y en huevos fecundados comercializados de peces*, elaborado en colaboración con la industria. La Comisión recordó a los Miembros que el objetivo de este capítulo era

brindar recomendaciones para un comercio seguro de lecha y huevos fecundados de peces procedentes de zonas que no hayan sido declaradas libres de infección por una de las enfermedades de la lista.

Para tener en cuenta las disposiciones del proyecto del nuevo Capítulo 4.Z., la Comisión acordó revisar el modelo de Artículo 10.X.10. (para la infección por el alfavirus de los salmónidos y la infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral y Artículo 10.4.15. para la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón) y añadir una opción en los apartados 1 y 2 para respetar los requisitos descritos en el Capítulo 4.Z.

La Comisión revisó los modelos de Artículos 10.X.15. para la infección por el alfavirus de los salmónidos, la infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa y la infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral, y el Artículo 10.4.20. para la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón, a fin de ajustarlos a las recomendaciones del nuevo Capítulo 4.Z.

La Comisión acordó añadir una nueva definición de "centro de recolección e incubación" al Glosario del *Código Acuático*, con el fin de garantizar una comprensión común de este término dada la importancia de su uso en el proyecto de nuevo Capítulo 4.Z.

En su reunión de febrero de 2024, la Comisión convino en continuar el debate sobre los cambios que convendría introducir en los artículos de los capítulos relativos a las enfermedades de los peces distintas de la infección por el alfavirus de los salmónidos, la infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa y la infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral, y la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón.

El nuevo Capítulo 4.Z. *Control de los agentes patógenos en lecha y en huevos fecundados comercializados de peces*, figura en el [Anexo 12](#) para comentario de los Miembros.

El modelo revisado del Artículo 10.X.10. para el Capítulo 10.5. *Infección por el alfavirus de los salmónidos*, el Capítulo 10.6. *Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa* y el Capítulo 10.10. *Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral* y del Artículo 10.4.15. del Capítulo 10.4. *Infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón* figura en el [Anexo 13](#) para comentario de los Miembros.

El modelo revisado del Artículo 10.X.15. para el Capítulo 10.5. *Infección por el alfavirus de los salmónidos*, el Capítulo 10.6. *Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa* y el Capítulo 10.10. *Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral* y del Artículo 10.4.20. del Capítulo 10.4. *Infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón* figura en el [Anexo 14](#) para comentario de los Miembros.

El nuevo término revisado del Glosario figura en el [Anexo 15](#) para comentario.

6.8. Proyecto del nuevo Capítulo 5.X. Movimientos de animales acuáticos ornamentales

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos revisó el proyecto de nuevo Capítulo 5.X. *Movimientos de animales acuáticos ornamentales* elaborado en la Comisión en el que, además, tuvo en cuenta los comentarios de los talleres de los puntos focales en los que se habían debatido las propuestas en cuanto a la necesidad, el objetivo y el ámbito de aplicación.

La Comisión recordó a los Miembros la importancia del desarrollo de este nuevo proyecto de capítulo, dado que el movimiento internacional de animales acuáticos ornamentales se caracteriza por la translocación de numerosos animales individuales de diversas y numerosas especies de peces, crustáceos, moluscos y anfibios procedentes de diferentes entornos. Las cadenas de suministro pueden implicar la agregación de animales procedentes de múltiples fuentes y su diseminación a través del comercio al por menor como animales de compañía, lo que ofrece oportunidades para la transmisión de enfermedades. Estas características del movimiento de animales acuáticos ornamentales pueden plantear retos en el campo de la gestión de los riesgos de enfermedades de los animales acuáticos.

El Capítulo 5.X. brinda recomendaciones para la gestión de los riesgos de enfermedad asociados al movimiento de los animales acuáticos ornamentales y completa otras disposiciones del *Código Acuático*, incluidas las medidas especificadas en los capítulos específicos de enfermedad.

La Comisión acordó añadir una nueva definición de "animales acuáticos ornamentales" al Glosario del *Código Acuático*, en aras de garantizar una comprensión común de este término dada la importancia de su uso en el proyecto del nuevo Capítulo 5.X.

El nuevo Capítulo 5.X. *Movimiento de animales acuáticos ornamentales* figura en el **Anexo 16** para comentario de los Miembros.

El nuevo término del Glosario figura en el **Anexo 15** para comentario de los Miembros.

6.9. Mercancías seguras – Artículos X.X.3. para los capítulos específicos de enfermedad

Contexto

En su reunión de septiembre de 2020, la Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Artículo X.X.3. de todos los capítulos específicos de enfermedad, con el fin de responder a los comentarios que indicaban que los tratamientos de tiempo/temperatura recomendados en estos artículos representaban diferentes niveles de tratamiento térmico y que algunos no eran comercialmente viables ya que disminuían la calidad del producto.

Entre septiembre de 2020 y febrero de 2022, la Comisión difundió propuestas de modificación de los Artículos X.X.3. en todos los capítulos específicos de enfermedad del *Código Acuático* para reflejar este enfoque revisado. En mayo de 2022, se adoptaron las enmiendas propuestas en los Artículos 9.X.3. y 10.X.3.

En su reunión de febrero de 2022, la Comisión tomó nota de que las evaluaciones realizadas anteriormente con arreglo a los "Criterios para evaluar la seguridad de los productos de animales acuáticos importados (o en tránsito) cualquiera que sea el uso, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la enfermedad X" (como se describe en el Artículo 1.4.1.) debían revisarse en función de cualquier nueva prueba sobre la estabilidad térmica, y solicitó que se contratara a un consultor para llevar a cabo esta revisión.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión revisó las evaluaciones de mercancías seguras realizadas para todos los productos de animales acuáticos enumerados en el Artículo X.X.3. en todos los capítulos específicos de enfermedad y acordó aplicar el nuevo enfoque y la nueva información científica, cuando fuera pertinente.

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión estudió un comentario para incluir más de un tiempo/temperatura de inactivación para los productos de animales acuáticos enumerados en el Artículo X.X.3., cuando la evaluación lo respalde. La Comisión convino en el interés de la propuesta e indicó que la estudiaría en la próxima reunión.

La Comisión recordó a los Miembros que toda la información sobre las evaluaciones de mercancías seguras está disponible únicamente en inglés en el sitio web de la OMSA: <https://www.woah.org/en/document/safe-commodity-assessments-for-woah-listed-aquatic-animal-diseases-2023/>

6.9.1. Artículos 8.X.3. para los capítulos específicos de las enfermedades de los anfibios

Se recibieron comentarios de Australia, Corea (Rep. de), Noruega, Nueva Caledonia, Tailandia, Reino Unido y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2022, la Comisión modificó el Artículo 8.X.3. para alinearlos con las enmiendas adoptadas recientemente en los Artículos 9.X.3. y 10.X.3. en relación con un enfoque revisado de los tratamientos de tiempo/temperatura y lo distribuyó para comentario de los Miembros.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión examinó las evaluaciones revisadas sobre las mercancías seguras de los Artículos 8.X.3., modificó estos artículos en consecuencia y los distribuyó para comentario de los Miembros.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de septiembre de 2020 (ítem 4.7., página 10); informe de febrero de 2021 (Parte B: ítem 1.4., página 8); informe de septiembre de 2021 (ítem 5.1.5., página 24); informe de febrero de 2022 (Parte B: ítem 2.1.1.1., página 5) e informe de febrero de 2023 (ítem 8.4.1., página 23).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión examinó los comentarios recibidos, no propuso ninguna modificación adicional y tomó nota del respaldo de los Miembros a los cambios propuestos.

Los Artículos revisados 8.1.3., 8.2.3. y 8.3.3. figuran en el **Anexo 17** con control de cambios y en versión limpia para comentario de los Miembros.

6.9.2. Artículos 9.X.3. para los capítulos específicos de los crustáceos

Se recibieron comentarios de Australia, China (Rep. Pop. de), Corea (Rep. de), Estados Unidos de América Noruega, Nueva Caledonia, Reino Unido, Tailandia y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión examinó las evaluaciones revisadas sobre las mercancías seguras que figuran en los Artículos 9.X.3. y modificó en consecuencia los artículos 9.3.3., 9.4.3., 9.6.3., 9.8.3. y 9.10.3. que distribuyó para comentario de los Miembros.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2023 (ítem 8.4.2., página 23).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión aceptó añadir "*that*" en la versión inglesa, faltante en el apartado 1 del Artículo 9.4.3.

La Comisión acordó enmendar un error en la versión inglesa del Artículo 9.7.3. para que se leyera cinco minutos y no 50 minutos.

Los Artículos revisados 9.3.3., 9.4.3., 9.6.3., 9.6.3., 9.7.3. y 9.8.3. figuran en el **Anexo 18** para comentario de los Miembros.

6.9.3. Artículos 10.X.3. para los capítulos específicos de los peces

Se recibieron comentarios de Australia, China (Rep. Pop. de), , Estados Unidos de América, Corea (Rep. de), Noruega, Nueva Caledonia, Reino Unido, Tailandia y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión examinó las evaluaciones revisadas sobre las mercancías seguras en los Artículos 10.X.3., modificó estos artículos en consecuencia y los distribuyó para comentario de los Miembros.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2023 (ítem 8.4.3., página 23).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión no estuvo de acuerdo con añadir "utilizando un proceso que mitigue la posible contaminación de los productos de peces refrigerados" al final del apartado 7 del Artículo 10.3.3., por considerar suficiente la eliminación de la piel, las aletas y las branquias de los productos de peces refrigerados.

La Comisión no aceptó añadir una coma después de "i.e." en la versión inglesa por no ajustarse a la guía de estilo del *Código Acuático*.

En el Artículo 10.9.3., la Comisión no aceptó cambiar el tiempo/temperatura de inactivación para la infección por el virus de la viremia primaveral de la carpa de 60°C durante 60 minutos a 60°C durante 15 minutos en base a una referencia de Dixon, 2019 (DIXON, P. (2019). Viremia primaveral de la carpa. CABI Compendium. doi:10.1079/ cabicompendium.96466). La Comisión observó que se trataba de un documento de revisión y que ni la Comisión ni el consultor que realizó las evaluaciones de la mercancía segura habían podido encontrar pruebas científicas que respaldaran dicha afirmación.

La Comisión recordó a los Miembros que, en la Sesión General de 2023, los apartados 1 y 2 del Artículo 10.11.3. del Capítulo 10.11. *Infección por el virus de la tilapia de lago* se habían puesto “en estudio” debido a una intervención relativa al tiempo/temperatura de inactivación. La Comisión consideró las preocupaciones planteadas y acordó añadir el Artículo 10.11.3. a los textos que se presentan para comentario en este informe, utilizando el tiempo/temperatura de inactivación identificados en la evaluación de las mercancías seguras.

Los Artículos revisados 10.1.3., 10.2.3., 10.3.3., 10.4.3., 10.5.3., 10.6.3., 10.7.3., 10.8.3., 10.9.3. y 10.10.3. figuran en el **Anexo 19** para comentario de los Miembros.

6.9.4. Artículos 11.X.3. para los capítulos específicos de los moluscos

Se recibieron comentarios de Australia, China (Rep. Pop. de), Estados Unidos de América, Corea (Rep. de), Noruega, Nueva Caledonia, Reino Unido, Tailandia y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2022, la Comisión modificó el Artículo 11.X.3. en aras de armonización con las modificaciones adoptadas recientemente en los Artículos 9.X.3. y 10.X.3. en relación con un enfoque revisado de los tratamientos de tiempo/temperatura y lo distribuyó para comentario de los Miembros.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión examinó las evaluaciones revisadas sobre las mercancías seguras en los Artículos 11.X.3., modificó estos artículos en consecuencia y los distribuyó para comentario de los Miembros.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de septiembre de 2020 (ítem 4.7., página 10); informe de febrero de 2021 (Parte B: Ítem 1.4., página 8); informe de septiembre de 2021 (ítem 5.1.5., página 24), informe de febrero de 2022 (Parte B: ítem 2.1.1.2., página 5) e informe de febrero de 2023 (ítem 8.4.4., página 24).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión examinó los comentarios recibidos, no propuso ninguna modificación adicional y tomó nota del respaldo de los Miembros.

Los Artículos revisados 11.1.3., 11.2.3., 11.3.3., 11.4.3., 11.5.3., 11.6.3. y 11.7.3. figuran en el **Anexo 20**, con control de cambios y en versión limpia para comentario de los Miembros.

6.10. Modelos de Artículos X.X.5. y X.X.6. para los capítulos específicos de enfermedad

Contexto

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión para los Animales Acuáticos modificó el último párrafo del apartado 4 del Artículo 10.11.5. en aras de claridad y con el fin de describir las acciones que deben realizarse antes de declarar una nueva zona libre fuera de las zonas infectadas y de protección. La Comisión también acordó añadir un nuevo párrafo final al Artículo 10.11.6. con la misma redacción que el apartado 4 del Artículo 10.11.5. para garantizar la coherencia entre el país y la zona libre de enfermedad.

En la Sesión General de 2023, los Miembros expresaron su preocupación por los cambios propuestos en el último párrafo de los Artículos 10.11.5. y 10.11.6. del Capítulo 10.11., relativos a la infección por el virus de la tilapia de lago, por ser incoherentes con el apartado 1 del Artículo 1.4.14. Por lo tanto, estos cambios propuestos se pusieron "en estudio" y la Comisión acordó revisar los modelos de Artículos X.X.5. y X.X.6. para los capítulos específicos de enfermedad en su reunión de septiembre de 2023.

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión revisó el último párrafo del apartado 4 del modelo de Artículo X.X.5. y aceptó utilizar la redacción del último párrafo del Artículo 10.11.5. del Capítulo 10.11. *Infección por el virus de la tilapia del lago*, sin la parte de la frase que no concuerda con el apartado 1 del Artículo 1.4.14. Asimismo, aplicó este cambio al modelo de Artículo X.X.6. utilizando la misma redacción que en el apartado 4 del Artículo X.X.5. para el nuevo párrafo final, a fin de garantizar la coherencia entre país y zona libre.

La Comisión observó que, dado que estos artículos están armonizados en todos los otros capítulos específicos de enfermedad, los cambios, una vez adoptados, se aplicarán a todos los capítulos específicos de enfermedad.

El modelo revisado de los Artículos X.X.5. y X.X.6. figura en el [Anexo 21](#) para comentario.

6.11. Artículo 9.3.2. del Capítulo 9.3. Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1

Contexto

El Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de crustáceos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA se reunió en marzo de 2023 para evaluar la susceptibilidad de las especies de crustáceos a la infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1 (DIV1), en base a los criterios del Capítulo 1.5. *Criterios para la inclusión de especies susceptibles de infección por un agente patógeno específico*.

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó el informe del Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de crustáceos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA y felicitó a sus integrantes por su exhaustiva labor.

La Comisión acordó suprimir "en estudio" y modificar la lista de especies susceptibles del Artículo 9.3.2. de acuerdo con las recomendaciones del grupo *ad hoc*, es decir:

- Seis especies actualmente consideradas en el Artículo 9.3.2. "en estudio": camarón gigante (*Macrobrachium rosenbergii*), camarón nipón (*Macrobrachium nipponense*), langosta australiana de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*), cangrejo rojo americano (*Procambarus clarkia*), camarón quilla (*Palaemon carinicauda*) y el camarón blanco (*Penaeus vannamei*) cumplieron, según la evaluación, los criterios para su inclusión en la lista de especies susceptibles a la infección por DIV1 y, por lo tanto, se propone que permanezcan en el Artículo 9.3.2.
- Tres nuevas especies susceptibles, el camarón carnoso (*Penaeus chinensis*), el jaiba gazami (*Portunus trituberculatus*) y el langostino japonés (*Penaeus japonicus*) cumplieron, según la evaluación, los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles a la infección por DIV1 y, por lo tanto, se propuso añadirlas al Artículo 9.3.2.
- Una especie actualmente incluida en el Artículo 11.5.2. "en estudio", el camarón tigre gigante (*Penaeus monodon*), fue evaluada y no cumplió los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles a la infección por DIV1, por lo que se propone su supresión del Artículo 9.3.2.

La Comisión tomó nota de que *P. monodon* se había señalado como especie afectada en los brotes de infección por DIV1 y solicitó más información para la evaluación de esta especie.

La Comisión instó a los Miembros a consultar el informe del grupo *ad hoc* de marzo de 2023, disponible en el sitio web de la OMSA, para obtener información detallada sobre las evaluaciones realizadas por el grupo *ad hoc*.

El Artículo revisado 9.3.2. del Capítulo 9.3. *Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1* figura en el [Anexo 22](#) para comentario de los Miembros.

6.12. Artículo 10.6.2. del Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa

Reunión de septiembre de 2023

En el Artículo 10.6.2., la Comisión acordó modificar la lista de especies susceptibles de acuerdo con la convención utilizada en el Artículo X.X.2. del *Código Acuático*, es decir, enumerar las especies susceptibles en un cuadro cuando haya más de diez especies susceptibles.

El Artículo revisado 10.6.2. del Capítulo 10.6. *Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa* figura en el [Anexo 23](#) para comentario de los Miembros.

6.13. Artículo 10.11.2. del Capítulo 10.11. Infección por el virus de la tilapia del lago

Contexto

El Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de peces a la infección por enfermedades de la lista de la OMSA se reunió en abril de 2023 para continuar su trabajo de aplicación de los criterios del Capítulo 1.5. *Criterios para la inclusión de especies susceptibles de infección por un agente patógeno específico*. En esta reunión, el grupo *ad hoc* llevó a cabo las evaluaciones de susceptibilidad de las especies de peces al virus de la tilapia de lago (TiLV).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos examinó el informe del Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de peces a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA y elogió a sus integrantes por su exhaustiva labor.

La Comisión acordó suprimir "en estudio" y modificar la lista de especies sensibles del Artículo 10.11.2. de acuerdo con las recomendaciones del grupo *ad hoc*, es decir:

- Cinco especies actualmente, la tilapia azul del Nilo, híbrido (*Oreochromis aureus* x *O. niloticus*), *Sarotherodon galilaeus*, la tilapia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*), la tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y la tilapia roja híbrida de Malasia (*Oreochromis niloticus* x *O. mossambicus*) cumplieron, según la evaluación, los criterios de inclusión en la lista como susceptibles a la infección por TiLV y, por lo tanto, se propone que permanezcan en el Artículo 10.11.2.
- Tres especies incluidas actualmente en el Artículo 10.11.2. "en estudio", la tilapia azul (*Oreochromis aureus*), *Tilapia zillii* y *Tristramella simonis*, no cumplieron, según la evaluación, los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles a la infección por TiLV, por lo que se propone su supresión del Artículo 10.11.2.

La Comisión instó a los Miembros a consultar el informe de abril de 2023 del grupo *ad hoc*, disponible en el sitio web de la OMSA, para obtener información detallada sobre las evaluaciones realizadas por el grupo *ad hoc*.

El Artículo revisado 10.11.2. del Capítulo 10.11. *Infección por el virus de la tilapia del lago* figura en el [Anexo 24](#) para comentario de los Miembros.

6.14. Artículos 11.5.1. y 11.5.2. del Capítulo 11.5. Infección por *Perkinsus marinus*

Se recibieron comentarios de Australia, China (Rep. Pop. de), Noruega, Reino Unido y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión para los Animales Acuáticos examinó el informe del Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA que prosigue su labor de aplicación de los criterios del Capítulo 1.5. *Criterios para la*

inclusión de especies susceptibles de infección por un agente patógeno específico. En esta reunión, el grupo *ad hoc* llevó a cabo las evaluaciones de susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por *Perkinsus marinus*.

La Comisión acordó modificar la lista de especies susceptibles del Artículo 11.5.2. de acuerdo con las recomendaciones del grupo *ad hoc*. Las secciones pertinentes del Capítulo 2.4.4. Infección por *Perkinsus marinus* del *Manual Acuático* también se modificaron de acuerdo con las recomendaciones del grupo *ad hoc* (ver ítem 11.2.1.).

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2023 (ítem 8.5., página 24).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión acordó añadir "que cumplan los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles de acuerdo con el Capítulo 1.5." después de "Las recomendaciones de este capítulo se aplican a las siguientes especies" para alinearse con otros capítulos específicos de enfermedades.

La Comisión no estuvo de acuerdo en añadir múltiples nombres comunes para una especie en la lista de especies susceptibles del Artículo 11.5.2., al no ajustarse a la convención utilizada en el Artículo X.X.2. del *Código Acuático* y señaló que los nombres comunes concuerdan con los de FAOTerm <http://www.fao.org/faoterm/collection/faoterm/en/>.

Los Artículos revisados 11.5.1. y 11.5.2. del Capítulo 11.5. Infección por *Perkinsus marinus* figuran en el **Anexo 25** para comentario de los Miembros.

7. Ítems para información de los Miembros

7.1. Enfermedades emergentes

Contexto

Uno de los ítems permanentes del orden del día de cada reunión de la Comisión para los Animales Acuáticos es el examen de la información científica sobre las enfermedades emergentes, con el fin de determinar si los Miembros de la OMSA deben considerar la enfermedad como enfermedad emergente o si se justifican otras medidas. En este aspecto, la Comisión tomó en consideración las solicitudes de otras fuentes, como los Miembros de la OMSA, los expertos y los centros de referencia.

7.1.1. Infección por el nodavirus de la mortalidad encubierta (CMNV)

Se recibieron comentarios de la UE.

Contexto

En su reunión de septiembre de 2022, la Comisión para los Animales Acuáticos examinó la información científica disponible sobre el nodavirus de la mortalidad encubierta (CMNV) y convino en que esta infección respondía a la definición de enfermedad emergente y debía notificarse a la OMSA de conformidad con el Artículo 1.1.4. del *Código Acuático*.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión revisó la información científica y estuvo de acuerdo en que la infección cumplía con la definición de "enfermedad emergente" e instó a los Miembros a investigar los casos de mortalidad y morbilidad en las diversas especies de animales acuáticos afectadas.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de septiembre de 2022 (Ítem 6.2.2., página 13) e informe de febrero de 2023 (ítem 9.1.2., página 26).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión revisó las nuevas pruebas científicas sobre la infección por el nodavirus de la mortalidad encubierta (CMNV) y actualizará la ficha técnica de la enfermedad en consecuencia.

La Comisión convino en que el CMNV continuaba en el ámbito de la definición de "enfermedad emergente" de la OMSA. Una vez más, la Comisión solicitó a los Miembros que le facilitasen cualquier información pertinente sobre el CMNV para acompañar la próxima revisión de esta enfermedad y alentó a los Miembros a investigar los casos de mortalidad y morbilidad en las especies de animales acuáticos afectadas.

La Comisión informó a los Miembros de que la ficha técnica de la enfermedad de la infección por el nodavirus de la mortalidad encubierta está disponible en el sitio web de la OMSA en: [Infección por el nodavirus de la mortalidad encubierta \(CMNV\) - OMSA - Organización Mundial de Sanidad Animal \(woah.org\)](https://www.woah.org/es/infeccion-por-el-nodavirus-de-la-mortalidad-encubierta-cmnv-omsa-organizacion-mundial-de-sanidad-animal)

7.1.2. Infección por *Enterocytozoon hepatopenaei*

Contexto

En su reunión de septiembre de 2021, la Comisión para los Animales Acuáticos examinó la información científica disponible sobre la infección por *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) y convino en que la infección por EHP responde a la definición de enfermedad emergente y deberá notificarse a la OMSA de conformidad con el Artículo 1.1.4. del *Código Acuático*.

En su reunión de febrero de 2022, la Comisión revisó la información científica y acordó que la infección por EHP cumplía con la definición de "enfermedad emergente" e instó a los Miembros a investigar los casos de mortalidad y morbilidad en las diversas especies de animales acuáticos afectadas.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de septiembre de 2021 (ítem 5.2.1.2., página 28) y Parte B del informe de febrero de 2022 (ítem 2.2.1.2., página 8).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión revisó las nuevas pruebas científicas sobre la infección por EHP y actualizará la ficha técnica de la enfermedad en consecuencia.

La Comisión estuvo de acuerdo en que la infección por EHP respondía a la definición de "enfermedad emergente" de la OMSA. Una vez más, la Comisión solicitó a los Miembros que le facilitasen cualquier información pertinente sobre la infección por EHP para acompañar su próxima revisión de esta enfermedad e instó a los Miembros a investigar los casos de mortalidad y morbilidad en la gama de especies de animales acuáticos afectados.

La Comisión informó a los Miembros de que la ficha técnica de la infección por EHP está disponible en el sitio web de la OMSA en: [Infección por *Enterocytozoon hepatopenaei* - OMSA - Organización Mundial de Sanidad Animal \(woah.org\)](https://www.woah.org/es/infeccion-por-enterocytozoon-hepatopenaei-omsa-organizacion-mundial-de-sanidad-animal)

Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos de la OMSA

La Comisión para los Animales Acuáticos recordó a los Miembros el inicio del proceso de modificación progresiva del formato de los capítulos específicos de enfermedad del *Manual Acuático* a partir de un nuevo modelo. Dado que los capítulos reformateados y actualizados presentan cambios sustanciales, la Comisión acordó, en su reunión de septiembre de 2019, que en sus informes sólo se presentarían las versiones limpias de los capítulos, sin cambios aparentes. Los cambios posteriores realizados en estas revisiones iniciales a raíz de los comentarios de los Miembros se indicarán con el estilo habitual (es decir, ~~tachado para las supresiones~~ y doble subrayado para las adiciones).

Se creará un documento comparativo entre la versión adoptada de un capítulo y el nuevo texto propuesto. Este documento no se incluye en el informe de la Comisión, pero estará disponible si se solicita al Departamento de Normas de la OMSA (AAC.Secretariat@WOAH.org).

8. Ítems para comentarios de los Miembros

Algunos Miembros enviaron los mismos comentarios para todos los capítulos del *Manual Acuático* que circularon en el informe de septiembre. La Comisión para los Animales Acuáticos abordó estos comentarios del siguiente modo:

Sección/párrafo	Comentario	Decisión
<i>Los tres capítulos introductorios sobre las enfermedades de crustáceos, peces o moluscos (2.2.0; 2.3.0 o 2.4.0); Sección sobre el uso de técnicas moleculares para pruebas de confirmación y diagnóstico</i>	Sin comentarios, resultado de los debates en la Comisión.	Añadir el siguiente texto de orientación sobre la PCR anidada: “ <i>Nested PCR involves two rounds of PCR and may be used to achieve increased sensitivity and specificity; however, it increases the risk of contamination. Contaminants from previous reactions can carry over and lead to false-positive results. Strict laboratory practices such as separate workspaces, dedicated equipment, and meticulous pipetting techniques are essential to mitigate this risk. In conclusion, nested PCR is not recommended for surveillance but may sometimes be used for confirmative studies.</i> ”
3.6. <i>Agrupación de muestras</i>	Sin comentarios, resultado de la revisión del párrafo estándar por parte de la Comisión.	Modificar la primera frase del texto estándar: “ <i>Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose should <u>only be is only</u> recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable.</i> ”
4.4. <i>Amplificación de ácido nucleico</i>	En las tablas sobre las secuencias de cebadores y sondas PCR y de condiciones de ciclado, aclarar que no se incluye una etapa inicial de desnaturalización ni una etapa final de elongación.	De acuerdo. Se añadió una nota al pie a estas tablas en todos los capítulos.
6.3. <i>Sensibilidad y especificidad diagnósticas para las pruebas de diagnóstico</i>	Cuando no se faciliten datos en las Tablas 6.3.1. y 6.3.2., eliminar el texto sobre las modalidades de utilización de los datos en las encuestas.	De acuerdo.

8.1. Sección 2.2. Enfermedades de los crustáceos

8.1.1. Capítulo 2.2.0. Información general: enfermedades de los crustáceos

Se recibieron comentarios de Australia, Estados Unidos de América Noruega, Tailandia, Taipéi Chino y AU-IBAR.

Contexto

En su reunión de septiembre de 2022, la Comisión para los Animales Acuáticos modificó el Capítulo 2.2.0. *Información general (enfermedades de los crustáceos)*, en consulta con los expertos del Laboratorio de Referencia para las Enfermedades de los Crustáceos.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión modificó el capítulo propuesto tras considerar los comentarios de los Miembros.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de septiembre de 2022 (Ítem 7.1.1., página 15) e informe de febrero de 2023 (ítem 11.1.1., página 43).

Reunión de septiembre de 2023

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
1.2. <i>Especificaciones en función de la población de los crustáceos</i>	Indicar cómo determinar que la muestra está proporcionalmente representada.	En desacuerdo. No es necesario incluir mayores explicaciones porque el texto está claro tal y como está redactado.
2.2. <i>Examen virológico</i>	Aclarar y corregir el texto.	De acuerdo. Se modificó la primera frase y se suprimió la segunda por considerarse incorrecta: se aísla el nodavirus y no el camarón <i>Macrobrachium rosenbergii</i> .
2.3. <i>Examen bacteriológico</i>	Aclarar cómo debe utilizarse el método de prueba.	En desacuerdo. Según el Capítulo 2.2.3. <i>Infección por Hepatobacter penaei (hepatopancreatitis necrotizante)</i> No se cultivó <i>H. penaei</i> y el texto indica que el examen bacteriológico no se utiliza de forma rutinaria.
5. <i>Técnicas</i>	Mantener los ejemplos numéricos, ya que proporcionan una orientación más clara sobre el muestreo/tamaño de las muestras.	En desacuerdo. El objetivo del texto es hacer hincapié en la necesidad de contar con un volumen de muestras suficiente para efectuar la prueba. En los capítulos específicos de enfermedad, figuran orientaciones numéricas concretas: las cifras aquí indicadas podrían no ser aplicables a todas las especies susceptibles, por lo que se propone su supresión. El volumen de la muestra no influye en el número de pruebas necesarias para el uso previsto.
5.5.1. <i>Preparación y tipos de muestras, apartado vi) sobre los tejidos fijados para la hibridación in situ</i>	Especificar la concentración de etanol.	De acuerdo. Se modificó el texto en consecuencia y también se especificaron los tiempos de fijación en el fijador de Davidson.

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
5.5.2. <i>Conservación del ARN y el ADN en los tejidos</i>	Aclarar el texto en relación con el tiempo que pueden conservarse las muestras preservadas y la aceptabilidad de otros productos disponibles comercialmente para el mismo fin.	De acuerdo.
5.5.4. <i>Preparación del portaobjetos para la hibridación in situ</i>	Especificar la concentración de etanol.	De acuerdo.
6. <i>Información adicional que se debe recopilar</i>	Borrar la sección.	En desacuerdo. El título de la Sección 6 es "Información adicional que se debe recopilar" y el texto actual se ajusta a ese título. El comentario no corresponde con el enfoque central de la sección.

El Capítulo revisado 2.2.0. *Información general (enfermedades de los crustáceos)* figura en el **Anexo 26** para comentario de los Miembros.

8.1.2. Capítulo 2.2.2. *Infección por Aphanomyces astaci (peste del cangrejo del río)*

Se recibieron comentarios de Australia, China (Rep. Pop. de), Estados Unidos de América, México, Noruega, AU-IBAR y la UE.

Contexto

En su reunión de septiembre de 2022, la Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Capítulo 2.2.2. *Infección por Aphanomyces astaci (peste del cangrejo de río)*, actualizado por los expertos del laboratorio de referencia de la OMSA correspondiente y reformateado en base al nuevo modelo de capítulo de enfermedad.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión modificó el capítulo propuesto tras considerar los comentarios de los Miembros.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de septiembre de 2022 (ítem 7.1.3., página 17) e informe de febrero de 2023 (ítem 11.1.2., página 44).

Reunión de septiembre de 2023

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
2.2.3. <i>Probabilidad de infección por especie, etapa de vida del hospedador, población o subpoblaciones</i>	Suprimir la frase que afirma que la única especie de crustáceo que no es el cangrejo de río y que se sabe que es susceptible a la infección por <i>A. astaci</i> es el cangrejo guante chino (<i>Eriocheir sinensis</i>), ya que no existen pruebas científicas que respalden esta afirmación.	En desacuerdo. Se añadió la referencia pertinente.

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
2.2.5. <i>Reservorios de infección en animales acuáticos</i>	Informar sobre la naturaleza y las condiciones sanitarias de las especies reservorio de la infección por <i>Aphanomyces astaci</i> .	Actualmente, esta información no puede añadirse al capítulo, ya que no se han analizado todas las especies de cangrejos de río.
2.3.2. <i>Signos clínicos, incluidos los cambios de comportamiento y</i> 2.3.3. <i>Patología macroscópica</i>	Cambiar el subtítulo de "Especies susceptibles" por "Especies propensas a la enfermedad clínica".	De acuerdo. Es diferente de las especies susceptibles definidas en el Capítulo 1.5. <i>Criterios para la inclusión de especies susceptibles de infección por un agente patógeno específico del Código Acuático.</i>
	Cambiar el subtítulo de "North American crayfish species" (Especies de cangrejo de río de Norteamérica) por "Species that do not normally develop clinical disease" (Especies que normalmente no desarrollan la enfermedad clínica)	De acuerdo.
2.3.6. <i>Distribución geográfica</i>	Añadir una referencia y texto adicional sobre la distribución en América del Norte.	De acuerdo. Añadir la referencia, pero no el texto, ya que la información ya se indica en la frase.
4.4.1. <i>PCR en tiempo real</i>	Corregir las condiciones de ciclado de la PCR en tiempo real de acuerdo con la referencia.	De acuerdo.
	Suprimir el método 2 porque aún no se ha publicado y modificar en consecuencia el texto que lo acompaña.	De acuerdo.
	Modificar el texto del párrafo debajo de la tabla para aportar claridad sobre la ciencia y los pasos necesarios para identificar con precisión el patógeno de la lista.	De acuerdo.
6.1.1. <i>Definición de caso confirmado en animales aparentemente sanos</i>	Sustituir "at least" por "one of", de lo contrario los criterios no son precisos.	De acuerdo.

El Capítulo revisado 2.2.2. *Infección por Aphanomyces astaci (plaga del cangrejo del río)* figura en el [Anexo 27](#) para comentario de los Miembros.

8.1.3. Capítulo 2.2.6. Infección por el nodavirus *Macrobrachium rosenbergii* (enfermedad de la cola blanca)

Se recibieron comentarios de Australia, Canadá, China (Rep. Pop. de), México, Noruega, Tailandia y Estados Unidos de América.

Contexto

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Capítulo 2.2.6. Infección por el nodavirus *Macrobrachium rosenbergii* (enfermedad de la cola blanca) actualizado por los expertos del laboratorio de referencia de la OMSA correspondiente y por un integrante de la Comisión y reformateado en base al nuevo modelo de capítulo específico de enfermedad.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2023 (Ítem 11.1.3., página 46).

Reunión de septiembre de 2023

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
Comentario general	Revisar el capítulo para aclarar mejor cuáles son los agentes patógenos (<i>Macrobrachium rosenbergii</i> nodavirus [NVMr] y virus muy pequeño [VMP]) y cuándo deben tenerse en cuenta para actividades como la vigilancia, la definición de casos, la notificación, las solicitudes de declaración de ausencia de enfermedad, etc.	La enfermedad se define en el ámbito de aplicación como infección por el NVMr. Se incluyó un texto en el ámbito de aplicación que indica que el virus muy pequeño (VMP) está asociado con la enfermedad, pero no se ha determinado su función. Se mantuvo la información sobre el VMP en el capítulo, además de la Tabla 4.1. sobre los métodos de prueba recomendados para el NVMr y la Sección 6 sobre las definiciones de caso. Dado que se desconoce su función, la información sobre el VMP añade valor al capítulo y muchas de las referencias bibliográficas se refieren tanto al NVMr como al VPM.
2.1.1. Agente etiológico	Borrar la mención al VMP.	En desacuerdo. Ver comentario general.
2.1.2. Supervivencia y estabilidad de las muestras almacenadas o procesadas	Borrar la mención al VMP.	En desacuerdo. Ver comentario general.
2.2.2 Especies con evidencia incompleta de susceptibilidad	Suprimir las especies de insectos acuáticos de la tabla de esta sección, puesto que ya se han definido como vectores en la Sección 2.2.6.	De acuerdo.

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
	Suprimir la tabla de esta sección porque no es apropiado exigir pruebas de detección de una enfermedad en especies para las que existen pruebas incompletas de susceptibilidad.	En desacuerdo. Ver la justificación proporcionada en informes anteriores y el enfoque acordado por los Miembros. El ámbito de aplicación de las normas comerciales en el <i>Código Acuático</i> sólo se aplica a las especies susceptibles; cualquier medida aplicada a especies con evidencia incompleta de susceptibilidad (que sólo se incluyen en el <i>Manual Acuático</i>) tendría que estar respaldada por una evaluación del riesgo.
	Añadir texto y una referencia al hallazgo de genomas del NVMr en <i>Cyprinus carpio</i> .	El Grupo <i>ad hoc</i> sobre la susceptibilidad de las especies de crustáceos a las enfermedades de la lista de la OMSA revisará la referencia.
2.2.3. Probabilidad de infección por especie, etapa de vida del hospedador, población o subpoblaciones	Añadir una referencia sobre el NVMr causante de mortalidad en langostinos de agua dulce en estudios experimentales.	De acuerdo.
2.2.5. Reservorios de infección en animales acuáticos	Añadir texto y una referencia sobre informes recientes de infecciones por NVMr y VMP en el camarón blanco del Pacífico.	De acuerdo. Se aceptó añadir la referencia, pero no un nuevo texto, ya que no es probable que la susceptibilidad y la transmisión se hayan demostrado en el estudio (sólo PCR positiva): se modificó la frase actual para reflejar con exactitud la situación.
2.3.6. Distribución geográfica	Añadir dos referencias e incluir la ampliación del ámbito geográfico a los Miembros designados y, potencialmente, a una nueva región.	En desacuerdo. Una de las dos referencias ya figura en el texto y la segunda corresponde a un artículo revisado por pares. Esta sección informa sobre la presencia de enfermedades a nivel regional y no nacional.
Tabla 4.1.	Solicitud de revisión de la exhaustividad de los datos de la Tabla 4.1.	De acuerdo. Primero se aclaró en el título de la tabla que los métodos de diagnóstico recomendados corresponden sólo <u>al NVMr</u> . Se añadió que el nivel de validación de la histopatología para el diagnóstico presuntivo de animales clínicamente afectados es NA (no está disponible).
4.4.1. PCR en tiempo real	Considerar la posibilidad de mantener el VMP en la tabla de RT-PCR en tiempo real.	De acuerdo. Se acepta mantener: ver comentario general.

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
4.4.2. <i>RT-PCR convencional</i>	Revisar y completar o corregir la información de la tabla, incluida la supresión de la referencia a un método de ensayo que no figura en la tabla.	De acuerdo. Salvo en añadir las etapas de desnaturalización inicial y de extensión final (ver más arriba la decisión sobre los cambios horizontales del <i>Manual Acuático</i>).

El Capítulo revisado 2.2.6. Infección por el nodavirus *Macrobrachium rosenbergii* (enfermedad de la cola blanca) figura en el [Anexo 28](#) para comentario de los Miembros.

8.1.4. Capítulo 2.2.9. Infección por el virus de la cabeza amarilla genotipo 1

Se recibieron comentarios de Australia, China (Rep. Pop. de), Estados Unidos de América, Japón, México, Noruega, Taipéi Chino, AU-IBAR y la Unión Europea.

Contexto

La Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Capítulo 2.2.9. *Infección por el virus de la cabeza amarilla (genotipo 1)* actualizado por el experto del laboratorio de referencia de la OMSA y reformateado utilizando el nuevo modelo de capítulo de enfermedad.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2023 (ítem 11.1.4., página 46).

Reunión de septiembre de 2023

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
2.2.2. <i>Especies con evidencia incompleta de susceptibilidad</i>	Suprimir la tabla de esta sección porque no es apropiado exigir pruebas de detección de una enfermedad en especies para las que no existen pruebas completas de susceptibilidad.	En desacuerdo. Se recuerda la justificación proporcionada en informes anteriores y el enfoque acordado por los Miembros de la OMSA. El ámbito de aplicación de las normas comerciales en el <i>Código Acuático</i> sólo se aplica a las especies susceptibles; cualquier medida aplicada a especies con evidencia incompleta de susceptibilidad (que sólo se incluyen en el <i>Manual Acuático</i>) tendría que estar respaldada por una evaluación del riesgo.
2.2.5. <i>Reservorios de infección en animales</i>	Suprimir la última frase, ya que no utiliza las vías de exposición adecuadas para demostrar la infección debido al uso de la infección experimental mediante inyección.	De acuerdo.
2.3.6. <i>Distribución geográfica</i>	Incluir la frase sobre el genotipo 7 (YHV7).	En desacuerdo. El capítulo se concentra en el virus de la cabeza amarilla genotipo 1. Para completar y distinguir los genotipos, el genotipo 7 se menciona en la Sección 2.1.1. <i>Agente etiológico</i> .

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
3.1. <i>Selección de poblaciones y muestras individuales</i>	Suprimir el texto de esta sección a menos que puedan facilitarse las referencias.	En desacuerdo. El texto ya es claro y útil, y está alineado con el contenido de otros capítulos.
3.2. <i>Selección de órganos o tejidos</i>	Suprimir el texto de esta sección a menos que puedan facilitarse las referencias.	En desacuerdo. El texto es claro y no hay necesidad de una referencia: la elección del tejido depende de muchos factores, como el método que se utilizará, la predilección por el tejido, la fiabilidad/facilidad del muestreo, la validación del método, la probabilidad de contaminación, el almacenamiento, los inhibidores, etc.
3.3. <i>Muestras o tejidos no aptos para la detección de patógenos</i>	El texto actual contradice la Sección 3.1.: añadir una explicación sobre el tipo de tejido y las primeras fases de vida de las postlarvas.	En desacuerdo. Muestras y especímenes no es lo mismo, puesto que la idoneidad del tipo de muestra no es necesariamente binaria.
4.4.1. <i>PCR en tiempo real</i>	Añadir el método PCR en tiempo real que está desarrollando el laboratorio de referencia de la OMSA. En particular, debería sustituir a la RT-PCR anidada convencional de la Sección 4.4.2. como prueba recomendada para la vigilancia.	De acuerdo. La prueba se añadirá tras la publicación; el experto puede brindar un informe completo de validación (ver ítem 9.1.).
4.4.2. <i>RT-PCR convencional</i>	Especificar el nombre del genotipo detectado.	De acuerdo. Genotipo 8.
	Existen tres métodos de RT-PCR en las tablas de esta sección, pero no se designan explícitamente ni en la Tabla 4.1 ni en la Sección 6. Para evitar confusiones, esos protocolos de prueba deben especificarse en las secciones pertinentes.	En desacuerdo. La selección de la prueba RT-PCR depende del propósito del usuario. Las tres pruebas RT-PCR se recomiendan para dos fines con el mismo nivel de validación.
4.4.3. <i>Otros métodos de amplificación de ácido nucleico</i>	Añadir texto y una referencia a una prueba de RT-PCR en tiempo real con mayor sensibilidad y especificidad que los métodos ya incluidos en el capítulo.	En desacuerdo. Al revisar la referencia, se observó que no se había realizado una comparación directa de los métodos con el mismo conjunto/matriz de muestras.
4.8. <i>Bioensayo</i>	Añadir un nuevo párrafo sobre la metodología de interpretación de los resultados de los bioensayos de acuerdo con el texto estándar de otros capítulos.	De acuerdo.

Sección/ párrafo	Comentario	Decisión
6.1. <i>Animales aparentemente sanos o de estado sanitario desconocido</i>	En la segunda frase del párrafo introductorio, insertar " <i>suspect or</i> " (se sospecha o) antes de " <i>known infected population</i> " (una población que se sabe que está infectada), ya que el seguimiento estaría justificado si existiera un vínculo epidemiológico con una población conocida o sospechosa.	En desacuerdo. El texto se refiere a poblaciones que se convierten en sospechosas por su proximidad hidrogeográfica o su vínculo epidemiológico con una población infectada. Eso implica que todas las poblaciones vinculadas son, por lo tanto, sospechosas y no se convierten en sospechosas por estar a proximidad a otra población sospechosa vinculada a una población infectada.
6.1.1. <i>Definición de caso sospechoso en animales aparentemente sanos</i>	Reemplazar RT-PCR "recomendada" por "convencional" para reflejar la recomendación en la Tabla 1.4.	De acuerdo.
6.1.2. <i>Definición de caso sospechoso en animales aparentemente sanos</i>	Modificar en aras de armonización con la Sección 6.2.2.	De acuerdo.
6.2.2. <i>Definición de caso confirmado en animales con signos clínicos</i>	Borrar " <i>targeting non-overlapping parts of the genome</i> " (dirigida a una región no solapada del genoma) después de " <i>RT-PCR</i> ".	De acuerdo. La PCR y el análisis de la secuencia de los amplicones son suficientes para la confirmación.

El Capítulo revisado 2.2.6. *Infección por el virus de la cabeza amarilla genotipo 1* figura en el [Anexo 29](#) para comentario.

8.1.5. Capítulo 2.2.X. Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1 (DIV1)

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Capítulo 2.2.X. *Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1*, elaborado por el experto del laboratorio de referencia de la OMSA correspondiente y formateado en base al nuevo modelo de capítulo de enfermedad.

El nuevo Capítulo 2.2.X. *Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1*, figura en el [Anexo 30](#) para comentario de los Miembros.

8.2. Sección 2.4. Enfermedades de los moluscos

8.2.1. Capítulo 2.4.0. Información general: enfermedades de los moluscos

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Capítulo 2.4.0. *Información general: enfermedades de los moluscos*, actualizado por el experto del laboratorio de referencia de la OMSA correspondiente. Armonizó el texto con las recomendaciones de los Capítulos 2.2.0. y 2.3.0., es decir los capítulos de información general sobre las enfermedades de los crustáceos y de los peces, respectivamente.

Las principales modificaciones incluyen:

Sección/ párrafo	Cambio
A.1.2. <i>Especificaciones en función de la población de los crustáceos</i>	Modificación en aras de coherencia con los Capítulos 2.2.0. y 2.3.0., los capítulos de información general sobre las enfermedades de los crustáceos y los peces.
A.1.3. <i>Especificaciones en función del estado clínico</i>	Aclaración del texto y supresión de detalles innecesarios.
A.1.4. <i>Especificaciones en función del tamaño del molusco</i>	Supresión de la información específica de la enfermedad disponible en los capítulos específicos de enfermedad.
A.2. <i>Procesamiento general de las muestras</i>	Trasladado el último párrafo a la Sección B.6. relativa a la información adicional que debe recolectarse.
B.5. <i>Técnicas</i>	Supresión de la información que se repite en otras partes del capítulo y simplificación del texto sobre transporte y expedición.
B.5.5. <i>Métodos moleculares</i>	Armonización del título con los Capítulos 2.2.0. y 2.3.0. a "Uso de técnicas moleculares para vigilancia, pruebas de confirmación y diagnóstico".
B.5.5.2. <i>Preservación del ADN en los tejidos</i>	Edición del texto en aras de armonización con los Capítulos 2.2.0. y 2.3.0.

El Capítulo revisado 2.4.0. *Información general: enfermedades de los moluscos* figura en el **Anexo 31** para comentario de los Miembros.

8.2.2. Capítulo 2.4.1. Infección por el herpesvirus del abalón

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Capítulo 2.4.1. *Infección por herpesvirus del abalón*, actualizado por el experto del laboratorio de referencia de la OMSA correspondiente y reformateado utilizando el nuevo modelo de capítulo de enfermedad.

Las principales modificaciones incluyen:

Sección/ párrafo	Cambio
1. <i>Ámbito de aplicación</i>	Actualización de la taxonomía del agente patógeno.
2.2.1 <i>Especies hospedadores susceptibles</i> y 2.2.2. <i>Especies con evidencia incompleta de susceptibilidad</i>	Dos secciones completadas de acuerdo con las conclusiones del Grupo <i>ad hoc</i> sobre la susceptibilidad de las especies de moluscos a las enfermedades de la lista de la OMSA.
Tabla 4.1.	Tabla 4.1.: completa y alineada con las definiciones de caso de la Sección 6.
4.6. <i>Hibridación in-situ</i>	Supresión de los detalles del método de prueba tal como figuran en la referencia.

Sección/ párrafo	Cambio
6. <i>Criterios de diagnóstico corroborativo</i>	Definiciones revisadas de caso sospechoso y confirmado en animales aparentemente sanos y clínicamente afectados.
7. <i>Referencias</i>	Actualización de referencias.

El Capítulo revisado 2.4.1. *Infección por el herpesvirus del abalón* figura en el [Anexo 32](#) para comentario de los Miembros.

8.2.3. Capítulo 2.4.4. Infección por *Marteilia refringens*

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión para los Animales Acuáticos revisó el Capítulo 2.4.4. Infección por *Marteilia refringens*, actualizado por el experto del laboratorio de referencia de la OMSA correspondiente y reformateado utilizando el nuevo modelo de capítulo de enfermedades.

Las principales modificaciones incluyen:

Sección/párrafo	Cambio
1. <i>Ámbito de aplicación</i>	Modificación del ámbito de aplicación en aras de armonización con el <i>Código Acuático</i> . La mayor parte del texto del segundo párrafo se trasladó a la Sección 2.1.1. <i>Agente etiológico</i> .
2.2.5. <i>Reservorios de infección en animales acuáticos</i> y 2.2.6. <i>Vectores</i>	Modificado para adaptarlo al modelo de capítulo sobre enfermedades.
Tabla 4.1.	Tabla 4.1. completa y alineada con las definiciones de caso de la Sección 6.
4.5. <i>Amplificación del ácido nucleico</i>	Se completaron las tablas de secuencias de cebadores y sondas PCR y parámetros de ciclado y se eliminaron los detalles de los métodos PCR.
6. <i>Criterios de diagnóstico corroborativo</i>	Definiciones revisadas de caso sospechoso y confirmado en animales aparentemente sanos y clínicamente afectados.
7. <i>Referencias</i>	Actualización de las referencias.

El Capítulo revisado 2.4.4. Infección por *Marteilia refringens* figura en el [Anexo 33](#) para comentario de los Miembros.

8.2.4. Sección 2.2.1. y 2.2.2. del Capítulo 2.4.5. Infección por *Perkinsus marinus*

Se recibieron comentarios de Australia, Estados Unidos de América, Reino Unido, Taipéi Chino y la UE.

Contexto

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión para los Animales Acuáticos modificó las Secciones 2.2.1. y 2.2.2. del Capítulo 2.4.5. Infección por *Perkinsus marinus*, de acuerdo con las recomendaciones del Grupo *ad hoc* sobre susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por enfermedades de la lista de la OMSA.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2023 (ítem 11.2.1., página 47).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión rechazó la supresión de la Sección 2.2.2., dado que forma parte del modelo de los capítulos del *Manual Acuático* y que la justificación de su inclusión se presentó previamente y fue aprobada por los Miembros. La Comisión tampoco aceptó cambiar en la versión inglesa la ortografía de "fulfi" por "fulfill", ya que la OMSA utiliza la ortografía del Reino Unido.

Las Secciones 2.2.1. y 2.2.2. del Capítulo 2.4.5. Infección por *Perkinsus marinus* figuran en el [Anexo 34](#) para comentario de los Miembros.

9. Ítems para comentario de los Miembros

9.1. Desarrollo de un mecanismo destinado a acelerar el proceso de puesta a disposición de los Miembros de las actualizaciones de los métodos de diagnóstico del *Manual Acuático*

Contexto

En su reunión de septiembre de 2022, la Comisión para los Animales Acuáticos tomó nota de que la Comisión de Normas Biológicas estaba trabajando en la elaboración de un modelo de los datos de validación que se pedirán a los solicitantes que buscan la inclusión de las pruebas en el *Manual Terrestre*.

En su reunión de febrero de 2023, la Comisión para los Animales Acuáticos debatió en torno al modelo y propuso modificaciones para simplificarlo y facilitar su aplicación al *Manual Acuático*, por ejemplo, sustituir las siete finalidades previstas de una prueba de diagnóstico en el *Manual Terrestre* por las tres finalidades que figuran en el *Manual Acuático*. La Comisión de Normas Biológicas decidió que el modelo debía utilizarse como formulario de un "informe de validación" para las pruebas recomendadas en el *Manual Terrestre*.

La Comisión para los Animales Acuáticos subrayó la importancia de validar las pruebas de diagnóstico de las enfermedades de los animales acuáticos. Si bien consideró que era preferible publicar los estudios de precisión diagnóstica en revistas revisadas por pares, en algunos casos, este formulario de informe de validación podía brindar un mecanismo destinado a incorporar métodos nuevos o revisados antes de su publicación.

Informes de la Comisión donde se discutió del tema

Informe de febrero de 2022 (ítem 3.3.1., página 16); informe de septiembre de 2022 (ítem 8.3., página 25) e informe de febrero de 2023 (ítem 11.3., página 48).

Reunión de septiembre de 2023

La Comisión introdujo las últimas modificaciones en el modelo de formulario de validación para las pruebas recomendadas en el *Manual Acuático*. La intención es utilizar el modelo para proporcionar datos de validación para consideración de la Comisión en cuanto a las pruebas propuestas para inclusión en el *Manual Acuático*, antes de la publicación de los datos en una revista revisada por pares. El modelo de formulario se transmitió a un experto del laboratorio de referencia de la OMSA que se encuentra en la fase final de desarrollo de un nuevo método PCR. En la próxima reunión, la Comisión examinará los datos presentados junto con las observaciones del experto sobre la idoneidad y utilidad del modelo.

10. Grupos *ad hoc*

10.1. Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA

El Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA se reunió en junio de 2023 para realizar evaluaciones de la susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por *Perkinsus olseni*.

Se informó a la Comisión para los Animales Acuáticos de que el grupo *ad hoc* no había completado sus evaluaciones de *P. olseni* debido al volumen de investigación asociado con el agente patógeno. La Comisión examinó el informe provisional del grupo *ad hoc*, en el que se describe el trabajo realizado hasta la fecha y se formulan comentarios al respecto. El grupo *ad hoc* tiene previsto reunirse en

noviembre/diciembre de 2023 para finalizar las evaluaciones de las especies susceptibles a la infección por *P. olsenii*.

10.2. Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de peces a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA

El Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de peces a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA se reunió en abril de 2023 para completar las evaluaciones de susceptibilidad de las especies de peces a la infección por el virus de la tilapia de lago (ver ítem 6.13.).

Se informó a la Comisión de que el grupo *ad hoc* tenía previsto reunirse en enero de 2024 para avanzar en la evaluación de las especies susceptibles de infección por *Aphanomyces invadans* (síndrome ulcerante epizoótico).

El informe de este grupo *ad hoc* de la OMSA está disponible en el sitio web de la OMSA: <https://www.woah.org/app/uploads/2023/10/e-fish-ahg-tilv-april-2023.pdf>

10.3. Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de crustáceos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA

El Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de crustáceos a la infección por enfermedades de la lista de la OMSA se reunió en abril de 2023 para completar las evaluaciones de la susceptibilidad de las especies de peces a la infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1 (ver ítem 6.11.).

Se informó a la Comisión de que el grupo *ad hoc* tenía previsto volver a reunirse en noviembre de 2023 para avanzar en sus trabajos de evaluación de las especies susceptibles de infección por el virus del síndrome de las manchas blancas.

El informe de este grupo *ad hoc* está disponible en el sitio web de la OMSA en: <https://www.woah.org/app/uploads/2023/10/e-crustacean-ahg-div1-mars-2023.pdf>

11. Centros de referencia de la OMSA o cambios de expertos

11.1. Evaluación de las solicitudes para la designación como centro de referencia de la OMSA en temas de sanidad de los animales acuáticos o cambio de expertos

El Centro Colaborador de la OMSA para las Enfermedades Emergentes de los Animales Acuáticos, albergado por el Centro de Ciencias del Medio Ambiente, Pesca y Acuicultura del Reino Unido, había propuesto que este centro estuviera dirigido por dos expertos con competencias complementarias. La Comisión aceptó este enfoque.

El Delegado del Miembro interesado presentó a la OMSA la siguiente candidatura para un cambio de experto en un laboratorio de referencia de la OMSA. La Comisión para los Animales Acuáticos examinó la candidatura y recomendó su aceptación:

Infección por *Hepatobacter penaei* (hepatopancreatitis necrotizante)

El Dr. Arun Dhar reemplaza al Dr. Luis Fernando Aranguren en el Laboratorio de patología de acuicultura, Universidad de Arizona, Tucson, Arizona, Estados Unidos de América.

11.2. Revisión de los informes anuales de actividades en 2022 de los centros de referencia de la OMSA

Se recibieron los informes anuales de 35 de los 37 laboratorios de referencia de la OMSA para las enfermedades de los animales acuáticos y de los cuatro centros colaboradores para las cuestiones relacionadas con los animales acuáticos.

De conformidad con los [procedimientos para la designación de los laboratorios de referencia](#) y los [procedimientos para la designación de centros colaboradores](#), la Comisión para los Animales Acuáticos

examinó todos los informes recibidos y, en particular, tomó nota del desempeño de cada centro de referencia relacionado con el cumplimiento de los mandatos en beneficio de los Miembros de la OMSA.

La Comisión tomó nota de las importantes contribuciones realizadas por los centros de referencia y agradeció a los expertos designados por estas valiosas contribuciones a la misión de la OMSA. La Comisión expresó su agradecimiento por el apoyo entusiasta y el asesoramiento experto que los centros de referencia prestan a la Organización. En particular, la Comisión agradeció el acompañamiento continuo y las contribuciones esenciales de los expertos de los laboratorios de referencia en la revisión de los capítulos específicos de enfermedad del *Manual Acuático*.

La Comisión propuso algunas modificaciones del modelo de informe anual, como, por ejemplo, indicar que los expertos pueden informar a la OMSA de la necesidad de actualizar un capítulo del *Manual Acuático* debido a nuevos descubrimientos científicos.

11.3. Mejorar el compromiso de los laboratorios de referencia para las enfermedades de los animales acuáticos con la Comisión para los Animales Acuáticos

La Comisión para los Animales Acuáticos tiene la voluntad de establecer relaciones más estrechas con los laboratorios de referencia para las enfermedades de los animales acuáticos, a fin de mejorar su compromiso con la Comisión. Algunas formas de alcanzar este objetivo incluyen invitar a expertos designados de los laboratorios de referencia a las reuniones de la Comisión, invitar a los laboratorios de referencia a los seminarios web de la Comisión posteriores a las reuniones y promover proyectos de investigación tales como proyectos para validar algunos de las pruebas del *Manual Acuático*. Se designó a un integrante de la Comisión para que redactara un resumen de las posibles formas de avanzar en este proyecto, que se revisará en la próxima reunión de febrero de 2024.

11.4. Revisión de las principales áreas de interés y especialidades de los centros colaboradores

La Comisión para los Animales Acuáticos revisó los cambios propuestos por la Comisión de Normas Biológicas a la Lista de áreas principales y especialidades para los centros colaboradores de la OMSA. La Comisión para los Animales Acuáticos propuso algunas modificaciones adicionales a la lista. El documento actualizado con los cambios indicados figura en el [Anexo 20](#) del informe de la reunión de septiembre de 2023 de la Comisión de Normas Biológicas.

11.5. Convocatoria de candidaturas para el estatus de laboratorio de referencia de la OMSA

La Comisión para los Animales Acuáticos tomó nota de la necesidad de designar laboratorios de referencia de la OMSA para las siguientes enfermedades de la lista:

- Infección por *Aphanomyces invadans* (síndrome epizoótico ulcerativo)
- Infección por *Batrachochytrium dendrobatidis*
- Infección por *Batrachochytrium salamandrivorans*
- Infección por el virus de la mionecrosis
- Infección por *Perkinsus marinus*
- Infección por *Perkinsus olseni*
- Infección por el virus de la tilapia del lago
- Infección por *Xenohaliotis californiensis*

La Comisión invita a presentar candidaturas a los Miembros que posean la experiencia adecuada en estas enfermedades.

12. Otros asuntos

12.1. Registro de los kits de diagnóstico

La Comisión para los Animales Acuáticos recibió información actualizada sobre la evolución de los trabajos destinados a remodelar el procedimiento de registro de kits de diagnóstico de la OMSA. Se informó a la Comisión de que la OMSA había organizado una reunión con dos partes interesadas principales: *Health for Animals* y *Diagnostic for Animals*, el 7 de junio de 2023, en la que se exploró la posibilidad de establecer mecanismos que pudieran facilitar la armonización reglamentaria de los kits de diagnóstico. Está previsto un encuentro conjunto con las partes interesadas mencionadas y una selección de las principales autoridades competentes nacionales que representen a todas las regiones geográficas. Se informará a la Comisión de los progresos futuros en su próxima reunión.

La Comisión señaló que la secretaría responsable del registro de los kits de diagnóstico tendría que considerar los procesos para aquellos kits de diagnóstico acuático que ya están registrados y que pueden necesitar la presentación de un nuevo expediente y una evaluación en el marco de su renovación.

.../Anexos

Anexo 1. Ítem 2 – Orden del día aprobado

REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS SANITARIAS PARA LOS ANIMALES ACUÁTICOS

13 al 20 de septiembre de 2023

1. Bienvenida de la directora general adjunta de la OMSA
2. Aprobación del orden del día
3. Reunión con la directora general
4. Cooperación con la Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Terrestres
 - 4.1. Armonización entre el *Código Terrestre* y el *Código Acuático*
 - 4.1.1. Revisión de los nuevos temas para inclusión en los planes de trabajo de la Comisión para los Animales Acuáticos y la Comisión del Código, temas prioritarios (criterios y métodos), documentación del proceso
 - 4.1.2. Definiciones del Glosario: ‘autoridad competente’, ‘autoridad veterinaria’ y ‘servicios de sanidad de los animales acuáticos’ – revisión del uso (en base a los comentarios de los Miembros)
 - 4.1.3. Marco de trabajo para los capítulos específicos de enfermedad
 - 4.2. Sinergias y áreas de interés común
 - 4.2.1. Comisión del Código: Plan para revisar la Guía del usuario
 - 4.2.2. Comisión para los animales acuáticos: Plan para continuar el trabajo sobre el Título 5: Revisión de los Capítulos 5.4. a 5.7.
 - 4.2.3. Comisión para los animales acuáticos: Plan para continuar el trabajo sobre el Capítulo 4.3. Aplicación de la compartimentación
 - 4.2.4. Comisión para los animales acuáticos: Nuevos Capítulos 4.X. Preparación ante emergencias sanitarias y 4.Y. Gestión de brote de enfermedad
 - 4.2.5. Comisión del Código: Plan para continuar el trabajo sobre el Título 4: Preparación ante emergencias
 - 4.2.6. Comisión del Código: Plan para continuar el trabajo sobre el Título 4: Bioseguridad
 - 4.2.7. Comisión del Código: Plan para continuar el trabajo sobre el Capítulo revisado 6.10. *Uso responsable y prudente de agentes antimicrobianos en medicina veterinaria*
5. Plan de trabajo y prioridades
6. Estrategia de la OMSA sobre la sanidad de los animales acuáticos
 - 6.1. Informe de situación sobre la implementación de la Estrategia de la OMSA sobre la Sanidad de los Animales Acuáticos
 - 6.2. Participación de los puntos focales
 - 6.3. Plan para revisar la ciencia del bienestar de los animales acuáticos
7. *Código Acuático*
 - 7.1. Ítems para comentario de los Miembros
 - 7.1.1. Definiciones del Glosario: ‘servicios de sanidad de los animales acuáticos’, ‘autoridad veterinaria’ y ‘autoridad competente’ – revisión del uso en el *Código Acuático*
 - 7.1.2. Definiciones del Glosario: ‘productos de animales acuáticos’ – uso de ‘productos derivados de animales acuáticos’ en el *Código Acuático*
 - 7.1.3. Artículo 1.1.5. del Capítulo 1.1. Notificación de las enfermedades y aportación de datos epidemiológicos
 - 7.1.4. Capítulo 1.3. Enfermedades de la lista de la OMSA
 - 7.1.4.1. infección por las especies del virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón

-
- 7.1.5. Capítulo 4.3. Aplicación de la compartimentación – documento de debate
 - 7.1.6. Nuevo Capítulo 4.X. Preparación ante emergencias sanitarias
 - 7.1.7. Nuevo Capítulo 4.Y. Gestión de brote de enfermedad
 - 7.1.8. Nuevo Capítulo 4.Z. Control de los agentes patógenos en leche y en huevos fecundados comercializados de peces
 - 7.1.9. Nuevo Capítulo 5.X. Movimientos de animales acuáticos ornamentales
 - 7.1.10. Mercancías seguras – Artículos X.X.3. para los capítulos específicos de enfermedad
 - 7.1.10.1. Artículos revisados 8.X.3. para los capítulos específicos de los anfibios
 - 7.1.10.2. Artículos revisados 9.X.3. para los capítulos específicos de los crustáceos
 - 7.1.10.3. Artículos revisados 10.X.3. para los capítulos específicos de los peces
 - 7.1.10.4. Artículos revisados 11.X.3. para los capítulos específicos de los moluscos
 - 7.1.11. Modelo de Artículos X.X.5.-X.X.6. para los capítulos específicos de enfermedad
 - 7.1.12. Evaluación de los periodos por defecto en los Artículos X.X.4.-X.X.8. para los capítulos específicos de enfermedad
 - 7.1.13. Artículo 9.10.2. del Capítulo 9.10. Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1
 - 7.1.14. Artículo 10.6.2. del Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa
 - 7.1.15. Artículo 10.11.2. del Capítulo 10.11. Infección por el virus de la tilapia del lago
 - 7.1.16. Artículos 11.5.1. y 11.5.2. del Capítulo 11.5. Infección por *Perkinsus marinus*
 - 7.2. Ítems para consideración
 - 7.2.1. Enfermedades emergentes
 - 7.2.1.1. 7.1.1. Infección por el nodavirus de la mortalidad encubierta (CMNV)
 - 7.2.1.2. Infección por *Enterocytozoon hepatopenaei*
 - 7.2.1.3. Otras enfermedades

8. Manual Acuático

8.1. Ítems para comentario de los Miembros

- 8.1.1. Sección 2.2. Enfermedades de los crustáceos
 - 8.1.1.1. Capítulo 2.2.0. Información general: enfermedades de los crustáceos
 - 8.1.1.2. Capítulo 2.2.2. Infección por *Aphanomyces astaci* (plaga del cangrejo del río)
 - 8.1.1.3. Capítulo 2.2.6. Infección por *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (enfermedad de la cola blanca)
 - 8.1.1.4. Capítulo 2.2.9. Infección por el virus de la cabeza amarilla genotipo 1
 - 8.1.1.5. Capítulo 2.2.X. Infección por el virus iridiscente de los decápodos tipo 1
- 8.1.2. Sección 2.3. Enfermedades de los peces
 - 8.1.2.1. Capítulo 2.3.9. Infección por el virus de la viremia primaveral de la carpa
- 8.1.3. Sección 2.4. Enfermedades de los moluscos
 - 8.1.3.1. Capítulo 2.4.0. Información general: enfermedades de los moluscos
 - 8.1.3.2. Capítulo 2.4.1. Infección por el herpesvirus del abalón
 - 8.1.3.3. Capítulo 2.4.4. Infección por *Marteilia refringens*
 - 8.1.3.4. Secciones 2.2.1. y 2.2.2. del Capítulo 2.4.5. Infección por *Perkinsus marinus*

8.2. Ítems para consideración de los Miembros

- 8.2.1. Desarrollar un mecanismo para acelerar el proceso de puesta a disposición de los Miembros de las actualizaciones de los métodos de diagnóstico del *Manual Acuático* (surgió durante la tercera reunión del comité directivo del Marco de Colaboración Regional para la Sanidad de los Animales Acuáticos): comentarios sobre el uso del modelo de informe de validación
- 8.2.2. Inclusión de vídeos sobre las técnicas de diagnóstico en el *Manual Acuático*

-
9. Grupos *ad hoc*
 - 9.1. Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de moluscos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA
 - 9.2. Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de peces a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA
 - 9.3. Grupo *ad hoc* sobre la susceptibilidad de las especies de crustáceos a la infección por las enfermedades de la lista de la OMSA
 10. Centros de referencia de la OMSA o cambios de expertos
 - 10.1. Evaluación de las solicitudes para la designación como centro de referencia de la OMSA en temas de sanidad de los animales acuáticos o cambio de expertos
 - 10.2. Revisión de los informes anuales de actividades en 2022 de los centros de referencia de la OMSA; determinar los resultados que podrían derivarse de los datos obtenidos
 - 10.3. Cuestionario a los Laboratorios de Referencia para las Enfermedades de los Animales Acuáticos
 - 10.4. Revisión de las principales áreas de interés y especialidades para los Centros Colaboradores
 - 10.5. Elaborar una lista de reactivos de referencia aprobados por la OMSA para el diagnóstico de enfermedades de los animales acuáticos
 11. Otros asuntos
 - 11.1. Para debate
 - 11.1.1. Registro de los kits de diagnóstico
 - 11.1.1.1. Genics: Shrimp MultiPath™ (SMP)- Informe de evaluación e informe final del grupo de revisión (sobre el expediente 2022 presentado nuevamente).
 - 11.1.1.2. Actualización sobre la implementación del nuevo concepto de registro de los kits de diagnóstico
 - 11.1.1.3. Decisión sobre las renovaciones de los kits de diagnóstico acuático ya registrados
 - 11.2. Para información
 - 11.2.1. Transparencia del proceso de la OMSA para la elaboración de las normas 1.3.2. Nueva herramienta de navegación en línea de las normas de la OMSA
 - 11.2.2. Observatorio
 - 11.2.3. Consejo editorial de la Revista Científica y Técnica
 12. Análisis de la reunión
 13. Próxima reunión: 14-21 de febrero de 2024
-

Anexo 2. Ítem 2 – Orden del día aprobado

REUNIÓN DE LA COMISIÓN DE NORMAS SANITARIAS PARA LOS ANIMALES ACUÁTICOS

13 al 20 de septiembre de 2023

MIEMBROS DE LA COMISIÓN

Dr. Ingo Ernst
(Presidente)
Director Aquatic Pest and Health
Policy,
Animal Division
Department of Agriculture, Water and
the Environment,
Canberra,
AUSTRALIA

Dra. Alicia Gallardo Lagno
(Vicepresidenta)
Senior advisor FARMAVET,
University of Chile,
La Pintana,
CHILE

Dr. Prof. Hong Liu
(Miembro)
Deputy Director,
Animal and Plant Inspection and
Quarantine Technical Centre,
Shenzhen Customs District
General Administration of
Customs
Shenzhen City,
CHINA (Rep. Pop. de)

Dra. Fiona Geoghegan
(Vicepresidenta)
Legislative Officer,
European Commission,
DG SANTE
Brussels,
BÉLGICA

Dr. Kevin William Christison
(Miembro)
Specialist Scientist,
Directorate: Aquaculture Research
and Development
Department of Forestry, Fisheries
and the Environment,
Vlaeberg,
SUDÁFRICA

Dr. Espen Rimstad
(Miembro)
Professor in Virology,
Faculty of Veterinary Medicine,
Department of Paraclinical
Sciences (PARAFAG)
Norwegian University of Life
Sciences
Ås,
NORUEGA

OTROS PARTICIPANTES

Dr. Mark Crane
CSIRO Honorary Fellow,
Research Group Leader | AAHL Fish
Diseases Laboratory
Australian Centre for Disease
Preparedness (ACDP) | CSIRO,
Geelong,
AUSTRALIA

Prof. Edmund Peeler
Epidemiologist
Aquatic Pests and Pathogens,
Barrack Road, Weymouth
Dorset, DT4 8UB
REINO UNIDO
Tel.: +44 (0)1305 206746
ed.peeler@cefas.co.uk

SEDE DE LA OMSA

Dra. Gillian Mylrea
Jefa del Departamento de Normas

Sra. Sara Linnane
Redacción científica – Normas
Internacionales
Departamento Científico

Dra. Kathleen Frisch
Coordinadora Científica para la
Sanidad de los Animales Acuáticos
Departamento de Normas

Dr Mariana Delgado
Coordinadora científica
Departamento Científico

Anexo 3. Ítem 4. – Plan de trabajo y prioridades

PLAN DE TRABAJO DE LA COMISIÓN PARA LOS ANIMALES ACUÁTICOS

(incluyendo plazos provisionales para comentario y adopción)

Código Acuático			
Capítulo/Tema	Situación		
	Septiembre de 2023	Febrero de 2024	SG de mayo de 2024
Seguimiento de enfermedades emergentes y consideración de las acciones requeridas	En curso		
Definiciones del Glosario: “autoridad competente”, “autoridad veterinaria” y “servicios de sanidad de los animales acuáticos”	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Propuesta para adopción
Definiciones del Glosario: ‘productos de animales acuáticos’	Revisión del uso en el <i>Código Acuático</i> y presentación de enmiendas para comentario	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Propuesta para adopción
Capítulo 1.3. Enfermedades de la lista de la OMSA – Inclusión de la infección por el virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Revisión de comentarios (3.a ronda)	Propuesta para adopción
Artículo 1.1.5. del Capítulo 1.1. Notificación de enfermedades y aportación de datos epidemiológicos	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Propuesta para adopción
Capítulo 4.3. Aplicación de la compartimentación	Presentación del documento de discusión para comentario	Revisión de las respuestas del documento de discusión	
Nuevo proyecto de Capítulo 4.X. Preparación de emergencia frente a las enfermedades	Presentación del proyecto de capítulo para comentario	Revisión de comentarios (1.a ronda)	
Nuevo proyecto de Capítulo 4.Y. Gestión de brotes de enfermedad	Presentación del proyecto de capítulo para comentario	Revisión de comentarios (1.a ronda)	
Nuevo proyecto de Capítulo 4.Z. Control de agentes patógenos en el comercio de huevos fecundados de pescado y lechaza	Presentación del proyecto de capítulo para comentario	Revisión de comentarios (1.a ronda)	
Capítulos 5.6. a 5.9. (Capítulos 5.4. a 5.7. en el <i>Código Terrestre</i>)	–	Revisión del informe de la Comisión del Código y del grupo <i>ad hoc</i> sobre la revisión de los Capítulos 5.4. y 5.6. del <i>Código Terrestre</i> enviados para comentario	

Código Acuático			
Capítulo/Tema	Situación		
	Septiembre de 2023	Febrero de 2024	SG de mayo de 2024
Nuevo proyecto de Capítulo 5.X. Movimientos de animales acuáticos ornamentales	Presentación del proyecto de capítulo para comentario	Revisión de comentarios (1.a ronda)	
Capítulo 6.2. Principios para el uso responsable y prudente de los agentes antimicrobianos en los animales acuáticos	Actualización de la Comisión del Código sobre la revisión del Capítulo 6.10. del <i>Código Terrestre</i>	Actualización de la Comisión del Código sobre la revisión del Capítulo 6.10. del <i>Código Terrestre</i>	
Especies susceptibles Evaluación de nuevas especies/evidencia para enfermedades evaluadas, según sea necesario	En curso		
Mercancías seguras Artículos 8.X.3. – Anfibios	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Revisión de comentarios (3.a ronda)	Presentación para adopción
Mercancías seguras Artículos 9.X.3. – Crustáceos	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Presentación para adopción
Mercancías seguras Artículos 10.X.3. – Peces	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Presentación para adopción
Mercancías seguras Artículos 11.X.3. – Moluscos	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Revisión de comentarios (3.a ronda)	Presentación para adopción
Evaluación de los periodos por defecto de los Artículos X.X.4.- X.X.8. para los capítulos específicos de enfermedad	–	Presentación de las evaluaciones de los periodos por defecto para comentario	
Modelo de Artículos X.X.5. y X.X.6. para los capítulos específicos de enfermedad	Presentación de modificaciones para comentario	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Propuesta para adopción
Especies susceptibles – Enfermedades de los Crustáceos – Artículos 9.X.1. y 9.X.2. para: – Infección por el virus iridescente de los decápodos – Infección por el virus del síndrome de las manchas blancas – Infección por <i>Aphanomyces astaci</i> (Plaga del cangrejo de río)	DIV1: Revisión del informe del grupo <i>ad hoc</i> y presentación de los artículos modificados para comentario	DIV1: Revisión de comentarios (1.a ronda)	DIV1: Presentación para adopción
	–	Infección por el virus del síndrome de las manchas blancas: Revisión del informe del grupo <i>ad hoc</i> y presentación de los artículos modificados para comentario	
Artículo 10.6.2. del Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa	Presentación de modificaciones para comentario	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Propuesta para adopción

Código Acuático			
Capítulo/Tema	Situación		
	Septiembre de 2023	Febrero de 2024	SG de mayo de 2024
Especies susceptibles – Enfermedades de los peces – Artículos 10.X.1. y 10.X.2. para: – Infección por el virus de la tilapia del lago (TiLV) – Infección por <i>Aphanomyces invadans</i> (síndrome ulcerante epizoótico)	TiLV: Revisión del informe del grupo <i>ad hoc</i> y presentación de los artículos modificados para comentario	TiLV: Revisión de comentarios (1.a ronda)	TiLV: Presentación para adopción
	–	Síndrome ulcerante epizoótico: Revisión del informe intermedio del grupo <i>ad hoc</i>	
Especies susceptibles – Enfermedades de los moluscos – Artículos 11.X.1. y 11.X.2. para: – Infección por <i>Perkinsus marinus</i> – Infección por <i>Perkinsus olseni</i> – Infección por <i>Xenohaliotis californiensis</i>	<i>Perkinsus marinus</i> : Revisión de comentarios (1.a ronda)	<i>Perkinsus marinus</i> : Revisión de comentarios (2.a ronda)	<i>Perkinsus marinus</i> : Presentación para adopción
	<i>Perkinsus olseni</i> : revisión del informe intermedio del grupo <i>ad hoc</i>	<i>Perkinsus olseni</i> : revisión del informe del grupo <i>ad hoc</i> y presentación de los artículos modificados para comentario	

Manual Acuático			
Capítulo/Tema	Situación		
	Septiembre de 2023	Febrero de 2024	SG de mayo de 2024
Capítulo 1.1.1. Gestión de la calidad en los laboratorios de pruebas veterinarias	Actualización de la Comisión de Normas Biológicas	Comentarios para la Comisión de Normas Biológicas	
Capítulo 1.1.2. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas	–	Revisión del primer proyecto	
Capítulo 2.2.0. Disposiciones generales – Crustáceos	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Revisión de comentarios (3.a ronda)	Propuesta para adopción
Capítulo 2.2.2. Infección por <i>Aphanomyces astaci</i> (plaga del cangrejo de río)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Revisión de comentarios (3.a ronda)	Propuesta para adopción
Capítulo 2.2.6. Infección por <i>Macrobrachium rosenbergii nodavirus</i> (enfermedad de la cola blanca)	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Propuesta para adopción
Capítulo 2.2.9. Infección por el virus de la cabeza amarilla genotipo 1	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Propuesta para adopción
Capítulo 2.2.X. Infección el virus iridiscente de los decápodos tipo 1	Revisión del proyecto actualizado y presentación para comentarios	Revisión de comentarios (1.a ronda)	

Manual Acuático

Capítulo/Tema	Situación		
	Septiembre de 2023	Febrero de 2024	SG de mayo de 2024
Capítulo 2.3.9. Infección por el virus de la viremia primaveral de la carpa	–	Revisión de la validación o publicación de la PCR en tiempo real	
Capítulo 2.3.X. Infección por el virus de la tilapia del lago	–	Revisión del capítulo actualizado y presentación para comentarios	
Capítulo 2.4.0. Información general	Revisión del proyecto actualizado y presentación para comentarios	Revisión de comentarios (1.a ronda)	
Capítulo 2.4.1. Infección por abalone herpes virus	Revisión del proyecto actualizado y presentación para comentarios	Revisión de comentarios (1.a ronda)	
Capítulo 2.4.4. Infección por <i>Marteilia refringens</i>	Revisión del proyecto actualizado y presentación para comentarios	Revisión de comentarios (1.a ronda)	
Capítulo 2.4.3. Infección por <i>Bonamia ostreae</i>	–	Revisión del capítulo actualizado y presentación para comentarios	
Secciones 2.2.1. y 2.2.2. del Capítulo 2.4.5. Infección por <i>Perkinsus marinus</i>	Revisión de comentarios (1.a ronda)	Revisión de comentarios (2.a ronda)	Propuesta para adopción

Anexo 4. Ítem 6.1. – Definiciones del Glosario: “Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos”, “autoridad competente” y “autoridad veterinaria”

Artículo	Uso
Guía del usuario: C.8.	Las normas de los capítulos del Título 3 tratan del establecimiento, de la conservación y de la evaluación de los Servicios de Sanidad de <u>los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos y los Animales Acuáticos</u> , incluida la comunicación. Esas normas pretenden ayudar a las autoridades competentes de los Países Miembros a cumplir sus objetivos de mejora de la sanidad de los animales acuáticos y del bienestar de los peces de cultivo, y a crear y mantener la confianza en sus certificados sanitarios internacionales aplicables a los animales acuáticos.
Guía del usuario: C.8.	Certificados sanitarios internacionales para los animales acuáticos Un certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos es un documento oficial que la autoridad competente del país exportador expide de acuerdo con lo dispuesto en los Capítulos 5.1. y 5.2. Los certificados enumeran los requisitos de sanidad de los animales acuáticos que reúne la mercancía exportada. La calidad de los Servicios Veterinarios o los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos del país exportador es esencial para ofrecer garantías a los socios comerciales de la seguridad sanitaria de las mercancías de animales acuáticos exportadas. Esto incluye los principios éticos de los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>la autoridad competente relevante</u> en cuanto a la expedición de certificados sanitarios internacionales y sus los <u>antecedentes de la autoridad veterinaria</u> en el cumplimiento de sus obligaciones de notificación.
Glosario	NOTIFICACIÓN designa el procedimiento por el que: <ul style="list-style-type: none"> a. la autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> comunica a la Sede, b. la Sede comunica a las autoridades competentes <u>la autoridad veterinaria</u> de los Países Miembros la aparición de una <i>enfermedad</i> , según lo dispuesto en el Capítulo 1.1.
Artículo 1.1.1.	A efectos del <i>Código Acuático</i> y de conformidad con los Artículos 5, 9 y 10 de los Estatutos orgánicos de la OMSA, todos los Países Miembros reconocen a la Sede el derecho de comunicarse directamente con la autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> de su o sus territorios. Cualquier <i>notificación</i> o información enviada por la OMSA a una autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> se considerará enviada al Estado al que ésta pertenece y cualquier <i>notificación</i> o información enviada a la OMSA por una autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> se considerará enviada por el Estado al que ésta pertenece.
Artículo 1.1.3. párrafo 1	La autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> , bajo la responsabilidad del Delegado, deberá enviar a la Sede:
Artículo 1.1.4. párrafo 1	La autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> , bajo la responsabilidad del Delegado, deberá enviar a la Sede:
Artículo 1.1.5. punto 1	La autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> de un país en el que está ubicada una <i>zona infectada</i> o un <i>compartimento</i> infectado avisará a la Sede tan pronto como dicho país, <i>zona</i> o <i>compartimento</i> quede libre de la <i>enfermedad</i> .
Artículo 1.1.5. punto 3	La autoridad competente <u>autoridad veterinaria</u> de un País Miembro que establezca una o varias <i>zonas libres</i> o un o varios <i>compartimentos libres</i> 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 <i>zonas</i> o los <i>compartimentos</i> en un mapa del territorio del País Miembro.

Artículo	Uso
Artículo 3.1.2. punto 7 párrafo 3	Los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>Las autoridades competentes</u> deberán definir y documentar las responsabilidades y la estructura (en particular el orden jerárquico) de la organización encargada de la expedición de <i>certificados sanitarios internacionales aplicables a los animales acuáticos</i> .
Artículo 3.1.2. punto 10	<u>Información, reclamaciones y recursos</u> Los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>La autoridad competente relevante</u> deberán comprometerse a atender todas las peticiones de los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>de la autoridad competente</u> de los demás Países Miembros o de cualquier otra autoridad , en especial encargándose de cursar oportunamente las peticiones de información, las reclamaciones o los recursos que éstos presenten. Se llevará un registro de todas las reclamaciones y recursos presentados, así como del curso dado a los mismos por los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>la autoridad competente</u> .
Artículo 3.1.5. párrafo 4	El experto o los expertos facilita(n) la evaluación de los <i>Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos</i> del País Miembro aplicando la <i>Herramienta de la OMSA para la Evaluación de las Prestaciones de los Servicios Veterinarios y de los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos (Herramienta PVS de la OMSA: Animales acuáticos)</i> . El experto o los expertos redacta(n) un informe en colaboración con los <i>Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos</i> del País Miembro.
Artículo 3.2.1. párrafo 2	El reconocimiento y la incorporación de la comunicación como disciplina de los <i>Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos</i> resultan capitales para su funcionamiento. La combinación de la pericia en materia de sanidad de <i>animales acuáticos</i> y de comunicación es esencial para garantizar una comunicación eficaz. La comunicación entre los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos y los Servicios Veterinarios (sobre todo cuando los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos están separados y son independientes de los Servicios Veterinarios) es especialmente importante.
Artículo 4.2.3. punto 1	La extensión de una zona será determinada por el Servicio de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>la autoridad competente</u> basándose en la definición vigente de zona y será publicada por vía oficial.
Artículo 4.2.3. punto 3	Los factores que definen un compartimento serán determinados por el Servicio de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>la autoridad competente</u> basándose en criterios pertinentes, como los métodos de gestión y explotación relacionados con la <i>bioseguridad</i> , y serán publicados por vía oficial.
Artículo 4.2.3. punto 6	El <i>plan de bioseguridad</i> de un <i>compartimento</i> deberá describir la colaboración entre la industria o empresa pertinente, y el Servicio de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>la autoridad competente y los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos</u> , así como sus responsabilidades respectivas y los procedimientos para la supervisión del funcionamiento del <i>compartimento</i> por el Servicio de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>la autoridad competente</u> .
Artículo 5.3.4. punto 2 a)	infraestructura: incluye la base legislativa (leyes sobre sanidad de los animales acuáticos, por ejemplo) y los sistemas administrativos (organización de los <i>Servicios Veterinarios</i> y de los Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos <u>la autoridad competente</u> por ejemplo);
Artículo 5.3.7. punto 1 d) i)	una evaluación de los Servicios Veterinarios <i>Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos</i> del país exportador;
Artículo 5.3.7. punto 2 e) i)	una evaluación de los Servicios Veterinarios <i>Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos</i> del país exportador;

Anexo 5. Ítem 6.3. – Definiciones del Glosario: “productos de animales acuáticos”

No se han propuesto enmiendas en español.

• CAPITULO 1.1.

• NOTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES Y APORTACIÓN DE DATOS EPIDEMIOLÓGICOS

[...]

Artículo 1.1.5.

- 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 dicho país, zona o compartimento quede libre de la enfermedad.~~
- 2) ~~Podrá considerarse que un país, una zona o un compartimento está nuevamente libre de una enfermedad determinada cuando reúna las debidas condiciones previstas en el Código Acuático.~~
- 3) ~~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 1.1.65.**

- 1) Aunque los Países Miembros sólo tendrán la obligación de notificar las *enfermedades de la lista de la OMSA* y las *enfermedades emergentes*, se les alienta a brindar a la OMSA información zoonosanitaria significativa sobre los *animales acuáticos*.
- 2) La Sede deberá comunicar a las *autoridades competentes* por correo electrónico o a través de la interfaz de WAHIS todas las *notificaciones* recibidas en aplicación de los Artículos 1.1.2. a 1.1.54, así como cualquier otra información pertinente.

[...]

Anexo 7. Ítem 6.4. – Evaluación de la infección por el todos los genogrupos de la especie de virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV) para inclusión en la lista de enfermedades del *Código Acuático*

EVALUACIÓN DE LA INFECCIÓN POR EL TODOS LOS GENOGRUPOS DE LA ESPECIE DE VIRUS “VIRUS DE LA NECROSIS INFECCIOSA DEL BAZO Y DEL RIÑÓN” (ISKNV) PARA INCLUSIÓN EN LA LISTA DE ENFERMEDADES DEL CÓDIGO SANITARIO PARA LOS ANIMALES ACUÁTICOS

Resumen de la evaluación

1. La Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Acuáticos evaluó la especie del virus de la *necrosis infecciosa del bazo y del riñón*, incluidos sus tres genogrupos, el iridovirus de la dorada japonesa (RSIV), el virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV) y el iridovirus del cuerpo rojizo del rodaballo (TRBIV), en función de los criterios de inscripción en la lista de enfermedades de los animales acuáticos del Artículo 1.2.2. del *Código Acuático*.
2. La Comisión para los Animales Acuáticos acordó que el genogrupo del iridovirus de la dorada japonesa (RSIV) (actualmente incluido en el *Código Acuático*), así como los dos genogrupos ISKNV y TRBIV cumplen los criterios de inclusión en la lista 1, 2, 3 y 4b (ver Tabla 1).
3. La Comisión para los Animales Acuáticos observó que los tres genogrupos poseen especies susceptibles que se superponen, una epidemiología y métodos de diagnóstico similares. La Comisión acordó que la enfermedad de la lista propuesta debía denominarse "infección por el todos los genogrupos de la especie de virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV)". La infección por el todos los genogrupos de la especie de virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón deberá definirse para incluir los genogrupos ISKNV, RSIV y TRBIV, pero excluir las otras especies reconocidas de *Megalocytivirus*, el virus que provoca la caída de escamas o descamación.

	Criterio de la lista						Conclusión
	1	2	3	4a	4b	4c	
Infección por el todos los genogrupos de la especie de virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón	+	+	+	NA	+	-	La enfermedad cumple con los criterios de inclusión en la lista

NA = no se aplica.

Criterio de inclusión en la lista (Capítulo 1.2. del *Código Acuático*)

Los criterios para incluir una enfermedad en la lista de la OMSA son los siguientes:

1. Es probable la propagación internacional del agente patógeno (a través de animales acuáticos, sus productos, vectores o fómites).

Y

2. Al menos un país puede demostrar en el país o en una zona la ausencia de enfermedad en animales acuáticos susceptibles, basándose en las disposiciones del Capítulo 1.4.

Y

3. Se dispone de una definición de caso precisa y existen métodos de detección y diagnóstico fiables.

Y

- 4a. Se ha demostrado la transmisión natural de la enfermedad al ser humano y la infección humana se asocia con consecuencias graves.

O

- 4b. Se ha demostrado que la enfermedad afecta la sanidad de los animales acuáticos de cultivo a nivel de un país o una zona lo que conlleva consecuencias significativas, por ejemplo, pérdidas de producción, morbilidad o mortalidad.

O

- 4c. Se ha demostrado o las pruebas científicas indican que la enfermedad puede afectar la sanidad de los animales acuáticos silvestres lo que conlleva consecuencias significativas, por ejemplo, morbilidad o mortalidad a nivel de la población, productividad reducida o impactos ecológicos.

Contexto

El *Megalocytivirus* es uno de los siete géneros de la familia *Iridoviridae* y se clasifica dentro de la subfamilia *Alphairidovirinae* junto con los géneros *Ranavirus* y *Lymphocystivirus* (Chinchar *et al.*, 2017; Chinchar *et al.*, 2020). Los megalocytivirus se distinguen de los ranavirus y los linfocistivirus por su capacidad de provocar una ampliación celular marcada en los tejidos infectados y por el análisis de la secuencia de genes virales clave (Chinchar *et al.*, 2017). Los megalocytivirus son los agentes etiológicos de enfermedades graves asociadas a una elevada mortalidad en una serie de especies de peces con aletas de agua dulce y marina (Kurita y Nakajima, 2012, Hick *et al.*, 2016).

El ICTV reconoce dos especies de *Megalocytivirus*: El virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV) y el virus de la enfermedad de la caída de escamas (SDDV) (Chinchar *et al.*, 2017). El SDDV es genética y epidemiológicamente distinto de la especie ISKNV y no se tienen en cuenta en esta evaluación.

Dentro de la especie ISKNV, se reconocieron tres genogrupos: ISKNV, RSIV y TRBIV (Song *et al.*, 2008). Sin embargo, queda por resolver si estos genogrupos representan especies distintas o cepas de una sola especie (Chinchar *et al.*, 2017). Los megalocytivirus recibieron numerosos nombres únicos en función de las especies en las que se detectaron; sin embargo, todas las variantes de la especie ISKNV con los genomas analizados se sitúan dentro de los tres genogrupos: ISKNV, RSIV y TRBIV (Chinchar *et al.*, 2017). A su vez, cada genogrupo se subdivide en dos clados (Koda *et al.* 2018, 2019, 2023; Fusianto *et al.* 2023).

El nombre "ISKNV" se utiliza para una de las dos especies reconocidas de *Megalocytivirus* y también para uno de los tres genogrupos en la especie "ISKNV". En este documento, "genogrupo ISKNV" designa al genogrupo del virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV) y "especie ISKNV" se utiliza cuando se refiere solo a la especie del virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón (ISKNV).

La infección por el iridovirus de la dorada japonesa (RSIV) fue incluida por primera vez por la OMSA en el *Código Sanitario para los Animales Acuáticos*¹ de 2003 y sigue figurando en el *Código Acuático* de 2022. La enfermedad causada por el RSIV se detectó por primera vez en besugos de acuicultura (*Pagrus major*) en Japón en 1990 (Inouye *et al.*, 1992). El iridovirus de la dorada japonesa se detectó principalmente en peces marinos. Las especies que actualmente figuran en la lista de especies susceptibles de ser infectadas por el iridovirus de la dorada japonesa en el *Código Acuático*² de la OMSA son: el besugo (*Pagrus major*), la seriola (*Seriola quinqueradiata*), la serviola (*Seriola dumerilii*), la lubina (*Lateolabrax sp.*), la lubina asiática (*Lates calcarifer*), el atún blanco (*Thunnus thynnus*), el pez loro japonés (*Oplegnathus fasciatus*), el jurel rayado (*Caranx delicatissimus*), el pez mandarín (*Siniperca chuatsi*), el corvinón rojo (*Sciaenops ocellatus*), el salmonete (*Mugil cephalus*) y los meros (*Epinephelus spp.*).

El genogrupo ISKNV no figura actualmente en el *Código Acuático*. Desde finales de los años 1980 y 1990 en especies de peces de agua dulce se notificaron viriones morfológicamente compatibles con los iridovirus y que presentan células ampliadas con cuerpos de inclusión compatibles con los megalocytivirus (por ejemplo, Armstrong y Ferguson, 1989; Anderson *et al.*, 1993). El genogrupo ISKNV se detectó en muestras de peces ornamentales de archivo desde 1996 (Go *et al.*, 2006; Go *et al.*, 2016, Becker *et al.*, 2022). La necrosis infecciosa del bazo y del riñón se describió en peces mandarín (*Siniperca chuatsi*; He *et al.*, 2000; He *et al.*, 2002) y en 2001 se analizó el genoma del ISKNV y se encontró que era genéticamente similar al RSIV (He *et al.*, 2001). El genogrupo del ISKNV se detectó en numerosas especies de peces de agua dulce, incluidas algunas asociadas al comercio de peces ornamentales (ver revisión de Johan y Zainathan, 2020; Becker *et al.*, 2022). Este genogrupo se observó en numerosas especies de peces ornamentales objeto de comercio internacional (ver Rimmer *et al.*, 2015). El genogrupo del ISKNV también se notificó como causa de mortalidad masiva en especies importantes para el consumo humano (por ejemplo, Subramaniam *et al.*, 2016; Ramírez-Paredes *et al.*, 2020; Fusianto *et al.*, 2021).

El genogrupo del TRBIV no figura actualmente en el *Código Acuático*. El TRBIV fue descrito por primera vez como causante de enfermedades en el rodaballo, *Scophthalmus maximus* (Shi *et al.*, 2004). El TRBIV causa principalmente enfermedades en peces planos en China y Corea (por ejemplo, Shi *et al.*, 2004; Do *et al.*, 2005), pero también se observó en otras especies, incluso en el comercio de peces ornamentales (Go *et al.*, 2016; Koda *et al.*, 2018). El TRBIV causó la enfermedad en otras especies de peces de cultivo de importancia económica, como la perca marina asiática (*Lates calcarifer*) (Tsai *et al.*, 2020) y la cuchilla barrada (*Oplegnathus fasciatus*) (Huang *et al.*, 2011).

¹ RSVI se incluyó antes de 2003 en el *Código Acuático* como 'otra enfermedad de importancia'

² Vale aclarar que las especies consideradas susceptibles a la infección por el iridovirus de la dorada japonesa (RSIV), de acuerdo con el Capítulo 1.5. del *Código Acuático* no se han revisado en base a las recomendaciones del grupo *ad hoc*.

La Comisión para los Animales Acuáticos propuso previamente un enfoque para diferenciar las cepas de patógenos (consulte los informes de las reuniones de [febrero](#) y [octubre de 2011](#) de la Comisión). Se consideraron tres criterios principales para la aplicabilidad de la diferenciación de cepas patógenas en las normas del *Código Acuático* y del *Manual Acuático*: 1) las variantes del patógeno están claramente reconocidas en la literatura científica y tienen diferentes características de la enfermedad; 2) existen métodos robustos para diferenciar las variantes de forma consistente; y 3) existe, o existe la posibilidad de que exista, una gestión diferente de las variantes en o entre países. En el caso de la especie ISKNV, el RSIV se incluyó en la lista antes de la investigación que definió los 3 genogrupos dentro de la especie ISKNV, y sus relaciones genéticas y epidemiológicas. Dado que la infección por el RSIV se incluyó en la lista, pero no los genogrupos de ISKNV y TRBIV, esta evaluación presenta información para cada uno de estos tres genogrupos, a pesar de que los tres genogrupos se propusieron para su inclusión en la lista de forma colectiva junta como la especie ISKNV.

Evaluación con respecto a los criterios de inclusión en la lista

Criterio No. 1. Es probable la propagación internacional del agente patógeno (a través de animales acuáticos, sus productos, vectores o fómites).

Evaluación

La especie ISKNV puede transmitirse horizontalmente a través del agua y se sabe que permanece viable en los tejidos congelados del huésped. Se espera que la probabilidad de transmisión sea mayor en el comercio de peces vivos, pero también es posible en productos de animales acuáticos, especialmente si no están eviscerados.

Numerosas especies marinas y de agua dulce son susceptibles al ISKNV y son objeto de comercio internacional, ya sea como animales acuáticos vivos (para consumo humano, acuicultura o con fines ornamentales) o como productos de animales acuáticos.

Por su parte, el iridovirus de la dorada japonesa se detectó en varios países de Asia, donde se asoció a la enfermedad en especies de peces marinos de cultivo (Kurita y Nakajima, 2012). Algunas especies susceptibles se comercializan vivas para el consumo humano (por ejemplo, el besugo y los meros), otras se comercializan como productos de animales acuáticos.

El genogrupo del ISKNV se observó en numerosas especies comercializadas como peces ornamentales y el comercio de peces ornamentales está implicado en la propagación y los brotes de la enfermedad (por ejemplo, Jeong *et al.*, 2008; Johan & Zainathan, 2020). Los peces ornamentales infectados a veces no presentan signos clínicos (por ejemplo, Subramaniam *et al.*, 2014; Rimmer *et al.*, 2015) y, como tales, pueden actuar como portadores del virus. El genogrupo del ISKNV también se detectó en importantes especies de cultivo para el consumo humano que se comercializan a escala internacional, como la tilapia (Ramírez-Paredes *et al.*, 2020). Igualmente, el genogrupo del ISKNV se detectó en peces no procesados utilizados para la alimentación de la acuicultura (Lajimin *et al.*, 2015), es decir, el pescado comercializado para la alimentación o el cebo de la acuicultura puede presentar una vía de transmisión. Se demostró la transmisión de especies de peces de agua dulce a especies de peces marinos por inoculación directa y cohabitación (Jeong *et al.*, 2008b; Go & Whittington, 2019).

El TRBIV está presente en varias especies importantes en el comercio internacional (por ejemplo, el rodaballo, la platija y la lubina asiática), incluyendo el comercio de animales vivos o como productos de animales acuáticos. El análisis filogenético indica la existencia de una reciente propagación internacional del TRBIV (Tsai *et al.*, 2020).

Se detectaron variantes de la especie ISKNV en numerosas especies marinas y de agua dulce que se comercializan a escala internacional. Cada uno de los tres genogrupos se ha detectado en productos comercializados y existen pruebas de la propagación internacional asociada con el comercio.

Conclusión

Se cumple el criterio.

Criterio No. 2. Al menos un país puede demostrar en el país o en una zona la ausencia de *enfermedad* en *animales acuáticos* susceptibles, basándose en las disposiciones del Capítulo 1.4.

Evaluación

La infección por RSIV se puede notificar a la OMSA desde 2003. Varios países siguen informando de que nunca se notificó el RSIV en su territorio (ver el Sistema Mundial de Información Zoonosaria de la OMSA) y es probable que algunos de ellos puedan demostrar que están libres de enfermedad.

Se notificó la presencia del genogrupo del ISKNV en numerosas especies de peces comercializados a través del comercio de peces ornamentales y es probable que este genogrupo se propague a través de las cadenas de suministro de peces ornamentales. Sin embargo, algunos países mantienen medidas básicas de bioseguridad para el genogrupo del ISKNV y pueden demostrar que están libres de enfermedad. Además, las pruebas de PCR utilizadas en la vigilancia del RSIV también detectarían el genogrupo del ISKNV, proporcionando pruebas de la ausencia del genogrupo del ISKNV.

El TRBIV se ha detectado principalmente en peces planos de cultivo de China y Corea, pero también en peces ornamentales y en lubinas asiáticas de cultivo. Las pruebas PCR recomendadas en el capítulo del *Manual Acuático* de la OMSA para el RSIV pueden no incluir el TRBIV, lo que da lugar a una menor confianza en la distribución del TRBIV. Sin embargo, dado que el TRBIV demostró su patogenicidad en poblaciones de cultivo de varias especies, es probable que se detecte en esas especies. Aunque no es segura la distribución del TRBIV, es probable que al menos un país pueda declararse libre a nivel de país o de zona.

Conclusión

Se cumple el criterio.

Criterio No. 3. Se dispone de una definición de caso precisa y existen métodos de detección y diagnóstico fiables

Evaluación

Las definiciones de caso para la sospecha y la confirmación de la infección por RSIV están disponibles en el *Manual Acuático* de la OMSA. Dado que algunas de las pruebas PCR para RSIV (y algunos otros métodos, por ejemplo, la histopatología), incluyen el genogrupo del ISKNV, las definiciones de caso podían adaptarse fácilmente para incluir el genogrupo del ISKNV. Kawato *et al.* (2021) compararon el rendimiento analítico de cuatro métodos de PCR en tiempo real para la detección de *Megalocytivirus* (excluyendo el SDDV) y encontraron que tres de los cuatro ensayos detectaron los genogrupos ISKNV, RSIV y TRBIV. Kim *et al.* (2022) informaron sobre el rendimiento de un ensayo de PCR en tiempo real con inclusión de los genogrupos RSIV, ISKNV y TRBIV. Existen suficientes herramientas de diagnóstico disponibles para detectar la especie ISKNV y para construir definiciones de casos que incluyan los tres genogrupos.

Conclusión

Se cumple el criterio.

Criterio No. 4a Se ha demostrado la transmisión natural de la enfermedad al ser humano y la infección humana se asocia con consecuencias graves.

Evaluación

No existe evidencias de la transmisión a los seres humanos.

Conclusión

No se aplica el criterio.

Criterio No. 4b Se ha demostrado que la enfermedad afecta la sanidad de los animales acuáticos de cultivo a nivel de un país o una zona lo que conlleva consecuencias significativas, por ejemplo, pérdidas de producción, morbilidad o mortalidad.

Evaluación

El RSIV ha causado mortalidades masivas en poblaciones de peces cultivados. La enfermedad se detectó por primera vez en el besugo en Japón y los peces afectados se volvieron letárgicos y mostraron signos de anemia grave, petequias en las branquias y agrandamiento del bazo (Inouye *et al.*, 1992; Jung *et al.*, 1997; Nakajima y Maeno, 1998). Se tomó nota de que el RSIV causa pérdidas de producción, morbilidad y mortalidad en muchas otras especies (por ejemplo, Chao *et al.*, 2004; Chen *et al.*, 2003; Girisha *et al.*, 2020; Ni *et al.*, 2021; Sumithra *et al.*, 2022).

El genogrupo del ISKNV se asoció a numerosos casos de enfermedad en peces ornamentales (ver la revisión de Johan & Zainathan, 2020; Becker *et al.*, 2022). También se vinculó con altas mortalidades en importantes especies cultivadas para el consumo humano; por ejemplo, en la lubina asiática (Dong *et al.*, 2017; Kerdee *et al.*, 2021), la tilapia (por ejemplo, Figueiredo *et al.*, 2021; Ramírez-Paredes *et al.*, 2021) y los meros (por ejemplo, Chao *et al.*, 2004; Huang *et al.*, 2020; Fusianto *et al.*, 2021).

El TRBIV ha producido enfermedad y una alta mortalidad en la acuicultura del rodaballo en China (por ejemplo, Shi *et al.*, 2010). Se observaron mortalidades de hasta el 90 % en granjas de lubina asiática en Taiwán (Tsai *et al.*, 2020).

Conclusión

Se cumple el criterio.

Criterio No. 4c Se ha demostrado o las pruebas científicas indican que la enfermedad puede afectar la sanidad de los animales acuáticos silvestres lo que conlleva consecuencias significativas, por ejemplo, morbilidad o mortalidad a nivel de la población, productividad reducida o impactos ecológicos.

Evaluación

Existe poca información sobre la aparición de los genogrupos RSIV, ISKNV o TRBIV en poblaciones de peces silvestres y sus consecuencias, como la morbilidad, la mortalidad o el impacto ecológico. Se ha indicado que el genogrupo del ISKNV fue la causa de un evento de mortalidad masiva en una población de cíclidos silvestres en la India (Swaminathan *et al.*, 2022), y también se ha detectado en muchos peces silvestres aparentemente sanos de diversas especies (Wang *et al.*, 2007).

Conclusión

El criterio no se cumple.

Referencias

ARMSTRONG, R. & FERGUSON, H. (1989). Systemic viral disease of the chromide cichlid *Etilapia maculatus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **7**, 155-157.

ANDERSON, I.G., PRIOR, H.C., RODWELL, B.J. & HARRIS, G.O. (1993). Iridovirus-like virions in imported dwarf gourami (*Colisa lalia*) with systemic amoebiasis. *Australian Veterinary Journal*, **70(2)**, 66-67.

BECKER, J.A., FUSIANTO, C., HICK, P.M. (2022). Infection with Megalocytivirus in Ornamental Fish. In: *Aquaculture Pathophysiology, Pharmacology and Toxicology* (F. Kibenge, R.S. Chong, B. Baldisserotto, eds), Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812211-2.00016-0>

CHAO, C.B., CHEN, C.Y., LAI, Y.Y., LIN, C.S. & HUANG, H.T. (2004). Histological, ultrastructural, and in situ hybridization study on enlarged cells in the grouper *Epinephelus* hybrids infected with grouper iridovirus in Taiwan (TGIV). *Diseases of Aquatic Organisms*, **58**, 127-142.

CHEN, X.H., LIN, K.B. & WANG, X.W. (2003). Outbreaks of an iridovirus disease in maricultured large yellow croaker, *Larimichthys crocea* (Richardson), in China. *Journal of Fish Diseases*, **26**, 615-619.

CHINCHAR, V.R., HICK, P., INCE, I.A., JANCOVICH, J.K., MARSCHANG, R., QIN, Q., SUBRAMANIAM, K., WALTZEK, T.B., WHITTINGTON, R., WILLIAMS, T. & ZHANG, Q. (2017). ICTV Report Consortium ICTV Virus Taxonomy Profile: *Iridoviridae*. *Journal of General Virology*, **98**, 890-891.

CHINCHAR, V.G., HICK, P.H., HUANG, J., INCE, I.A., JANCOVICH, J.K., MARSCHANG, R., QIN, Q., SUBRAMANIAM, K., WALTZEK, T.B., WHITTINGTON, R., WILLIAMS, T. & ZHANG, Q. (2020) ICTV Virus Taxonomy Profile: *Iridoviridae*, *Journal of General Virology*, **98**, 890-891.

DO, J.W., CHA, S.J., KIM, J.S., AN, E.J., LEE, N.S., CHOI, H.J., LEE, C.H., PARK, M.S., KIM, J.W., KIM, Y.C. & PARK, J.W. (2005). Phylogenetic analysis of the major capsid protein gene of iridovirus isolates from cultured flounders *Paralichthys olivaceus* in Korea. *Diseases of Aquatic Organisms*, **64**, 193-200.

DONG, H.T., JITRAKORN, S., KAYANSAMRUJ, P., PIRARATE, N., RODKHUM, C., RATTANAROJPONG, T., SENAPIN, S., SAKSMERPROME, V. (2017). Infectious spleen and kidney necrosis disease (ISKND) outbreaks in farmed barramundi (*Lates calcarifer*) in Vietnam. *Fish & Shellfish Immunology*, **68**, 65-73.

FIGUEIREDO, H.C.P., TAVARES, G.C., DORELLA, F.A., ROSA, J.C.C., MARCELINO, S.A.C., PIEREZAN, F. & PEREIRA, F.L. (2022). First report of infectious spleen and kidney necrosis virus in Nile tilapia in Brazil. *Transboundary and Emerging Diseases*, **69(5)**, 3008-3015.

FUSIANTO, C.K., BECKER, J.A., SUBRAMANIAM, K., WHITTINGTON, R.J., KODA, S.A., WALTZEK, T.B., MURWANTOKO & HICK, P.M. (2023). Genotypic characterization of Infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) in Southeast Asian aquaculture. *Transboundary and Emerging Diseases*, **3**, 1-16.

FUSIANTO, C., HICK, P.M., HERLAMBANG, A., WHITTINGTON, R.J. & BECKER, J.A. (2021). Outbreak investigation attributes Infectious spleen and kidney necrosis virus as a necessary cause of a mortality epidemic in farmed grouper (*Epinephelus* spp.) in Bali, Indonesia. *Aquaculture Reports* **20**, 100723.

GIRISHA, S.K., PUNEETH, T.G., NITHIN, M.S., NAVEEN KUMAR, B.T., AJAY, S.K., VINAY, T.N. & RAMESH, K.S. (2020). Red sea bream iridovirus disease (RSIVD) outbreak in Asian seabass (*Lates calcarifer*) cultured in open estuarine cages along the west coast of India: first report. *Aquaculture*, **520**, 734712.

GO, J., WALTZEK, T.B., SUBRAMANIAM, K., YUN, S.C., GROFF, J.M., ANDERSON, I.G., CHONG, R., SHIRLEY, I., SCHUH, J.C.L., HANDLINGER, J.H., TWEEDIE, A. & WHITTINGTON, R.J. (2016). Complete genome analysis of the mandarin fish infectious spleen and kidney necrosis iridovirus. *Virology*, **291**, 126–139.

GO, J. & WHITTINGTON, R. (2006). Experimental transmission and virulence of a megalocytivirus (Family Iridoviridae) of dwarf gourami (*Colisa lalia*) from Asia in Murray cod (*Maccullochella peelii peelii*) in Australia. *Aquaculture*, **258**, 140-149.

GO, J. & WHITTINGTON, R.J. (2019). Experimental transmission of Infectious Spleen and Kidney Necrosis Virus (ISKNV) from freshwater ornamental fish to silver sweep *Scorpius lineolata*, an Australian marine fish. *Diseases of Aquatic Organisms*, **137(1)**, 1-21.

HE, J.G., DENG, M., WENG, S.P., LI, Z., ZHOU, S.Y., LONG, Q.X., WANG, X.Z. & CHAN, S.M. (2001). Complete genome analysis of the mandarin fish infectious spleen and kidney necrosis iridovirus. *Virology*, **291**, 126–139, doi: 10.1006/viro.2001.1208.

HE, J.G., ZENG, K., WENG, S.P. & CHAN, S.M. (2000). Systemic disease caused by an iridovirus-like agent in cultured mandarin fish *Siniperca chuatsi* (Basillewsky), in China, *Journal of Fish Diseases*, **23**, 219–222.

HE, J.G., ZENG, K., WENG, S.P. & CHAN, S.M. (2002). Experimental transmission, pathogenicity and physical-chemical properties of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV), *Aquaculture*, **204**, 11–24. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00639-1.

HICK, P.M., BECKER, J.A. & WHITTINGTON, R.J. (2016). Iridoviruses of fish In: *Aquaculture Virology* (F. Kibenge and M. Godoy, eds), Elsevier, London, UK, 127-152.

HUANG, S.M., TU, C., TSENG, C.H., HUANG, C.C., CHOU, C.C., KUO, H.C. & CHANG, S.K. (2011). Genetic analysis of fish iridoviruses isolated in Taiwan during 2001-2009. *Archives of Virology*, **156**, 1505-1515.

HUANG, Y., CAI, S., JIAN, J., LUI, G., & XU, L. (2020). Co-infection of infectious spleen and kidney necrosis virus and *Francisella* sp. in farmed pearl gentian grouper (♀ *Epinephelus fuscoguttatus* × ♂ *E. lanceolatus*) in China — A case report. *Aquaculture*, **526**, 735409.

INOUE, K., YAMANO, K., MAENO, Y., NAKAJIMA, K., MATSUOKA, M., WADA, Y. & SORIMACHI, M. (1992). Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*, *Fish Pathology*, **27**, 19–27.

JEONG, J.B., KIM, H.Y., JUN, L.J., LYU, J.H., PARK, N.G., KIM, J.K. & JEONG, H.D. (2008a). Outbreaks and risks of infectious spleen and kidney necrosis virus diseases in freshwater ornamental fishes, *Diseases of Aquatic Organisms*, **78**, 209–215. doi: 10.3354/dao01879.

JEONG, J., CHO, H., JUN, L., HONG, S., CHUNG, J. & JEONG, H. (2008b). Transmission of Iridovirus from freshwater ornamental fish (pearl gourami) to marine (rock bream). *Diseases of Aquatic Organisms*, **82(1)**, 27-36.

JOHAN, C.A.C. & ZAINATHAN, S.C. (2020). Megalocytiviruses in ornamental fish: A review. *Veterinary World*, **13**, 2565–2577.

JUNG, S.J., OH, M.J. (2000). Iridovirus-like infection associated with high mortalities of striped beakperch, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel), in southern coastal areas of the Korean peninsula, *Journal of Fish Diseases*, **23**, 223–226. doi: 10.1046/j.1365-2761.2000.00212.x.

-
- KERDDEE, P., DINH-HUNG, N., THANH DONG, H., HIRONO, I., SOONTARA, C., AREECHON, N., SRISAPOOME, P. & KAYANSAMRUJ, P. (2021). Molecular evidence for homologous strains of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) genotype I infecting inland freshwater cultured Asian sea bass (*Lates calcarifer*) in Thailand. *Archives of Virology*, **166**, 3061–3074.
- KIM, K.H., CHOI, K.M., KANG, G., WOO, W.S., SOHN, M.Y., SON, H.J., YUN, D., KIM, D.H. & PARK, C.I. (2022). Development and Validation of a Quantitative Polymerase Chain Reaction Assay for the Detection of Red Sea Bream Iridovirus. *Fishes*, **7**, 236. <https://doi.org/10.3390/fishes7050236>
- KODA, S.A., SUBRAMANIAM, K., HICK, P.M., HALL, E., WALTZEK, T.B. & BECKER, J.A. (2023). Partial validation of a TaqMan quantitative polymerase chain reaction for the detection of the three genotypes of *Infectious spleen and kidney necrosis virus*. *PLoS ONE*, **18**(2):e0281292.
- KODA, S.A., SUBRAMANIAM, K., POWDER, D.B., YANONG, R.P. & WALTZEK, T.B. (2019). Phylogenomic characterization of red seabream iridovirus from Florida pompano *Trachinotus carolinus* maricultured in the Caribbean Sea. *Archives of Virology*, **164**, 1209-1212.
- KODA, S.A., SUBRAMANIAM, K., FLOYD-FRANCIS, R., YANONG, R.P., FRASCA, S., GROFF, J.M., POPOV, V.L., FRASER, W.A., YAN, A., MOHAN, S. & WALTZEK, T.B. (2018). Phylogenomic characterization of two novel members of the genus *Megalocytivirus* from archived ornamental fish samples. *Diseases of Aquatic Organisms*, **130**(1), 11-24.
- KURITA, J., NAKAJIMA, K., (2012), *Megalocytiviruses*, *Viruses*, **4**(4), 521-538.
- KAWATO, Y., CUMMINS, D.M., VALDETER, S., MOHR, P., ITO, T., MIZUNO, K., KAWAKAMI, H., WILLIAMS, L.M., CRANE, M.ST.J. & MOODY, N.J.G. (2021). Development of New Real-time PCR Assays for Detecting *Megalocytivirus* Across Multiple Genotypes. *Fish Pathology*, **56** (4), 177-186. doi.org/10.3147/jfsp.56.177
- LAJIMIN, S., RAZAK, A.A., DENIL, D. J., RANSANGAN, J., ABDUL WAHID, M.E. & SADE, A. (2015). First detection of *Megalocytivirus* (*Iridoviridae*) in trash fish used for aquaculture feed in Sabah, Malaysia. *Int. J. of Aquatic Science*, **6**(1): 54-66.
- NAKAJIMA, K., MAENO, Y., HONDA, A., YOKOYAMA, K., TOORIYAMA, T. & MANABE, S. (1999). Effectiveness of a vaccine against red sea bream iridoviral disease in a field trial test, *Diseases of Aquatic Organisms*, **36**(1), 73-5.
- NI, S.Z., WANG, Y.J., HU, J. B., SHI, J., XU, Y., ZHOU, S.M., LI, J.J., HONG, B.H. & QIAN, D. (2021). Identification, histopathology, and phylogenetic analysis of an iridovirus from cultivated silver pomfret in Zhejiang Province, East China. *Aquaculture*, **530**, 735619.
- RAMÍREZ-PAREDES, J.G., PALEY, R.K., HUNT, W., FEIST, S.W., STONE, D.M., FIELD, T.R., HAYDON, D.J., ZIDDAH, P.A., NKANSA, M., GUILDER, J., GRAY, J., DUODU, S., PECKU, E.K., AWUNI, J.A., WALLIS, T.S. & VERNER-JEFFREYS, D.W. (2021). First detection of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) associated with massive mortalities in farmed tilapia in Africa. *Transboundary Emerging Diseases*, **68**, 1550–1563. <https://doi.org/10.1111/tbed.13825>
- RIMMER A.E., BECKER J.A., TWEEDIE A., LINTERMANS M., LANDOS M. & WHITTINGTON R.J. (2015). Detection of dwarf gourami iridovirus (Infectious spleen and kidney necrosis virus) in populations of ornamental fish prior to and after importation into Australia, with the first evidence of infection in domestically farmed Platy (*Xiphophorus maculatus*). *Preventive Veterinary Medicine*, **122**, 181-194.
- SHI, C.Y., WANG, Y.G., YANG, S.L., HUANG, J. & WANG, Q.Y. (2004). The first report of an iridovirus-like agent infection in farmed turbot, *Scophthalmus maximus*, in China. *Aquaculture*, **236**, 11-15. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.007>
- SONG, J-Y., KITAMURA, S-I., JUNG, S-J., MIYADAI, T., TANAKA, S., FUKUDA, Y., KIM, S-R. & OH, M-J. (2008). Genetic variation and geographic distribution of megalocytiviruses. *Journal of Microbiology*, **46**, 29-33.
- SUBRAMANIAM, K., SHARIFF, M., OMAR, A.R., HAIR-BEJO, M. & ONG, B.L. (2014). Detection and molecular characterisation of infectious spleen and kidney necrosis virus from major ornamental fish breeding states in peninsular Malaysia, *Journal of Fish Diseases*, **37**, 609–618, <https://doi.org/10.1111/jfd.12152>
-

SUBRAMANIAM, K., GOTESMAN, M., SMITH, C.E., STECKLER, N.K., KELLEY, K.L., GROFF, J.M. & WALTZEK, T.B. (2016). *Megalocytivirus* infection in cultured Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, **119**, 253-258. <https://doi.org/10.3354/dao02985>

SUMITHRA, T.G., KRUPESHA SHARMA, S.R., NEELIMA, L., DHANUTHA, N.R., JOSHY, A., ANUSREE, V.N., GAYATHRI, S., RAGHU, R.K., PRAVEEN, N.D., THOMAS, S. & RAJESH, K.M. (2022). Red sea bream iridovirus infection in cage farmed Asian sea bass (*Lates calcarifer*): Insights into the pathology, epizootiology, and genetic diversity. *Aquaculture*, **548**, 737571. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2021.737571>

SWAMINATHAN, T.R., JOHNY, T.K., NITHIANANTHAM, S.R., SUDHAGAR, A., PRADHAN, P.K., SULUMANE RAMACHANDRA, K.S., NAIR, R.R., & SOOD, N. (2022). A natural outbreak of infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV) threatens wild pearlspot, *Etroplus suratensis* in Peechi Dam in the Western Ghats biodiversity hotspot, India. *Transboundary and Emerging Diseases*, **69(5)**, 1595-1605. <https://doi.org/10.1111/tbed.14494>

TSAI, J.M., HUANG, S.L. & YANG, C.D. (2020). PCR Detection and Phylogenetic Analysis of *Megalocytivirus* Isolates in Farmed Giant Sea Perch *Lates calcarifer* in Southern Taiwan. *Viruses*, **12(6)**, 681. <https://doi.org/10.3390/v12060681>

WANG, Y.Q., LÜ, L., WENG, S.P., HUANG, J.N., CHAN, S.M. & HE, J.G. (2007). Molecular epidemiology and phylogenetic analysis of a marine fish infectious spleen and kidney necrosis viruslike (ISKNV-like) virus. *Archives of Virology*, **152**, 763–773.

Anexo 8. Ítem 6.4. – Artículo 1.3.1. del Capítulo 1.3. Enfermedades de la lista de la OMSA – Inclusión de las especies de virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón

• **CAPÍTULO 1.3.**

• **ENFERMEDADES DE LA LISTA DE LA OMSA**

[...]

• **Artículo 1.3.1.**

Están incluidas en la lista de la OMSA las siguientes *enfermedades* de los peces:

- Infección por *Aphanomyces invadans* (Síndrome ulcerante epizoótico)
- Infección por el alfavirus de los salmónidos
- Infección por el todos los genogrupos de la especie virus de la necrosis infecciosa del bazo y del riñón
- Infección por el herpesvirosis de la carpa koi
- ~~Infección por el iridovirosis de la dorada japonesa~~
- Infección por el virus de la necrosis hematopoyética epizoótica
- Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa
- Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral
- Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral
- Infección por el virus de la tilapia del lago
- Infección por *Gyrodactylus salaris*
- Infección por las variantes con supresión en la HPR y HPRO del virus de la anemia infecciosa del salmón.

[...]

Normas revisadas sobre la compartimentación en el *Código para los Animales Acuáticos* de la OMSA

Documento de debate para comentario de los Miembros elaborado por la
Comisión de Normas Sanitarias para los Animales Acuáticos de la OMSA
Septiembre de 2023

Resumen

Este documento de debate (en adelante, “el documento”) constituye un medio destinado a facilitar la participación de los Miembros de la OMSA en las cuestiones relacionadas con la revisión del Capítulo 4.3 *Aplicación de la compartimentación del Código Acuático*. La compartimentación representa una oportunidad de comerciar con mercancías derivadas de animales acuáticos libres de enfermedades procedentes de zonas o países que no hayan sido declarados libres de una determinada enfermedad. Si bien la compartimentación es crucial en el caso de las enfermedades de los animales acuáticos -a menudo imposible de erradicar-, los Miembros no han adoptado ni reconocido ampliamente este enfoque. Por consiguiente, la revisión del Capítulo 4.3. busca esclarecer los requisitos de los compartimentos, mejorar su aceptación y hacerlos más atractivos para la inversión privada.

Este documento propone una serie de finalidades para la aplicación de los compartimentos (ver ítem 4): principios de alto nivel para orientar su aplicación (ver ítem 6) y el concepto de compartimentos dependientes e independientes (ver ítem 5). En su totalidad, estas propuestas pretenden aclarar la aplicación de los compartimentos en pos de una gestión eficaz del riesgo y, a la vez, tienen la voluntad de ampliar la gama de circunstancias de implementación.

El ítem 7 presenta un análisis de los artículos del Capítulo 4.3. y ofrece recomendaciones para su revisión y para la elaboración de nuevos artículos, siempre respetando los principios propuestos en el ítem 6. En el [Anexo 2](#), figura una estructura propuesta de artículo para el Capítulo revisado 4.3.

A lo largo del documento, se incluyen preguntas dirigidas a los Miembros sobre cuestiones de particular importancia en cuanto a la orientación de la revisión del capítulo. Se invita a los Miembros a responder a estas preguntas y a otras cuestiones pertinentes para la revisión del Capítulo 4.3. Las preguntas figuran en el [Anexo 3](#).

Tras estudiar los comentarios de los Miembros, la Comisión volverá a distribuir el documento con un resumen de sus respuestas y las correspondientes opiniones consensuadas. Tanto el documento como las respuestas de los Miembros marcarán la orientación de la revisión del Capítulo 4.3.

1. Introducción

La compartimentación permite comerciar con mercancías derivadas de animales acuáticos con un estatus libre de enfermedad específico procedentes de zonas o países no declarados libres de una determinada enfermedad. La aplicación de la compartimentación a las enfermedades de los animales acuáticos se considera un mecanismo importante para mejorar la seguridad del comercio, ya que, a menudo, la erradicación de las enfermedades de los animales acuáticos no es posible y esto limita las alternativas para el comercio de mercancías libres de enfermedad procedentes de zonas en las que están presentes las enfermedades de la lista de la OMSA.

El Capítulo 4.3. del *Código Acuático* establece recomendaciones relativas a la aplicación de la compartimentación. A pesar del tiempo transcurrido desde la primera adopción del capítulo en 2010 (y su última actualización en 2016), el concepto de compartimentación para las enfermedades de los animales acuáticos no se ha adoptado de forma generalizada. Si bien es probable que existan muchas razones para

ello, está claro que entre los principales factores se encuentran las diferencias de comprensión conceptual de la compartimentación por parte de quienes utilizan del Capítulo 4.3.

El objetivo de este documento es implicar a los Miembros de la OMSA en las cuestiones de interés para la revisión del Capítulo 4.3., de modo que el texto revisado proporcione una orientación coherente y clara en materia de compartimentación. Este documento se ha elaborado a partir de las respuestas de los Miembros a un breve cuestionario incluido en el informe de la reunión de la Comisión de septiembre de 2022. En el **Anexo 1**, figura un resumen de dichas respuestas.

Igualmente, explora y busca un consenso sobre cuestiones conceptuales clave relacionadas con la compartimentación. Por ejemplo, algunos Miembros reconocen dos tipos de compartimentos: los que dependen del estado sanitario de las aguas circundantes y los que no. Se estudiará la posibilidad de que cada tipo de compartimento participe en distintos tipos de comercio (por ejemplo, comercio para consumo humano frente a comercio para acuicultura).

Dado que la implementación de un compartimento puede implicar un riesgo de inversión (puesto que se debe establecer un compartimento sin la certeza de que se conceda el acceso a un determinado mercado), es imperativo que las autoridades competentes, los servicios de sanidad de los animales acuáticos y los operadores de los establecimientos de acuicultura tengan un entendimiento común de los requisitos necesarios para el establecimiento de un compartimento libre de enfermedad en el marco de aplicación de las normas de *Código Acuático*.

2. Objetivos del documento

El objetivo principal de este documento es implicar a los Miembros de la OMSA en la revisión del Capítulo 4.3., de modo que el capítulo revisado proporcione orientaciones coherentes y claras sobre la compartimentación en aras de facilitar el comercio desde compartimentos declarados libres de las enfermedades de la lista de la OMSA. En última instancia, la revisión pretende mejorar la aceptación de la compartimentación y fomentar su atractivo para la inversión privada.

En el marco de la investigación de cuestiones de interés para la revisión del Capítulo 4.3., el documento busca:

- explorar la comprensión del concepto de “compartimento” y su finalidad;
- aprovechar la experiencia de los Miembros en el campo de la compartimentación para contribuir a la revisión de las normas, con el fin de ofrecer el máximo beneficio común y apoyar al mismo tiempo un comercio seguro;
- alcanzar un consenso sobre las principales cuestiones conceptuales antes de iniciar la redacción del capítulo revisado;

En base a los objetivos descritos anteriormente, se proponen varios principios para alcanzarlos, por lo tanto, las disposiciones del capítulo revisado deberán:

- A. infundir confianza a los Miembros en la solidez de las autodeclaraciones de compartimento libre de enfermedad, de conformidad con los enfoques propuestos en el *Código Acuático*;
- B. articular los distintos objetivos compatibles con la compartimentación;
- C. proporcionar una gestión de riesgos adecuada para las diferentes combinaciones de sistemas de producción, productos y vías de producción;
- D. brindar normas clara con vistas a desarrollar una comprensión común de los requisitos;
- E. integrarse con las normas existentes en otros capítulos del *Código Acuático*.

Q1. ¿Son adecuados los principios anteriores (puntos A-E) para guiar la revisión del Capítulo 4.3. sobre compartimentación? En caso contrario, proponga otras alternativas.

Respuesta:

3. Respuesta de los Miembros al cuestionario de 2022

Este documento se elaboró a partir de las respuestas de los Miembros a un breve cuestionario incluido en el informe de la reunión de septiembre de 2022 de la Comisión. En él se invitaba a los Miembros a compartir sus experiencias en torno a la aplicación de compartimentos, incluida su finalidad, las experiencias positivas, la aceptación por parte de los socios comerciales y las limitaciones. En el [Anexo 1](#), figura un resumen de las respuestas de los Miembros.

4. Objetivos de la compartimentación

La definición actual de “compartimento” en el Glosario del *Código Acuático* limita su propósito al comercio internacional (ver ítem 8, definiciones). Sin embargo, los compartimentos libres de enfermedad se establecen con el fin de ofrecer una garantía de ausencia de enfermedad para una serie de mercancías, vías comerciales y usos finales. Estos factores tienen implicaciones para la gestión del riesgo de enfermedad.

Las mercancías comercializadas a partir de un compartimento libre de enfermedad pueden incluir animales acuáticos vivos (gametos, huevos fecundados, juveniles o adultos) o productos de animales acuáticos (desde animales enteros sacrificados, hasta cualquier producto transformado en base a partes de animales).

Existen numerosos usos finales posibles para las materias primas comercializadas desde un compartimento, entre ellos:

- Consumo humano - directamente como animales acuáticos vivos o productos; o indirectamente tras la cría de juveniles en otro establecimiento de acuicultura.
- Cría: utilización como poblaciones reproductoras en criaderos o centros de cría para producir animales de engorde; o para el establecimiento de una nueva especie acuícola, o líneas de especies seleccionadas genéticamente, en un territorio.
- Mejora de las poblaciones animales: liberación en sistemas abiertos para mejorar o recuperar las poblaciones silvestres.
- Fines ornamentales: para la venta en el comercio de animales de compañía o para su exhibición en zoológicos o acuarios.
- Investigación: suministro de animales acuáticos para fines científicos.

Las vías comerciales a partir de un compartimento pueden incluir el comercio nacional o internacional (sabiendo que la definición actual del *Código Acuático* se limita al comercio internacional). En la mayoría de los casos, se supone que el comercio desde un compartimento libre de enfermedad se realiza desde una zona o un país no declarado libre de enfermedad hacia un país, una zona o un compartimento también declarado libre. Además, la compartimentación puede aplicarse para establecer una separación epidemiológica de las poblaciones de animales acuáticos susceptibles dentro de un país o una zona libre, con el fin de proteger a los animales acuáticos de gran valor añadido (líneas seleccionadas, por ejemplo), en caso de brote de enfermedad en la zona o el país anteriormente libre.

Q2. ¿Abarcan estos fines las principales razones para establecer un compartimento, definidas por tipo de producto, vía y uso final? Si no es el caso, sugiera otras alternativas.

Respuesta:

5. Compartimentos independientes vs dependientes

Los Miembros han observado que existen dos tipos principales de compartimentos reconocidos para el comercio internacional y clasificados según el grado de separación epidemiológica del medio ambiente circundante: compartimentos independientes y dependientes (ver [Anexo 1](#)). Actualmente, el Capítulo 4.3. del *Código Acuático* no diferencia los tipos de compartimentos en función del grado de separación epidemiológica.

Los compartimentos independientes tienen una separación epidemiológica completa de los entornos circundantes y altos niveles de medidas físicas y de gestión para mantener un alto nivel de bioseguridad. Los compartimentos independientes son sistemas cerrados que controlan todas las vías de transmisión hacia el compartimento. Un compartimento independiente puede utilizar fuentes de agua libres de enfermedades (por ejemplo, agua de pozo) o disponer de procedimientos de desinfección para impedir la introducción de agentes patógenos de preocupación. Los compartimentos independientes pueden utilizarse para animales acuáticos de gran valor añadido (por ejemplo, líneas mejoradas genéticamente o reproductores) y pueden adaptarse a usos finales como la acuicultura y los programas de repoblación.

Los compartimentos dependientes no tienen una separación epidemiológica completa del medio ambiente circundante y el mantenimiento de su estatus sanitario depende de la ausencia de enfermedades preocupantes en las aguas naturales circundantes. Los compartimentos dependientes son sistemas semicerrados que pueden tener control sobre todas las vías de transmisión, pero que pueden no utilizar fuentes de agua estéril (por ejemplo, tanque de bombeo en tierra o estanque de acuicultura).

Un compartimento dependiente debería establecerse teniendo en cuenta factores epidemiológicos para mantener la independencia epidemiológica del compartimento (por ejemplo, ubicación geográfica; condiciones medioambientales; proximidad con las poblaciones de especies susceptibles; presencia, abundancia y comportamiento de poblaciones cercanas de especies susceptibles; situación sanitaria de cualquier población de especies susceptibles y condiciones hidrológicas en las masas de agua adyacentes). Se puede considerar que los compartimentos dependientes ofrecen un menor grado de garantía de ausencia de enfermedad que los compartimentos independientes. Sin embargo, se puede ofrecer una garantía adicional mediante una mayor vigilancia específica y otras circunstancias epidemiológicas. Los compartimentos dependientes pueden ser los más adecuados para determinados tipos de productos y usos finales, por ejemplo, productos transformados destinados al consumo humano.

Q3. ¿Es partidario de incluir los conceptos de compartimentos independientes y dependientes en el Capítulo revisado 4.3.? ¿Por qué?

Respuesta:

Q4. ¿Debe un compartimento dependiente suministrar animales acuáticos vivos para la acuicultura o la repoblación? En caso afirmativo, ¿en qué condiciones debería permitirse este comercio (por ejemplo, separación epidemiológica o vigilancia específica)?

Respuesta:

6. Principios generales de la compartimentación

Se proponen los siguientes principios como orientación de alto nivel para el desarrollo de compartimentos y con la intención de enmarcar la estructura de artículos de un Capítulo revisado 4.3.

1. Un compartimento libre de enfermedad representa una separación epidemiológica funcional de una población de animales acuáticos de otras fuentes de infección.
2. La finalidad del compartimento deberá estar claramente definida (por ejemplo, especies y mercancías producidas, enfermedad(es) para la(s) que se solicitará la ausencia de enfermedad, usos finales de las mercancías), ya que esto repercutirá en el diseño de las medidas de gestión del riesgo.

3. Los compartimentos incluirán dos categorías principales: los que dependen del estatus sanitario del medio circundante y los que son independientes.
4. Un compartimento deberá contar con un plan de bioseguridad eficaz, de conformidad con el Capítulo 4.1., que se aplique de forma coherente en todos los elementos del compartimento.
5. Las medidas de vigilancia para establecer que el compartimento está libre de enfermedad, así como las medidas para mantenerlo con estatus libre, deberán describirse claramente de conformidad con el Capítulo 1.4, incluidos los elementos de vigilancia interna y externa, según corresponda.
6. Se necesitan servicios de pruebas de laboratorio fiables para respaldar las pruebas de vigilancia. Los servicios de laboratorio deberán ser independientes del operador del compartimento y contar con una acreditación de gestión de la calidad.
7. Los sistemas de trazabilidad deberán garantizar la procedencia de las mercancías del compartimento libre de enfermedad.
8. La existencia de registros deberá respaldar la aplicación transparente y continua de todas las medidas por las que se ha concedido al compartimento el estatus libre de enfermedad.
9. Las responsabilidades oficiales de supervisión deberán estar claramente documentadas, incluido el registro o la aprobación por parte de la autoridad competente, un calendario de auditorías y los instrumentos normativos de apoyo.
10. Deberán establecerse medidas de notificación y respuesta en caso de detección de la enfermedad para la que el compartimento haya sido declarado libre o de otras enfermedades pertinentes para el comercio a partir del compartimento.

Q5. ¿ Los principios generales de compartimentación arriba descritos proporciona un marco adecuado de alto nivel para el establecimiento y reconocimiento de un compartimento? Por favor, sugiera cualquier enmienda o principio adicional que deba tenerse en cuenta.

Respuesta:

7. Análisis del actual texto adoptado del Capítulo 4.3.

7.1. Artículo 4.3.1. Introducción y objetivos

Situación actual y análisis

El Artículo 4.3.1. ofrece una amplia descripción de los compartimentos y una comparación con la declaración de ausencia de enfermedad a nivel del país o de la zona. El texto actual describe los compartimentos a través de la comparación, por ejemplo con las zonas, en lugar de describir lo que es un compartimento de forma más directa. El texto actual carece de claridad sobre algunos conceptos básicos relacionados con los compartimentos; por ejemplo, sus objetivos, beneficios y funciones para su establecimiento y mantenimiento. El artículo se titula introducción y objetivos; sin embargo, no expone claramente ningún objetivo para el capítulo.

Enfoque recomendado

Es importante que el Artículo 4.3.1. defina claramente el concepto de “compartimento” para lograr un entendimiento común y evitar diversas interpretaciones conceptuales, lo que se ha indicado como una limitación (véase el [Anexo 1](#)).

Es posible añadir texto a este artículo con la intención de articular un objetivo claro del capítulo, por ejemplo, para describir los requisitos necesarios a efectos de establecer un compartimento libre y cumplir los requisitos para una autodeclaración de ausencia de enfermedad en el compartimento.

Se propone revisar el Artículo 4.3.1. con el fin de describir de forma más directa el concepto de compartimento, en lugar de compararlo con las zonas. El texto también deberá introducir los objetivos para el establecimiento de compartimentos, los beneficios para facilitar el comercio y la gestión de enfermedades y, a grandes rasgos, las funciones del sector privado y de las autoridades competentes.

Asimismo, se propone incluir un nuevo Artículo 4.3.X. con la descripción de las distintas finalidades de los compartimentos, tal y como indican las respuestas de los Miembros (véase el [Anexo 1](#)). Entre ellos: facilitar el comercio de animales y productos de origen animal libres de enfermedad (sin limitarse al comercio internacional), contribuir a la gestión de enfermedades y proteger y preservar animales acuáticos de alto valor añadido (por ejemplo, líneas seleccionadas) en caso de brote de enfermedad en un país o zona que, de otro modo, estaría libre de ella.

7.2. Artículo 4.3.2. Principios de definición del compartimento

Situación actual y análisis

El Artículo 4.3.2. indica que deberán describirse los componentes y las interrelaciones de un compartimento y definirse los factores epidemiológicos. Este texto no articula adecuadamente un conjunto de principios para definir un compartimento.

Enfoque recomendado

Se propone revisar este artículo para establecer claramente los principios de alto nivel que deberán cumplirse en el establecimiento de un compartimento y se haga una autodeclaración de compartimento libre de enfermedad. Estos principios se alinearán con la estructura del capítulo y se añadirían detalles sobre el cumplimiento de los requisitos de cada principio. Este enfoque ya se ha utilizado en el Capítulo 4.1. *Bioseguridad para los establecimientos de acuicultura* (ver Artículo 4.1.2.) y en el Capítulo 4.4. *Desinfección de establecimientos y equipos de acuicultura* (ver Artículo 4.4.2.).

Los principios con posibilidades de inclusión en este artículo pueden reflejar los del ítem 6.

Q6. ¿Apoya la revisión del Artículo 4.3.2. para incluir los principios del ítem 6 (modificados en función de los comentarios de los Miembros)? ¿Existen otras cuestiones o requisitos clave que deberán abordarse dentro de este conjunto de principios?

Respuesta:

7.3. Artículo 4.3.3. Separación de un compartimento de posibles fuentes de infección

Situación actual y análisis

El Artículo 4.3.3. es un artículo extenso que abarca cuatro temas principales definidos como subpuntos:

1. Factores físicos o espaciales que afectan la bioseguridad del compartimento
2. Factores infraestructurales
3. Plan de bioseguridad
4. Sistemas de rastreabilidad

Una parte importante de este artículo trata de la planificación y las medidas de bioseguridad que se abordan de forma más exhaustiva en el Capítulo 4.1. *Bioseguridad para los establecimientos de acuicultura*.

Enfoque recomendado

Se propone revisar el Artículo 4.3.3. para que se centre en la descripción de un compartimento y en la naturaleza de su independencia epidemiológica. Esto incluiría la descripción de los conceptos de compartimentos dependientes e independientes (ver ítem 5).

Se propone que el plan de bioseguridad y los requisitos de rastreabilidad se inscriban en artículos separados, según proceda, para ajustarse a los principios propuestos para el Artículo 4.3.2.

7.4. Artículo 4.3.4. Documentación

Situación actual y análisis

El Artículo 4.3.4. ofrece orientaciones sobre los registros que deberán llevarse para demostrar que se cumplan los requisitos de un compartimento. Gran parte de este artículo se centra en el mantenimiento de registros pertinentes para las cuestiones tratadas en un plan de bioseguridad o para los requisitos de vigilancia. El artículo indica que pueden variar los plazos relativos a la conservación de los registros.

Enfoque recomendado

Para los elementos de este artículo relativos a la documentación de un plan de bioseguridad, se propone incluir una referencia cruzada a los artículos pertinentes del Capítulo 4.1.

Para los elementos de este artículo relevantes para la vigilancia, se propone revisar el texto y sustituirlo por requisitos más específicos que aporten pruebas del cumplimiento de los requisitos de vigilancia y proceder a una autodeclaración de ausencia de compartimento y para mantener la ausencia de enfermedad. Esto incluye una referencia al Artículo 4.3.5. (revisado, ver más adelante) y a los artículos pertinentes del Capítulo 1.4.

Se propone proporcionar orientación sobre los factores que determinan los periodos de tiempo para mantener los registros que deberán estar vinculados a los ciclos de producción, la vigilancia, los requisitos del plan de bioseguridad, la auditoría y los requisitos de rastreabilidad.

Igualmente, se propone desplazar el artículo a continuación de los artículos que exigen un requisito de mantenimiento de registros.

7.5. Artículo 4.3.5 Vigilancia del agente patógeno o de la enfermedad

Situación actual y análisis

Este artículo recomienda que el sistema de vigilancia se ajuste a lo dispuesto en el Capítulo 1.4. sobre vigilancia y a las recomendaciones específicas para la vigilancia de la(s) enfermedad(es) para la(s) que se han definido en el compartimento. El artículo señala que la sensibilidad del sistema de vigilancia deberá revisarse si existe un mayor riesgo de exposición al agente para el que se ha definido el compartimento.

Además, describe los requisitos de vigilancia interna y externa. La vigilancia interna se describe como aquella que permite que la autoridad competente certifique que los animales dentro del compartimento cumplen con su estatus definido y posibilita la detección temprana de las enfermedades. La vigilancia externa tiene por objeto identificar un cambio significativo en el nivel de exposición para las vías identificadas de introducción de enfermedades en el compartimento.

Enfoque recomendado

Se propone revisar este artículo para armonizarlo mejor con los requisitos propios a una autodeclaración de compartimento libre de enfermedad y de mantenimiento del estatus libre. Estos requisitos figuran en el Capítulo 1.4. y en los capítulos específicos de enfermedades del *Código Acuático*.

Es probable que los conceptos de vigilancia interna y externa resulten útiles, pero no son términos que se utilicen en el Capítulo 1.4. o en capítulos específicos de enfermedad. Se propone considerar estos conceptos y aplicarlos en el contexto de compartimentos dependientes e independientes. (ver ítem 5)

7.6. Artículo 4.3.6. Capacidades y procedimientos de diagnóstico

Situación actual y análisis

Este artículo recomienda que los laboratorios de análisis se designen de forma oficial y que los procedimientos de análisis se ajusten a las recomendaciones del *Manual Acuático*. Asimismo, se aconseja que los laboratorios de pruebas cuenten con procedimientos para notificar los resultados a la autoridad competente.

El Artículo 4.3.6. presenta orientaciones sobre los procedimientos de diagnóstico que sustentan la vigilancia dentro de un compartimento y la confianza en el estatus libre de enfermedad del compartimento. En el artículo, no se hace referencia a los diversos factores que influyen en la calidad de las pruebas de diagnóstico.

Enfoque recomendado

Se sugiere revisar el Artículo 4.3.6. con el fin de incluir otros factores que contribuyan a la fiabilidad de las pruebas de diagnóstico. Es el caso de la independencia del laboratorio de pruebas de las estructuras de gestión y propiedad del compartimento y el requisito de que los laboratorios de pruebas oficialmente aprobados estén acreditados conforme a la norma ISO 17025 o su equivalente.

Será obligatorio que los laboratorios de pruebas notifiquen a la autoridad competente los resultados positivos de las pruebas realizadas en los compartimentos declarados libres de enfermedad a efectos de comercio internacional. Este requisito es necesario para cumplir las condiciones elementales de bioseguridad de un compartimento, tal y como se especifica en el Artículo 1.4.6. del Capítulo 1.4. del *Código Acuático*.

Q7. ¿Respalda el enfoque recomendado para la revisión del Artículo 4.3.6., incluidos los requisitos de independencia, acreditación e informes obligatorios de los laboratorios? Por favor, justifíquelo o añada comentarios.

Respuesta:

7.7. Artículo 4.3.7. Respuesta y notificación de emergencia

Situación actual y análisis

Este artículo ofrece orientaciones sobre las medidas que deberán tomarse en caso de sospecha de la presencia de la enfermedad de la que el compartimento ha sido declarado libre. El primer párrafo aconseja que, si se sospecha de la presencia de la enfermedad, se deberá suspender el estatus libre y transmitir la notificación a los países importadores de acuerdo con el Capítulo 1.1. La redacción de este párrafo difiere de la del Capítulo 1.1, que exige la notificación de la aparición o reaparición, y no de la sospecha.

El segundo párrafo aconseja una revisión de las medidas de bioseguridad destinadas a determinar la existencia de una infracción de las medidas de bioseguridad y determinar que el estatus libre de enfermedad sólo se restituirá después de que el compartimento haya adoptado las medidas necesarias para restablecer el nivel de bioseguridad original y la autoridad competente haya aprobado nuevamente el estatus del compartimento. Los requisitos de este párrafo difieren sutilmente de los del Capítulo 1.4. y de los capítulos específicos de enfermedad, que exigen que se revisen y modifiquen las medidas elementales de bioseguridad, según corresponda. Además, con fines de comercio internacional, el

estatus libre de enfermedad sólo se puede recuperar una vez cumplidos los requisitos del Capítulo 1.4. y de los capítulos específicos de enfermedad.

El tercer párrafo aconseja se tomen en consideración los cambios del riesgo de enfermedad en el área circundante, el estatus del compartimento reevaluado y la necesidad de implementar medidas de bioseguridad adicionales. Si bien este párrafo parece más pertinente para los compartimentos dependientes, podría considerarse como parte de la revisión de las condiciones elementales de bioseguridad. Se justifica una mención específica de los factores que deberán revisarse para los compartimentos dependientes o independientes.

Enfoque recomendado

El Artículo 4.3.7. requiere una revisión destinada a garantizar la coherencia de las orientaciones con otras disposiciones del *Código Acuático*, por ejemplo, los requisitos de notificación del Capítulo 1.1. y los requisitos para recuperar el estatus libre especificados en el Capítulo 1.4. y en el o los capítulos específicos de enfermedad. Además, el artículo puede requerir referencias cruzadas a los nuevos capítulos en pleno proceso de elaboración para el Título 4 del *Código Acuático* sobre la preparación ante emergencias y la gestión de brotes.

7.8. Artículo 4.3.8. Supervisión y control del compartimento

Situación actual y análisis

El Artículo 4.3.8. exige que la autoridad, la organización y la infraestructura de los servicios de sanidad de los animales acuáticos estén claramente documentadas y así inspirar confianza en la integridad del compartimento. El artículo remite al Capítulo 3.1. *Calidad de los servicios de sanidad de los animales acuáticos*, pero no limita la documentación de los mismos a los aspectos pertinentes para la autodeclaración de compartimento libre de enfermedad. Aunque el artículo especifica que deben documentarse la autoridad, la organización y la infraestructura de los servicios de sanidad de los animales acuáticos, el Capítulo 3.1. incluye 14 principios fundamentales de calidad. El artículo podría mejorarse aclarando que los servicios de sanidad de los animales acuáticos pertinentes para la autodeclaración de ausencia de enfermedad deberán mantener los correspondientes registros, incluyendo la forma en que se cumplen los requisitos del Capítulo 3.1.

El artículo también indica que "la" autoridad competente tiene la autoridad final para aprobar o suspender el estatus y que debe supervisar continuamente el cumplimiento de todos los requisitos críticos para mantener el estatus de compartimento. Se trata de un concepto fundamental de la supervisión por la autoridad competente de un compartimento libre de enfermedad. Se recomienda articular con mayor claridad el papel de las autoridades competentes y de la autoridad veterinaria en el establecimiento y la aprobación de un compartimento libre de enfermedad, en la supervisión continua (incluida la de los servicios de sanidad de los animales acuáticos pertinentes) y en la comunicación con la OMSA y los socios comerciales, tal como se especifica en los capítulos pertinentes del *Código Acuático*.

Enfoque recomendado

Se sugiere separar el Artículo 4.3.8. en dos artículos distintos: uno sobre la calidad de los servicios de sanidad de los animales acuáticos y otro sobre la supervisión y la autoridad. El primero deberá aclarar que los servicios de sanidad de los animales acuáticos pertinentes para la autodeclaración de ausencia de enfermedad deben llevar los correspondientes registros, incluida la manera en que cumplen los requisitos del Capítulo 3.1. El segundo artículo deberá articular claramente el papel de las autoridades competentes y de la autoridad veterinaria en el establecimiento y la aprobación de un compartimento libre de enfermedad, así como la supervisión continua.

Q8. ¿Respalda la revisión propuesta del Artículo 4.3.8., incluida la división en dos artículos: uno sobre la calidad de los servicios de sanidad de los animales acuáticos y otro sobre la supervisión de la autoridad competente? Por favor, justifíquelo o añada comentarios.

Respuesta:

8. Definiciones

Situación actual

En el Glosario del *Código Acuático* figuran dos términos específicos de los compartimentos que deberán tenerse en cuenta durante la revisión del Capítulo 4.3. *Aplicación de la compartimentación*. Se trata de las definiciones de "compartimento" y "compartimento libre". Las definiciones actuales de estos términos incluidas en la edición 2023 del *Código Acuático* son las siguientes:

COMPARTIMENTO designa uno o varios *establecimientos de acuicultura* con un mismo sistema de gestión de la *bioseguridad*, que contienen una población de *animales acuáticos* con un estatus sanitario distinto respecto de una *enfermedad o enfermedades* determinada(s) contra la(s) cual(es) se aplican las medidas de *vigilancia* y control y se cumplen las *condiciones elementales de bioseguridad* requeridas para el *comercio internacional*. Cualquier *compartimento* establecido debe estar claramente documentado por la *autoridad competente*.

COMPARTIMENTO LIBRE designa un *compartimento* que reúne las condiciones indicadas en el capítulo (o capítulos) correspondiente(s) del *Código Acuático* para hacer una *autodeclaración de ausencia de la enfermedad* que se considere.

Otros términos definidos adicionales son relevantes para la revisión del Capítulo 4.3., por ejemplo, los relacionados con la vigilancia y la bioseguridad. Algunos de ellos han sido revisados recientemente durante el desarrollo y adopción del nuevo Capítulo 4.1. *Bioseguridad para los establecimientos de acuicultura* (adoptado en 2021) y la revisión del Capítulo 1.4. *Vigilancia de las enfermedades de los animales acuáticos* (adoptado en 2022).

Análisis

Es probable que sea necesario revisar los términos específicos relacionados con los compartimentos para garantizar que se ajustan al ámbito de aplicación, los objetivos y los conceptos acordados e incluidos en el capítulo revisado. Algunas cuestiones por tratar:

- la definición actual limita la finalidad de un compartimento al comercio internacional. Según los comentarios de los Miembros (ver [Anexo 1](#)) y los conceptos de los ítems 5 y 6, esta definición puede ser demasiado restrictiva.
- La definición posible de los "tipos" de compartimentos que ofrezcan distintos niveles de gestión del riesgo en función de su finalidad (por ejemplo, compartimentos dependientes e independientes). En sus respuestas a la encuesta (ver [Anexo 1](#)), los Miembros plantearon diferentes tipos y finalidades de los compartimentos que tal vez deban reflejarse en las definiciones revisadas o ser objeto de nuevas definiciones.

9. Otras normas pertinentes de interacción

Existen varios capítulos en el *Código Acuático* de la OMSA que son pertinentes para una revisión del Capítulo 4.3., que sería importante tener en cuenta para proporcionar las referencias cruzadas adecuadas y evitar duplicaciones u orientaciones contradictorias. Esta sección del documento identifica las principales normas del *Código Acuático* que deberán tenerse en cuenta en la revisión del Capítulo 4.3.

Capítulos específicos de enfermedad

Cada capítulo específico de enfermedad del *Código Acuático* contiene orientaciones sobre los requisitos necesarios para declarar un compartimento libre. Los requisitos de estos artículos son coherentes con el Capítulo 1.4. *Vigilancia de las enfermedades de los animales acuáticos*.

Además, los capítulos específicos de enfermedad ofrecen recomendaciones sobre la gestión del riesgo para las mercancías derivadas de los animales acuáticos (especies susceptibles a una enfermedad particular) destinadas a diferentes usos finales; en particular, cuando el origen de las mercancías es un país, zona o compartimento no declarado libre.

Capítulo 1.4. Vigilancia

El Capítulo 1.4. presenta orientaciones sobre la vigilancia necesaria para demostrar la ausencia de enfermedad en un compartimento. Las disposiciones del Capítulo 1.4. relativas a la vigilancia para declarar un compartimento libre complementan las disposiciones de los capítulos específicos de enfermedad.

Capítulo 3.1. Calidad de los servicios de sanidad de los animales acuáticos

El Capítulo 3.1. establece los principios fundamentales de carácter ético, organizativo, legislativo, reglamentario y técnico que definen la calidad de los servicios de sanidad de los animales acuáticos. Las disposiciones del Capítulo 3.1. son importantes para caracterizar una supervisión y servicios transparentes e independientes que sustenten la confianza en el estatus libre de enfermedad permanente de un compartimento.

Capítulo 4.1. Bioseguridad de los establecimientos de acuicultura

El Capítulo 4.1. presenta orientaciones detalladas sobre los requisitos orientados a elaborar y aplicar un plan de bioseguridad. Las disposiciones del Capítulo 4.1. son fundamentales a la hora de establecer y mantener un compartimento libre de enfermedad.

Capítulo 5.3. Procedimientos de la OMSA relacionados con el Acuerdo sobre Medidas Sanitarias y Fitosanitarias de la Organización Mundial del Comercio

El Artículo 5.3.7 describe la secuencia de pasos necesarios para el establecimiento de una zona o compartimento y el reconocimiento a efectos de comercio internacional.

10. Discusión

El objetivo de este documento es implicar a los Miembros de la OMSA en cuestiones relevantes para la revisión del Capítulo 4.3., de modo que el capítulo revisado ofrezca una orientación coherente y clara sobre la compartimentación. El ítem 3 presenta los principios que intentan orientar el resultado previsto de la revisión. Para ello, se han explorado cuestiones conceptuales relevantes para la revisión del documento, se ha analizado la estructura actual del Capítulo 4.3 existente y se han buscado respuestas de los Miembros sobre cuestiones de importancia para su revisión.

En el [Anexo 2](#), se propone una estructura de artículos para el Capítulo revisado 4.3., basada en el análisis y el debate presentados en este documento.

Tras examinar los comentarios de los Miembros, la Comisión volverá a distribuir el documento a los Miembros con un resumen de sus respuestas y las opiniones consensuadas. En conjunto, el documento y las respuestas de los Miembros marcarán la dirección de la revisión del Capítulo 4.3.

2) Anexo 1. Resumen de las respuestas de los miembros al cuestionario de 2022

Se recibieron comentarios de Alemania, Australia, Brasil, Canadá, China, Eslovenia, España, Estados Unidos, Irlanda, Japón, Nueva Zelanda, Reino Unido, Suecia y Suiza.

En su reunión de septiembre de 2022, la Comisión acordó distribuir a los Miembros un cuestionario para la revisión del Capítulo 4.3. *Aplicación de la compartimentación*. En el caso de los Miembros que respondieron que habían establecido o estaban estableciendo compartimentos, la finalidad de los compartimentos era principalmente:

- Comercio nacional o internacional (especies acuícolas y animales acuáticos ornamentales)
- Apoyo y protección de los criaderos contra la introducción de enfermedades o las actividades de respuesta en caso de incursión de enfermedades en la zona
- Mejora de las poblaciones de animales acuáticos silvestres
- Consumo humano

Los Miembros indicaron experiencias positivas relacionadas con el establecimiento de compartimentos, principalmente en relación con los beneficios para el comercio y el control de enfermedades:

- mayor acceso al mercado y facilidad o facilitación del comercio;
- aumento general del estatus sanitario de las poblaciones de animales acuáticos definidas;
- protección del estatus sanitario en caso de incursión de enfermedades en la zona circundante;
- menor tiempo de recuperación del estatus libre de enfermedad.

En el caso de los Miembros con compartimentos ya establecidos, es variable la aceptación de estos compartimentos por parte de los socios comerciales. Cuando los compartimentos fueron rechazados o se retrasó su aceptación por parte de los socios comerciales, se debió a limitaciones/impedimentos que deberán superarse/corregirse, como por ejemplo:

- Los Miembros pueden tener una comprensión o aplicación diferente de la compartimentación, lo que puede repercutir en la aceptación de los compartimentos reconocidos por parte de sus socios comerciales.
- El uso de compartimentos dependientes puede limitar un posible acceso al mercado.
- Los socios comerciales solicitaron auditar los compartimentos establecidos antes de aceptar e iniciar intercambios comerciales.

Además de las limitaciones e impedimentos relacionados con el comercio, se indicaron otras limitaciones o amenazas por superar o que impedían la creación de compartimentos. Estas amenazas estaban relacionadas principalmente con la industria y la autoridad competente.

Industria

- El tipo de sistema de producción acuícola utilizado (sistemas abiertos, semiabiertos o semicerrados) puede limitar o impedir el establecimiento de compartimentos. A veces, es difícil cumplir los requisitos para establecer un compartimento.
- El establecimiento de acuicultura deberá tomar la decisión empresarial de invertir el dinero y el esfuerzo necesarios para establecer un compartimento en función del acceso potencial al mercado. El rendimiento real de la inversión no se conocerá hasta que se haya establecido el compartimento.
- Una vez establecido el estatus libre de enfermedad, la introducción de nuevos animales genéticos o vivos puede verse limitada debido a un posible cambio resultante en el estatus sanitario.

Autoridad competente

- El desarrollo de parámetros que garanticen la separación del compartimento de la zona circundante y la implantación de compartimentos basados en el estado sanitario de la zona requiere la supervisión de la autoridad competente y los recursos correspondientes (humanos y financieros).
- Posible falta de comprensión por parte de la autoridad competente.

Concretamente, los Miembros se mostraron favorables a la revisión del Capítulo 4.3. *Aplicación de la compartimentación* e identificaron varias lagunas en el capítulo actual donde podrían incorporarse detalles adicionales:

- especificar cuándo es conveniente utilizar la compartimentación;
- incorporar referencias cruzadas al Capítulo 4.1. *Bioseguridad para los establecimientos de acuicultura* y los diferentes tipos de sistemas de producción acuícola en los que es posible la compartimentación (por ejemplo, compartimentos dependientes e independientes);
- indicar la diferencia entre las normas para el establecimiento del estatus sanitario de un compartimento, las normas para el mantenimiento del estatus sanitario y la recuperación tras la incursión de una enfermedad para recuperar la ausencia de enfermedad.

3) **Anexo 2. Propuesta de estructura de artículo para el Capítulo revisado 4.3.**

Número de artículo	Contenido
4.3.1.	Introducción y objetivos
4.3.2.	Propuesta de compartimentos
4.3.3.	Principios para establecer un compartimento
4.3.4.	Compartimentos dependientes e independientes
4.3.5.	Bioseguridad
4.3.6.	Requisitos de vigilancia para solicitar y mantener la ausencia de enfermedad
4.3.7.	Pruebas de laboratorio
4.3.8.	Rastreabilidad
4.3.9.	Mantenimiento de registros
4.3.10.	Vigilancia oficial
4.3.11.	Calidad de los servicios de sanidad de los animales acuáticos
4.3.12.	Medidas de notificación y respuesta

4) Anexo 3. Preguntas para los Miembros

- 5) Las preguntas que figuran a continuación se incluyen en el cuerpo del texto del documento y se recopilan aquí para facilitar su consulta.

6) Pregunta	7) Ítem de referencia
8) Q1. ¿Son adecuados los principios anteriores (puntos A-E) para guiar la revisión del Capítulo 4.3. sobre compartimentación? En caso contrario, proponga otras alternativas.	9) 2. Objetivos del documento
10) Q2. ¿Abarcan estos fines las principales razones para establecer un compartimento, definidas por tipo de producto, vía y uso final? Si no es el caso, sugiera otras alternativas.	11) 4. Objetivos de la compartimentación
12) Q3. ¿Es partidario de incluir los conceptos de compartimentos independientes y dependientes en el Capítulo revisado 4.3.? ¿Por qué?	13) 5. Compartimentos independientes vs compartimentos dependientes
14) Q4. ¿Debe un compartimento dependiente suministrar animales acuáticos vivos para la acuicultura o la repoblación? En caso afirmativo, ¿en qué condiciones debería permitirse este comercio (por ejemplo, separación epidemiológica o vigilancia específica)?	15) 5. Compartimentos independientes vs compartimentos dependientes
16) Q5. ¿ Los principios generales de compartimentación arriba descritos proporcionan un marco adecuado de alto nivel para el establecimiento y reconocimiento de un compartimento? Por favor, sugiera cualquier enmienda o principio adicional que deba tenerse en cuenta.	17) 6. Principios generales de compartimentación
18) Q6. ¿Apoya la revisión del Artículo 4.3.2. para incluir los principios del ítem 6 (modificados en función de los comentarios de los Miembros)? ¿Existen otras cuestiones o requisitos clave que deberán abordarse dentro de este conjunto de principios?	19) 7.2. Artículo 4.3.2. Principios para definir un compartimento
20) Q7. ¿Respalda el enfoque recomendado para la revisión del Artículo 4.3.6., incluidos los requisitos de independencia, acreditación e informes obligatorios de los laboratorios? Por favor, justifíquelo o añada comentarios.	21) 7.6. Artículo 4.3.6. Procedimientos y capacidades de diagnóstico
22) Q8. ¿Respalda la revisión propuesta del Artículo 4.3.8., incluida la división en dos artículos: uno sobre la calidad de los servicios de sanidad de los animales acuáticos y otro sobre la supervisión de la autoridad competente? Por favor, justifíquelo o añada comentarios.	23) 7.8. Artículo 4.3.8. Supervisión y control de un compartimento

- TÍTULO 4
- PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES
- CAPÍTULO 4.X.
- PREPARACIÓN ANTE EMERGENCIAS SANITARIAS

- Artículo 4.X.1.

Objetivo

Describir los elementos esenciales del marco de preparación ante una emergencia sanitaria que la *autoridad competente* deberá desarrollar con el fin de garantizar que los brotes de *enfermedades* importantes de los *animales acuáticos* se puedan identificar con rapidez y que se gestionen con eficacia para guiar a un país, zona o *compartimento* hacia una vía adecuada de recuperación.

- Artículo 4.X.2.

Ámbito de aplicación

El presente capítulo describe las recomendaciones para el desarrollo de un marco de preparación ante emergencias sanitarias. Este marco abarca todos los elementos que permitirán a la *autoridad competente* activar una respuesta eficaz en caso de aparición de un brote de *enfermedad*, minimizando de esta forma las consecuencias en las poblaciones de *animales acuáticos*, el comercio, la economía y los recursos financieros indispensables en la gestión de los brotes. En el Capítulo 4.Y., se describen las medidas específicas necesarias para poner en operación el marco en caso de brote de *enfermedad*.

- Artículo 4.X.3.

Introducción

Las *enfermedades* de los *animales acuáticos* pueden propagarse con gran rapidez y, a menudo, acarrear consecuencias graves. En numerosas partes del mundo, estos eventos de *enfermedad* parecen aumentar en frecuencia y gravedad debido al incremento de la producción de la *acuicultura* y del *comercio internacional*. El presente capítulo ofrece recomendaciones para que una *autoridad competente* identifique y coordine los elementos de un marco que permita alcanzar un nivel adecuado de preparación frente a dichas emergencias.

Cuando la *autoridad competente* desarrolle el marco, resulta fundamental que identifique lo más pronto posible (es decir, en “tiempos de paz”), las *enfermedades* de los *animales acuáticos* que son importantes para un país, zona o *compartimento* y garantizar que las medidas legislativas y de financiación adecuadas respalden su control en el futuro. La lista estatutaria de *enfermedades* de importancia resultado de un *análisis del riesgo*, tal como se describe en el Artículo 4.X.6., podrá incluir las *enfermedades* de los *animales acuáticos* enumeradas en el Capítulo 1.3., así como otras *enfermedades* consideradas de importancia para el país, zona o *compartimento*.

También en tiempos de paz, la *autoridad competente* deberá adoptar un enfoque sistemático para planificar cada elemento del marco que se aplicará desde el momento en que se sospecha una *enfermedad* importante durante la fase de

alerta, pasando por la activación del *plan de emergencia* en la fase operativa, hasta el momento en que comienza la fase de recuperación y que, oficialmente, finaliza la emergencia.

La *autoridad competente* deberá tener en cuenta si los elementos del plan de emergencia y del plan de recuperación del marco de preparación ante una emergencia sanitaria se pueden aplicar a una *enfermedad* o a un grupo de *enfermedades* de los *animales acuáticos*. En tiempos de paz, la *autoridad competente* deberá decidir cuál de estos enfoques es el que mejor responde a sus necesidades, teniendo en cuenta las *enfermedades* de los *animales acuáticos* que figuran en la lista de su país, las *especies susceptibles* pertinentes y los tipos de producción.

- **Artículo 4.X.4.**

Principios generales

La preparación ante emergencias sanitarias constituye una función esencial de la *autoridad competente*. Los distintos elementos necesarios que garantizan que la *autoridad competente* esté preparada para enfrentar un *brote* de una *enfermedad* de importancia se inscriben dentro de un marco. Este marco se elabora en tiempos de paz, antes de que se produzca un *brote* de *enfermedad*.

El éxito final de la implementación de este marco dependerá de la calidad de los preparativos emprendidos por la *autoridad competente* y del compromiso y la coordinación de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*.

Los principios generales que deberán tenerse en cuenta al elaborar un marco de preparación ante emergencias sanitarias son los siguientes:

- 1) las disposiciones legales y de financiación deberán estar disponibles para que una *autoridad competente* pueda ejecutar todos los elementos del marco de trabajo y gestionar los *brotos* de *enfermedad* de conformidad con el *plan de emergencia* y con las medidas operativas detalladas indicadas en el Capítulo 4.Y.;
- 2) el *análisis del riesgo* deberá utilizarse antes, durante y después de un *brote* de *enfermedad*, tal y como se describe en el Artículo 4.X.6. El *análisis del riesgo* realizado previamente servirá para identificar las *enfermedades* importantes de los *animales acuáticos* que serán objeto de medidas de emergencia. El *análisis del riesgo* realizado durante y después del *brote* servirá de base para la aplicación de las medidas de respuesta y recuperación que tomarán la *autoridad competente* y los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*;
- 3) un *plan de emergencia* deberá desarrollarse para una *enfermedad* específica o un grupo de *enfermedades* de los *animales acuáticos*, previa consulta apropiada con los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*, que contenga al menos los componentes descritos en los apartados (a) a (f) del Artículo 4.X.7. El *plan de emergencia* deberá activarse:
 - a) parcialmente, de conformidad con el Capítulo 4.Y., cuando se sospeche la presencia de una *enfermedad* importante durante la "fase de alerta";
 - b) completamente, de conformidad con el Capítulo 4.Y., una vez que la emergencia de *enfermedad* se haya iniciado durante la "fase operativa";
- 4) ejercicios de simulación deberán planearse y ejecutarse para poner a prueba los elementos pertinentes del marco de preparación ante emergencias sanitarias. Los ejercicios de simulación garantizan que las *autoridades competentes* y los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* estén capacitados y debidamente equipados para gestionar la sospecha y la confirmación de una *enfermedad* importante dentro de su *territorio*, de conformidad con el Artículo 4.X.8.;
- 5) todos los elementos constitutivos del marco deberán revisarse y analizarse con regularidad, tal y como se describen en el Artículo 4.X.9.;
- 6) un "plan de recuperación" deberá prepararse, tal y como se describe en el Artículo 4.X.11., en base al *análisis de riesgo* y a las opciones de recuperación descritas en el Artículo 4.X.10.

- **Artículo 4.X.5.**

Disposiciones legales y financiación

Existen ciertos requisitos previos para la elaboración de un marco de preparación ante emergencias sanitarias. Dichos requisitos exigen que la *autoridad competente* disponga de:

- 1) una legislación en materia de sanidad de los *animales acuáticos* que fundamente la aplicación de todos los elementos y las medidas que se requieren a la hora de gestionar la sospecha y la confirmación de un *brote* de una *enfermedad* importante de los *animales acuáticos*, tal como se describe en el Artículo 4.X.6.;
- 2) un acceso a fondos de emergencia suficientes que faciliten la puesta en práctica de los elementos pertinentes del marco de preparación ante emergencias sanitarias, así como las medidas operativas que se establecen en el Capítulo 4.Y.

Todo retraso de la *autoridad competente* en recurrir a las disposiciones legales o en acceder a una determinada financiación dificultará la gestión eficaz de una emergencia sanitaria. Estos retrasos deberán evitarse, o al menos minimizarse, asegurándose de que se identifiquen todas las etapas administrativas que han de seguirse, con el fin de que la autoridad central remita a la *autoridad competente* los fondos necesarios.

- **Artículo 4.X.6.**

Análisis del riesgo

El *análisis del riesgo* ocupa un papel preponderante antes, durante y después de un *brote* de *enfermedad*. Por lo tanto, es de vital importancia que la *autoridad competente* disponga de los conocimientos que garanticen una aplicación eficaz del marco de preparación ante emergencias sanitarias.

Identificación de las *enfermedades* de los *animales acuáticos* que serán objeto de medidas de emergencia

La *autoridad competente* deberá recurrir al *análisis del riesgo* con vistas a determinar las *enfermedades* de importancia de los *animales acuáticos* que representan una amenaza y que, por lo tanto, deberán ser objeto de medidas de emergencia en caso de *brote* de *enfermedad*.

El *análisis del riesgo* deberá tener en cuenta las circunstancias de cada país. En particular, es imperativo conocer las especies de *animales acuáticos* silvestres y de cría pertinentes en el *territorio*, así como su distribución geográfica, *estatus zoonosológico* e importancia económica para la realización eficaz de un *análisis del riesgo*. Asimismo, dicho *análisis del riesgo* deberá incluir información relativa a las vías más importantes de introducción y transmisión, las etapas del ciclo de vida, la persistencia en el medio ambiente, la probabilidad de erradicación, que servirán de base a las estrategias y de control de *enfermedad* y opciones de respuesta que se indican en el Artículo 4.X.10.

La *autoridad competente* deberá revisar regularmente la lista de *enfermedades* importantes de los *animales acuáticos* que pueden ser objeto de medidas de emergencia. El *análisis del riesgo* deberá tener en cuenta los últimos descubrimientos científicos pertinentes y llevarse a cabo de forma periódica, con el fin de evaluar la amenaza de *enfermedades emergentes*. Los cambios en las especies de cría y en la distribución o virulencia de los *agentes patógenos* conocidos deberán reflejarse en las listas de *enfermedades* de cada país. La *autoridad competente* deberá asegurarse de que reúne los datos necesarios para completar y actualizar los *análisis del riesgo*.

Actividades de *vigilancia*

La sospecha de un *brote* de una *enfermedad* importante de los *animales acuáticos*, sujeta a control estatutario, suele ser el resultado de actividades de *vigilancia*. De esta forma, los sistemas de preparación ante emergencias sanitarias dependerán en gran medida de las actividades de *vigilancia* llevadas a cabo por los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*, de conformidad con el Capítulo 1.4. Los resultados de un marco de preparación ante una emergencia sanitaria dependen fundamentalmente de la calidad de las actividades de *vigilancia*.

Además, si existe una sospecha o si se ha confirmado la presencia de una *enfermedad* importante de los *animales acuáticos*, el *análisis del riesgo* cumple un papel crucial cuando se trata de priorizar las actividades de *vigilancia* como parte de un rastreo epidemiológico prospectivo y retrospectivo.

Medidas de respuesta durante una emergencia sanitaria

Como parte de la planificación de la preparación, se deberán desarrollar protocolos de *evaluación del riesgo* encaminados a apoyar la toma de decisiones de la *autoridad competente* durante un brote. Los protocolos deberán abarcar una serie de opciones de control de la *enfermedad*, por ejemplo, la posibilidad de seguir cultivando el stock en un *establecimiento de acuicultura* infectados hasta que alcance el peso de cosecha (lo que incluirá una evaluación del *riesgo* de propagación dentro de una masa de agua determinada) y la posibilidad de desplazar *animales acuáticos* vivos dentro de las *zonas infectadas*.

Deberá realizarse una *evaluación del riesgo* de las actividades de despoblación para garantizar que se llevan a cabo con el mínimo riesgo de propagación de la *enfermedad*. Además, antes de la repoblación, se deberá completar una *evaluación del riesgo* dirigida a determinar si se requieren medidas adicionales de mitigación del *riesgo* para prevenir la reinfección de la nueva población de *animales acuáticos*.

- **Artículo 4.X.7.**

Plan de emergencia

La *autoridad competente* deberá decidir si el *plan de emergencia* se aplica a una *enfermedad* específica de los *animales acuáticos* o a un grupo de tales *enfermedades* que, debido a su similitud, se pueden tratar con eficacia utilizando los mismos principios, como es el caso de ciertas *enfermedades* de los peces en agua dulce, o de ciertas *enfermedades* de los moluscos en agua de mar.

Igualmente, la *autoridad competente* deberá considerar que, debido a la naturaleza de las *enfermedades emergentes*, el *plan de emergencia* y el plan de recuperación que se elaboran para este tipo de *enfermedades* de los *animales acuáticos* deberán ser genéricos. No obstante, estos planes genéricos requerirán un ajuste rápido y eficaz, una vez conocidos los detalles de la *enfermedad emergente* y después de que la *autoridad competente* haya evaluado que la *enfermedad* en cuestión debe ser objeto de medidas de preparación ante emergencias sanitarias.

El *plan de emergencia* deberá incluir como mínimo los siguientes componentes:

- 1) el establecimiento de una cadena de mando clara dentro del país, desde el nivel central hasta los niveles regionales y locales, con la *autoridad competente* a la cabeza. Esta cadena de mando deberá incluir a los responsables de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* que no se ocupan directamente de la sanidad de los *animales acuáticos*, pero que tengan un papel dentro del marco de preparación ante emergencias sanitarias;
- 2) un marco de cooperación entre la *autoridad competente* y los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*. Esta cooperación deberá:
 - a) garantizar que todas las medidas que forman parte del plan se comprendan y se discutan antes y durante cualquier brote de *enfermedad*, de modo que se puedan tomar decisiones rápidas y eficaces cuando sea necesario;
 - b) organizar como mínimo los siguientes grupos, que se reunirán con una frecuencia que podrá variar en función de la fase de la emergencia:
 - i) un grupo de gestión de emergencias formalmente reconocido y presidido por la *autoridad competente*;
 - ii) subgrupos especializados que proporcionarán asesoramiento específico para consideración de grupo operativo de emergencia, por ejemplo, grupo de epidemiología, grupo de laboratorio, grupo de logística, grupo de comunicación, grupo de medioambiente, de productores, de apoyo psicológico y de salud mental;

-
- 3) identificación y modalidades de acceso a:
 - a) centros de control de *enfermedades* locales y centrales;
 - b) laboratorios;
 - c) equipos;
 - d) personal capacitado;
 - e) gestión de datos o sistemas de información;
 - f) materiales y recursos adicionales que puedan ser necesarios, por ejemplo, telecomunicaciones, transporte, vacunas y expertos (por ejemplo, en logística, gestión pesquera, protección del medio ambiente);
 - g) proveedores de servicios (por ejemplo, contratistas de eliminación de residuos, proveedores de equipos de protección individual (EPI), proveedores de productos químicos y generadores de reserva);
 - 4) las medidas generales de *bioseguridad* y de control de *enfermedades* que se tomarán en caso de sospecha o confirmación de la presencia de una *enfermedad* importante de los *animales acuáticos* a la que se aplique el plan de emergencia. Las medidas generales de *bioseguridad* que se implementarán en los *establecimientos de acuicultura* deberán ajustarse a las medidas descritas en el Capítulo 4.1. Deberá tenerse en cuenta la coordinación de las medidas de control con los países vecinos que compartan masas de agua;
 - 5) en cuanto a las medidas específicas de control de *enfermedades*, deberá considerarse la duración del período de *vacío sanitario* que puede aplicarse tras la despoblación, la limpieza y la *desinfección*, utilizando la *evaluación del riesgo*. Dicha evaluación deberá tener en cuenta factores pertinentes como la naturaleza del *agente patógeno* en cuestión, el tipo y la extensión del sistema de producción, los factores hidrográficos y la naturaleza de las poblaciones locales de *animales acuáticos* silvestres. Igualmente, la *evaluación del riesgo* deberá informar de la necesidad de sincronizar el *vacío sanitario* de varios *establecimientos de acuicultura*, en determinadas circunstancias;
 - 6) las posibles opciones de respuesta que pueden aplicarse para gestionar un *brote de enfermedad*, basándose en la *evaluación del riesgo*. Dichas opciones de respuesta dependerán de la progresión del *brote de enfermedad* y podrán incluir medidas como la erradicación, la contención mediante medidas de *bioseguridad*, la mitigación de las consecuencias de la *enfermedad* o la no respuesta a la *enfermedad*;
 - 7) la estrategia de *comunicación sobre el riesgo* que se aplicará durante cada etapa del proceso, tanto dentro de las distintas autoridades y servicios como entre ellos y con las partes interesadas pertinentes. Por ejemplo, el *plan de emergencia* deberá establecer la naturaleza y el calendario de las comunicaciones con el personal descrito en los anteriores apartados 2 b) (i) e (ii), así como tener en cuenta la participación de la comunidad, cuando sea necesario.

En el Capítulo 4.Y., se describen las medidas necesarias para ejecutar los anteriores apartados 1 a 7.

- **Artículo 4.X.8.**

Ejercicios de simulación

Los ejercicios de simulación constituyen un elemento esencial de la preparación ante una emergencia sanitaria. Los distintos objetivos de dichos ejercicios consisten en validar y poner a prueba la funcionalidad e idoneidad del *plan de emergencia* y de las medidas operativas descritas en el Capítulo 4.Y. Igualmente, los ejercicios de simulación validarán y pondrán a prueba la capacidad de las *autoridades competentes* y de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*, con el fin de responder a una *enfermedad* importante de los *animales acuáticos*. El marco de preparación ante emergencias sanitarias deberá prever la realización periódica de ejercicios de simulación, con el fin de comprobar que todo el personal esté debidamente capacitado y preparado para las tareas asignadas.

La *autoridad competente* deberá establecer una frecuencia mínima para efectuar tales ejercicios, a fin de garantizar una preparación previa a la ejecución eficaz de los diversos elementos del *plan de emergencia*, en caso de activación. Los

ejercicios de simulación pueden organizarse dentro de un país o entre las *autoridades competentes* y los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* de países o zonas con masas de agua compartidas.

Un ejercicio de simulación deberá tener objetivos claramente definidos con respecto a los elementos del marco o la capacidad de respuesta ante brotes en curso de evaluación. Los objetivos determinarán el tipo de ejercicio, la participación y el diseño del mismo.

La planificación, organización y realización de ejercicios de simulación deberán tener en cuenta los siguientes puntos:

- 1) la utilización de diferentes tipos de ejercicios, por ejemplo, ejercicios teóricos de simulación, ejercicios de campo limitados o ejercicios de campo más extensos;
- 2) la escala, la frecuencia y el alcance de los ejercicios deberán basarse en la priorización de riesgos, completada por la *autoridad competente*, teniendo en cuenta cualquier nuevo factor de riesgo identificado;
- 3) los ejercicios deberán incluir a la *autoridad competente* en los diferentes niveles administrativos, así como a los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* que participarán en la aplicación del *plan de emergencia* en caso de emergencia sanitaria;
- 4) los ejercicios deben poner a prueba la capacidad de la *autoridad competente* para gestionar cada elemento del marco de preparación ante emergencias sanitarias, desde la alerta inicial de *enfermedad* hasta el final de la fase de recuperación;
- 5) al finalizar, la evaluación minuciosa de cada ejercicio de simulación a cargo de la entidad organizadora, con el objetivo de identificar:
 - a) los elementos adecuados para el marco de preparación ante emergencias sanitarias y los que no corresponden;
 - b) la preparación y capacidad de la *autoridad competente* y de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* de responder a los elementos del marco de preparación ante emergencias sanitarias puestos a prueba durante el ejercicio.

- **Artículo 4.X.9.**

Revisión y análisis

La *autoridad competente* deberá establecer un mecanismo para mejorar su marco de preparación ante emergencias sanitarias mediante la revisión periódica y, de ser necesario, la revisión de sus distintos elementos.

La lista de *enfermedades* de los *animales acuáticos* sujetas al marco de preparación ante emergencias deberá ser objeto de una revisión continua, tal y como se describe en el Artículo 4.X.6.

El examen y la revisión del *plan de emergencia* y de las medidas operativas establecidas en el Capítulo 4.Y. deberán tener en cuenta los resultados de la evaluación de los ejercicios de simulación descritos en el Artículo 4.X.8., así como la implementación de una respuesta de emergencia a la *enfermedad*, cuando proceda.

Por consiguiente, es posible que el proceso de revisión requiera un análisis del *plan de emergencia* o de otros elementos del marco de preparación ante emergencias. Estos ejercicios y respuestas también deberán utilizarse para poner de relieve las necesidades de formación del personal de la *autoridad competente* y de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*, y para informar sobre la posible revisión de la legislación que sustenta el marco.

El examen y la revisión periódicos del marco de preparación ante emergencias también deberán tener en cuenta las medidas destinadas a reforzar el *plan de emergencia* o a prevenir otra situación de emergencia, por ejemplo, la actualización de la información científica, las mejoras tecnológicas o las prácticas pertinentes, así como cualquier otro elemento nuevo que mejore la idoneidad y la eficacia generales del marco.

Todas las revisiones realizadas como resultado del proceso de revisión descrito anteriormente deberán comunicarse a los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* dentro de un plazo acordado.

- **Artículo 4.X.10.**

Opciones de respuesta

La *autoridad competente* deberá tener en cuenta que el objetivo inicial que es el de completar con éxito un programa de erradicación y la recuperación del estatus libre de *enfermedad* en un país, zona o compartimento tras un brote de *enfermedad* puede cambiar a medida que el brote se desarrolla.

Si bien el objetivo del plan de recuperación puede ser restituir la ausencia de *enfermedad* existente antes del brote, deberá tenerse en cuenta que, en ciertos casos, el estatus *zoosanitario* de los *animales acuáticos* alcanzado una vez finalizada la emergencia puede no ser el mismo que existía antes de producirse el brote. Por lo tanto, en el marco se deberán establecer varias opciones de respuesta, en las que se puede basar el plan de recuperación, en función de la situación epidemiológica existente al finalizar la emergencia.

En cuanto a las *enfermedades* de los *animales acuáticos* enumeradas en el Capítulo 1.3., y teniendo presente el Capítulo 1.4., las posibles opciones que la *autoridad competente* podrá considerar en el marco de su plan de recuperación son las siguientes:

- 1) demostrar el restablecimiento de la ausencia de *enfermedad* a nivel de un país, zona o compartimento;
- 2) establecer una *zona libre de enfermedad* en un país previamente libre de *enfermedad*;
- 3) establecer una *zona libre de enfermedad* redefinida (reducida);
- 4) establecer uno o más *compartimentos* libres de *enfermedad*;
- 5) renunciar al estatus de libre de *enfermedad* y tomar medidas para contener la *enfermedad*;
- 6) tomar las medidas diseñadas para mitigar las consecuencias de la *enfermedad*;
- 7) aceptar que ninguna de las opciones anteriores es viable y que no se aplicarán medidas oficiales de control de *enfermedades*.

En el caso que se interrumpan las operaciones de control de la *enfermedad* antes de recuperar el estatus de país o zona libre de *enfermedad* previo al brote, el plan de recuperación deberá establecer la forma en que la *autoridad competente* buscará la posibilidad de establecer zonas o *compartimentos libres de enfermedad* redefinidos.

Si no pueden aplicarse las opciones descritas en los anteriores apartados 1 a 6 por razones epidemiológicas, logísticas o económicas, la *autoridad competente* podrá aceptar una evolución del estatus libre de *enfermedad* a otro en la que la *enfermedad* se haya vuelto endémica, pero en la que la situación epidemiológica permanezca estable.

En cuanto a las *enfermedades* de los *animales acuáticos* de importancia que no figuran en el Capítulo 1.3., pero que se contemplan en la legislación nacional de un país, la *autoridad competente* podrá decidir la implementación de una gama de opciones similar a las descritas en los anteriores apartados 1 a 4. Sin embargo, estas últimas no entrarían en el ámbito de aplicación de los estatus oficiales *libres de enfermedad* que pueden establecerse para un país, una zona o un *compartimento*, tal y como se describe en el Capítulo 1.4.

- **Artículo 4.X.11.**

Plan de recuperación

La *autoridad competente* deberá decidir si el plan de recuperación se aplica a una *enfermedad* específica de los *animales acuáticos* o a un grupo de estas *enfermedades* que, debido a su similitud, podrán gestionarse con eficacia utilizando los

mismos principios, por ejemplo, ciertas *enfermedades* de los peces en agua dulce y ciertas *enfermedades* de los moluscos en agua salada.

El plan de recuperación deberá activarse cuando la *autoridad competente* haya declarado el final de la emergencia. El momento en que concluye la emergencia y la naturaleza del plan de recuperación se determinarán mediante una *evaluación del riesgo*, que tendrá en cuenta los siguientes factores, así como las opciones descritas en el Artículo 4.X.10.:

- 1) la distribución geográfica actual del *agente patógeno*;
- 2) si la *enfermedad* se ha establecido o no en poblaciones de *animales acuáticos* silvestres;
- 3) los costos y la viabilidad de establecer y mantener la ausencia de *enfermedades* a nivel de país, zona o *compartimento*, teniendo en cuenta las conexiones hidrológicas y epidemiológicas;
- 4) el impacto socioeconómico de la o las posibles opciones de recuperación;
- 5) cualquier *riesgo* que la *enfermedad* implique para las poblaciones vulnerables de *animales acuáticos* silvestres en las áreas infectadas o adyacentes.

En lo que respecta a las opciones de respuesta descritas en los apartados 1 a 6 del Artículo 4.X.10., el plan de recuperación deberá incluir información detallada sobre las medidas que la *autoridad competente* y los operadores de los *establecimientos de acuicultura* deberán adoptar para:

- 6) preparar una *autodeclaración de ausencia de enfermedad*, tal como se contempla en los apartados 1 a 4 del Artículo 4.X.10., o
- 7) implementar las medidas de *bioseguridad* adecuadas, de conformidad con el Capítulo 4.1., con el fin de garantizar la contención de la *enfermedad*, tal como se contempla en el apartado 5 del Artículo 4.X.10., o
- 8) aplicar las medidas de mitigación contempladas en el apartado 6 del Artículo 4.X.10., por ejemplo, vacunación, cambio de especies de producción o modificación de las prácticas de cría;
- 9) considerar los requisitos de investigación para respaldar las medidas indicadas en los apartados 6 a 8.

- TÍTULO 4
- PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES
- CAPÍTULO 4.Y.
- GESTIÓN DE BROTE DE ENFERMEDAD
 - Artículo 4.Y.1.

Objetivo

Brindar recomendaciones sobre las medidas que deberán aplicar la *autoridad competente* y los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos*, con el fin de gestionar la respuesta de emergencia ante la sospecha o confirmación de la presencia de una *enfermedad* de los *animales acuáticos* de importancia y activar sus *planes de emergencia* descritos en el Capítulo 4.X.

- Artículo 4.Y.2.

Ámbito de aplicación

Brindar recomendaciones sobre las medidas que deberán tomar la *autoridad competente* y los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* desde el momento de la sospecha de la presencia de una *enfermedad* importante, como se describe en el Artículo 4.X.6. en un país, *zona* o un *compartimento libres de enfermedad*, o desde la sospecha o confirmación de su presencia en una población epidemiológicamente vinculada, hasta el momento en que comienza la fase de recuperación. Estas medidas traducen los elementos descritos en el Capítulo 4.X., necesarios para gestionar el *brote de enfermedad*.

- Artículo 4.Y.3.

Principios generales

El éxito de la gestión de una respuesta de emergencia deberá tener en cuenta los siguientes principios:

- 1) las medidas que deberán aplicar la *autoridad competente* y los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* deberán basarse en el marco de preparación ante emergencias sanitarias elaborado de acuerdo con el Capítulo 4.X.;
- 2) los elementos operativos del marco de preparación ante emergencias sanitarias deberán describirse en un Manual de Operaciones. La *autoridad competente* podrá basarse en este manual para obtener orientaciones sobre todos los aspectos de la respuesta, incluidas las medidas a tomar durante las fases de alerta, emergencia y recuperación;
- 3) el objetivo inicial de la respuesta tras un *brote de enfermedad* es erradicar la *enfermedad*, lo que permite que un país, *zona* o *compartimento* recupere su estatus libre de *enfermedad*. Sin embargo, si la progresión del *brote* impide alcanzar este objetivo, deberán enumerarse otras medidas que ayuden a la *autoridad competente* a buscar una vía alternativa con vistas a la recuperación;
- 4) las medidas descritas en el Manual de Operaciones deberán ejecutarse de forma oportuna y coordinada, estar en manos de un personal competente, con acceso a todos los recursos necesarios para gestionar el *brote* de la *enfermedad*.

- **Artículo 4.Y.4.**

Fase de alerta

Las medidas que deberán adoptarse en el marco de una fase de alerta frente a una emergencia deberán tener en cuenta los siguientes factores:

- 1) la fase de alerta comienza con la sospecha de la presencia de una *enfermedad* de los *animales acuáticos* de importancia, generalmente como consecuencia de una *vigilancia pasiva* o activa en el país, o en otro país vecino o socio comercial. Durante esta fase, la *autoridad competente* tomará las medidas necesarias, con el fin de detectar la presencia de la *enfermedad* y evitar una posible propagación;
- 2) tras el inicio de esta fase, deberá comenzar la investigación epidemiológica destinada a:
 - a) confirmar o descartar la presencia de la *enfermedad*, en el plazo lo más breve posible;
 - b) determinar si la *enfermedad* se ha propagado desde o hacia *establecimientos de acuicultura* o en masas de agua distintos de aquel que había originado la sospecha inicial;
- 3) durante la investigación epidemiológica:
 - a) la *vigilancia* basada en el *riesgo* se utiliza con vistas a establecer la prioridad entre las poblaciones de *animales acuáticos*, identificada a través del rastreo, deberá ser objeto de un muestreo prioritario. Por ejemplo, deberán tener la prioridad de una inspección clínica y muestreo los *establecimientos de acuicultura* estrechamente relacionados con el *establecimiento de acuicultura* o las masas de agua objeto de sospechas, a través de los desplazamientos de *animales acuáticos* vivos y otras vías de transmisión, según se describe en el Artículo 4.1.7.;
 - b) las muestras deberán enviarse a los laboratorios identificados en el *plan de emergencia*, según se describe en el Capítulo 4.X., por estar equipados de forma adecuada y contar con el personal necesario para obtener resultados fiables en el plazo más breve posible;
- 4) durante la fase de alerta, en base al Capítulo 4.1., la *autoridad competente* deberá seguir las etapas para prevenir la propagación de la *enfermedad* implementando *medidas de bioseguridad* mejoradas en el *establecimiento de acuicultura* o la masa de agua en cuestión. Igualmente, deberán considerarse otras medidas específicas de control de *enfermedades*, tales como:
 - a) prohibir el desplazamiento de *animales acuáticos* y *productos de animales acuáticos*, así como de equipos, *vehículos*, *piensos* y *residuos de animales acuáticos* dese o hacia el *establecimiento de acuicultura* o la masa de agua, a menos que lo autorice la *autoridad competente* a partir de una evaluación del riesgo;
 - b) ampliar las medidas descritas anteriormente a otros *establecimientos de acuicultura* o masas de agua con un vínculo epidemiológico con el *establecimiento de acuicultura* o la masa de agua objeto de sospechas;
- 5) mientras se espera el resultado de la investigación epidemiológica descrita anteriormente, la *autoridad competente* deberá comunicarse con el grupo de gestión de emergencias, tal y como se describe en el Capítulo 4.X., y convocar una reunión para informarles de la evolución de la situación y revisar el *plan de emergencia*. Los objetivos de esta revisión son:
 - a) reforzar la estructura de la cadena de mando y el marco de cooperación descritos en el Artículo 4.X.6.;
 - b) asegurarse de que el *plan de emergencia*, tal y como se describe en el Capítulo 4.X., está listo para activarse completamente en caso de que se confirme la presencia de la *enfermedad* en cuestión en el país, la zona o el *compartimento*;
 - c) introducir las actualizaciones necesarias encaminadas a garantizar que el *plan de emergencia* esté listo para su activación inmediata;

-
- 6) durante la confirmación de la presencia de la *enfermedad* en cuestión, la *autoridad competente* deberá comunicarse con el personal, los laboratorios y los contratistas pertinentes, y alertarlos para asegurarse de que están preparados para actuar con la mayor rapidez posible, de conformidad con el *plan de emergencia*, si se confirma la *enfermedad*. Dichas comunicaciones se realizan utilizando los datos de contacto registrados de conformidad con el Capítulo 4.X.;
 - 7) la *autoridad competente* deberá esforzarse por garantizar que la fase de alerta sea lo suficientemente corta como para minimizar la propagación de la *enfermedad* y lo suficientemente larga como para garantizar que la sospecha se ha confirmado o descartado con exactitud;
 - 8) en caso de que no se confirme la sospecha, se da por concluida la fase de alerta y se procede a la revisión del *plan de emergencia*, si procede;
 - 9) la fase de alerta finaliza cuando la *autoridad competente* confirma o descarta la presencia de una *enfermedad* considerada de importancia. Se establecerá contacto con los agentes pertinentes de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* para informarles de que se pone fin a la fase de alerta y de que la situación vuelve a ser de paz o pasa a la fase de emergencia, tal y como se describe en el Artículo 4.Y.5.

- **Artículo 4.Y.5.**

Fase de emergencia

La fase de emergencia de la gestión de un *brote de enfermedad* comienza cuando se confirma la presencia de una *enfermedad* importante. Las medidas que deberán tomarse durante la fase de emergencia se establecen en el *plan de emergencia* y las medidas detalladas asociadas se establecen en el Manual de Operaciones, teniendo en cuenta los siguientes factores:

- 1) la cadena de mando descrita en el Artículo 4.Y.6.;
- 2) las instalaciones, competencias y recursos adecuados descritos en el Artículo 4.Y.7.;
- 3) la *bioseguridad* y otras medidas de control de *enfermedad* según se describen en el Artículo 4.Y.8.

- **Artículo 4.Y.6.**

Cadena de mando

Tan pronto como se confirme el *brote de enfermedad*, la *autoridad competente* convocará una reunión del grupo de gestión de emergencias, según se describe en el Capítulo 4.X. y comenzará la activación de todos los elementos del *plan de emergencia*.

En la primera reunión del grupo de gestión de emergencias, se examinarán al menos las siguientes cuestiones, con la asistencia de los subgrupos de especialistas pertinentes:

- 1) la información epidemiológica más actualizada disponible sobre la emergencia de la *enfermedad*, que incluye:
 - a) localización del o de los casos confirmados, incluidas referencias cartográficas y mapas;
 - b) inventario de las especies presentes en el o los *establecimientos de acuicultura* infectados y número y peso de los *animales acuáticos*;
 - c) situación clínica, incluida la descripción de los signos clínicos y las estimaciones de morbilidad y mortalidad;
 - d) identificación del caso índice;
 - e) detalles de las especies *susceptibles* en las proximidades del o los casos confirmados;
 - f) resultados de la rastreabilidad y la *vigilancia* preliminares;

-
- g) resultado de la *evaluación del riesgo* previa;
- 2) objetivos y opciones de respuesta inmediata, teniendo en cuenta la información epidemiológica disponible mencionada anteriormente, que incluye:
 - a) confirmación oficial del *brote de enfermedad* a los operadores afectados;
 - b) notificación internacional de acuerdo con el Capítulo 1.1.;
 - c) refuerzo de las medidas preliminares de *bioseguridad* aplicadas durante la "fase de alerta", la imposición de nuevas medidas de control de la *enfermedad*, o ambas;
 - 3) problemas comerciales que puedan surgir en el país al igual que con los socios comerciales de otros lugares;
 - 4) revisión de las disposiciones jurídicas, administrativas y financieras con miras a garantizar que se dispone de todos los medios pertinentes para gestionar inmediatamente la emergencia de la *enfermedad*. Esto deberá incluir:
 - a) detalles del instrumento jurídico que respalda la financiación destinada a la gestión de emergencias sanitarias relacionadas con los *animales acuáticos*;
 - b) datos de contacto del departamento competente que tramitará la solicitud de fondos una vez activado el *plan de emergencia*;
 - c) detalles sobre los mecanismos de transferencia de los fondos, la frecuencia de las transferencias y el personal autorizado a disponer de los fondos;
 - 5) el formato y el calendario de las comunicaciones con los *servicios de sanidad de los animales acuáticos* que están respondiendo a la emergencia, los socios comerciales pertinentes y el público. Dichas comunicaciones se basan en proyectos de comunicados de prensa y cartas a los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* preparados en tiempos de paz y ajustados en consecuencia, con el fin de adaptarse a las circunstancias en curso;
 - 6) un calendario de reuniones durante toda la fase de emergencia de la respuesta para una mayor flexibilidad de programación de las reuniones organizadas con poca anticipación, cuando sea necesario.

- **Artículo 4.Y.7.**

Instalaciones, capacidades y recursos apropiados

- 1) Centros de control de enfermedad
 - a) La *autoridad competente* establecerá un control central de las *enfermedades* y, si es necesario, un número apropiado de centros locales de control de *enfermedad*. Estos centros, identificados en el *plan de emergencia*, deberán tener la capacidad de proporcionar al menos lo que sigue:
 - i) una infraestructura apropiada en términos de tecnologías de la información y de telecomunicaciones adecuadas;
 - ii) sistemas de información para gestionar la colecta de datos relativos a los *establecimientos de acuicultura*, los detalles de la colecta de muestras y los resultados de laboratorio asociados, así como la imposición de medidas de control de *enfermedades* a los *establecimientos de acuicultura* y los transportistas;
 - iii) espacio para preparar y almacenar los kits de muestreo para enviarse en el terreno;
 - iv) puntos de *desinfección* para el personal que participe en el muestreo y la inspección de los *establecimientos de acuicultura*;

-
- v) área de almacenamiento de los kits de campo, equipos de protección personal y material de limpieza y *desinfección*;
 - vi) medidas de *bioseguridad* adecuadas a las instalaciones específicas y la finalidad de uso.
- b) El personal de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* responsable de los centros de control de *enfermedades*, locales o centralizados se han identificado en el *plan de emergencia*. Desde el punto de vista operativo, este grupo incluye, en función de las necesidades, al personal técnico, administrativo y jurídico plenamente capacitado para llevar a cabo las siguientes tareas, de acuerdo con los procedimientos estándar detallados que figuran en el Manual de Operaciones:
- i) inspecciones clínicas de los *establecimientos de acuicultura* y de los hábitats acuáticos silvestres, cuando sea necesario;
 - ii) colecta de muestras;
 - iii) preparación y publicación de avisos legales;
 - iv) gestión de las medidas generales de *bioseguridad* y de otras medidas específicas de control de *enfermedades*;
 - v) comunicaciones con el personal pertinente y las partes interesadas.

2) Laboratorios

- a) Mientras dure la emergencia, los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* deberán enviar muestras a los laboratorios identificados en el *plan de emergencia*. Dichos laboratorios proporcionan pruebas e informes rápidos y precisos, en función de los siguientes recursos:
- i) personal debidamente formado y competente;
 - ii) equipos adecuados, bien mantenidos y aptos para el uso previsto;
 - iii) una gama y una cantidad suficientes de consumibles;
 - iv) sistemas de información adecuados para garantizar la trazabilidad de las muestras y la notificación de los resultados de laboratorio;
 - v) medidas de *bioseguridad* adecuadas para contener el *agente patógeno* en cuestión.

Los datos de contacto del personal mencionado en el apartado i) y los de las empresas que prestan los servicios y bienes mencionados en los apartados ii), iii) y iv) se detallan en el Manual de Operaciones.

- b) Para las *enfermedades de la lista de la OMSA*, los métodos de laboratorio deberán respetar lo indicado en el capítulo pertinente del *Manual Acuático* de la OMSA. En el caso de las enfermedades que no figuran en la lista, se deberá utilizar un procedimiento indicado en el Manual de Operaciones u otro método que se haya validado para el uso previsto.

3) Proveedores de servicios

- a) La disponibilidad de los proveedores de servicios relevantes durante la fase de emergencia es crucial, en particular si se tiene en cuenta que un *brote de enfermedad* puede extenderse a múltiples *establecimientos de acuicultura* situados en lugares alejados y, potencialmente, a *animales acuáticos silvestres*. Por lo tanto, deberán tomarse medidas que garanticen la disponibilidad de:
- i) encargados de la gestión de la mortalidad que participen en la recuperación y/o el transporte, con capacidad para el tonelaje diario requerido;

-
- ii) instalaciones sanitarias de sacrificio, con capacidad para el tonelaje diario requerido;
 - iii) proveedores de sistemas de telecomunicación;
 - iv) proveedores de equipos y consumibles de laboratorio con plazos de entrega aceptables de artículos nuevos y de sustitución;
 - v) empresas dedicadas al mantenimiento de los equipos de laboratorio y con un tiempo de respuesta aceptable para los equipos de importancia crítica;
 - vi) proveedores de vacunas/productos médicos veterinarios que puedan suministrar un número adecuado de dosis y dispongan de un plazo de entrega apropiado;
 - vii) expertos en los ámbitos pertinentes para la gestión eficaz de la emergencia, que posean las competencias adecuadas (por ejemplo, en los ámbitos de logística, la gestión de pesca, protección del medio ambiente, vacunación o tratamiento de los *animales acuáticos*) y que estén disponibles para hacer frente a situaciones de emergencia;
 - viii) proveedores secundarios para cada tipo de servicio, que pueden ser necesarios en caso de un *brote* más amplio de la *enfermedad*.

Los datos de contacto de los proveedores mencionados en los anteriores apartados (i) a (viii) se detallan en el Manual de Operaciones.

- **Artículo 4.Y.8.**

Bioseguridad y otras medidas de control

Las medidas que la *autoridad competente* toma en materia de *bioseguridad* y otras medidas de control de *enfermedades* durante la fase de emergencia se describen en el Manual de Operaciones e incluyen lo que sigue:

- 1) definición de la *zona infectada* y de las *zonas de protección* en entornos marinos o de agua dulce, según corresponda, tras la confirmación de un *brote* de *enfermedad*, y teniendo en cuenta las recomendaciones del Capítulo 4.2.;
- 2) aportación de mapas que muestren la *zona infectada* y la *zona de protección* circundante, así como los *establecimientos de acuicultura* situados en las mismas;
- 3) coordinación de las medidas relativas a la *bioseguridad* y otras medidas de control de *enfermedades* con otras *autoridades competentes*, cuando el establecimiento de una *zona infectada* o *zonas de protección* afectan a países vecinos;
- 4) especificación de las siguientes medidas pertinentes de *bioseguridad* y otras medidas específicas de control de *enfermedad*:
 - a) control de los desplazamientos de *animales acuáticos*, los *productos de animales acuáticos*, los *piensos* y los equipos hacia o desde el o los establecimientos infectados, a menos que lo autorice la *autoridad competente* tras una *evaluación del riesgo*;
 - b) ampliación de los controles de los movimientos mencionados a otros *establecimientos de acuicultura* o masas de agua que tengan un vínculo epidemiológico con el *establecimiento de acuicultura* en el que haya surgido la sospecha;
 - c) exenciones de las prohibiciones de movimiento descritas anteriormente, en caso de que la *evaluación del riesgo* haya indicado que representan un *riesgo* aceptable o, alternativamente, que se requieren medidas de movimiento más estrictas debido a la evolución de la situación de la *enfermedad*;

-
- d) especificación de los procedimientos que deberán utilizarse cuando se sacrifiquen o maten *animales acuáticos*, en función de su especie, tamaño y número de *animales acuáticos* implicados, es decir:
- i) detalles del equipo y, en su caso, de los productos veterinarios que vayan a utilizarse, así como de sus proveedores;
 - ii) designación de un responsable de bienestar que garantice que los procedimientos se llevan a cabo de acuerdo con las normas más estrictas posibles y, en el caso de los peces, que garantice que el sacrificio o la matanza respeta lo indicado en el Capítulo 7.4.;
 - iii) detalles de las medidas de *bioseguridad* exigidas para garantizar que el sacrificio o la matanza no causan la propagación de la *enfermedad*. Esto incluye las medidas aplicadas a los *vehículos* autorizados a transportar animales o productos desde los establecimientos infectados (o desde otros establecimientos, según indique la *autoridad competente*) hasta las fábricas de transformación o las fábricas de procesamiento o de subproductos animales;
 - iv) opciones de vacunación posibles, en función de las circunstancias del *brote de enfermedad*, incluyendo:
 - ninguna vacunación;
 - vacunación que se aplica en los *establecimientos de acuicultura* situados dentro de la *zona infectada*, es decir, vacunación de supresión, cuyo objetivo es reducir la propagación de la *enfermedad* desde la *zona infectada*;
 - vacunación que se aplica fuera de la *zona infectada* donde no se sospecha ni se ha confirmado la *enfermedad*, es decir, vacunación protectora, cuyo objetivo es prevenir la propagación de la *enfermedad* en las poblaciones de *animales acuáticos* que corren riesgo de infectarse;
 - una combinación de vacunación de supresión y protectora;
- e) las opciones de descontaminación disponibles, teniendo en cuenta las recomendaciones del Capítulo 4.4. Deberá especificarse también una lista de los productos de limpieza, *desinfectantes* y equipos que sean adecuados, estén disponibles en el mercado y cumplan los requisitos de descontaminación relativos al *agente patógeno* en cuestión;
- f) procedimientos de contención de las aguas residuales producidas tras la *desinfección*, elaborados de acuerdo con las instrucciones de las *autoridades competentes* responsables de los vertidos al medio ambiente.

- **Artículo 4.Y.9.**

Fase de recuperación

La fase de recuperación de la gestión del *brote de enfermedad* se activa cuando la *autoridad competente* ha declarado el fin de la emergencia. Esta fase tiene en cuenta el plan de recuperación descrito en el Capítulo 4.X., y las medidas detalladas asociadas que se exponen en el Manual de Operaciones.

1. Cuando la fase de recuperación incluye la voluntad de recuperar el estatus libre de *enfermedad* de conformidad con el Procedimiento 4 mencionado en el Capítulo 1.4., ya sea para la entidad (país, *zona* o *compartimento*) que estaba previamente libre de *enfermedad*, o para hacer una *autodeclaración de ausencia de enfermedad* para una entidad o entidades más pequeñas (*zona(s)* o *compartimento(s)*), esta fase deberá comenzar con una revisión de las *condiciones elementales de bioseguridad* que se aplicaban antes del *brote de enfermedad*. Esta revisión determinará si se requieren medidas sanitarias adicionales para reforzar las *condiciones elementales de bioseguridad* que se aplicarán en la entidad objeto de la nueva *declaración de ausencia de enfermedad*. Al finalizar esta etapa, a su debido tiempo, se procederá a la repoblación de los *animales acuáticos* y al reinicio del comercio. Los objetivos últimos de la fase de recuperación son retornar con éxito a las operaciones en tiempo de paz.

-
2. En los casos en los que la fase de recuperación no incluye la ambición de volver al estatus libre de la *enfermedad*, las medidas necesarias para contener la *enfermedad* o mitigar sus efectos deberán identificarse y establecerse en el Manual de Operaciones.
- a) Cuando el objetivo del plan de recuperación es contener la *enfermedad*, se pueden describir las siguientes medidas:
 - i) controles de movimiento;
 - ii) medidas de *bioseguridad*, según se describe en el Capítulo 4.1.;
 - iii) *desinfección* de los *establecimientos de acuicultura* y los equipamientos, como se describe en el Capítulo 4.4.;
 - iv) periodo de *vacío sanitario*, según se describe en el Capítulo 4.7.;
 - v) manipulación, eliminación y tratamiento de *residuos* de *animales acuáticos*, como se describe en el Capítulo 4.8.
 - b) Cuando el objetivo del plan de recuperación es mitigar el impacto de la *enfermedad*, se pueden describir las siguientes medidas:
 - i) vacunación, utilizando una o más estrategias, tal y como se indica en el Artículo 4.Y.5.;
 - ii) posibilidad de cambiar la producción de una determinada especie de *animal acuático*, que no sea susceptible a la *enfermedad* que causó la emergencia;
 - iii) posibilidad de modificar las prácticas de producción y cría, de modo que se minimicen en la medida de lo posible los factores de *riesgo* que provocan morbilidad o mortalidad en las *especies susceptibles*;
 - iv) formación para los operadores de forma que conozcan mejor la *enfermedad* en cuestión, así como las medidas que pueden adoptarse en el establecimiento para mitigar su impacto.
3. Además, el plan de recuperación puede incluir los siguientes aspectos:
- a) las etapas que son necesarias para:
 - i) permitir la supresión parcial o total de los controles de movimiento pertinentes (incluidas las disposiciones relativas a los permisos), de modo que el comercio afectado pueda reanudarse en el interior del país;
 - ii) iniciar comunicaciones con productores y socios internacionales, con vistas a apoyar una pronta reanudación del *comercio internacional*, o buscar socios comerciales alternativos;
 - b) cualquier medida de *vigilancia* o *bioseguridad* reforzada que pueda aplicarse al reanudarse el comercio dentro del país y con los socios internacionales;
 - c) cualquier recurso que la *autoridad competente* tenga la intención de proporcionar, incluidos los respaldos monetarios, técnicos, de investigación o de otro tipo de interés;
 - d) cualquier revisión de la legislación nacional y de los procedimientos de gestión de los *brotos de enfermedad* que pueda ser necesaria para respaldar el plan de recuperación que se haya elaborado en relación con el *brote de enfermedad* en cuestión;
 - e) comunicación permanente con los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* para explicar los detalles pertinentes del plan de recuperación y reforzar el papel que desempeñan los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* en la futura prevención y control de *enfermedades*.
-

- TÍTULO 4.
- PREVENCIÓN Y CONTROL DE LAS ENFERMEDADES
- CHAPÍTULO 4.Z.
- CONTROL DE LOS AGENTES PATÓGENOS EN LECHA Y EN HUEVOS FECUNDADOS COMERCIALIZADOS DE PECES

- Artículo 4.Z.1.

Objetivo

Brindar recomendaciones sobre el comercio de lecha y huevos fecundados de peces para la *acuicultura* y definir la mitigación del *riesgo* para la importación a un *país, zona o compartimento* libre de enfermedad cuando:

- 1) la intención es el crecimiento y la cría de *animales acuáticos* importados, o
- 2) la intención es establecer nuevas poblaciones para la *acuicultura*.

Para recomendaciones específicas de las enfermedades, consulte el Título 10.

- Artículo 4.Z.2.

Ámbito de aplicación

Este capítulo describe recomendaciones generales para el comercio seguro de lecha y huevos fecundados de peces procedentes de un área que no sea una *zona, país o compartimento* libres de enfermedad. En su conjunto, estas recomendaciones disminuyen progresivamente el *riesgo* de transferencia de la infección a las poblaciones de *animales acuáticos* de una *zona, país o compartimento* libres de enfermedad.

El comercio de lecha y huevos fecundados de peces procedentes de un país, una *zona* o un *compartimento* libres de enfermedad deberá cumplir los requisitos del Artículo 10.X.9. (y el Artículo 10.4.14. cuando se trata de la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón) de los capítulos específicos de las enfermedades de los peces y no se trata en este capítulo.

- Artículo 4.Z.3.

Medidas específicas requeridas para el comercio de lecha y huevos fecundados de peces

El comercio de lecha y huevos fecundados de peces procedentes de un país, una *zona* o *compartimento* que no hayan sido declarados libres de infección por las *enfermedades de la lista de la OMSA* deberá cumplir con los siguientes requisitos:

-
- 1) el estatus sanitario de la población reproductora en el *establecimiento de acuicultura* de origen deberá determinarse. Sólo las poblaciones reproductoras libres de agentes patógenos de preocupación serán aptas para el suministro de los *centros de recolección e incubación*, tal como se describe en el Artículo 4.Z.4.;
 - 2) la leche y los huevos fecundados deberán proceder de un *centro de recolección e incubación* autorizado por la *autoridad competente* del lugar de origen, que opere de conformidad con las condiciones descritas en los Artículos 4.Z.5., 4.Z.6. y 4.Z.7.;
 - 3) la superficie de los huevos fecundados deberá haberse desinfectado antes de la exportación mediante el uso de un método que haya demostrado inactivar los *agentes patógenos*, para los huevos de salmónidos, tal como se describe en el Capítulo 4.5. y de conformidad con las recomendaciones de los capítulos específicos de las enfermedades de los peces (Artículos 10.X.15. para la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón, la infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa y la infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral; Artículo 10.4.20. para la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón);
 - 4) cuando se destine al *comercio internacional*, la remesa deberá estar acompañada por un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos* expedido por la *autoridad competente* del país exportador, en el que se deberá constar que la leche y los huevos fecundados provienen de genitores que han sido confirmados libres de la enfermedad por medio de una prueba, y cumplen con los requisitos de los apartados 1 y 2.

La implementación de las medidas recomendadas en este capítulo deberá cumplir los requisitos de los Capítulos 5.1., 5.2. y 5.3.

- **Artículo 4.Z.4.**

Estatus sanitario de las poblaciones reproductoras en el lugar de origen

Los *establecimientos de acuicultura* con poblaciones reproductoras destinadas a la producción de leche y huevos fecundados de peces procedentes de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarados libres de infección de una *enfermedad de la lista de la OMSA* deberán cumplir los siguientes requisitos:

- 1) estar aprobados por la *autoridad competente*;
- 2) contar con un *plan de bioseguridad* de conformidad con lo previsto en el Capítulo 4.1.;
- 3) las poblaciones reproductoras deberán ser sometidas a pruebas de detección de los *agentes patógenos* de preocupación antes de entrar en el *centro de recolección e incubación* con el fin de demostrar, con un 95% de fiabilidad, que el *agente patógeno* se detectaría si estuviera presente por encima de una prevalencia del 2%, utilizando los métodos de diagnóstico previstos en el *Manual Acuático*. Si los resultados de estas pruebas son positivos, las poblaciones reproductoras no deberán trasladarse al *centro de recolección e incubación*;
- 4) las poblaciones reproductoras destinadas a ser trasladadas a un *centro de recolección e incubación* deberán estar clínicamente sanas en el momento del traslado, no deberán proceder de una población que haya experimentado una mortalidad reciente o en curso y no deberán estar expuestas a animales con un estatus sanitario inferior tras las pruebas realizadas en el apartado 3.

- **Artículo 4.Z.5.**

Centros de recolección e incubación

Los *centros de recolección e incubación* deberán ser aprobados por la *autoridad competente* siempre y cuando el *centro de recolección e incubación*:

- 1) esté bajo la supervisión de un *profesional de la sanidad de los animales acuáticos* o un *veterinario*;
- 2) posea un *plan de bioseguridad* conforme con el Capítulo 4.1.;

-
- 3) esté estructurado para contener grupos de poblaciones reproductoras separadas epidemiológicamente;
 - 4) disponga de un sistema de trazabilidad válido que garantice que cada lote de gametos o huevos fecundados pueda rastrearse hasta un grupo separado epidemiológicamente, y que incluya la documentación y auditoría de los resultados de las pruebas, la historia de *enfermedad* y los desplazamientos de los *animales acuáticos*;
 - 5) esté conformado por:
 - a) una sala de colecta de huevos y lecha;
 - b) un centro de incubación de huevos fecundados;
 - c) un laboratorio de lecha y una zona de almacenamiento de lecha;
 - d) oficinas administrativas;
 - 6) se sometán y se aprueben auditorías de la *autoridad competente* o de una tercera parte autorizada, al menos una vez al año, de conformidad con los requisitos del presente capítulo.

• **Artículo 4.Z.6.**

Control de las poblaciones reproductoras en el centro de recolección e incubación

Las poblaciones reproductoras para la producción de la lecha y los huevos fertilizados de peces deberán cumplir los siguientes requisitos en el *centro de recolección e incubación*:

- 1) en el momento de la extracción, se tomarán muestras individuales de las poblaciones reproductoras y se les someterá a pruebas de detección de las *enfermedades* de los peces de la *lista de enfermedades de la OMSA*, de conformidad con los métodos de diagnóstico descritos en el *Manual Acuático*, en un laboratorio autorizado por la *autoridad competente*;
- 2) los peces que den positivo y cualquier lecha o huevos que de ellos se deriven no deberán comercializarse y todos los gametos y peces de ese grupo epidemiológico deberán eliminarse de manera biológicamente segura. Las instalaciones afectadas deberán desinfectarse para evitar la contaminación cruzada de los demás lotes de lecha o huevos.

• **Artículo 4.Z.7.**

Condiciones aplicables a la recolección y el almacenamiento de la lecha y a la preparación de muestras de lecha en el laboratorio

Para la recolección y el almacenamiento de lecha, el laboratorio deberá cumplir las siguientes condiciones:

- 1) mantener en todo momento la integridad del sistema de trazabilidad tal y como se describe en el Artículo 4.Zs.5.;
 - 2) esterilizar antes de usar los recipientes utilizados para congelar la lecha;
 - 3) producir diluyentes de forma que se protejan de la contaminación con *agentes patógenos*;
 - 4) almacenar la lecha congelada en contenedores herméticamente cerrados en un local separado.
-

Anexo 13. Ítem 6.7. – Modelo de Artículo 10.X.10. del Capítulo 10.5. Infección por el alfavirus de los salmónidos, Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa y Capítulo 10.10. Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral, y Artículo 10.4.15. del Capítulo 10.4. Infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón

- **Modelo de Artículo 10.X.10. del Capítulo 10.5. Infección por el alfavirus de los salmónidos, Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa y Capítulo 10.10. Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral**

- **CAPÍTULO 10.X.**

- **INFECCIÓN POR [PATÓGENO X]**

[...]

- **Artículo 10.X.10.**

Importación, para la acuicultura, de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento no declarados libres de infección por [patógeno X]

Cuando se importen, para la *acuicultura*, *animales acuáticos* de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. procedentes de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarados libres de infección por [patógeno X], la *autoridad competente* del *país importador* deberá evaluar el *riesgo* de conformidad con el Capítulo 2.1. y considerar la aplicación de las medidas de mitigación del riesgo ya sea en *el* o *2* que figuran a continuación.

- 1) Si la intención es el crecimiento y la cría de *animales acuáticos* importados se considerará la aplicación como sigue:

YA SEA

- a) entrega directa de los *animales acuáticos* importados a instalaciones de *cuarentena* donde permanecerán de por vida; y
- b) antes de salir de la *cuarentena* (ya sea en la instalación de origen o en otra instalación de *cuarentena* hasta donde han sido transportados en condiciones adecuadas de *bioseguridad*), los *animales acuáticos* se sacrifican y procesan en uno o más de los *productos de animales acuáticos* enumerados en el Artículo 10.X.3. o en otros productos autorizados por la *autoridad competente*; y
- c) tratamiento de toda el agua utilizada para el transporte, de los equipos, efluentes y despojos con el fin de inactivar [patógeno X] (de conformidad con los Capítulos 4.4., 4.8. y 5.5.).

O

- d) aplicación de los requisitos del Capítulo 4.Z.

O

2) Si la intención es establecer nuevas poblaciones para la *acuicultura*, se tendrá en cuenta lo siguiente:

YA SEA

a) en el *país exportador*:

- i) identificar las fuentes posibles de población y evaluar el historial sanitario de sus *animales acuáticos*;
- ii) someter a prueba las poblaciones de origen de acuerdo con el Capítulo 1.4. y seleccionar una población fundadora (F-0) de *animales acuáticos* con un alto estatus sanitario para la infección por [patógeno X];

b) en el *país importador*:

- i) importar la población fundadora (F-0) a instalaciones de *cuarentena*;
- ii) examinar la población F-0 para [patógeno X] de conformidad con el Capítulo 1.4. para determinar su idoneidad como población reproductora;
- iii) producir una población de primera generación (F-1) en *cuarentena*;
- iv) criar la población F-1 en *cuarentena* durante una duración suficiente, y en condiciones favorables, para la expresión clínica de la infección por [patógeno X], y extraer muestras y realizar pruebas para la detección del [patógeno X] de conformidad con el Capítulo 1.4. del *Código Acuático* y el Capítulo 2.3.6. del *Manual Acuático*;
- v) si no se detecta [patógeno X], la población F-1 puede ser definida libre de infección por [patógeno X] y liberada de la *cuarentena*;
- vi) si se detecta [patógeno X], la población F-1 no puede ser liberada de la *cuarentena* y deberá sacrificarse y eliminarse de manera biológicamente segura de acuerdo con el Capítulo 4.8.;

Q

c) aplicación de los requisitos del Capítulo 4.Z.

[...]

- **CAPÍTULO 10.4.**
- **INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN**

• [...]

- **Artículo 10.4.15.**

Importación, para la acuicultura, de animales acuáticos de un país, una zona o un compartimento no declarados libres de infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón

Cuando se importen, para la *acuicultura*, *animales acuáticos* de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.4.2. procedentes de un país, una *zona* o un *compartimento* no declarados libres de infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón, la *autoridad competente* del país importador deberá evaluar el *riesgo* de conformidad con el Capítulo 2.1. considerar la aplicación de las medidas de mitigación del riesgo ya sea en los apartados 1 y o 2 que figuran a continuación:

1) Si la intención es el crecimiento y la cría de *animales acuáticos* importados se considerará la aplicación como sigue:

YA SEA

- a) entrega directa de los *animales acuáticos* importados a instalaciones de *cuarentena* donde permanecerán de por vida; y
- b) antes de salir de la *cuarentena* (ya sea en la instalación de origen o en otra instalación de *cuarentena* hasta donde han sido transportados en condiciones adecuadas de *bioseguridad*), los *animales acuáticos* se sacrifican y procesan en uno o más de los *productos de animales acuáticos* enumerados en el Artículo 10.4.3. o en otros productos autorizados por la *autoridad competente*; y
- c) tratamiento de toda el agua utilizada para el transporte, de los equipos, efluentes y despojos con el fin de inactivar el virus de la anemia infecciosa del salmón (de conformidad con los Capítulos 4.4., 4.8. y 5.5.);

Q

d) aplicación de los requisitos del Capítulo 4.Z.

Q

2) Si la intención es establecer nuevas poblaciones para la *acuicultura*, se tendrá en cuenta lo siguiente:

YA SEA

- a) en el *país exportador*:
 - i) identificar las fuentes posibles de población y evaluar el historial sanitario de sus *animales acuáticos*;
 - ii) examinar las poblaciones de origen de acuerdo con el Capítulo 1.4. y seleccionar una población fundadora (F-0) de *animales acuáticos* con un alto estatus sanitario para la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón;
- b) en el *país importador*:
 - i) importar la población fundadora (F-0) a instalaciones de *cuarentena*;

-
- ii) examinar la población F-0 para el virus de la anemia infecciosa del salmón de conformidad con el Capítulo 1.4. para determinar su idoneidad como población reproductora;
 - iii) producir una población de primera generación (F-1) en *cuarentena*;
 - iv) criar la población F-1 en *cuarentena* durante una duración suficiente, y en condiciones favorables, para la expresión clínica de la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón, y extraer muestras y realizar pruebas para la detección del virus de la anemia infecciosa del salmón de conformidad con el Capítulo 1.4. del *Código Acuático* y el Capítulo 2.3.6. del *Manual Acuático*;
 - v) si no se detecta el virus de la anemia infecciosa del salmón, la población F-1 puede ser definida libre de infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón y liberada de la *cuarentena*;
 - vi) si se detecta el virus de la anemia infecciosa del salmón, la población F-1 no puede ser liberada de la *cuarentena* y deberá sacrificarse y eliminarse de manera biológicamente segura de acuerdo con el Capítulo 4.8.;

Q

c) aplicación de los requisitos del Capítulo 4.Z.

[...]

Anexo 14. Ítem 6.7. – Modelo de Artículo 10.X.15. del Capítulo 10.5. Infección por el alfavirus de los salmónidos, Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa y Capítulo 10.10. Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral, y Artículo 10.4.20. del Capítulo 10.4. Infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón

- **Modelo de Artículo 10.X.15. del Capítulo 10.5. Infección por el alfavirus de los salmónidos, Capítulo 10.6. Infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa y Capítulo 10.10. Infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral**

- **CAPÍTULO 10.X.**

- **INFECCIÓN POR [PATÓGENO X]**

- [...]

- **Artículo 10.X.15.**

Importación ~~de lecha y huevos fecundados de peces~~, para la acuicultura, ~~de huevos desinfectados~~ de un país, una zona o un compartimento no declarados libres de infección por [patógeno X]

Cuando se importen, para la acuicultura, lecha o huevos fecundados de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. procedentes de un país, una zona o compartimento no declarados libres de infección por [patógeno X], la autoridad competente del país importador deberá asegurarse de que:

- 1) la remesa cumple con los requisitos mencionados en el Capítulo 4.Z.; y
- 2) se han desinfectado los huevos fecundados mediante un método que ha demostrado inactivar los agentes patógenos, para los huevos de salmónidos de acuerdo con las recomendaciones del Capítulo 4.5.; y
- 3) todo tipo de agua (incluido el hielo), equipos, contenedores y material de envase utilizado en el transporte se han tratado para garantizar la inactivación del [patógeno X] o se ha eliminado de forma biosegura de acuerdo con los Capítulos 4.4., 4.8. y 5.5.; y
- 4) todos los efluentes y materiales de desecho se han tratado para garantizar la inactivación del [patógeno X] o se ha eliminado de forma biosegura de acuerdo con los Capítulos 4.4. y 4.8.

La autoridad competente deberá contemplar medidas internas, como una desinfección adicional de los huevos a su llegada al país importador.

La remesa deberá estar acompañada por un certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos expedido por la autoridad competente del país exportador y donde deberá constar que la lecha y los huevos fecundados cumplen con las recomendaciones en los Artículos 4.Z.3. a 4.Z.7.

- 1) Cuando se importen, para la acuicultura, huevos desinfectados de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. procedentes de un país, una zona o un compartimento no declarados libres de infección por [patógeno X], la autoridad competente del país importador deberá evaluar al menos los siguientes aspectos:

-
- a) ~~la probabilidad de que el agua utilizada durante la desinfección de los huevos esté contaminada por [patógeno X];~~
- b) ~~la prevalencia de la infección por [patógeno X] en la reserva de genitores (incluyendo los resultados de las pruebas del líquido ovárico y la lechaza);~~
- 2) ~~Si la autoridad competente del país importador concluye que la importación es aceptable, deberá solicitar que se apliquen medidas de mitigación del riesgo, entre ellas:~~
- a) ~~desinfección de los huevos antes de la importación, de acuerdo con las recomendaciones formuladas en el Capítulo 4.5., y~~
- b) ~~entre la desinfección y la importación, los huevos no deberán entrar en contacto con nada que pueda afectar a su estatus sanitario.~~

~~La autoridad competente deberá contemplar medidas internas, como una desinfección adicional de los huevos a su llegada al país importador.~~

- 3) ~~Cuando se importen, para la acuicultura, huevos desinfectados de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.X.2. procedentes de un país, una zona o un compartimento no declarados libres de la infección por [patógeno 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 que acredite el cumplimiento de los procedimientos descritos en los apartados 2 a) y b) del presente artículo.~~

[...]

- CAPÍTULO 10.4.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN

[...]

- Artículo 10.4.20.

Importación de lecha y huevos fecundados de peces, para la acuicultura, de huevos desinfectados de un país, una zona o un compartimento no declarados libres de infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón

Cuando se importen, para la acuicultura, lechaza o huevos fecundados de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.4.2. procedentes de un país, una zona o compartimento no declarados libres de infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón, la autoridad competente del país importador deberá asegurarse de que:

- 1) la remesa cumple con los requisitos mencionados en el Capítulo 4.Z.; y
- 2) se han desinfectados los huevos fecundados de acuerdo con las recomendaciones del Capítulo 4.5.; y
- 3) todo tipo de agua (incluido el hielo), equipos, contenedores y material de envase utilizado en el transporte se han tratado para garantizar la inactivación del virus de la anemia del salmón o se ha eliminado de forma biosegura de acuerdo con los Capítulos 4.4., 4.8. y 5.5.; y
- 4) todos los efluentes y material de desecho han sido tratados para garantizar la inactivación del virus de la anemia del salmón o se han eliminado de forma biosegura de acuerdo con los Capítulos 4.4. y 4.8.

La autoridad competente deberá contemplar medidas internas, como una desinfección adicional de los huevos a su llegada al país importador.

La remesa deberá estar acompañada por un certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos extendido por la autoridad competente del país exportador y donde deberá constar que la lecha y los huevos fecundados cumplen con las recomendaciones en los Artículos 4.Z.3. a 4.Z.7.

- 1) Cuando se importen, para la acuicultura, huevos desinfectados de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.4.2. procedentes de un país, una zona o un compartimento no declarados libres de infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón, la autoridad competente del país importador deberá evaluar al menos los siguientes aspectos:
 - a) la probabilidad de que el agua utilizada durante la desinfección de los huevos esté contaminada por el virus de la anemia infecciosa del salmón;
 - b) la prevalencia de la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón en la reserva de genitores (incluyendo los resultados de las pruebas del líquido ovárico y la lechaza).
- 2) Si la autoridad competente del país importador concluye que la importación es aceptable, deberá solicitar que se apliquen medidas de mitigación del riesgo, entre ellas:
 - a) desinfección de los huevos antes de la importación, de acuerdo con las recomendaciones formuladas en el Capítulo 4.5.; y
 - b) entre la desinfección y la importación, los huevos no deberán entrar en contacto con nada que pueda afectar a su estatus sanitario.

La *autoridad competente* deberá contemplar medidas internas, como una *desinfección* adicional de los huevos a su llegada al *país importador*.

- 3) Cuando se importen, para la *acuicultura*, huevos desinfectados de una de las especies mencionadas en el Artículo 10.4.2, procedentes de un país, una zona o un *compartimento* no declarados libres de la infección por el 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* que acredite el cumplimiento de los procedimientos descritos en los apartados 2 a) y b) del presente artículo.

[...]

• **GLOSARIO**

[...]

CENTRO DE RECOLECCIÓN E INCUBACIÓN

designa una instalación de colecta de huevos, fecundación e incubación, y de recolección, procesamiento y almacenamiento de leche autorizada por la autoridad competente, de conformidad con las disposiciones del Capítulo 4.Z.

[...]

ANIMAL ACUÁTICO ORNAMENTAL

designa un animal acuático destinado a ser exhibido, expuesto o a la competición, o como animal de compañía.

[...]

- TÍTULO 5
- MEDIDAS COMERCIALES,
PROCEDIMIENTOS DE IMPORTACIÓN Y
EXPORTACIÓN Y CERTIFICACIÓN
SANITARIA

- CAPÍTULO 5.X.
- MOVIMIENTOS DE ANIMALES
ACUÁTICOS ORNAMENTALES

- Artículo 5.X.1.

Introducción

El presente capítulo brinda recomendaciones para enfrentar el riesgo de transmisión de enfermedades a través de los movimientos de animales acuáticos ornamentales, con el fin de evitar su entrada en un país, zona o compartimento libre de los agentes patógenos de preocupación.

Los animales acuáticos ornamentales suelen provenir de un entorno silvestre o de establecimientos de acuicultura. Una vez que entran en la cadena de suministro, pueden estar epidemiológicamente separados de las poblaciones de cría o silvestres, pero también pueden destinarse a otros usos finales, distintos de los iniciales. Esto puede constituir una vía de transmisión de la enfermedad y poner en peligro a otras poblaciones de especies susceptibles.

Los movimientos internacionales de los animales acuáticos ornamentales se caracterizan por la translocación de numerosos animales individuales de muchas especies de peces, crustáceos, moluscos y anfibios procedentes de entornos diversos. Las cadenas de suministro, a veces, implican la agregación de animales procedentes de múltiples fuentes y su diseminación a través del comercio al por menor como animales de compañía, lo que genera oportunidades de transmisión de enfermedades. Es posible que estas características del movimiento de los animales acuáticos ornamentales planteen ciertos desafíos en el marco de la gestión de los riesgos de enfermedades de los animales acuáticos.

- Artículo 5.X.2.

Ámbito de aplicación

El presente capítulo brinda recomendaciones orientadas a la gestión de los riesgos de enfermedad asociados al movimiento de animales acuáticos ornamentales que completan otras disposiciones del Código Acuático, incluidas las medidas detalladas en los capítulos específicos de enfermedad.

- Artículo 5.X.3.

Principios generales

Los principios generales para el movimiento de animales acuáticos ornamentales que deberán tenerse en cuenta a la hora de desarrollar medidas de mitigación del riesgo son los siguientes:

-
- 1) la elegibilidad para el movimiento de una especie (o un grupo taxonómico de especies) deberá determinarse en base a su estado de conservación (por ejemplo, especies cubiertas por en la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres - CITES) y en base a los impactos potenciales sobre la biodiversidad y el ecosistema en el *país importador* (por ejemplo, posibilidad de convertirse en una especie exótica invasora), como se describe en el Artículo 5.X.4.;
 - 2) los *animales acuáticos ornamentales* destinados a ser transportados en el marco de movimientos internacionales deberán estar clínicamente sanos en el momento del desplazamiento, no deberán estar expuestos a animales de un estatus sanitario inferior y no deberán provenir de un establecimiento en el que se registre o se haya registrado una mortalidad recientemente, tal como se describe en el Artículo 5.X.5.;
 - 3) las medidas de *gestión del riesgo* para las *enfermedades de la lista de la OMSA* deberán ajustarse a lo dispuesto en los capítulos específicos de enfermedad, tal como se describe en el Artículo 5.X.6.;
 - 4) las medidas de *gestión del riesgo* destinadas a las *enfermedades* que no figuren en la *lista de enfermedades de la OMSA*, o cualquier medida para las enfermedades de la lista que supere las descritas en los capítulos específicos de enfermedad, deberán justificarse mediante un *análisis del riesgo*, tal como se describe en el Artículo 5.X.7.;
 - 5) todas las medidas de *gestión del riesgo* deberán ser lo menos restrictivas posibles con el fin de mitigar los riesgos de *enfermedad* identificados por una *evaluación del riesgo*, tal como se describe en los Artículos 5.X.8. a 5.X.11.;
 - 6) deberán tomarse todas las medidas con vistas a mantener el bienestar de los *animales acuáticos ornamentales* durante el viaje, incluidas las descritas en el Artículo 5.X.12.

- **Artículo 5.X.4.**

Elegibilidad de los animales acuáticos ornamentales para el movimiento internacional

Antes de considerar los *riesgos* para la sanidad de los *animales acuáticos* asociados a la importación de una especie de *animal acuático ornamental*, la *autoridad competente* de un *país importador* deberá consultar la reglamentación nacional pertinente y las obligaciones internacionales con el fin de determinar si la especie reúne todas las condiciones para la importación.

Las especies de *animales acuáticos ornamentales* pueden estar sujetas a controles de circulación o comercio internacionales debido a su estatus de conservación (por ejemplo, las incluidas en la CITES). Dichos controles tienen la potestad de prohibir los movimientos internacionales o exigir una documentación adicional para la importación.

Además, una *autoridad competente* u otra autoridad de un *país importador* podrá identificar como invasoras a las especies de *animales acuáticos ornamentales* (o grupos taxonómicos de especies). Es posible prohibir el comercio, la propiedad o la cría de estas especies debido a los riesgos que representan para la biodiversidad, los ecosistemas, la industria o las actividades públicas de ocio en el *país importador*.

- **Artículo 5.X.5.**

Estatus sanitario general de los animales acuáticos ornamentales

Los *establecimientos de acuicultura* que mantengan o envasen *animales acuáticos ornamentales* para su traslado internacional deberán disponer de instalaciones apropiadas y aplicar prácticas zootécnicas adecuadas para mantener el estatus sanitario de todas las especies mantenidas en sus instalaciones.

La *autoridad competente* de un *país exportador* deberá asegurarse de que los *establecimientos de acuicultura* estén lo suficientemente supervisados como para garantizar el cumplimiento de los requisitos de la *autoridad competente* del *país importador* en materia de *animales acuáticos ornamentales*. Los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* pertinentes deberán cumplir los principios establecidos por el *país importador* de conformidad con el Capítulo 3.1.

Si la *autoridad competente* exige que los establecimientos de acuicultura mantengan un *plan de bioseguridad*, o si éste es necesario para cumplir los requisitos del país importador, el *plan de bioseguridad* deberá elaborarse tal como se describe en el Capítulo 4.1.

Los *animales acuáticos ornamentales* no deberán ser trasladados ni comercializados desde un establecimiento de acuicultura si presentan signos clínicos de *enfermedad* o si se observan signos de mortalidad inexplicable.

- **Artículo 5.X.6.**

Implementación de las medidas para las enfermedades de la lista de la OMSA

Las *medidas sanitarias* implementadas con la intención de gestionar el *riesgo* de transmisión de las *enfermedades de la lista de la OMSA* asociadas a los movimientos de *animales acuáticos ornamentales* deberán ajustarse a lo dispuesto en los capítulos específicos de enfermedad. La *autoridad competente* de un país importador sólo podrá exigir medidas específicas para una *enfermedad* si está libre de la *enfermedad* considerada o si la misma está sometida a un programa oficial de control, tal y como se describe en el Capítulo 5.1.

Cuando se importen *animales acuáticos ornamentales* de especies susceptibles (enumeradas en el Artículo X.X.2. de cada capítulo específico de enfermedad) procedentes de un país libre, una zona o un *compartimento libre*, la *autoridad competente* del país importador deberá exigir, de conformidad con el Artículo X.X.9. del capítulo específico de enfermedad, que la remesa esté acompañada de un *certificado sanitario internacional aplicable a los animales acuáticos* extendido por la *autoridad competente* del país exportador. Este certificado deberá acreditar que la remesa procede de un país, zona o *compartimento libre*.

La *autoridad competente* de un país importador sólo podrá exigir *medidas sanitarias* para una *enfermedad de la lista de la OMSA* más estrictas que las normas del *Código Acuático* si dichas medidas están respaldadas por un *análisis del riesgo* conforme a lo previsto en el Capítulo 2.1.

- **Artículo 5.X.7.**

Análisis del riesgo

La *autoridad competente* de un país importador deberá recurrir al *análisis del riesgo* para justificar cualquier *medida sanitaria* relativa a las enfermedades no inscritas en la lista de la OMSA asociadas a *animales acuáticos ornamentales* importados. Asimismo, el *análisis del riesgo* deberá utilizarse para justificar cualquier *medida sanitaria* relativa a las *enfermedades de la lista de la OMSA* si las medidas son más estrictas que las normas del *Código Acuático*. La *autoridad competente* de un país importador sólo podrá exigir medidas sanitarias específicas para un agente patógeno si el país está libre de la enfermedad en cuestión o si la misma es objeto de un programa oficial de control, tal como se describe en el Capítulo 5.1.

El *análisis del riesgo* para la importación de *animales acuáticos ornamentales* deberá llevarse a cabo tal como se describe en el Capítulo 2.1. Además de los factores indicados en el Capítulo 2.1, el *análisis del riesgo* deberá tener en cuenta los siguientes factores pertinentes para la evaluación de la probabilidad de entrada y exposición a *peligros* asociados a los *animales acuáticos ornamentales*.

Entrada

- 1) El estatus sanitario de los *peligros* identificados en el país, zona o *compartimento* de origen, incluida la información sobre la prevalencia de los *peligros* identificados en las poblaciones de *animales acuáticos ornamentales* o en sus poblaciones de origen (por ejemplo, animales silvestres).
- 2) Las prácticas de prevención y control de *enfermedades* en la cadena de suministro de *animales acuáticos ornamentales* en el país exportador y la calidad de los *Servicios de Sanidad de los Animales Acuáticos* que acompañan la prevención y el control de *enfermedades*.
- 3) La gama de especies susceptibles a los *agentes patógenos* específicos identificados como *peligros* y las pruebas que corroboran la susceptibilidad de acuerdo con el Capítulo 1.5.

-
- 4) La idoneidad de las condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura o salinidad) con respecto al *peligro* en el lugar de origen de los *animales acuáticos ornamentales*.
 - 5) La naturaleza de las cadenas de suministro y el grado de mezcla o separación epidemiológica de las poblaciones procedentes de fuentes con diferente estatus sanitario.

Exposición

- 6) La presencia de poblaciones de *especies susceptibles* en el *país importador*.
- 7) La idoneidad de las condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura o salinidad) para las *especies susceptibles* de *animales acuáticos ornamentales* importados en el *país importador*.
- 8) La idoneidad de las condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura o salinidad) para el *peligro* en el *país importador*.
- 9) Usos finales previstos de los *animales acuáticos ornamentales* e implicaciones para la exposición. Por ejemplo:
 - a) exhibición en zoológicos o acuarios públicos: los *animales acuáticos ornamentales* pueden exhibirse en instalaciones gestionadas profesionalmente con supervisión veterinaria y medidas de *bioseguridad*;
 - b) exhibición o competición: los *animales acuáticos ornamentales* pueden ser objeto de movimientos internacionales durante periodos breves, con el fin de participar en exhibiciones o competiciones, mantenerse aislados epidemiológicamente y luego ser devueltos al país de origen;
 - c) animales de compañía: los *animales acuáticos ornamentales* pueden ser objeto de movimientos internacionales en grandes cantidades y distribuirse ampliamente a través del comercio minorista para su venta como animales de compañía.
- 10) Prácticas culturales que pueden tener una influencia en la exposición, incluyendo otros usos que no sean los previstos (por ejemplo, liberación deliberada en cursos de agua, uso como cebo).
- 11) Medidas internas de prevención y control de enfermedades y para limitar que se destinen a usos que no sean los previstos.

- **Artículo 5.X.8.**

Gestión del riesgo

Las normas del *Código Acuático* constituyen la opción de preferencia de *medidas sanitarias* para la *gestión del riesgo* de las *enfermedades de la lista de la OMSA* asociadas a los *animales acuáticos ornamentales*.

Con el fin de elaborar *medidas sanitarias* para las *enfermedades* que no figuran en la lista de la OMSA, o para justificar medidas para las *enfermedades de la lista de la OMSA* que sean más estrictas que las normas del *Código Acuático*, la *autoridad competente* de un *país importador* deberá seguir las recomendaciones para la *gestión del riesgo* descritas en el Capítulo 2.1. Además, las medidas sanitarias deberán cumplir los requisitos del Título 5 del *Código Acuático*.

Las *medidas sanitarias* para los *animales acuáticos ornamentales* importados pueden aplicarse a lo largo del proceso de importación. Las opciones para la *gestión del riesgo* figuran en los Artículos 5.X.9. a 5.X.11. e incluyen las medidas aplicadas en:

- 1) el *país exportador*, como se indica en el Artículo 5.X.9.;
- 2) el *puesto fronterizo*, como se indica en el Artículo 5.X.10.;
- 3) el *país importador*, como se indica en el Artículo 5.X.11.

- **Artículo 5.X.9.**

Medidas de gestión del riesgo en el país exportador

Cuando así lo requiera la *autoridad competente* del *país importador* a partir de un *análisis del riesgo*, se podrán implementar medidas de *gestión del riesgo* en el *país exportador* encaminadas a atenuar los *riesgos de enfermedad* asociados a los movimientos internacionales de *animales acuáticos ornamentales* procedentes de un país, *zona* o *compartimento* no declarado libre de *enfermedades* de preocupación. La *autoridad competente* del *país importador* deberá seleccionar las medidas menos restrictivas necesarias para atenuar los *riesgos de enfermedad* identificados mediante una *evaluación del riesgo*. Las medidas de *gestión del riesgo* pueden incluir:

- 1) registro o aprobación a cargo de una *autoridad competente* de los *establecimientos de acuicultura* que producen, mantienen o envasan *animales acuáticos ornamentales* para la exportación. Se trata de un medio para garantizar que los *establecimientos de acuicultura* cumplan todos los requisitos necesarios en términos de exportación de *animales acuáticos ornamentales* (por ejemplo, requisitos sanitarios generales, *bioseguridad* y mantenimiento de registros);
- 2) confirmación de que los *animales acuáticos ornamentales* exportados están libres de signos de *enfermedad* o mortalidad en el lugar de origen (como se describe en el apartado 2 del Artículo 5.X.7.) y de que cumplen los requisitos sanitarios generales de conformidad con el Artículo X.X.5.;
- 3) *cuarentena* previa a la exportación en un *establecimiento de acuicultura* (por ejemplo, una instalación de envasado), con el fin de determinar el estatus sanitario de los animales que se van a exportar. La duración de la *cuarentena* se basará en la *evaluación del riesgo* y podrá variar en función de la especie y de las *enfermedades* específicas de preocupación;
- 4) pruebas previas a la exportación de remesas de *animales acuáticos ornamentales* con la intención de confirmar que están libres de *agentes patógenos* de preocupación;
- 5) sistemas de rastreabilidad y mantenimiento de registros para garantizar la transparencia del estatus sanitario de poblaciones o remesas específicas de *animales acuáticos ornamentales*;
- 6) envases adecuado de los *animales acuáticos ornamentales* destinados a mantener su estatus *zoosanitario* mientras dure el trayecto y las condiciones previstas del transporte;
- 7) certificación o presentación de otra documentación para verificar que se hayan cumplido las medidas de *gestión del riesgo* exigidas por la *autoridad competente* del *país importador*.

- **Artículo 5.X.10.**

Medidas de gestión del riesgo en la frontera

Cuando así lo requiera, la *autoridad competente* del *país importador* a partir de una *evaluación del riesgo*, se podrán implementar medidas de *gestión del riesgo* en la frontera orientadas a atenuar los *riesgos de enfermedad* asociados a los movimientos internacionales de *animales acuáticos ornamentales* procedentes de un país, *zona* o *compartimento* no declarado libre de *enfermedades* de preocupación. La *autoridad competente* del *país importador* deberá seleccionar las medidas menos restrictivas necesarias para atenuar los *riesgos de enfermedad* identificados mediante una *evaluación del riesgo*. Las medidas de *gestión del riesgo* pueden incluir:

- 1) a su llegada al *puesto fronterizo*, la *autoridad competente* del *país importador* puede realizar una inspección de los contenedores, verificar que la remesa coincida con la información incluida en el certificado u otra documentación que la acompañe. Esta inspección podrá incluir la verificación de posibles daños en los contenedores y la observación de los animales para detectar comportamientos anormales y signos clínicos sospechosos;
- 2) *cuarentena* fronteriza bajo la supervisión de la *autoridad competente*. La duración de la *cuarentena* se basará en la *evaluación del riesgo* y podrá variar en función de la especie y de las *enfermedades* específicas de preocupación. Los efluentes y despojos de las instalaciones de *cuarentena* podrán tratarse o eliminarse de modo biológicamente seguro, de conformidad con los Capítulos 4.4. y 4.8.;

-
- 3) pruebas en la frontera bajo la supervisión de la *autoridad competente*. Los requisitos de estas pruebas se basarán en la *evaluación del riesgo*;
 - 4) destrucción (como se describe en el Capítulo 7.4.) y eliminación biosegura de los animales clínicamente afectados. Toda el agua (incluido el hielo), el equipo, los contenedores y el material de embalaje utilizados en el transporte podrán ser tratados o eliminados de manera biosegura de acuerdo con los Capítulos 4.4., 4.8. y 5.5.

- **Artículo 5.X.11.**

Medidas de gestión del riesgo en el país importador

La *autoridad competente* del *país importador* podrá aplicar medidas internas de *gestión del riesgo*, incluso para hacer frente a los *riesgos* asociados a la utilización de *animales acuáticos ornamentales* con fines no previstos o vinculados con su liberación en un entorno silvestre. Las medidas de *gestión del riesgo* pueden incluir:

- 1) prohibición de la utilización de *animales acuáticos ornamentales* para un uso final alternativo (por ejemplo, para acuicultura, *piensos*, cebos, investigación) o para su liberación en un entorno silvestre;
- 2) notificación a la *autoridad competente* del *país exportador* de la detección en una remesa de un *agente patógeno* de preocupación, de conformidad con el Capítulo 5.3.;
- 3) rastreabilidad de los *animales acuáticos ornamentales* importados a través de la cadena de suministro comercial.

- **Artículo 5.X.12.**

Bienestar animal durante el transporte

El bienestar de los *animales acuáticos ornamentales* durante los movimientos internacionales depende del mantenimiento de condiciones ambientales apropiadas a las características biológicas de la especie. Los requisitos mínimos para mantener el bienestar variarán según las distintas especies.

El transporte de *animales acuáticos ornamentales* en condiciones inapropiadas a sus características biológicas puede aumentar la vulnerabilidad a la infección y el desarrollo de enfermedades clínicas, lo que aumenta la probabilidad de transmisión de enfermedades.

El transporte de los *animales acuáticos ornamentales* deberá respetar los protocolos apropiados destinados a mantener el bienestar de las especies transportadas (por ejemplo, embalaje, calidad del agua, temperatura, densidad de población y duración). Cuando no se disponga de protocolos existentes, podrán elaborarse teniendo en cuenta los factores indicados en el Capítulo 7.2. *Bienestar de los peces de cultivo durante el transporte* y deberá tener en cuenta otros requisitos durante el transporte, por ejemplo, la necesidad de inspección y reenvasado.

Deberán elaborarse planes de emergencia que identifiquen posibles eventos adversos para el bienestar animal que puedan ocurrir durante el transporte, los procedimientos para gestionar cada evento, las medidas que deben tomarse y las responsabilidades de las partes implicadas.

(VERSIÓN CON SEGUIMIENTO DE CAMBIOS)

CAPÍTULO 8.1.

• INFECCIÓN POR *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS*

[...]

• Artículo 8.1.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. dendrobatidis*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *B. dendrobatidis*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. dendrobatidis*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 9.3.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *B. dendrobatidis*;

a) ~~productos de anfibios termoesterilizados y sellados herméticamente (es decir, un tratamiento térmico a 121°C durante por lo menos 3,6 minutos o una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva *B. dendrobatidis*);~~

b) ~~productos de anfibios cocinados que se hayan sometido a un tratamiento térmico a 100°C durante por lo menos un minuto (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva);~~

e) ~~productos de anfibios pasteurizados que se hayan sometido a un tratamiento térmico a 90 °C durante por lo menos diez minutos (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva *B. dendrobatidis*);~~

d)2) productos de anfibios secados por medios mecánicos que se hayan sometido a (es decir, un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos a 100 °C 60°C durante al menos 30 cinco minutos, o una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que un tiempo/temperatura equivalente que inactiva *B. dendrobatidis*);

~~e)3) cueros elaborados con piel de anfibio.~~

2) Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de productos de animales acuáticos derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 8.1.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 8.1.3., las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 8.1.7. a 8.1.12. que

correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. dendrobatidis*.

- 3) Cuando se considere la importación o el tránsito por su territorio de productos de animales acuáticos derivados de una especie no mencionada en el Artículo 8.1.2., pero que razonablemente se podría esperar que represente un riesgo de transmisión de *B. dendrobatidis*, la autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de este análisis.

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

CAPÍTULO 8.1.

• INFECCIÓN POR *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS*

[...]

• Artículo 8.1.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. dendrobatidis*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *B. dendrobatidis*, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *B. dendrobatidis*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *B. dendrobatidis*;
- 2) cueros elaborados con piel de anfibio.

[...]

CAPÍTULO 8.2

• INFECCIÓN POR *BATRACHOCHYTRIUM SALAMANDRIVORANS*

[...]

• Artículo 8.2.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. salamandrivorans*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *B. salamandrivorans*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. salamandrivorans*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 9.3.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos cinco minutos, o a un tiempo/temperatura equivalente que inactiva *B. salamandrivorans*;

a) ~~productos de anfibios termoeesterilizados y sellados herméticamente (es decir, un tratamiento térmico a 121°C durante por lo menos 3,6 minutos o una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva *B. salamandrivorans*);~~

b) ~~productos de anfibios cocinados que se hayan sometido a un tratamiento térmico a 100 °C durante por lo menos un minuto (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva *B. salamandrivorans*);~~

e) ~~productos de anfibios pasteurizados que se hayan sometido a un tratamiento térmico a 90 °C durante por lo menos diez minutos (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva *B. salamandrivorans*);~~

d) ~~2) productos de anfibios secados por medios mecánicos que se hayan sometido a (es decir, un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos a 100 °C 60°C durante al menos 30 cinco minutos, o una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que un tiempo/temperatura equivalente que inactiva *B. salamandrivorans*);~~

e) ~~3) cueros elaborados con piel de anfibio.~~

2) ~~Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de productos de animales acuáticos derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 8.2.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 8.2.3., las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 8.2.7. a 8.2.12. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. salamandrivorans*.~~

-
- 3) ~~Quando se considere la importación o el tránsito por su territorio de productos de animales acuáticos derivados de una especie no mencionada en el Artículo 8.2.2., pero que razonablemente se podría esperar que represente un riesgo de transmisión de B. salamandrivorans, la autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de este análisis.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

CAPÍTULO 8.2.

• INFECCIÓN POR *BATRACHOCHYTRIUM SALAMANDRIVORANS*

[...]

• Artículo 8.2.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. salamandrivorans*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *B. salamandrivorans*, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *B. salamandrivorans*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *B. salamandrivorans*;
- 2) cueros elaborados con piel de anfibio.

[...]

• CAPÍTULO 8.3.
• INFECCIÓN POR LAS ESPECIES DE
RANAVIRUS

[...]

• Artículo 8.3.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por las especies de *Ranavirus*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con las especies de *Ranavirus*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por las especies de *Ranavirus*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 8.3.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1:~~

- 1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 65°C durante por lo menos 30 minutos, o a un tiempo/temperatura equivalente que inactiva todas las especies de *Ranavirus*.
 - a) ~~productos de anfibios termoesterilizados y sellados herméticamente (es decir, un tratamiento térmico a 121°C durante por lo menos 3,6 minutos o una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva todas las especies de *Ranavirus*);~~
 - b) ~~productos de anfibios cocinados que se hayan sometido a un tratamiento térmico de 65°C durante por lo menos 30 minutos (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva todas las especies de *Ranavirus*);~~
 - e) ~~productos de anfibios pasteurizados que se hayan sometido a un tratamiento térmico de 90°C durante por lo menos diez minutos (o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que inactiva todas las especies de *Ranavirus*);~~
 - d) 2) productos de anfibios secados por medios mecánicos que se hayan sometido a (es decir, un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos a 100°C 65°C durante al menos 30 minutos, o una combinación equivalente de tiempo/temperatura que haya demostrado que un tiempo/temperatura equivalente que inactiva todas las especies de *Ranavirus*);
- 2) ~~Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de productos de animales acuáticos derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 8.3.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 8.3.3., las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 8.3.7. a 8.3.12. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por las especies de *Ranavirus*.~~
- 3) ~~Cuando se considere la importación o el tránsito por su territorio de productos de animales acuáticos derivados de una especie no mencionada en el Artículo 8.3.2., pero que razonablemente se podría esperar que represente un riesgo de transmisión de las especies de *Ranavirus*, la autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo~~

acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de este análisis.

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

CAPÍTULO 8.3.

• INFECCIÓN POR LAS ESPECIES DE RANAVIRUS

[...]

- Artículo 8.3.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por las especies de *Ranavirus*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con las especies de *Ranavirus*, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por las especies de *Ranavirus*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 30 minutos, o a un tiempo/temperatura equivalente que inactiva todas las especies de *Ranavirus*.

[...]

- CAPÍTULO 9.3.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS IRIDISCENTE DE LOS DECÁPODOS TIPO 1

[...]

- Artículo 9.3.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por DIV1

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con DIV1, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por DIV1:

- 1) ~~[~~*productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 5680°C durante por lo menos 30 minutos, o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que inactive DIV1;
- 2) *harina* de crustáceos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 5680°C durante por lo menos 30 minutos, o a una combinación equivalente de tiempo/temperatura que inactive DIV1;
- 3) aceite de crustáceos;
- 4) quitina extraída por medios químicos.]~~(en estudio)~~

[...]

- CAPÍTULO 9.4.
- INFECCIÓN POR *HEPATOBACTER PENAII* (HEPATOPANCREATITIS NECROTIZANTE)

[...]

- Artículo 9.4.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *H. penaei*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *H. penaei*, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *H. penaei*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~63~~95°C durante por lo menos ~~30~~cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *H. penaei*;
- 2) *harina* de crustáceos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~63~~95°C durante por lo menos ~~30~~cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *H. penaei*;
- 3) aceite de crustáceos;
- 4) quitina extraída por medios químicos.

[...]

- CAPÍTULO 9.6.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA MIONECROSIS INFECCIOSA

[...]

- Artículo 9.6.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el virus de la mionecrosis infecciosa

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el virus de la mionecrosis infecciosa, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el virus de la mionecrosis infecciosa:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~60~~75°C durante por lo menos ~~60~~cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la mionecrosis infecciosa;
- 2) *harina* de crustáceos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~60~~75°C durante por lo menos ~~60~~cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la mionecrosis infecciosa;
- 3) aceite de crustáceos;
- 4) quitina extraída por medios químicos.

[...]

- CAPÍTULO 9.7.

- INFECCIÓN POR EL
NODAVIRUS *MACROBRACHIUM*
ROSENBERGII (ENFERMEDAD DE LA
COLA BLANCA)

[...]

- Artículo 9.7.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por MrNV

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con MrNV, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por MrNV:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~60~~50°C durante por lo menos ~~60~~cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el MrNV;
- 2) *harina* de crustáceos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~60~~50°C durante por lo menos ~~60~~cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el MrNV;
- 3) aceite de crustáceos;
- 4) quitina extraída por medios químicos.

[...]

- CAPÍTULO 9.8.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DEL SÍNDROME DE TAURA

[...]

- Artículo 9.8.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el virus del síndrome de Taura

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el virus del síndrome de Taura, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el virus del síndrome de Taura:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 70°C durante por lo menos ~~30~~108 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus del síndrome de Taura;
- 2) *harina* de crustáceos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 70°C durante por lo menos ~~30~~108 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus del síndrome de Taura;
- 3) aceite de crustáceos;
- 4) quitina extraída por medios químicos.

[...]

- CAPÍTULO 10.1.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA NECROSIS HEMATOPOYÉTICA EPIZOÓTICA

[...]

- Artículo 10.1.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el virus de la necrosis hematopoyética epizoótica

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio de estos productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el virus de la necrosis hematopoyética epizoótica, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el virus de la necrosis hematopoyética epizoótica:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 15 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la necrosis hematopoyética epizoótica;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 15 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la necrosis hematopoyética epizoótica;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 15 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la necrosis hematopoyética epizoótica;
- 4) *aceite* de pescado;
- 5) *cueros elaborados* con piel de pescado.

[...]

- CAPÍTULO 10.2.
- INFECCIÓN POR *APHANOMYCES INVADANS* (SÍNDROME ULCERANTE EPIZOÓTICO)

[...]

- Artículo 10.2.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *A. invadans*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1 Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *A. invadans*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *A. invadans*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~60~~100°C durante por lo menos ~~cinco~~un minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *A. invadans*;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *A. invadans*;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~60~~100°C durante por lo menos ~~cinco~~un minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *A. invadans*;
- 4) ~~3~~ aceite de pescado;
- 5) ~~4~~ pescado eviscerado y congelado;
- 6) ~~5~~ filetes o rodajas de pescado congelado.

[...]

- CAPÍTULO 10.3.
- INFECCIÓN POR *GYRODACTYLUS SALARIS*

[...]

- Artículo 10.3.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *G. salaris*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *G. salaris*, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *G. salaris*:

- 1) *productos de animales acuáticos que han sido sometidos a tratamiento térmico y sellados herméticamente que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 40°C durante por lo menos un minuto, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive G. salaris;*
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos;~~
- 32) ~~pescado eviscerado y secado naturalmente (es decir, secado por el sol o el viento);~~
- 43) ~~pescado eviscerado y congelado que haya sido sometido a -18°C o a temperaturas más bajas;~~
- 54) ~~filetes o rodajas de pescado congelado que se hayan sometido a -18°C o a temperaturas más bajas;~~
- 65) ~~pescado eviscerado y refrigerado criado en agua de mar con una salinidad de al menos 25 ppt;~~
- 76) ~~filetes o rodajas de pescado refrigerado de pescados criados en agua de mar con una salinidad de al menos 25 ppt;~~
- 87) ~~productos de pescado refrigerado sin piel, aletas ni branquias;~~
- 98) ~~huevas de pescado no viables;~~
- 109) ~~aceite de pescado;~~
- 110) ~~harina de pescado;~~
- 121) ~~cueros elaborados con piel de pescado.~~

[...]

- CAPÍTULO 10.4.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN

[...]

- Artículo 10.4.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el 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 HPRO.

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el virus de la anemia infecciosa del salmón, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 56°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la anemia infecciosa del salmón;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 56°C durante al menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la anemia infecciosa del salmón;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 56°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la anemia infecciosa del salmón;
- 4) *aceite* de pescado;
- 5) *cueros elaborados* con piel de pescado.

[...]

- CAPÍTULO 10.5.
- INFECCIÓN POR EL ALFAVIRUS DE LOS SALMÓNIDOS

[...]

- Artículo 10.5.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el alfavirus de los salmónidos

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el alfavirus de los salmónidos, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el alfavirus de los salmónidos:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 60 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el alfavirus de los salmónidos;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante al menos 60 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el alfavirus de los salmónidos;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 60 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el alfavirus de los salmónidos;
- 4) 3 aceite de pescado;

[...]

- CAPÍTULO 10.6.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA NECROSIS HEMATOPOYÉTICA INFECCIOSA

[...]

- Artículo 10.6.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 90°C durante por lo menos 30 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 90°C durante por lo menos 30 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 90°C durante por lo menos 30 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la necrosis hematopoyética infecciosa;
- 4) *aceite* de pescado;
- 5) *cueros* elaborados con piel de pescado.

[...]

- CAPÍTULO 10.7.
- INFECCIÓN POR EL HERPESVIRUS DE LA CARPA KOI

[...]

- Artículo 10.7.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el herpesvirus de la carpa koi

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el herpesvirus de la carpa koi, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el herpesvirus de la carpa koi:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 50°C durante por lo menos ~~tres~~un minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el herpesvirus de la carpa koi;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente para alcanzar una temperatura interna de al menos 50°C durante por lo menos tres minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el herpesvirus de la carpa koi;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 50°C durante por lo menos ~~tres~~un minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el herpesvirus de la carpa koi;
- 4) *aceite* de pescado.

[...]

- CAPÍTULO 10.8.
- INFECCIÓN POR EL IRIDOVIRUS DE LA DORADA JAPONESA

[...]

- Artículo 10.8.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el iridovirus de la dorada japonesa

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el iridovirus de la dorada japonesa, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el iridovirus de la dorada japonesa:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 56°C durante por lo menos 30 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el iridovirus de la dorada japonesa;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 56°C durante por lo menos 30 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el iridovirus de la dorada japonesa;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 56°C durante por lo menos 30 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el iridovirus de la dorada japonesa;
- 4) ~~aceite~~ de pescado;
- 5) ~~cueros~~ elaborados con piel de pescado.

[...]

- CAPÍTULO 10.9.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA VIREMIA PRIMAVERAL DE LA CARPA

[...]

- Artículo 10.9.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el virus de la viremia primaveral de la carpa

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el virus de la viremia primaveral de la carpa, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el virus de la viremia primaveral de la carpa:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~90~~60°C durante por lo menos 60 ~~segundos~~minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la viremia primaveral de la carpa;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 90°C durante por lo menos 60 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la viremia primaveral de la carpa;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~90~~60°C durante por lo menos 60 ~~segundos~~minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la viremia primaveral de la carpa;
- 4) *aceite* de pescado.

[...]

- CAPÍTULO 10.10.

- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA SEPTICEMIA HEMORRÁGICA VIRAL

[...]

- Artículo 10.10.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el virus de la septicemia hemorrágica viral, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el virus de la septicemia hemorrágica viral:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~90~~60°C durante por lo menos 60 ~~segundos~~minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la septicemia hemorrágica viral;
- 2) ~~pescado eviscerado y secado por medios mecánicos que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 90°C durante por lo menos 60 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la septicemia hemorrágica viral;~~
- 3) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~90~~60°C durante por lo menos 60 ~~segundos~~minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el virus de la septicemia hemorrágica viral;
- 4) pescado eviscerado y secado naturalmente (es decir, secado por el sol o el viento);
- 5) aceite de pescado;
- 6) cueros elaborados con piel de pescado.

[...]

- CAPÍTULO 10.11.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA NECROSIS HEMATOPOYÉTICA EPIZOÓTICA

[...]

- Artículo 10.11.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por TiLV

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el TiLV, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por TiLV:

- 1) *Productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~56~~60°C durante por lo menos ~~cinco~~120 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive TiLV;
- 2) *harina* de pescado que se haya sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos ~~56~~60°C durante por lo menos ~~cinco~~120 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive TiLV ~~(en estudio)~~;
- 3) aceite de pescado;
- 4) cueros elaborados con piel de pescado.

[...]

(VERSIÓN CON SEGUIMIENTO DE CAMBIOS)

- CAPÍTULO 11.1.
- INFECCIÓN POR EL HERPESVIRUS DEL ABALÓN

[...]

- Artículo 11.1.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el herpesvirus del abalón

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con el herpesvirus del abalón, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por el herpesvirus del abalón: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 11.1.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1:~~

- ~~1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 121,50°C durante por lo menos 3 cinco minutos y 36 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactiva el herpesvirus del abalón.~~
- a) productos de abalón termoesterilizados y sellados herméticamente (es decir, un tratamiento térmico a 121°C durante al menos 3,6 minutos o una combinación equivalente de tiempo/temperatura);
- b2) productos de abalón secados por medios mecánicos (es decir, ~~que se hayan sometido a un tratamiento térmico a 100 °C durante al menos 30 minutos suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 121°C durante por lo menos 3 minutos y 36 segundos,~~ o a una combinación equivalente de un tiempo/temperatura que haya demostrado que equivalente que inactiva el herpesvirus del abalón.
- 2) ~~Las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 11.1.7. a 11.1.11. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por el herpesvirus del abalón 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 11.1.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 11.1.3.~~
- 3) ~~La autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. cuando contemple la importación o el tránsito por su territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de cualquier especie no mencionada en el Artículo 11.1.2. pero que se considere que podría plantear un riesgo de propagación de la infección por el herpesvirus del abalón. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de la evaluación.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

- **CAPÍTULO 11.1.**
- **INFECCIÓN POR EL HERPESVIRUS DEL ABALÓN**

[...]

- **Artículo 11.1.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por el herpesvirus del abalón

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con el herpesvirus del abalón, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por el herpesvirus del abalón:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 50°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive el herpesvirus del abalón.

[...]

(VERSIÓN CON SEGUIMIENTO DE CAMBIOS)

• **CAPÍTULO 11.2.**

• **INFECCIÓN POR *BONAMIA EXITIOSA***

[...]

• **Artículo 11.2.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. exitiosa*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *B. exitiosa*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. exitiosa*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 11.2.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

~~1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 100°C durante por lo menos 15 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *B. exitiosa*;~~

~~a) carne de ostra congelada; y~~

~~b) ostras congeladas con media concha.~~

~~2) Las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 11.2.7. a 11.2.11. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. exitiosa* 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 11.2.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 11.2.3.~~

~~3) La autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. cuando contemple la importación o el tránsito por su territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de cualquier especie no mencionada en el Artículo 11.2.2. pero que se considere que podría plantear un riesgo de propagación de la infección por *B. exitiosa*. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de la evaluación.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

- **CAPÍTULO 11.2.**
- **INFECCIÓN POR *BONAMIA EXITIOSA***

[...]

- **Artículo 11.2.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. exitiosa*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *B. exitiosa*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *B. exitiosa*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 100°C durante por lo menos 15 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *B. exitiosa*;
- 2) carne de ostra congelada;
- 3) ostras congeladas con media concha.

[...]

(VERSIÓN CON SEGUIMIENTO DE CAMBIOS)

• **CAPÍTULO 11.3.**

• **INFECCIÓN POR *BONAMIA OSTREAE***

[...]

• **Artículo 11.3.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. ostreae*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *B. ostreae*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. ostreae*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 11.3.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

~~1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 100°C durante por lo menos 15 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactiva *B. ostreae*;~~

~~a) carne de ostra congelada; y~~

~~b) ostras congeladas con media concha.~~

~~2) Las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 11.2.7. a 11.2.11. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *B. exitiosa* 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 11.2.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 11.2.3.~~

~~3) La autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. cuando contemple la importación o el tránsito por su territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de cualquier especie no mencionada en el Artículo 11.2.2. pero que se considere que podría plantear un riesgo de propagación de la infección por *B. exitiosa*. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de la evaluación.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

- **CAPÍTULO 11.3.**
- **INFECCIÓN POR *BONAMIA OSTREAE***

[...]

- **Artículo 11.3.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *B. ostreae*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *B. ostreae*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *B. ostreae*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 100°C durante por lo menos 15 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *B.ostreae*;
- 2) carne de ostra congelada;
- 3) ostras congeladas con media concha.

[...]

- CAPÍTULO 11.4.
- INFECCIÓN POR *MARTEILIA REFRINGENS*

[...]

- Artículo 11.4.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *M. refringens*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *M. refringens*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *M. refringens*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 11.4.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

- ~~1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 121°C durante por lo menos tres minutos y 36 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *M. refringens*.~~
- ~~2) Las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 11.4.7. a 11.4.11. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *M. refringens* 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 11.4.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 11.4.3.~~
- ~~3) La autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. cuando contemple la importación o el tránsito por su territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de cualquier especie no mencionada en el Artículo 11.4.2. pero que se considere que podría plantear un riesgo de propagación de la infección por *M. refringens*. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de la evaluación.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

- **CAPÍTULO 11.4.**
- **INFECCIÓN POR *MARTEILIA REFRINGENS***

[...]

- **Artículo 11.4.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *M. refringens*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *M. refringens*, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *M. refringens*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 121°C durante por lo menos tres minutos y 36 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *M. refringens*.

[...]

(VERSIÓN CON SEGUIMIENTO DE CAMBIOS)

- **CAPÍTULO 11.5.**
- **INFECCIÓN POR *PERKINSUS MARINUS***

[...]

- **Artículo 11.5.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *P. marinus*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *P. marinus*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *P. marinus*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 11.5.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

- ~~1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 12160°C durante por lo menos 360 minutos y 36 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *P. marinus*.~~
- ~~2) Las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 11.5.7. a 11.5.11. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *P. marinus* 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 11.5.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 11.5.3.~~
- ~~3) La autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. cuando contemple la importación o el tránsito por su territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de cualquier especie no mencionada en el Artículo 11.5.2. pero que se considere que podría plantear un riesgo de propagación de la infección por *P. marinus*. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de la evaluación.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

- **CAPÍTULO 11.5.**
- **INFECCIÓN POR *PERKINSUS MARINUS***

[...]

- **Artículo 11.5.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *P. marinus*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *P. marinus*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *P. marinus*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 60 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *P. marinus*.

[...]

(VERSIÓN CON SEGUIMIENTO DE CAMBIOS)

• CAPÍTULO 11.6.
• INFECCIÓN POR *PERKINSUS OLSENI*

[...]

• Artículo 11.6.3.

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *P. olseni*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *P. olseni*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *P. olseni*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 11.6.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

- ~~1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 12160°C durante por lo menos 360 minutos y 36 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *P. olseni*.~~
- ~~2) Las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 11.6.7. a 11.6.11. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *P. olseni* 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 11.6.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 11.6.3.~~
- ~~3) La autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. cuando contemple la importación o el tránsito por su territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de cualquier especie no mencionada en el Artículo 11.6.2. pero que se considere que podría plantear un riesgo de propagación de la infección por *P. olseni*. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de la evaluación.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

- **CAPÍTULO 11.6.**
- **INFECCIÓN POR *PERKINSUS OLSENI***

[...]

- **Artículo 11.6.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *P. olseni*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *P. olseni*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *P. olseni*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 60°C durante por lo menos 60 minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *P. olseni*.

[...]

(VERSIÓN CON SEGUIMIENTO DE CAMBIOS)

- **CAPÍTULO 11.7.**
- **INFECCIÓN POR XENOHALIOTIS CALIFORNIENSIS**

[...]

- **Artículo 11.7.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *X. californiensis*

~~1) Los siguientes productos de animales acuáticos enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *H. penaei*, las autoridades competentes no deberán exigir ningún tipo de condición relacionada con *H. penaei*. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su territorio de estos los siguientes productos de animales acuáticos, las autoridades competentes no deberán exigir ninguna medida sanitaria relacionada con *X. californiensis*, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *X. californiensis*: derivados de una de las especies mencionadas en el Artículo 11.7.2., cualquiera que sea el uso al que se destinan y siempre que reúnan las condiciones descritas en el Artículo 5.4.1.:~~

- ~~1) productos de animales acuáticos que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 12195°C durante por lo menos 3cinco minutos y 36 segundos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *X. californiensis*.~~
- ~~2) Las autoridades competentes deberán exigir las condiciones prescritas en los Artículos 11.7.7. a 11.7.11. que correspondan al estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación respecto de la infección por *X. californiensis* 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 11.7.2. que no sean unos de los enumerados en el apartado 1 del Artículo 11.7.3.~~
- ~~3) La autoridad competente deberá proceder a un análisis del riesgo acorde con las recomendaciones del Capítulo 2.1. cuando contemple la importación o el tránsito por su territorio de animales acuáticos y productos de animales acuáticos de cualquier especie no mencionada en el Artículo 11.7.2. pero que se considere que podría plantear un riesgo de propagación de la infección por *X. californiensis*. La autoridad competente del país exportador deberá ser informada del resultado de la evaluación.~~

[...]

(VERSIÓN EN LIMPIO)

- **CAPÍTULO 11.7.**
- **INFECCIÓN POR *XENOHALLOTIS CALIFORNIENSIS***

[...]

- **Artículo 11.7.3.**

Medidas para la importación o tránsito por el territorio de productos de animales acuáticos cualquiera que sea el uso al que se destinan, independientemente del estatus sanitario del país, la zona o el compartimento de exportación con respecto a la infección por *X. californiensis*

Los *productos de animales acuáticos* enumerados a continuación se han evaluado y cumplen con los criterios de seguridad aplicables a este tipo de productos de acuerdo con el Artículo 5.4.1. Cuando autoricen la importación o el tránsito por su *territorio* de estos *productos de animales acuáticos*, las *autoridades competentes* no deberán exigir ninguna *medida sanitaria* relacionada con *X. californiensis*, independientemente del estatus sanitario del país, la *zona* o el *compartimento* de exportación respecto de la infección por *X. californiensis*:

- 1) *productos de animales acuáticos* que se hayan sometido a un tratamiento térmico suficiente como para alcanzar una temperatura interna de al menos 95°C durante por lo menos cinco minutos, o un tiempo/temperatura equivalente que inactive *X. californiensis*.

[...]

- **Modelo de Artículos X.X.5. y X.X.6. para los capítulos específicos de enfermedades**

- **CAPÍTULO X.X.**

- **INFECCIÓN POR [PATÓGENO X]**

[...]

- **Artículo X.X.5.**

País libre de infección por [patógeno X]

Si el país comparte cuerpos de agua con otros países, solo podrá hacer una autodeclaración de ausencia de infección por [patógeno X] si todos los cuerpos de agua compartidos están situados en países o zonas declarados libres de infección por [patógeno X] (véase el Artículo X.X.6.).

Como se describe en el Artículo 1.4.4., un País Miembro puede hacer una autodeclaración de ausencia de infección por [patógeno X] en la totalidad de su *territorio* si puede demostrar que:

1) ninguna *especie susceptible* de las mencionadas en el Artículo X.X.2. está presente en el país y se han reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante al menos los últimos [seis meses];

O

2) no ha ocurrido ninguna infección por [patógeno X] durante al menos los [diez] últimos años, y:

a) el País Miembro puede demostrar que las condiciones son propicias para la manifestación clínica de la infección por [patógeno X], de acuerdo con lo descrito en el capítulo correspondiente del *Manual Acuático*, y

b) se han reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* descritas en el Capítulo 1.4. durante al menos los [diez] últimos años;

O

3) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de acuerdo con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante al menos los [dos] últimos años sin que se haya detectado la presencia del [patógeno X], y se han reunido ininterrumpidamente e implementado las *condiciones elementales de bioseguridad* durante al menos [un] año antes del inicio de la *vigilancia específica*;

O

4) había hecho previamente una autodeclaración de ausencia de infección por [patógeno X] y perdió posteriormente su estatus libre por haberse detectado el [patógeno X], pero se han cumplido las condiciones siguientes:

a) nada más haberse detectado el [patógeno X], el área afectada ha sido declarada *zona infectada* y se ha establecido una *zona de protección*; y

b) las poblaciones infectadas dentro de la *zona infectada* se han sacrificado y eliminado con medios que reducen al mínimo la probabilidad de una mayor transmisión del [patógeno X], y se han completado los procedimientos

de *desinfección* apropiados (descritos en el Capítulo 4.4.), seguidos de un periodo de *vacío sanitario* según se describe en el Capítulo 4.7.; y

- c) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han mantenido ininterrumpidamente desde la erradicación de la infección por [patógeno X]; y
- d) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de acuerdo con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante:
 - i) por lo menos los [dos] últimos años en las *especies susceptibles* silvestres y de cría sin que se haya detectado la presencia del [patógeno X], o
 - ii) por lo menos el [un] último año sin que se haya detectado la presencia del [patógeno X] si los *establecimientos de acuicultura* afectados no tenían vínculos epidemiológicos con las poblaciones silvestres de *especies susceptibles*.

Mientras tanto, ~~la parte del país ubicada fuera de la zona infectada y de la zona de protección~~ una parte o la totalidad del país, ~~excepto las zonas infectadas y de protección~~, podrá ser declarada *zona libre*, según se describe en el Artículo 1.4.4. siempre que reúna las condiciones descritas en el apartado 2 del Artículo X.X.6.

- **Artículo X.X.6.**

Zona libre de infección por [patógeno X]

Si una zona se extiende por el *territorio* de más un país, solo podrá ser declarada *zona libre* de infección por [patógeno X] si todas las *autoridades competentes* confirman que se han reunido el conjunto de condiciones exigidas.

Como se describe en el Artículo 1.4.4., un País Miembro puede hacer una autodeclaración de ausencia de infección por [patógeno X] para una zona dentro de su *territorio* si puede demostrar que:

- 1) ninguna *especie susceptible* de las mencionadas en el Artículo 10.10.2. está presente y se han reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* durante al menos los [seis] últimos meses;
- 0
- 2) no ha ocurrido ninguna infección por [patógeno X] durante al menos los [diez] últimos años, y:
 - a) el País Miembro puede demostrar que las condiciones son propicias para la manifestación clínica de la infección por [patógeno X], de acuerdo con lo descrito en el Artículo 1.4.8. del Capítulo 1.4., y
 - b) se han reunido ininterrumpidamente las *condiciones elementales de bioseguridad* descritas en el Capítulo 1.4. durante al menos los [diez] últimos años;
- 0
- 3) se ha aplicado una *vigilancia específica* en la zona, de acuerdo con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante al menos los [dos] últimos años sin que se haya detectado la presencia del [patógeno X], y se han reunido ininterrumpidamente e implementado las *condiciones elementales de bioseguridad* durante al menos [un] año antes del inicio de la *vigilancia específica*;
- 0
- 4) había hecho previamente una autodeclaración de ausencia de infección por [patógeno X] para una zona y perdió posteriormente su estatus libre por haberse detectado [patógeno X] en la zona, pero se han cumplido las condiciones siguientes:
 - a) nada más haberse detectado [patógeno X], el área afectada fue declarada *zona infectada* y se ha establecido una *zona de protección*; y

-
- b) las poblaciones infectadas dentro de la *zona infectada* se han sacrificado y eliminado con medios que reducen al mínimo la probabilidad de una mayor transmisión del [patógeno X], y se han completado los procedimientos de *desinfección* apropiados (descritos en el Capítulo 4.4.), seguidos de un periodo de *vacío sanitario* según se describe en el Capítulo 4.7.; y
 - c) las *condiciones elementales de bioseguridad* vigentes anteriormente han sido debidamente revisadas y modificadas y se han mantenido ininterrumpidamente desde la erradicación de la infección por [patógeno X]; y
 - d) se ha aplicado una *vigilancia específica*, de acuerdo con lo descrito en el Capítulo 1.4., durante al menos los [dos] últimos años sin que se haya detectado la presencia del [patógeno X].

Mientras tanto, una parte de la zona ubicada fuera de la zona infectada y de la zona de protección podrá ser declarada una nueva zona libre, según se describe en el Artículo 1.4.4.

[...]

- CAPÍTULO 9.3.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS IRIDISCENTE DE LOS DECÁPODOS TIPO 1

[...]

- Artículo 9.3.2.

Ámbito de aplicación

Las recomendaciones de este capítulo se aplican a las siguientes especies que cumplen con los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles de acuerdo con el Capítulo 1.5.: langostino carnosos (*Penaeus chinensis*), jaiba gazami (*Portunus trituberculatus*), langostino de río (*Macrobrachium rosenbergii*), langostino japonés (*Penaeus japonicus*), camarón nipón (*Macrobrachium nipponense*), *Cherax quadricarinatus*, cangrejo de las marismas (*Procambarus clarkii*), camarón quilla (*Exopalaemon carinicauda*) y camarón blanco (*Penaeus vannamei*), camarón tigre gigante (*Penaeus monodon*), langosta australiana de agua dulce (*Cherax quadricarinatus*), camarón gigante de agua dulce (*Macrobrachium rosenbergii*), cangrejo rojo americano (*Procambarus clarkia*), camarón nipón (*Macrobrachium nipponense*) y camarón quilla (*Exopalaemon carinicauda*) (en estudio).

[...]

• CAPÍTULO 10.6.

• INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA NECROSIS HEMATOPOYÉTICA INFECCIOSA

[...]

• Artículo 10.6.2.

Ámbito de aplicación

Las recomendaciones de este capítulo se aplican a las siguientes especies que cumplen con los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles de acuerdo con el Capítulo 1.5.: trucha alpina (*Salvelinus alpinus*), salmón del Atlántico (*Salmo salar*), trucha de manantial (*Salvelinus fontinalis*), trucha café (*Salmo trutta*), trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), salmón real [*Oncorhynchus tshawytscha*], rojo [*Oncorhynchus nerka*], chum [*Oncorhynchus keta*], lucio europeo (*Esox lucius*), masou [*Oncorhynchus masou*], y plateado [*Oncorhynchus kisutch*], trucha garganta cortada (*Oncorhynchus clarkii*), trucha del lago (*Salvelinus namaycush*) y trucha marmorata (*Salmo marmoratus*).

<u>Familia</u>	<u>Nombre científico</u>	<u>Nombre común</u>
<u>Esocidae</u>	<u><i>Esox lucius</i></u>	<u>lucio europeo</u>
<u>Salmonidae</u>	<u><i>Oncorhynchus clarkii</i></u>	<u>trucha garganta cortada</u>
	<u><i>Oncorhynchus keta</i></u>	<u>salmón keta</u>
	<u><i>Oncorhynchus kisutch</i></u>	<u>salmón plateado</u>
	<u><i>Oncorhynchus masou</i></u>	<u>salmón japonés</u>
	<u><i>Oncorhynchus mykiss</i></u>	<u>trucha arco iris</u>
	<u><i>Oncorhynchus nerka</i></u>	<u>salmón rojo</u>
	<u><i>Oncorhynchus tshawytscha</i></u>	<u>salmón real</u>
	<u><i>Salmo marmoratus</i></u>	<u>trucha marmorata</u>
	<u><i>Salmo salar</i></u>	<u>salmón del Atlántico</u>
	<u><i>Salmo trutta</i></u>	<u>trucha café</u>
	<u><i>Salvelinus alpinus</i></u>	<u>trucha alpina</u>
	<u><i>Salvelinus fontinalis</i></u>	<u>trucha de manantial</u>
<u><i>Salvelinus namaycush</i></u>	<u>trucha del lago</u>	

[...]

- CAPÍTULO 10.11.
- INFECCIÓN POR EL VIRUS DE LA TILAPIA DEL LAGO

[...]

- Artículo 10.11.2.

Ámbito de aplicación

Las recomendaciones de este capítulo se aplican a las siguientes especies que cumplen con los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles de acuerdo con el Capítulo 1.5.: tilapia azul (*Oreochromis aureus*), tilapia azul-del Nilo, híbrido (*Oreochromis aureus* X *Oreochromis niloticus*), *Sarotherodon galilaeus*, tilapia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*), tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) y tilapia roja híbrida de Malasia (*Oreochromis niloticus* x *Oreochromis mossambicus*), (*Sarotherodon galilaeus*), tilapia de Mozambique (*Oreochromis mossambicus*), tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*), (*Tilapia zilli*), (*Barbonymus schwanenfeldii*), (*Tristramella simonis*) y tilapia azul del Nilo, híbrido (*Oreochromis niloticus* X *Oreochromis aureus*) (en estudio).

[...]

- CAPÍTULO 11.5.
- INFECCIÓN POR *PERKINSUS MARINUS*

- Artículo 11.5.1.

A efectos del Código Acuático, la infección por *Perkinsus marinus* designa una infección causada exclusivamente por el agente patógeno *P. marinus* de la familia Perkinsidae.

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

- Artículo 11.5.2.

Ámbito de aplicación

Las recomendaciones de este capítulo se aplican a las siguientes especies que cumplen con los criterios de inclusión en la lista de especies susceptibles de acuerdo con el Capítulo 1.5: la ostra americana (*Crassostrea virginica*), ~~la ostra del Pacífico (*Crassostrea gigas*) y la ostra de Suminoe (*Crassostrea ariakensis* (*Magallana* [Syn. *Crassostrea*] *ariakensis*), la ostra de Cortés (*Crassostrea corteziensis*) y la otra palmeada (*Saccostrea palmula*), la almeja de río (*Mya arenaria*), *Macoma balthica* y la almeja americana (*Mercenaria mercenaria*); Estas recomendaciones se aplican también a todas las demás especies susceptibles mencionadas en el Manual Acuático que sean objeto de comercio internacional.~~

[...]

SECTION 2.2.

DISEASES OF CRUSTACEANS

CHAPTER 2.2.0.

GENERAL INFORMATION

A. SAMPLING

1. Assessing the health status of the epidemiological unit

1.1. Sample material to be used for tests

Sample material and the number of samples to be collected depend on the specific disease or pathogen, the size of animals and the objective of testing (i.e. surveillance of apparently healthy animals, presumptive diagnosis of clinically affected animals or confirmatory diagnosis of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis of overt disease, detection of subclinical infection in apparently healthy animals or sampling for targeted surveillance to demonstrate freedom from infection with a specified pathogen). See the individual disease chapters in this *Aquatic Manual* for specific details of sample requirements.

1.2. Specifications according to crustacean populations

For details of animals to sample for a specific listed disease, see the relevant disease chapter in the *Aquatic Manual*. The design of a surveillance system for demonstrating disease-free status for a country, zone or compartment should be in accordance with the recommendations of the WOAHP *Aquatic Code* Chapter 1.4 . *Aquatic animal disease surveillance*.

Animals to be sampled are selected as follows:

- i) Susceptible species should be sampled proportionately or following risk-based criteria for targeted selection of lots, epidemiological units or populations with a history of abnormal mortality or potential exposure events (e.g. replacement with stocks of unknown disease status).
- ii) If more than one water source is used for production, animals from all water sources should be included in the sample.
- iii) ~~For the study of presumptively diseased crustaceans select those animals that are moribund, discoloured, displaying abnormal behaviour, or otherwise abnormal. If weak, abnormally behaving discoloured or freshly dead (not decomposed) animals are present, such animals should be selected. If such animals are not present, animals should be selected in such a way that all epidemiological units of the farm or waterbody are proportionately represented in the sample.~~
- iv) ~~When sampling is aimed at assessing disease occurrence (e.g. estimation of disease prevalence), the preferred selection method is probability sampling.~~

1.3. Specifications according to clinical status

In clinical disease episodes, carefully selected quality specimens with representative lesions should be obtained from live or moribund crustaceans. Collection of dead specimens during disease outbreaks should be avoided when possible, but recently dead samples may be suitable for some diagnostic assays provided they are not decomposed. When cultured or wild crustacean stocks are presenting clinical signs of an active disease that are consistent with, or suggestive of, any one of the WOA-listed crustacean diseases, care should be taken to ensure that the samples collected are preserved appropriately for the anticipated diagnostic tests (see sample preservation section for recommended methods). In situations other than when clinical disease episodes are investigated, for the WOA-listed diseases it is highly recommended that the scheduling of sampling be planned (i.e. by farm schedule, season, etc.) so that the particular life-stage(s) are sampled at a time when the pathogen of concern is most likely to be detected. Disease-specific recommendations are provided in Section 3 *Sample selection, sample collection, transportation and handling* of the individual chapters.

~~Recently dead crustaceans may be suitable (depending on their condition) for certain diagnostic assays such as nucleic acid detection techniques.~~

1.4. Specifications according to crustacean size

See the individual disease chapters in this *Aquatic Manual* for specific details of sample requirements.

2. General processing of samples

2.1. Macroscopic examination

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

2.2. Virological examination

Virological examination by virus isolation in cell culture of crustaceans is not routinely used for listed diseases of crustaceans. *Macrobrachium rosenbergii* has been isolated in insect cell lines, but it is not a recommended method.

2.2.1. Transportation and antibiotic treatment of samples

~~Culture systems for crustacean viruses are not available; antibiotic treatment of samples is not required. For transportation of samples see Section 3 of disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*. Not applicable.~~

2.2.2. Virus isolation

~~For processing of tissues see Section 3 of disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*. Not applicable.~~

2.2.3. Treatment to neutralise enzootic viruses

~~Not applicable.~~

2.3. Bacteriological examination

Bacteriological examination of crustaceans is not routinely used for listed diseases, but it may be used for the strains of *Vibrio parahaemolyticus* (*Vp*_{AHPND}) that cause acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). and for can be isolated on standard bacteriological media. *Hepatobacter penaei*, the causative agent of necrotising hepatopancreatitis (NHIP) has not been cultured and, because of its very small size, bacteriological examination may be limited to Gram staining. See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual* for identification methods.

2.4. Parasitic examination

Not applicable for currently listed diseases.

2.5. Fungal and other protists examination

See Chapter 2.2.2 *Infection with Aphanomyces astaci (Crayfish plague)*.

B. MATERIALS AND BIOLOGICAL PRODUCTS REQUIRED FOR THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF CRUSTACEAN PATHOGENS

1. Crustacean viruses

1.1. Crustacean cell lines

Not applicable. There are currently no confirmed or documented crustacean cell lines.

1.2. Culture media

Not applicable.

1.3. Virus positive controls and antigen preparation

1.3.1. Virus nomenclature

In general, the virus nomenclature used in the disease-specific chapters follows the most recent taxonomy for viruses as given in the Report of the Committee on Taxonomy of Viruses (see: [ICTV \[ictvonline.org\]](http://ICTV[ictvonline.org]) for latest information). Also provided in the disease-specific chapters are the disease and virus names that are in common use by the shrimp/prawn farming industries, as well as the more common synonyms that have been used or are in current use.

1.3.2. Virus production for experimental purposes

As no cell lines (crustacean, arthropod, or vertebrate) are known that can be used to produce crustacean viruses, stocks, infection of known susceptible host species (which are free of from infection by with the pathogenic agent in question) is the preferred method for virus production for experimental purposes or for the development of positive control material.

1.3.3. Virus preservation and storage

Infectivity of all of the WOA-listed crustacean viruses can be preserved by freezing infected whole crustaceans or infected target tissues at -20°C for short-term storage, or at -80°C or lower for long-term storage.

2. Crustacean bacteria

2.1. Culture media

See Chapter 2.2.1. *Acute hepatopancreatic necrosis disease* for details.

2.2. Storage of cultures

Lyophilisation or storage at -70°C is recommended for long-term storage of bacterial cultures.

3. Crustacean parasites

3.1. Culture media

Not applicable for currently listed diseases.

3.2. Storage of cultures

Not applicable for currently listed diseases.

4. Crustacean fungi and protists

4.1. Culture media

See Chapter 2.2.2. *Infection with *Aphanomyces astaci* (crayfish plague)*

4.2. Storage of cultures

See Chapter 2.2.2.

5. Techniques

The available diagnostic methods that may be selected for diagnosis of the WOA-listed crustacean diseases or detection of their aetiological agents are based on:

- i) Gross and clinical signs.
- ii) Direct bright-field, phase-contrast or dark-field microscopy with whole stained or unstained tissue wet-mounts, tissue squashes, and impression smears; and wet-mounts of faecal strands.
- iii) Histology of fixed specimens.
- iv) Bioassays of suspect or subclinical carriers using a highly susceptible host (life stage or species) as the indicator for the presence of the pathogen.
- v) Antibody-based tests for pathogen detection using specific antisera, polyclonal antibodies (PABs) or monoclonal antibodies (MAbs).
- vi) Molecular methods (including sequencing):

DNA probes or RNA probes for *in-situ* hybridisation (ISH) assays with histological sections of fixed tissues;

Conventional and real-time PCR/RT-PCR and LAMP for direct assay with fresh tissue samples or with extracted DNA or RNA.

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose **should only be is only** recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger crustaceans should be processed and tested individually. However, for eggs, larvae and postlarvae, pooling of **larger numbers individuals** (e.g. ~~150 or more eggs or larvae or 50 to 150 postlarvae depending on their size/age~~) may be necessary to obtain sufficient sample material to run a diagnostic assay.

5.1. Antibody-based tests

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

5.2. Direct microscopy

Samples for direct microscopic examination should be examined as soon as possible after collection. Use live specimens whenever possible, or use fresh, chilled, or fixed specimens when live specimens are not practical. If an adequate field laboratory is available, it should be used to process and examine samples near the site of collection.

5.3. Histological techniques

Only live or moribund specimens with clinical signs should be sampled for histology. Collect crustaceans by whatever means are available with a minimum of handling stress. Hold animals in a container appropriate for maintaining suitable water quality and supply adequate aeration to the container if the crustaceans are to be held for a short period of time before actual fixation.

5.3.1. Fixation

A general rule is that a minimum of ten volumes of fixative should be used for one volume of tissue sample (i.e. a 10 g sample of crustacean would require 100 ml of fixative).

i) Davidson's AFA (alcohol, formalin, acetic acid) fixative

Davidson's AFA fixative is recommended for most histological applications. The fixative is rapid, reduces autolytic changes in decapod crustaceans (i.e. especially in crustaceans in tropical and subtropical regions), and its acidic content decalcifies the cuticle. The formulation for Davidson's AFA is (for 1 litre):

330 ml 95% ethyl alcohol
220 ml 100% freshly made formalin (a saturated 37–39% aqueous solution of formaldehyde gas)
115 ml glacial acetic acid
335 ml tap water (for marine crustaceans, seawater may be substituted)
Store the fixative in glass or plastic bottles with secure caps at room temperature.

ii) Fixation procedures with Davidson's AFA

For larvae and postlarvae that are too small to be easily injected with fixative using a tuberculin syringe: Using a fine mesh screen or a Pasteur pipette, select and collect specimens. Immerse crustaceans selected for sampling directly in the fixative. Fix for 12–24 hours in fixative and then transfer to 70% ethyl alcohol for storage.

For juveniles that are too small to be injected: Select and collect specimens. Use a needle or fine-pointed forceps to incise the cuticle and immediately immerse crustaceans selected for sampling directly into the fixative. Fix for 12–24 hours in fixative and then transfer to 70% ethyl alcohol for storage.

For large juveniles and adults: to ensure proper fixation, kill the crustacean using a humane method, then immediately inject fixative (use 5–10% volume:weight). Fix for 12–24 hours in fixative and then transfer to 70% ethyl alcohol for storage.

The hepatopancreas (HP) should be injected first and at two or more sites, with a volume of fixative sufficient to change the HP to a white-to-orange colour (when Davidson's AFA is used); then inject fixative into adjacent regions of the cephalothorax, into the anterior abdominal region, and into the posterior abdominal region.

The fixative should be divided between the different regions, with the cephalothoracic region, specifically the HP, receiving a larger share than the abdominal region.

Immediately following injection, slit the cuticle with dissecting scissors, from the sixth abdominal segment to the base of the rostrum, being particularly careful not to cut deeply into the underlying tissue. The incision in the cephalothoracic region should be just lateral to the dorsal midline, while that in the abdominal region should be approximately mid-lateral.

For crustaceans larger than ~12 g: After injection of fixative, the body should then be transversely bisected, at least once, just posterior to the abdomen/cephalothorax junction, and (optional) again mid-abdominally.

For very large crustaceans (e.g. lobsters, crabs, adult penaeids, adult Macrobrachium rosenbergii, some species and life stages of crabs, crayfish, etc.): The organs of interest may be excised after injection of fixative. Completion of fixation of these tissue samples is then handled as outlined previously.

Following injection, incisions and bisection/trisection, or excision of key organs, immerse the specimen in the fixative (use 10:1 fixative:tissue ratio).

Allow fixation to proceed at room temperature for 24–72 hours depending on the size of crustacean being preserved. Longer fixation times in Davidson's AFA may be used to thoroughly decalcify the shell of crabs, lobsters, crayfish, etc.

Following fixation, the specimens should be transferred to 70% ethyl alcohol, where they can be stored for an indefinite period.

iii) Transport and shipment of preserved samples

As large volumes of alcohol should not be mailed or shipped, the following methods are recommended: Remove the specimens from the 70% ethyl alcohol. For larvae, postlarvae, or small juveniles, use leak-proof, screw-cap plastic vials if available; if glass vials must be used, pack to prevent breakage. For larger specimens, wrap samples with white paper towels to completely cover (do not use raw or processed cotton). Place towel-wrapped specimens in a sealable plastic bag and saturate with 70% ethyl alcohol. Insert the label and seal the bag. Place the bag within a second sealable bag. Multiple small sealable bags can again be placed within a sturdy, crush-proof appropriately labelled container for shipment (for details see *Aquatic Code Chapter 5.10 Measures concerning international transport of aquatic animal pathogens and pathological material*).

5.4. Transmission or scanning electron microscopy

Electron microscopy (EM – transmission or scanning) is a valuable research tool for the study of disease in crustaceans. However, EM methods are not routinely used for diagnosis of the diseases listed by WOAH.

5.5. Use of molecular ~~and antibody-based~~ techniques for confirmatory testing and diagnosis

Molecular techniques, including the use of nucleic acid probes for *in-situ* hybridisation, conventional PCR and real-time PCR, have been developed for the identification of many pathogens of aquatic animals. Real-time PCR methods, in general, have high sensitivity and specificity and, following adequate validation, can be used for direct detection of viral-nucleic acids in samples prepared-extracted from crustacean tissue. The Molecular techniques can be used in direct surveillance of crustacean diseases in apparently healthy populations, if they have a high level of diagnostic sensitivity, as well as in the diagnosis of clinically affected animals.

When using PCR as a diagnostic method, the design of primers and probe, the use of positive and negative controls, as well as validation of the PCR method chosen are important. Real-time PCR is a powerful technique particularly for analysing relatively high numbers of samples (e.g. for surveillance) via high-throughput testing. Several nucleic acid probe and PCR protocols are included in this version of the *Aquatic Manual* as screening, diagnostic or confirmatory methods for crustaceans and can be undertaken as the standard method. Following real-time PCR-positive results, where possible, conventional PCR with sequencing of PCR products should be used for confirmation of pathogen identity.

As with all PCR protocols, optimisation may be necessary depending on the reagents, equipment and the plasticware used. PCR is prone to false-positive and false-negative results. False-positive results (negative samples giving a positive reaction) may arise from either product carryover from positive samples or, more commonly, from cross-contamination by PCR products from previous tests. False-negative results (positive samples giving a negative result) may lead to unwanted transmission of pathogens and biosecurity failure.

Each diagnostic samples should be tested in duplicate, i.e. by testing two aliquots, and Both aliquots must produce positive results for a sample to be deemed positive. In instances where a sample produces one positive and one negative result, these are deemed indeterminate and should be retested. In addition, the following controls should be run with each assay: negative extraction control (e.g. a tissue [or equivalent sample that is under test]) sample from a known uninfected animal; positive control (preferably, one that can be distinguished from the pathogen genomic sequence [e.g. an artificial plasmid], thus allowing detection of any cross-contamination leading to a false positive result); no template control (all reagents with water replacing the template); internal positive control (internal housekeeping gene). All controls should produce their expected results in order for the diagnostic test result to be valid.

To minimise the risk of contamination, aerosol-preventing barrier pipette tips should be used for all sample preparation and PCR preparation steps. Additionally, all PCRs should be prepared in a clean area that is separate

from the area where the nucleic acid extraction, amplifications and gel electrophoresis are performed. Do not share equipment (e.g. pipettes, laboratory coats and consumables) between areas and, where possible, restrict access between areas. Contaminating PCR products can be carried on equipment, clothes, shoes, pens/marker pens and paper (e.g. workbooks). Also, ensure all work-tops and air-flow cabinets/hoods used for the extractions and PCR set-up are regularly cleaned and decontaminated. To ensure sample integrity, always store the samples (e.g. in a freezer or refrigerator) in a location away separate from the molecular biology laboratory and reagents.

Nested PCR involves two rounds of PCR and may be used to achieve increased sensitivity and specificity; however, it increases the risk of contamination. Contaminants from previous reactions can carry over and lead to false-positive results. Strict laboratory practices such as separate workspaces, dedicated equipment, and meticulous pipetting techniques are essential to mitigate this risk. In conclusion, nested PCR is not recommended for surveillance but may sometimes be used for confirmative studies.

5.5.1. Sample preparation and types

Samples should be prepared to preserve the nucleic acid of the pathogen and should be handled and packaged with the greatest care to minimise the potential for cross-contamination among the samples or target degradation before the assay can be performed. Samples selected for nucleic acid-based or antibody-based diagnostic tests should be handled and packaged (in new plastic sample bags or bottles) with care to minimise the potential for cross-contamination among the sample set taken from different (wild or farmed) stocks, tanks, ponds, farms, etc. A water-resistant label, with the appropriate data filled out, should be placed within each package or container for each sample set.

Some suitable methods for preservation and transport of samples taken for molecular ~~or antibody-based~~ tests are:

- i) *Live specimens*: these may be processed in the field or shipped to the diagnostic laboratory for testing.
- ii) *Haemolymph*: this tissue is the preferred sample for certain molecular and antibody-based diagnostic tests (see disease-specific chapters). Samples may be collected by needle and syringe through cardiac puncture, from the haemocoel (i.e. the ventral sinus in penaeids), or from a severed appendage, and immediately transferred to a tube that is half full with ~~90–95%~~ 80% analytical grade ethanol or suitable nucleic acid preservative.
- iii) *Iced or chilled specimens*: these are specimens that can be transported to the laboratory for testing within 24 hours. Pack samples in sample bags surrounded by an adequate quantity of wet ice or freezer bricks around the bagged samples in an insulated box and ship to the laboratory.
- iv) *Frozen whole specimens*: select live specimens according to the criteria listed in disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*. In situations where it is not possible to get the specimens to the laboratory alive, they may be quick freeze-frozen in the field using crushed dry-ice or freeze-frozen in the field laboratories using a mechanical freezer at -20°C or lower temperature. Prepare and insert the label into the container with the samples, pack samples with an adequate quantity of dry-ice in an insulated box, and ship to the laboratory.
- v) *Alcohol-preserved samples*: in regions where the storage and shipment of frozen samples is problematic, ~~90–95%~~ 80% analytical grade ethanol may be used to preserve, store, and transport certain types of samples for molecular tests. Alcohol-preserved samples are generally not suitable for antibody-based tests. Whole crustaceans (any life stage provided the specimen is no larger than 2–3 g), excised tissues (i.e. pleopods) from large crustaceans, or haemolymph may be preserved in ~~90–95%~~ 80% analytical grade ethanol, and then packed for shipment according to the methods described in Section 5.3.1, paragraph iii (see chapter 5.10 of the *Aquatic Code* for additional details on the international transport of such samples).
- vi) *Fixed tissues for in-situ hybridisation*: For this purpose, classic methods for preservation of the tissues are adequate. Neutral buffered formalin Davidson's fixative is usually a good choice. Samples should be fixed for 24–48 hours; fixation for over 24 more than 48 hours in Davidson's fixative should be avoided. Samples should be transferred to 80% analytical grade ethanol following Davidson's fixation treatment.

5.5.2. Preservation of RNA and DNA in tissues

For routine diagnostic testing by PCR or RT-PCR, samples must be prepared to preserve the pathogen's nucleic acid. For most purposes, preservation of samples in analytical grade ethanol (80–90%) is the preferred method for subsequent molecular tests. Samples preserved in this way can be stored for up to 1 week at 4°C for 1 month, at or 25°C for 1 week or indefinitely for extended periods at –20°C or below. In addition, other products (e.g. nucleic acid preservatives, various lysis buffers, etc.) are acceptable and are commercially available for the same purpose.

5.5.3. Nucleic acid extraction

To isolate nucleic acids from tissues preserved in ethanol or nucleic acid preservative, simply remove the tissue from the fixative or preservative and treat it as though it was just harvested. Most fresh and preserved or fixed tissues can be homogenised (e.g. with a mortar and pestle or in bead-beating tubes) directly in the lysis or extraction buffer provided with commercially available DNA and RNA extraction kits. Commercial kits should be validated or undergo equivalence testing with current validated extraction procedures prior to routine use.

5.5.4. Preparation of slides for *in-situ* hybridisation

For *in-situ* hybridisation, fixed tissues that have been transferred to 70% 80% analytical grade ethanol are embedded in paraffin according to standard histological methods. Sections are cut at a thickness of 5 µm and placed on aminoalkylsilane-coated slides, which are then baked overnight in an oven at 40°C. The sections are de-waxed by immersing in xylene for 10 minutes. This step is repeated once and then the solvent is eliminated by immersion in two successive absolute ethanol baths for 10 minutes each. The sections are then rehydrated by immersion in an ethanol series. The protocol may require a step of membrane permeabilisation enabling access to the target DNA. For this purpose, sections are treated with proteinase K (100 µg ml⁻¹) in TE buffer (Tris [50 mM], EDTA [10 mM]), at 37°C for 30 minutes. For *in-situ* hybridisation tests (see individual chapters for details), it is essential that both a known positive and a known negative slide be stained to eliminate false positive results due to non-specific staining/stain dropout, and false negative results due to errors in the staining protocol (Qadiri *et al.*, 2019; Valverde *et al.*, 2017). For further details see disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

6. Additional information to be collected

Sample information should include the collector's name, organisation, date, time, and description of the geographical location of the place of origin. The geographical location of the place of origin of samples may be described as the name or location of the sampling site from which the sample has originated, or its geographical co-ordinates. There should also be records that provide information to allow trace-backs on the sample movement from the sample site of origin to the storage facility or laboratory and within those facilities.

A history of the specimens should also be collected and should include species, age, weight, details of clinical signs including behavioural changes, as well as observations concerning any gross pathology which has been observed.

Information on the preservation method, storage location, and date and time of storage at each storage locker or freezer along with information on the storage temperature (continuously monitored is preferable) should be collected. This information should be tracked with a unique sample code for all samples. For laboratories, the date of receipt, storage location information, date of analysis, analysis notes, and report date should be maintained for all uniquely coded samples. These data will greatly facilitate the tracking of sample problems and provide assurance that the samples were properly handled.

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual* for recommendations on any additional information that may be required or that may assist the diagnostic laboratory in determining the most appropriate test(s) to be run for submitted samples.

4. KEY REFERENCES FOR FURTHER READING

BELL T.A. & LIGHTNER D.V. (1988). A Handbook of Normal Shrimp Histology. Special Publication No. 1, World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA.

BONDAD-REANTASO M.G., MCGLADDERY S.E., EAST I. & SUBASINGHE R.P. (2001). Asian Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. *FAO Fisheries Technical Paper*, No. 402, supplement 2. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 240 pp.

JOHNSON P.T. (1980). Histology of the Blue Crab, *Callinectes sapidus*. A Model for the Decapoda. Prager, New York, USA, 440 pp.

LIGHTNER D.V. (1996). A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 304 pp.

LIGHTNER D.V., REDMAN R.M., PANTOJA C.R., TANG K.F.J., NOBLE B.L., SCHOFIELD P., MOHNEY L.L., NUNAN L.M. & NAVARRO S.A. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in the Americas. *J. Invert. Pathol.*, **110**, 174–183.

LOTZ J.M. (1997). Special topic review: Viruses, biosecurity and specific pathogen-free stocks in shrimp aquaculture. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **13**, 405–413.

MOODY N.J.G. & CRANE M.ST.J. (2016). Validation of diagnostic tests in the OIE manual for aquatic animals. In: Proc. 3rd OIE Global Conference on Aquatic Animal Health – “Riding the Wave of the Future”, Ho Chi Minh City, Vietnam, 20–22 January 2015, pp.119–126.

QADIRI S.S.N., SOO-JIN KIM S.-J., KRISHNAN R., KIM J.-O., KOLE S., KIM W.-S. & OH M.-J. (2019). Localization and tissue tropism of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) in experimentally infected juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*: An *in situ* hybridization and immunohistochemical study. *Aquaculture*, **505**, 242–252.

THITAMADEE S, PRACHUMWAT A., SRISALA J., JAROENLAK P., SALACHAN P.V., SRITUNYALUCKSANA K, FLEGEL T.W. & ITSATHITPHAISARN O. (2016). Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia. *Aquaculture*, **452**, 69–87.

VALVERDE E.J., BORREGO J.J., SARASQUETE M.C., ORTIZ-DELGADO J.B. & CASTRO D. (2017). Target organs for lymphocystis disease virus replication in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Vet. Res.*, **48**, 21. doi 10.1186/s13567-017-0428-3.

WALKER P.J. & MOHAN C.V. (2009). Viral disease emergence in shrimp aquaculture: origins, impact and the effectiveness of health management strategies. *Rev. Aquaculture*, **1**, 125–154.

*
* *

NB: FIRST ADOPTED IN 2000; MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.2.2.

INFECTION WITH *APHANOMYCES ASTACI* (CRAYFISH PLAGUE)

1. Scope

Infection with *Aphanomyces astaci* means infection with the pathogenic agent *A. astaci*, Phylum Oomycota. The disease is commonly known as crayfish plague.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Aphanomyces astaci is a water mould. The Oomycetida or Oomycota, are considered protists and are classified with diatoms and brown algae in a group called the Stramenopiles or Chromista.

Five groups (A–E) of *A. astaci* have been described based on random amplification of polymorphic DNA polymerase chain reaction (RAPD PCR) (Dieguez-Urbeondo *et al.*, 1995; Huang *et al.*, 1994; Kozubikova *et al.*, 2011). Additional geno- or haplotypes are still being detected using molecular methods (Di Domenico *et al.*, 2021). Group A (the so called *Astacus* strains) comprises strains isolated from several European crayfish species. These strains are thought to have been in Europe for a long period of time. Group B (*Pacifastacus* strains I) includes isolates from several European crayfish species and from the invasive *Pacifastacus leniusculus* in Europe as well as Lake Tahoe, USA. Imported to Europe, *P. leniusculus* probably introduced this genotype of *A. astaci* and infected the native European crayfish. Group C (*Pacifastacus* strains II) consists of a strain isolated from *P. leniusculus* from Pitt Lake, Canada. Another strain (Pc), isolated from *Procambarus clarkii* in Spain, sits in group D (*Procambarus* strains). This strain shows temperature/growth curves with higher optimum temperatures compared with groups A and B (Dieguez-Urbeondo *et al.*, 1995). *Aphanomyces astaci* strains that have been present in Europe for many years (group A strains) appear to be less pathogenic than strains introduced with crayfish imports from North America since the 1960s. North American host species spiny-cheek crayfish (*Orconectes limosus*) has been shown to be a carrier of Group E (Kozubiková *et al.*, 2011).

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

Aphanomyces astaci is poorly resistant against desiccation and does not survive long in decomposing hosts. Any treatment of the crayfish (freezing, cooking, drying) will affect the survival of the pathogen (Oidtmann *et al.*, 2002). Isolation from processed samples is not possible, however they may be suitable for molecular methods used for pathogen detection.

2.1.3. Survival and stability outside the host

Outside the host *Aphanomyces astaci* is found as zoospores that remain motile for up to 3 days and form cysts that can survive for 2 weeks in distilled water. As *A. astaci* can go through three cycles of encystment and zoospore emergence, the maximum life span outside of a host could be several weeks. Spores remained viable in a spore suspension in clean water kept at 2°C for 2 months (Unestam, 1966). Survival time is probably shorter in natural waters.

For inactivation methods, see Section 2.4.5.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

The recommendations in this chapter apply to all species of crayfish in all three crayfish families (Cambaridae, Astacidae and Parastacidae).

[Note: an assessment of species that meet the criteria for listing as susceptible to infection with *A. astaci* in accordance with Chapter 1.5. has not yet been completed]

All stages of crayfish species native to Europe, including the noble crayfish (*Astacus astacus*) of north-west Europe, the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) of south-west and west Europe, the related *Austropotamobius torrentium* (mountain streams of south-west Europe) and the slender-clawed or Turkish crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) of eastern Europe and Asia Minor are highly susceptible (e.g. Holdich et al., 2009). Australian species of crayfish are also highly susceptible. North American crayfish such as the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*), Louisiana swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and *Faxonius* spp. are infected by *A. astaci*, but under normal conditions the infection does not cause clinical disease or death. All North American crayfish species investigated to date have been shown to be susceptible to infection, demonstrated by the presence of the pathogen in host cuticle (reviewed by Svoboda et al. 2017) and it is therefore currently assumed that this is the case for any other North American species.

The only other crustacean known to be susceptible to infection by *A. astaci* is the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*).

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

[Under study]

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

The host species susceptible to infection with *A. astaci* fall largely into two categories: those highly susceptible to infection with that development of clinical disease and mortalities, and those that are infected without associated-but do not display any significant clinical disease or mortalities. All life stages are considered susceptible to infection with *A. astaci*.

Species that develop clinical disease and **experience mortality mortalities** include the noble crayfish (*Astacus astacus*) of north-west Europe, the white-clawed crayfish (*Austropotamobius pallipes*) of south-west and west Europe, the related *Austropotamobius torrentium* (mountain streams of south-west Europe) and the slender-clawed or Turkish crayfish (*Pontastacus leptodactylus*) of eastern Europe and Asia Minor (e.g. Holdich et al., 2009). Australian species of freshwater crayfish are also considered vulnerable to clinical disease and **mortality mortalities**.

Species that can be infected but do not normally develop clinical disease include North American crayfish species such as the signal crayfish (*Pacifastacus leniusculus*), Louisiana swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) and *Faxonius* spp. All North American crayfish species that have been investigated have been shown to be susceptible to infection, demonstrated by the presence of the pathogen in host cuticle (reviewed by Svoboda et al. 2017).

Highly susceptible species: Clinical disease outbreaks caused by infection with *A. astaci* are generally known as 'crayfish plague' outbreaks. In such outbreaks, moribund and dead crayfish of a range of sizes (and therefore ages) can be found.

The only non-crayfish crustacean species known to be susceptible to infection by *A. astaci* is the Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) (Schrimpf et al. 2014).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

The tissue that becomes initially infected is the exoskeleton cuticle. Soft cuticle, as is found on the ventral abdomen and around joints, is preferentially affected. In the highly susceptible European crayfish species, which

are prone to development of clinical disease, the pathogen often manages to penetrate the basal lamina located underneath the epidermis cell layer. From there, *A. astaci* spreads throughout the body primarily by invading connective tissue and haemal sinuses; however, all tissues may be affected.

In North American crayfish species, infection is usually restricted to the cuticle. Based on PCR results, the tailfan (consisting of uropods and telson) and soft abdominal cuticle appear to be frequently infected (Oidtmann *et al.*, 2006; Vralstad *et al.*, 2011).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

North American crayfish species act mostly as reservoirs carriers of the infection without showing clinical signs. However, some strains of *A. astaci*, especially from group A, show lowered virulence, thus enabling normally highly susceptible European crayfish to act as reservoirs carriers as well (see review by Svoboda *et al.*, 2017).

Colonisation of habitats, initially by North American crayfish species carrying *A. astaci* occupied by highly susceptible is likely to result in an epizootic if crayfish species that are prone to expression of clinical disease are present by North American crayfish species carrying *A. astaci* is likely to result in an epizootic among the highly susceptible animals.

2.2.6. Vectors

Transportation of finfish may facilitate the spread of *A. astaci* through the presence of spores in the transport water or co-transport of infected crayfish specimens (Alderman *et al.*, 1987; Oidtmann *et al.*, 2002). There is also circumstantial evidence of spread by contaminated equipment (e.g. nets, boots, clothing, traps) (Alderman *et al.*, 1987). None known.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity, and prevalence

When the infection first reaches a naïve population of highly susceptible crayfish species that are prone to clinical disease, high levels of mortality are usually observed within a short space of time, so that in and in areas with high crayfish densities the bottoms of lakes, rivers and streams are become covered with dead and dying crayfish. A band of mortality will spread quickly from the initial outbreak site downstream, whereas upstream spread is slower. Lower water temperatures are associated with slower a lower rate of mortalities and a greater range of clinical signs in affected animals (Alderman *et al.*, 1987). Observations from Finland suggest that at low water temperatures, noble crayfish (*Astacus astacus*) can be infected for several months without the development of any noticeable mortalities (Viljamaa-Dirks *et al.*, 2013).

On rare occasions, single specimens of the highly susceptible species that are prone to clinical disease have been found after a wave of infection with *A. astaci* has gone through a river or lake. This is most likely to be due to lack of exposure of these animals during an outbreak (animals may have been present in a tributary of a river or lake or in a part of the affected river/lake that was not reached by spores, or crayfish may have stayed in burrows during the epizootic). However, low virulent strains of *A. astaci* have been described to persist in a waterway, kept alive by a weak infection in the remnant population (Viljamaa-Dirks *et al.*, 2011). Although remnant populations of susceptible crayfish species remain in many European watersheds, the dense populations that existed 150 years ago are now heavily diminished (Souty-Grosset *et al.*, 2006; Holdich *et al.*, 2009). Populations of susceptible crayfish may re-establish, but once population density and geographical distribution is sufficient for susceptible animals to come into contact with spores, new outbreaks of infection with *A. astaci* and large-scale mortalities will occur.

In the highly susceptible European crayfish species, which are prone to clinical disease, exposure to *A. astaci* spores usually leads to infection and eventually to death. Prevalence of infection within a population in the early stage of an outbreak may be low (few animals in a river population may be affected). However, the pathogen is amplified amplifies in affected animals and is subsequently released into the water; usually leading to 100% mortality in a contiguous population. The rate of spread from initially affected animals depends on several factors, one being water temperature. Therefore, the time from first introduction of the pathogen into a population to noticeable crayfish mortalities can vary greatly and may range from a few weeks to months. Prevalence of infection will gradually increase over this time and usually reach 100%. Data from a noble crayfish

population in Finland that experienced an acute mortality event due to infection with *A. astaci* in 2001 suggest that in sparse noble crayfish populations, spread of disease throughout the host population may take several years (Viljamaa-Dirks et al., 2011).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

~~North American crayfish~~ **Susceptible Species prone to clinical disease**

Gross clinical signs are variable and depend on challenge severity and water temperatures. The first sign of an epizootic may be the appearance of crayfish during daylight (crayfish are normally nocturnal), some of which may show loss of co-ordination, falling onto their backs and remaining unable to right themselves. Occasionally, the infected animals can be seen trying to scratch or pinch themselves.

Often, however, the first sign of an outbreak may be the presence of large numbers of dead crayfish in a river or lake (Alderman et al., 1987).

Infection with *A. astaci* may cause mass mortality of crayfish. However, investigation of mortality event should consider other causes such as environmental pollution (e.g., insecticides such as cypermethrin have been associated with initial misdiagnoses).

~~North American crayfish~~ **Susceptible Species that do not normally develop clinical disease**

Infected North American crayfish may be subclinical carriers. Controlled exposure to a highly virulent strain has resulted in mortality in juvenile stages of *Pacifastacus leniusculus* as well as behavioural alterations in adults (Thomas et al., 2020).

2.3.3 Gross pathology

~~North American crayfish~~ **Susceptible Species prone to clinical disease**

Depending on a range of factors, the foci of infection in crayfish may be seen by the naked eye or may not be discernible despite careful examination. Infection foci are best viewed under a low power stereo microscope and are recognisable by localised whitening of the muscle beneath the cuticle. In some cases, a brown colouration of cuticle and muscle may occur, or hyphae may be visible in infected cuticles in the form of fine brown (melanised) tracks in the cuticle. Sites for examination include the intersternal soft ventral cuticle of the abdomen and tail, the cuticle of the perianal region, the cuticle between the carapace and abdomen, the joints of the pereopods (walking legs), particularly the proximal joint, eyestalks and finally the gills.

~~North American crayfish~~ **Susceptible Species that do not normally develop clinical disease**

Infected North American crayfish ~~do not usually show signs of disease~~ can sometimes show melanised spots in their soft cuticle, for example, the soft abdominal cuticle and joints. These melanisations can be caused by mechanical injuries or infections with other water moulds and are non-specific. However, populations with high levels of infection can show abnormally high levels of cuticular damage in individual animals, such as missing legs and claws due to deteriorated joints.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

The main routes of spread of the pathogen are through 1) movement of infected crayfish, 2) movement of spores with contaminated water or equipment, as may occur during movements of finfish, or 3) through colonisation of habitats by invasive North American crayfish species.

The main route of spread of *A. astaci* in Europe between the 1960s and 2000 was through the active stocking of North American crayfish into the wild or escapes from crayfish farms. Subsequent spread occurs through expanding populations of invasive North American crayfish, accidental co-transport of specimens, and release of North American crayfish into the wild by private individuals (Holdich et al., 2009).

Transmission from crayfish to crayfish occurs through the release of zoospores from an infected animal and attachment of the zoospores to naïve crayfish. The life cycle of *A. astaci* is simple with vegetative hyphae invading and ramifying through host tissues, eventually producing extramatrical sporangia that release amoeboid primary spores. These initially encyst, but then release a biflagellate zoospore (secondary zoospore).

Biflagellate zoospores swim in the water column and, upon encountering a susceptible host, attach and germinate to produce invasive vegetative hyphae. The zoospores of *A. astaci* swim actively in the water column and have been demonstrated to show positive chemotaxis towards crayfish (Cerenius & Söderhäll, 1984). Zoospores are capable of repeated encystment and re-emergence, extending the period of their infectivity (Soderhall & Cerenius 1999). Growth and sporulation capacity is strain-and temperature-dependent (Dieguez-Urbeondo *et al.*, 1995).

The main routes of spread of the pathogen are through 1) movement of infected crayfish, 2) movement of spores with contaminated water or equipment, or 3) through colonisation of non-native habitats by invasive North American crayfish species.

The main route of spread of *A. astaci* in Europe between the 1960s and 2000 was through the active stocking of North American crayfish into the wild or escapes from crayfish farms. Subsequent spread occurred through expanding populations of invasive North American crayfish, accidental co-transport of specimens, and release of North American crayfish into the wild by private individuals (Holdich *et al.*, 2009).

Transportation of finfish may facilitate the spread of *A. astaci* through the presence of spores in the transport water or co-transport of infected crayfish specimens (Alderman *et al.*, 1987; Oidtmann *et al.*, 2002). There is also circumstantial evidence of spread by contaminated equipment (e.g., nets, boots, clothing, traps) (Alderman *et al.*, 1987).

2.3.5. Environmental factors

Under laboratory conditions, the preferred temperature range at which the *A. astaci* mycelium grows varies slightly depending on the strain. In a study, which compared several *A. astaci* strains that had been isolated from a variety of crayfish species, mycelial growth was observed between 4 and 29.5°C, with the strain isolated from *Procambarus clarkii* growing better at higher temperatures compared to the other strains. Sporulation efficiency was similarly high for all strains tested between 4 and 20°C, but it was clearly reduced for the non-*P. clarkii* strains at 25°C and absent at 27°C. In contrast, sporulation still occurred in the *P. clarkii* strain at 27°C. The proportion of motile zoospores (out of all zoospores observed in a zoospore suspension) was almost 100% at temperatures ranging from 4–18°C, reduced to about 60% at 20°C and about 20% at 25°C in all but the *P. clarkii* strain. In the *P. clarkii* strain, 80% of the zoospores were still motile at 25°C, but no motile spores were found at 27°C (Dieguez-Urbeondo *et al.*, 1995).

Field observations show that outbreaks of infection with *A. astaci* occur over a wide temperature range, and at least in the temperature range 4–20°C. The rate of spread within a population depends on several factors, including water temperature. In a temperature range between 4 and 16°C, the speed of an epizootic is enhanced by higher water temperatures.

In buffered, redistilled water, sporulation occurs between pH 5 and 8, with the optimal range being pH 5–7. The optimal pH range for swimming of zoospores appears to be pH 6.0–7.5, with a maximum range between pH 4.5 and 9.0 (Unestam, 1966).

Zoospore emergence is influenced by the presence of certain salts in the water. CaCl₂ stimulates zoospore emergence from primary cysts, whereas MgCl₂ has an inhibitory effect. In general, zoospore emergence is triggered by transferring the vegetative mycelium into a medium where nutrients are absent or low in concentration (Cerenius *et al.*, 1988).

2.3.6. Geographical distribution

In Europe the reports of large mortalities of crayfish go back to 1860. The reservoir of the original infections in the 19th century was never established. *Faxonius (Orconectes)* spp. were not known to have been introduced into Europe until the 1890s, but the post-1960s extensions are largely linked to more recent introductions of North American crayfish for farming (Alderman, 1996; Holdich *et al.* 2009). *Pacifastacus leniusculus* and *Procambarus clarkii* are now widely naturalised in many parts of Europe.

In recent years, crayfish plague has been reported in Asia and also in North- and South America (see e.g. references in Di Domenico *et al.* 2021). The distribution of *A. astaci* in North America is likely to be much wider than reported ([Martín-Torrijos *et al.*, 2021](#)).

~~Any geographical area where North American crayfish species were introduced must be considered as potentially infected if not proven otherwise. Lack of clinical disease in these carrier species may hamper the reliability in reporting the infection. For the highly susceptible species, See WOAHS WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level. However, even high mortalities can go unnoticed in wild populations.~~

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

No vaccines are available.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

~~No treatments are currently known that can successfully treat the highly susceptible crayfish species, once infected.~~

2.4.3. Immunostimulation

~~No immunostimulants are currently known that can successfully protect the highly susceptible crayfish species against infection and consequent disease due to *A. astaci* infection.~~

2.4.4. Breeding resistant strains

A few studies suggest that there might be differences in resistance between populations of ~~highly susceptible species~~ crayfish species that are prone to clinical disease (reviewed by Martín-Torrijos *et al.*, 2017; Svoboda *et al.*, 2017). The fact that North American crayfish generally do not develop clinical disease suggests that selection for resistance may be possible and laboratory studies using attenuated strains of *A. astaci* might be successful. However, there are currently no published data from such studies.

2.4.5. Inactivation methods

Aphanomyces astaci, both in culture and in infected crayfish, is inactivated by a short exposure to temperatures of 60°C or to temperatures of -20°C (or below) for 48 hours (or more) (Oidtmann *et al.*, 2002). Sodium hypochlorite at 100 ppm, free chlorine and iodophors at 100 ppm available iodine, are effective for disinfection of contaminated equipment. Equipment must be cleaned prior to disinfection since organic matter decreases the effectiveness of disinfectants (Alderman & Polglase, 1985). Thorough drying of equipment (>24 hours) is also effective as *A. astaci* is not resistant to desiccation (Rennerfelt, 1936).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

No information available.

2.4.7. General husbandry

If a ~~crayfish farm for highly susceptible~~ crayfish species that are prone to clinical disease is being planned, it should be carefully investigated whether North American crayfish species are in the vicinity of the planned site or present upstream. If North American crayfish are present, there is a high likelihood that susceptible farmed crayfish will eventually become infected.

In an endemic area where ~~the highly susceptible species~~ prone to expression of clinical disease are being farmed, the following biosecurity recommendations should be followed to avoid an introduction of *A. astaci* onto the site:

-
1. General biosecurity should be in place (e.g., controlled access to premises; disinfection of boots when entering the site; investigation of mortalities if they occur; introduction of live animals (crayfish, finfish) only from sources known to be free from infection with *A. astaci*).
 2. Movements of potentially infected live or dead crayfish, potentially contaminated water, equipment or any other item that might carry the pathogen from an infected to an uninfected site holding susceptible species should be prevented.
 3. If transfers of finfish or crayfish are being planned, these should not come from streams or other waters that harbour potentially infected crayfish (either susceptible crayfish populations that are going through a current outbreak of infection with *A. astaci* or North American carrier-crayfish species).
 4. North American crayfish should not be brought onto the site.
 5. Finfish obtained from unknown freshwater sources or from sources, where North American crayfish may be present or a current outbreak of infection with *A. astaci* may be taking place, must not be used as bait or feed for crayfish, unless they have been subject to a temperature treatment to kill *A. astaci* (see Section 2.4.5. *Inactivation methods*).
 6. Any equipment that is brought onto site should be disinfected.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

3.1. Selection of populations and individual specimens

For a suspected outbreak of infection with *A. astaci* in a population of ~~highly susceptible~~ crayfish species that are prone to clinical disease, sampled crayfish should ideally consist of: a) live crayfish showing signs of disease, and b) live, apparently healthy crayfish. Freshly dead crayfish may also be suitable, although this will depend on their condition.

Live crayfish should be transported using insulated containers equipped with small holes to allow aeration. The temperature in the container should not exceed 16°C.

Crayfish should be transported in a moist atmosphere, for example using moistened wood shavings/wood wool, newspaper, or grass/hay. Unless transport water is sufficiently oxygenated, live crayfish should not be transported in water, as they may suffocate.

The time between sampling of live animals and delivery to the investigating laboratory should not exceed 24 hours.

Should only dead animals be found at the site of a suspected outbreak, freshly dead animals should be selected for diagnosis. Dead animals can either be: a) transported chilled (if they appear to have died only very recently), or, b) placed in non-methylated ethanol (minimum concentration 70%; see 3.5. *Preservation of samples for submission*), or c) placed in freezer at -20°C to avoid further decay and transported frozen.

When testing any population outside an acute mortality event for the presence of crayfish plague, as many individuals as possible should be inspected visually for signs of cuticular damage. Crayfish that have melanized spots or missing limbs should be selected in the first place for further analysis.

3.2. Selection of organs or tissues

In ~~highly susceptible~~ species that are prone to clinical disease, the tissue recommended for sampling is the soft abdominal cuticle, which can be found on the ventral side of the abdomen. Any other soft part of the exoskeleton can be included as well. If any melanised spots or whitened areas are detected, these should be included in the sampling. From diseased animals, samples should be aseptically collected from the soft abdominal cuticle. For identification of carriers, samples should be aseptically collected from soft abdominal cuticle, and telson and uropods, separately.

In the North American crayfish species, sampling of soft abdominal cuticle, uropods and telson are recommended. Any other soft part of the exoskeleton can be included as well. If any melanized spots are detected, these should be included in the sampling.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Autolysed material is not suitable for analysis.

3.4. Non-lethal sampling

A non-destructive sampling method that detects *A. astaci* DNA in the microbial biofilm associated with the cuticle of individual crayfish through vigorous scrubbing has been described (Pavic *et al.*, 2020), and could be considered in case of testing vulnerable populations.

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

The use of non-preserved crayfish is preferred, as described above. If transport of recently dead or moribund crayfish cannot be arranged, crayfish may be frozen or fixed in ethanol (minimum 70%). However, fixation may reduce test sensitivity. The crayfish:ethanol ratio should ideally be 1:10 (1 part crayfish, 10 parts ethanol).

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The success of pathogen isolation depends strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Isolation is best attempted from crayfish with clinical signs delivered alive (see Section 3.1.). Fresh specimens should be kept chilled and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5. of Chapter 2.2.0 General information (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section 2.2 of Chapter 2.2.0 *General information (diseases of crustaceans)*.

3.5.4. Samples for other tests

Sensitive molecular methods can be used to detect *A. astaci* DNA directly from water samples (Strand *et al.* 2011, 2012). These methods require validation for diagnostic use.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose ~~should only be~~ is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger animals should be processed and tested individually. Small life stages such as PL, can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

- +++ = Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
- ++ = Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
- + = Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.
- Shaded boxes = Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAH recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts						+	+	NA				
Histopathology						+	+	NA				
Cell Culture						+	+	NA				
Real-time PCR	++	++	++	1	++	++	++	1	++	++	++	1
Conventional PCR	+	+	+	1	++	++	++	1				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	1
<i>In-situ</i> hybridisation												
Bioassay												
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods ³												
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHP pathway (chapter 1.1.2); NA = not available. PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Small pieces of soft cuticle excised from the regions mentioned above (Section 2.3.3 *Gross pathology*) and examined under a compound microscope using low-to-medium power will confirm the presence of aseptate fungal-like hyphae 7–9 µm wide. The hyphae can usually be found pervading the whole thickness of the cuticle, forming a three-dimensional network of hyphae in heavily affected areas of the cuticle. The presence of host haemocytes and possibly some melanisation closely associated with and encapsulating the hyphae give good presumptive evidence that the hyphae represent a pathogen rather than a secondary opportunist invader. In some cases, examination of the surface of such mounted cuticles will demonstrate the presence of characteristic *A. astaci* sporangia with clusters of encysted primary spores (see Section 4.3 *Culture for isolation*).

4.2. Histopathology

Unless the selection of tissue for fixation has been well chosen, *A. astaci* hyphae can be difficult to find in stained preparations. A histological staining technique, such as the Grocott silver stain counterstained with conventional haematoxylin and eosin, can be used. However, such material does not prove that any hyphae observed are those of *A. astaci*, especially when the material comes from animals already dead by sampling.

See also Section 4.1 *Wet mounts*.

4.3. Culture for isolation

Isolation is not recommended as a routine diagnostic method (Alderman & Polglase, 1986; Cerenius *et al.*, 1987; Viljamaa-Dirks, 2006). Test sensitivity and specificity of the cultivation method can be very variable depending on the experience of the examiner, but in general will be lower than the PCR. Isolation of *A. astaci* by culture from apparently healthy crayfish is challenging and molecular methods are recommended. A detailed description of this test is available from the Reference Laboratory.³

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5 *Use of molecular and antibody-based techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans). Each sample should be tested in duplicate. Shrimp tissues may be used as negative controls.

Live crayfish can be killed using chloroform, electric current or by mechanical destroying the nerve cords. If live or moribund animals are not available, only recently dead animals should be used for DNA extraction. The soft abdominal cuticle is the preferred sample tissue for DNA extraction. Any superficial contamination should first be removed by thoroughly wiping the soft abdominal cuticle with wet (using autoclaved H₂O) clean disposable swabs. The soft abdominal cuticle is then excised and 30–50 mg ground using a pestle and mortar.

Several PCR assays have been developed with varying levels of sensitivity and specificity. Two assays are described here. Both assays target the ITS (internal transcribed spacer) region of the nuclear ribosomal gene cluster within the *A. astaci* genome.

Extraction of nucleic acids

Numerous Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and should can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances using optical density or running a gel.

4.4.1. Real-time PCR

³ <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>

The following controls should be run with each assay: negative extraction control; positive control; no template control; internal PCR control.

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling conditions ^(a)
Method 1*: Vralstad <i>et al.</i> , 2009, Strand, 2013; GenBank Accession No.: AM947024			
<i>Aphanomyces astaceus</i> / <i>A. fennicus</i> / ITS	Fwd: AAG-GCT-TGT-GCT-GGG-ATG-TT Rev: CTT-CTT-GCG-AAA-CCT-TCT-GCT-A Probe: 6-FAM-TTC-GGG-ACG-ACC-C-MGBNFQ	500 nM <u>500 nM</u> 200 nM	<u>50-40</u> cycles of: 95°C/15 sec and <u>60-58</u> °C/ <u>30</u> <u>60</u> sec
Alternative method 2: Strand <i>et al.</i> to be published; GenBank Accession No.: AM947024			
<i>Aphanomyces astaceus</i> / <i>astaci</i> /ITS	Fwd: TAT CCA CGT GAA TGT ATT CTT TAT Rev: GCT AAG TTT ATC AGT ATG TTA TTT A Probe: FAM AAG AAC ATC CCA GCA C MGBNFQ	500 nM <u>500 nM</u> 200 nM	50 cycles of: 95°C/15 sec and 60°C/30 sec

*These ITS-based methods have been found to give positive results for the species *Aphanomyces fennicus* (Viljamaa-Dirks & Heinikainen 2019).

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

The absolute limit of detection of method 1 was reported as approximately 5 PCR forming units (= target template copies), which is equivalent to less than one *A. astaci* genome (Vralstad *et al.*, 2009). Another study reported consistent detection down to 50 fg DNA using this assay (Tuffs & Oidtmann, 2011).

Analytical test specificity has been investigated (Tuffs & Oidtmann, 2011; Vralstad *et al.*, 2009) and no cross-reaction was observed in these studies. However, a novel species, *Aphanomyces fennicus*, isolated from noble crayfish was reported in 2019 (Viljamaa-Dirks & Heinikainen, 2019) that gave a positive reaction in this test at the same level as *A. astaci*. Due to this problem in specificity, A modified alternative method for the assay will be included once it has been published. has been modified according to the alternative method 2 (Strand *et al.*, manuscript in preparation).

Owing to the repeated discovery of new *Aphanomyces* strains, sequencing is required to determine the species of *Aphanomyces*; in the case of the non-negative real-time PCR assay result. This requires separate amplification of a PCR product using primers ITS 1 and ITS 4 (see Section 4.5 Amplicon sequencing).

4.4.2. Conventional PCR

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling conditions ^(a)
Method 1*: Oidtmann <i>et al.</i> , 2006; GenBank Accession No.: AY310499; <u>Product amplicon</u> size: 569 bp			
<i>Aphanomyces astaceus</i> / <i>A. fennicus</i> / ITS	Fwd: GCT-TGT-GCT-GAG-GAT-GTT-CT Rev: CTA-TCC-GAC-TCC-GCA-TTC-TG-	500 nM <u>500 nM</u>	40 cycles of: 1 min/96°C, 1 min/59°C and 1 min/72°C

*This ITS-based method has been found to give positive results for the species *Aphanomyces fennicus* (Viljamaa-Dirks & Heinikainen 2019).

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

Confirmation of the identity of the PCR product by sequencing is required as a novel species, *A. fennicus*, isolated from noble crayfish was reported in 2019 (Viljamaa-Dirks & Heinikainen, 2019) that gave a positive reaction in this assay.

The assay consistently detects down to 500 fg of genomic target DNA or the equivalent amount of ten zoospores submitted to the PCR reaction (Tuffs & Oidtmann, 2011).

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

Several genotype-specific molecular methods have been developed that, instead of requiring a pure growth as sample material like the RAPD-PCR assay, can be used to analyse crayfish tissue directly (Di Domenico *et al.*, 2021; Grandjean *et al.*, 2014; Makkonen *et al.*, 2018; Minardi *et al.*, 2018; 2019). Detection of a known genotype group combined with a positive result by a recommended conventional or real-time PCR can be used as a confirmative test in geographical areas where crayfish plague is known to be present. However, the current knowledge of the genotype variation is mostly limited to a few original host species and new genotypes or subtypes are expected to be found. Thus, the suitability of these methods is limited for initial excluding diagnosis or as confirmative tests in geographical areas not known to be infected.

PCR targeting mitochondrial DNA with *A. astaci* genotype specific primers have been shown to detect the known genotypes of *A. astaci*, but these assays may also provide positive results for some other oomycete genera (Casabella-Herrero *et al.*, 2021).

4.5. Amplicon sequencing

~~The size of the PCR amplicon is verified by agarose gel electrophoresis, and purified by excision from this gel. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed and compared in comparison with published reference sequences.~~

4.6. *In-situ* hybridisation

Not available.

4.7. Immunohistochemistry

Not available

4.8. Bioassay

No longer used for diagnostic purposes (see Cerenius *et al.*, 1988).

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods

Not available.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

The recommended method for surveillance is real-time PCR, the modified assay by Strand *et al.* (manuscript in preparation).

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for suspect and confirmed cases have been developed to support decision-making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. ~~It is recommended that all samples that yield suspect positive test results in an otherwise pathogen-free country or zone or compartment should be referred immediately to the WOAHP Reference Laboratory for confirmation, whether or not clinical signs are associated with the case. If a laboratory Competent Authority~~

does not have the ~~capacity~~ capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOA Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁴

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Geographic proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* shall be suspected if at least one of the following criterion criteria is met:

- i) Positive result by real-time PCR
- ii) Positive result by conventional PCR

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional PCR followed by amplicon sequencing

6.2. Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however, they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs associated with the disease as described in this chapter, with or without elevated mortality
- ii) Visual observation of hyphae indicative of *A. astaci* in wet mounts
- iii) Observation of hyphae indicative of *A. astaci* in stained histological sections
- iv) Culture and isolation of the pathogen
- v) Positive result by real-time PCR
- vi) Positive result by conventional PCR

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with *Aphanomyces astaci* is confirmed if the following criterion is met:

- i) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional PCR and amplicon sequencing

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with *Aphanomyces astaci* are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2 (~~none~~ no data are currently available for either). This information can be used for

⁴ For example transboundary commodities.

the design of surveys for infection with *Aphanomyces astaci*, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study.

7. References

- ALDERMAN D.J. (1996). Geographical spread of bacterial and fungal diseases of crustaceans. *Rev sci. tech. Off. int. Epiz.*, **15**, 603–632.
- ALDERMAN D.J. & POLGLASE J.L. (1985). Disinfection for crayfish plague. *Aquacult. Fish. Manage.*, **16**, 203–205.
- ALDERMAN D.J. & POLGLASE J.L. (1986). *Aphanomyces astaci*: isolation and culture. *J. Fish Dis.*, **9**, 367–379.
- ALDERMAN D.J., POLGLASE J.L. & FRAYLING M. (1987). *Aphanomyces astaci* pathogenicity under laboratory and field conditions. *J. Fish Dis.*, **10**, 385–393.
- CASABELLA-HERRERO G., MARTÍNEZ-RÍOS M., VILJAMAA-DIRKS S., MARTÍN-TORRIJOS L. & DIÉGUEZ-URIBEONDO J. (2021). *Aphanomyces astaci* mtDNA: insights into the pathogen's differentiation and its genetic diversity from other closely related oomycetes. *Fungal Biol.*, **125**, 316–325. doi: 10.1016/j.funbio.2020.11.010. Epub 2020 Dec 2.
- CERENIUS L. & SÖDERHÄLL K. (1984). Chemotaxis in *Aphanomyces astaci*, an arthropodparasitic fungus. *J. Invertabr. Pathol.*, **43**, 278–281.
- CERENIUS L., SÖDERHÄLL K. & FULLER M.S. (1987). *Aphanomyces astaci* and *Aphanomyces* spp. In: Zoosporic fungi in teaching and research, Fuller M.S. & Jaworski A., eds. South-Eastern Publishing Corp., Athens, Georgia, USA. pp 64–65.
- CERENIUS L., SÖDERHÄLL K., PERSSON M. & AJAXON R. (1988). The crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci* – diagnosis, isolation and pathobiology. *Freshwater Crayfish*, **7**, 131–144.
- DI DOMENICO M., CURINI V., CAPRIOLI R., GIAN SANTE C., MRUGAŁA A., MOJŽIŠOVÁ M., CAMMA C. & PETRUSEK A. (2021). Real-Time PCR assays for rapid identification of common *Aphanomyces astaci* genotypes. *Front. Ecol. Evol.*, **9**, art 597585 doi:10.3389/fevo.2021.597585.
- DIEGUEZ-URIBEONDO J., HUANG T.-S., CERENIUS L. & SÖDERHÄLL K. (1995). Physiological adaptation of an *Aphanomyces astaci* strain isolated from the freshwater crayfish *Procambarus clarkii*. *Mycol. Res.*, **99**, 574–578.

GRANDJEAN F., VRÅLSTAD T., DIÉGUEZ-URIBEONDO J., JELIĆ M., MANGOMBI J., DELAUNAY C., FILIPOVÁ L., REZINCIUC S., KOZUBÍKOVÁ-BALCAROVA E., GYONNET D., VILJAMAA-DIRKS S. & PETRUSEK A. (2014). Microsatellite markers for direct genotyping of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci* (Oomycetes) from infected host tissues. *Vet. Microbiol.*, **170**, 317–324.

HOLDICH D.M., REYNOLDS J.D., SOUTY-GROSSET C. & SIBLEY P.J. (2009). A review of the ever increasing threat to European crayfish from non-indigenous crayfish species. *Knowl. Manag. Aquat. Ec.*, **394–395**, 1–46.

HUANG T.S., CERENIUS L. & SÖDERHÄLL K. (1994). Analysis of genetic diversity in the crayfish plague fungus, *Aphanomyces astaci*, by random amplification of polymorphic DNA. *Aquaculture*, **126**, 1–10.

KOZUBÍKOVÁ E., VILJAMAA-DIRKS S., HEINIKAINEN S. & PETRUSEK A. (2011). Spiny-cheek crayfish *Orconectes limosus* carry a novel genotype of the crayfish plague agent *Aphanomyces astaci*. *J. Invertebr. Pathol.*, **108**, 214–216.

MAKKONEN J., JUSSILA J., PANTELEIT J., KELLER N.S., SCHRIMPF A., THEISSINGER K., KORTET R., MARTÍN-TORRIJOS L., SANDOVAL-SIERRA J.V., DIÉGUEZ-URIBEONDO J. & KOKKO H. (2018). MtDNA allows the sensitive detection and haplotyping of the crayfish plague disease agent *Aphanomyces astaci* showing clues about its origin and migration. *Parasitology*, **145**, 1210–1218. <https://doi.org/10.1017/S0031182018000227>.

MARTÍN-TORRIJOS L., CAMPOS LACH M., POU ROVIRA Q. & DIÉGUEZ-URIBEONDO J. (2017). Resistance to the crayfish plague, *Aphanomyces astaci* (Oomycota) in the endangered freshwater crayfish species, *Austropotamobius pallipes*. *PLoS ONE*, **12** (7), e0181226. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181226>

MARTÍN-TORRIJOS L., MARTÍNEZ-RÍOS M., CASABELLA-HERRERO G., ADAMS S.B., JACKSON C.R. & DIÉGUEZ-URIBEONDO J. (2021). Tracing the origin of the crayfish plague pathogen, *Aphanomyces astaci*, to the Southeastern United States. *Sci. Rep.*, **11**, 9332. doi: 10.1038/s41598-021-88704-8.

MINARDI D., STUDHOLME D.J., OIDTMANN B., PRETTO T. & VAN DER GIEZEN M. (2019). Improved method for genotyping the causative agent of crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) based on mitochondrial DNA. *Parasitology*, **146**, 1022–1029, doi:10.1017/S0031182019000283

MINARDI D., STUDHOLME D.J., VAN DER GIEZEN M., PRETTO T. & OIDTMANN B. (2018). New genotyping method for the causative agent of crayfish plague (*Aphanomyces astaci*) based on whole genome data. *J. Invertebr. Pathol.*, **156**, 6–13.

OIDTMANN B., GEIGER S., STEINBAUER P., CULAS A. & HOFFMANN R.W. (2006). Detection of *Aphanomyces astaci* in North American crayfish by polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.*, **72**, 53–64.

OIDTMANN B., HEITZ E., ROGERS D. & HOFFMANN R.W. (2002). Transmission of crayfish plague. *Dis. Aquat. Org.*, **52**, 159–167.

PAVIC D., ČANKOVIĆ M., PETRIĆ I., MAKKONEN J., HUDINA S., MAGUIRE I., VLADUŠIĆA T., ŠVER L., HRAŠĆANA R., ORLIĆ K., DRAGIČEVIĆ P. & BIELEN A. (2020) Non-destructive method for detecting *Aphanomyces astaci*, the causative agent of crayfish plague, on the individual level. *J. Invertebr. Pathol.*, **169**, 107274. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2019.107274>

RENNERFELT E. (1936). Untersuchungen über die Entwicklung und Biologie des Krebspestpilzes *Aphanomyces astaci* Schikora. Report of the Institute of Freshwater Research (Drottningholm, Sweden), **10**, 1–21.

SCHRIMPF A., SCHMIDT T. & SCHULZ R. (2014). Invasive Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) transmits crayfish plague pathogen (*Aphanomyces astaci*). *Aquatic Invasions*, **9**, 203–209. 10.3391/ai.2014.9.2.09.

SOUTY-GROSSET C., HOLDICH D.M., NOEL P.Y., REYNOLDS J.D. & HAFFNER P. (eds) (2006). Atlas of Crayfish in Europe. Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris (Patrimoines naturels, 64), 188 p.

STRAND D.A., HOLST-JENSEN A., VILJUGREIN H., EDVARDSEN B., KLAVENESS D., JUSSILA J. & VRÅLSTAD T. (2011). Detection and quantification of the crayfish plague agent in natural waters: direct monitoring approach for aquatic environments. *Dis. Aquat. Org.*, **95**, 9–17.

STRAND D.A., JUSSILA J., VILJAMAA-DIRKS S., KOKKO H., MAKKONEN J., HOLST-JENSEN A., VILJUGREIN H. & VRÅLSTAD T. (2012). Monitoring the spore dynamics of *Aphanomyces astaci* in the ambient water of latent carrier crayfish. *Vet. Microbiol.*, **160**, 99–107.

STRAND D.A. (2013) Environmental DNA monitoring of the alien crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci* in freshwater systems – Sporulation dynamics, alternative hosts and improved management tools. *Dissertation book, University of Oslo Faculty of Mathematics and Natural Sciences Department of Biosciences, Oslo*, ISSN 1501-7710, 73 p.

SVOBODA J., MRUGAŁA A., KOZUBÍKOVÁ-BALCAROVÁ E. & PETRUSEK A. (2017). Hosts and transmission of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci*: a review. *J. Fish Dis.*, **40**, 127–140. <https://doi.org/10.1111/jfd.12472>

SODERHALL K. & CERENIUS L. (1999) The crayfish plague fungus: history and recent advances. *Freshwater Crayfish*, **12**, 11–34.

THOMAS J.R., ROBINSON C.V., MRUGAŁA A., ELLISON A.R., MATTHEWS E., GRIFFITHS S.W., CONSUEGRA S. & CABLE J. (2020). Crayfish plague affects juvenile survival and adult behaviour of invasive signal crayfish. *Parasitology*, **1–9**, <https://doi.org/10.1017/S0031182020000165>

TUFFS S. & OIDTMANN B. (2011). A comparative study of molecular diagnostic methods designed to detect the crayfish plague pathogen, *Aphanomyces astaci*. *Vet. Microbiol.*, **153**, 345–353.

UNESTAM T. (1966). Studies on the crayfish plague fungus *Aphanomyces astaci*. II. Factors affecting zoospores and zoospore production. *Physiol. Plant.*, **19**, 1110–1119.

UNESTAM T. & SODERHALL K. (1977). Specialisation in crayfish defence and fungal aggressiveness upon crayfish plague infection. *Freshwater Crayfish*, **3**, 321–331.

VILJAMAA-DIRKS S. (2006). Improved detection of crayfish plague with a modified isolation method. *Freshwater Crayfish*, **15**, 376–382.

VILJAMAA-DIRKS S. & HEINIKAINEN S. (2019) A tentative new species *Aphanomyces fennicus* sp. nov. interferes with molecular diagnostic methods for crayfish plague. *J. Fish Dis.*, **42**, 413–422. <https://doi.org/10.1111/jfd.12955>

VILJAMAA-DIRKS S., HEINIKAINEN S., NIEMINEN M., VENNERSTRÖM P. & PELKONEN S. (2011). Persistent infection by crayfish plague *Aphanomyces astaci* in a noble crayfish population – a case report. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, **31**, 182–188.

VILJAMAA-DIRKS S., HEINIKAINEN S., TORSSONEN H., PURSIAINEN M., MATTILA J. & PELKONEN S. (2013). Distribution and epidemiology of genotypes of the crayfish plague *Aphanomyces astaci* from noble crayfish *Astacus astacus* in Finland. *Dis. Aquat. Org.*, **103**, 199–208.

VRÅLSTAD T., JOHNSEN S.I., FRISTAD R., EDSMAN L. & STRAND D.A. (2011). Potent infection reservoir of crayfish plague now permanently established in Norway. *Dis. Aquat. Org.*, **97**, 75–83.

VRÅLSTAD T., KNUTSEN A.K., TENGS T. & HOLST-JENSEN A. (2009). A quantitative TaqMan® MGB real-time polymerase chain reaction based assay for detection of the causative agent of crayfish plague *Aphanomyces astaci*. *Vet. Microbiol.*, **137**, 146–155.

WHITE T.J., BRUNS T., LEE S. & TAYLOR J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J., eds. Academic Press, San Diego, California, USA, pp. 315–322.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with *Aphanomyces astaci* (crayfish plague)
(please consult the WOA web site for the most up-to-date list:
<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact the WOH Reference Laboratories for any further information on infection with *Aphanomyces astaci* (crayfish plague)

NB: FIRST ADOPTED IN 1995; MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2017.

CHAPTER 2.2.6.

INFECTION WITH *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* NODAVIRUS (WHITE TAIL DISEASE)

1. Scope

Infection with *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus means infection with the pathogenic agent *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) in the Family *Nodaviridae*. The disease is commonly known as white tail disease (WTD).

Extra small virus (XSV) is associated with disease but its role has not been determined.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Two viruses are associated with WTD, namely MrNV (primary) and extra small virus (XSV) (associate) (Qian et al., 2003; Romestand & Bonami, 2003). MrNV is a necessary cause of WTD in prawns, however, the role of XSV in pathogenicity remains unclear.

MrNV belongs in the family *Nodaviridae* (Bonami et al., 2005). While the physico-chemical properties of MrNV are consistent with those of other members of the *Nodaviridae*, it differs structurally and genetically from other nodaviruses within the two recognised genera, *Alphanodavirus* and *Betanodavirus* (Ho et al., 2017, 2018; Naveenkumar et al., 2013). Consequently, a third genus, *Gammanodavirus*, has been proposed for nodaviruses that infect crustaceans, including MrNV and *Penaeus vannamei* nodavirus (PvNV) (Naveenkumar et al., 2013).

XSV is the first sequenced satellite virus in aquatic animals and it is also the first record of a satellite-nodavirus association (Bonami et al., 2005). XSV has been classified by the ICTV as *Macrobrachium* satellite virus 1 of the family *Sarothroviridae*.

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

Both viral pathogens (MrNV and XSV) are stable in processed or stored samples stored at –20 or –80°C. Storing the samples at –80°C is recommended for long-time storage and maintenance of pathogen virulence (Sahul Hameed & Bonami, 2012). The infected samples should be processed at low temperature to maintain the stability of the viruses. Viral inoculum prepared from infected prawn stored at –20°C caused 100% mortality in postlarvae (PL) of *M. rosenbergii* by immersion challenge (Qian et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004a). Ravi & Sahul Hameed (2016) found that MrNV in tissue suspensions was inactivated after exposure to 50°C for at least 5 min.

2.1.3. Survival and stability outside the host

Survival outside the host is not known.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with MrNV according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*).

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with MrNV according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Code* are: white leg shrimp (*Penaeus vannamei*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results (but not active infection) have been reported in the following species:

Family	Scientific name	Common name
Aeshnidae	<i>Aeshna</i> sp.	dragonfly
Artemiidae	<i>Artemia</i> sp.	brine shrimps
Belostomatidae	<i>Belostoma</i> sp.	giant water bug
Dytiscidae	<i>Cybister</i> sp.	beetle
Notonectidae	<i>Notonecta</i> sp.	backswimmer
Palaemonidae	<i>Macrobrachium rude</i>	hairy river prawn
	<i>Macrobrachium malcolmsonii</i>	monsoon river prawn
Parastacidae	<i>Cherax quadricarinatus</i>	red claw crayfish
Penaeidae	<i>Penaeus japonicus</i>	kuruma prawn
	<i>Penaeus indicus</i>	Indian white prawn
	<i>Penaeus monodon</i>	giant tiger prawn

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

Experimental pathogenicity studies revealed that larvae, PL and early juveniles of *M. rosenbergii* are susceptible to MrNV/XSV, whereas adults are resistant ([Gangnonngiwa et al., 2020](#); Qian et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004a).

No mortality was observed either in naturally or experimentally (MrNV/XSV) infected subadult and adult prawns. Experimental studies confirmed vertical transmission from infected broodstock to PL (Sudhakaran et al., 2007a).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

MrNV and XSV have been demonstrated in gill tissue, head muscle, heart, abdominal muscle, ovaries, pleopods and tail muscle, but not the hepatopancreas or eyestalk (Sahul Hameed et al., 2004a; Sri Widada et al., 2003).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

~~One study has~~ Studies have indicated the possibility that marine shrimp may act as a reservoirs for MrNV and XSV and that these viruses maintain virulence in the shrimp tissue system ([Senapin et al., 2012](#); Sudhakaran et al., 2006).

2.2.6. Vectors

Aquatic insects such as dragonfly (*Aeshna* sp.), giant water bug (*Belostoma* sp.), beetle (*Cybister* sp.) and backswimmer (*Notonecta* sp.) may act as mechanical carriers for MrNV/XSV and are a potential transmission risk to cultivated *Macrobrachium rosenbergii* (Sudhakaran et al., 2008). It is recommended to remove these insects from freshwater prawn culture systems, especially at larval-rearing centres. Sudhakaran et al. (2008) demonstrated RT-PCR positives from insects, and infected C6/36 insect cell line with tissue homogenates from

the insects. Viral replication was confirmed through EM and RT-PCR, but transmission from insects to naïve shrimp was not demonstrated.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

Larvae, PL and juveniles of *M. rosenbergii* are susceptible to infection with *MrNV*, which often causes high mortalities in these life stages. Mortality may reach a maximum in about 5 or 6 days after the appearance of the first clinical signs. Very few PL with infection with *MrNV* survive beyond 15 days in an outbreak, but PL that survive may grow to market size. Adults are resistant to infection with *MrNV*, but act as carriers (Qian *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a). Prevalence is variable from 10% to 100% in hatchery, nursery and grow-out systems (Arcier *et al.*, 1999; Qian *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a; 2004b).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Infected PL become opaque and develop a whitish appearance, particularly in the abdominal region. The whitish discoloration appears first in the second or third abdominal segment and gradually diffuses both anteriorly and posteriorly. In severe cases, degeneration of telson and uropods may occur. Floating exuviae (moult) in the tanks appear abnormal and resemble 'mica flakes' (Arcier *et al.*, 1999). The infected PL show progressive weakening of their feeding and swimming ability (Sahul Hameed *et al.*, 2004a).

2.3.3. Gross pathology

Infection with *MrNV* is indicated by the whitish coloration of abdominal muscle.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Transmission is vertical by trans-ovum and horizontal by the waterborne route (Qian *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a; Sudhakaran *et al.*, 2007a).

2.3.5. Environmental factors

Not available.

2.3.6. Geographical distribution

The disease was first reported in the ~~French West Indies~~ Caribbean (Arcier *et al.*, 1999), and later in Asia-Pacific (Murwantoko *et al.*, 2016; Owens *et al.*, 2009; Qian *et al.*, 2003; Saedi *et al.*, 2012; Sahul Hameed *et al.*, 2004b; Wang *et al.*, 2008; Yoganandhan *et al.*, 2006).

See WOA-H-WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

Preventive measures, such as screening of broodstock and PL, and good management practices may help to prevent infection with *MrNV* in culture systems. As the life cycle of *M. rosenbergii* is completed under controlled conditions, specific pathogen-free (SPF) broodstock and PL can be produced (Romestand & Bonami, 2003; Sri Widada *et al.*, 2003; Yoganandhan *et al.*, 2005).

2.4.1. Vaccination

Not available

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

No known chemotherapeutic agents are reported to treat *MrNV*-infected prawn.

2.4.3. Immunostimulation

The immunomodulatory effect of recombinant capsid protein and recombinant RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) protein of *MrNV* has been studied and the protection of viral challenged post-larvae from *MrNV* infection has been demonstrated (Farook *et al.*, 2014; NaveenKumar *et al.*, 2021).

2.4.4. Breeding resistant strains

None reported

2.4.5. Inactivation methods

A viral suspension treated with heat at 65°C for 2 hours destroyed infectivity of *MrNV* and XSV in challenge experiments (Qian *et al.*, 2003). The viral inoculum exposed to UV irradiation for a period of 5 minutes and more was totally inactivated and failed to cause mortality in prawn PL of ~~prawn~~ (Ravi & Sahul Hameed, 2016).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

Routine disinfection procedures followed for crustacean viral disease control are suggested.

2.4.7. General husbandry

MrNV is transmitted both horizontally and vertically in culture systems (Qian *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a; Sudhakaran *et al.*, 2007a). Good husbandry practices, such as proper disinfection of tanks and water may help to prevent infection. It is recommended to remove insects from freshwater prawn culture systems, especially at larval-rearing centres. Specific pathogen-free (SPF) broodstock and PL can be obtained from disease free populations or by RT-PCR screening and selection of negative broodstock (Romestand & Bonami, 2003; Sri Widada *et al.*, 2003; Yoganandhan *et al.*, 2005).

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

3.1. Selection of populations and individual specimens

PLs are most suitable for detection of *MrNV*. PL showing clinical signs of disease can be sampled preferentially. Adults and juveniles can be sampled for *MrNV* however prevalence in these lifestages may be lower (see Section 2.3.1).

3.2. Selection of organs or tissues

The tissues most affected in moribund PLs/early juveniles are striated muscles of the abdomen, cephalothorax and tail. The whole PL body is preferred for detection of *MrNV* (Sahul Hameed *et al.*, 2004b; Sri Widada *et al.*, 2003; Yoganandhan *et al.*, 2005). All organs of adult *M. rosenbergii* except eyestalks and the hepatopancreas, are best for screening the viruses by RT-PCR.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Eyestalks and the hepatopancreas of adult prawns are not suitable (Sri Widada *et al.*, 2003; Sahul Hameed *et al.*, 2004a).

3.4. Non-lethal sampling

Pleopods (swimming legs) are a convenient source of RNA for non-destructive screening of *MrNV* in adult prawn (Sahul Hameed *et al.*, 2004a).

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

Infected larvae or PL with prominent signs of whitish muscle in the abdominal region are collected from disease outbreak areas. Samples are washed in sterile saline, transferred to sterile tubes, and transported to the laboratory. For general guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0.

3.5.1. Samples for pathogen isolation

Moribund or frozen PL samples can be used for isolation of viral pathogens using cell lines (C6/36 mosquito cell line (Sudhakaran et al., 2007b).

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Infected samples stored at -80°C or samples preserved in 80% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol should be used for RT-PCR for detection of *MrNV* (Sri Widada et al., 2003; Sahul Hameed et al., 2004b; Yoganandhan et al., 2005).

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5. of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Tissue samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation should be fixed immediately after collection in neutral-buffered formalin or modified Davidson's fixative (Sri Widada et al., 2003). The recommended ratio of fixative to tissue is 10:1. Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section 5.3. of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.4. Samples for other tests

Not applicable

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose ~~should only be~~ is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger animals should be processed and tested individually. Small life stages such as PL, can be pooled to obtain the minimum amount of material for virus isolation or molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for identifying infection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by life stage.

Ratings against purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating against the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, successful application by diagnostic laboratories, cost, timeliness, and sample throughput. For a specific purpose of use, assays are rated as:

+++ =	Most suitable methods – desirable performance and operational characteristics;
++ =	Suitable method(s) acceptable performance and operational characteristics under most circumstances;
+ =	Less suitable methods – performance or operational characteristics may significantly limit application;
Shaded boxes =	Not appropriate for this purpose.

Level of validation. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAAH recommended diagnostic methods for MrNV and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology						++	++	NA				
Cell culture												
Real-time RT-PCR	+++	+++	+++	1	+++	+++	+++	1	+++	+++	+++	1
Conventional RT-PCR	++	++	++	1	+++	+++	+++	2				
Conventional RT-PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	2
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	1		++	++	1
Bioassay												
LAMP	++	++	++	1	++	++	++	1				
Ab-ELISA												
Ag-ELISA					++	++	++	1				
Lateral flow assay					++	++	++	2				
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAAH Pathway (chapter 1.1.2); NA = not available; PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

None to date

4.2. Histopathology and cytopathology

The most affected tissue in infected PL is striated muscle of the cephalothorax, abdomen and tail. Histological features include the presence of acute Zenker's necrosis of striated muscles, characterised by severe hyaline degeneration, necrosis and muscular lysis. Moderate oedema and abnormal open spaces among the affected muscle cells are also observed, as is the presence of large oval or irregular basophilic cytoplasmic inclusion bodies in infected muscles (Arcier *et al.*, 1999; Hsieh *et al.*, 2006).

4.3. Cell culture for isolation

MrNV has been isolated in insect cell lines, but [this](#) is not a recommended method (Hernandez-Herrera *et al.*, 2007; Sudhakaran *et al.*, 2007b).

4.4. Nucleic acid amplification

PCR methods for MrNV and XSV are included in this section for completeness. However, the case definitions in Section 6 are based on detection methods for MrNV only.

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5. *Use of molecular techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans). Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time RT-PCR

Real-time RT-PCR assay can be performed using the SYBR Green dye based on the method described by Hernandez-Herrera *et al.* (2007) or the TaqMan assay described by Zhang *et al.* (2006).

Pathogen / target gene	Primer/probe (5'-3')	Concentration	Cycling parameters ^[a]
Method 1: Hernandez-Herrera <i>et al.</i> (2007); GenBank Accession No.: AY222839)			
MrNV/RNA1	Fwd: AGG-ATC-CAC-TAA-GAA-CGT-GG Rev: CAC-GGT-CAC-AAT-CCT-TGC-G	500 nM 500 nM	40 cycles of: 95°C/15 sec, 60°C/5 sec and 72°C/10 sec
Method 2: Zhang <i>et al.</i> (2006); GenBank Accession No.: AY231436)			
MrNV/RNA1	Fwd: CAA-CTC-GGT-ATG-GAA-CTC-AAG-GT Rev: AGG-AAA-TAC-ACG-AGC-AAG-AAA-AGT-C Probe: FAM-ACC-CTT-CGA-CCC-CAG-CAA-TGG-TG-TAMARA	1000 nM 1000 nM 400 nM	50 cycles of: 94°C/30 sec and 58°C/30 sec
Method 3: Zhang <i>et al.</i> (2006); GenBank Accession No.: DQ174318)			
XSV	Fwd: AGC-CAC-ACT-CTC-GCA-TCT-GA Rev: CTC-CAG-CAA-AGT-GCG-ATA-CG Probe: FAM-CAT-GCC-CCA-TGA-TCC-TCG-CA-TAMARA	1000 nM 1000 nM 400 nM	50 cycles of: 94°C/30 sec and 58°C/30 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.2. Conventional RT-PCR

The protocol for the conventional RT-PCR for detection of *MrNV*/*XSV* developed by Sri Widada *et al.* (2003), Sahul Hameed *et al.* (2004a; 2004b) and Sudhakaran *et al.* (2007a) is recommended. *MrNV* and *XSV* can be detected by conventional RT-PCR separately using a specific set of primers or these two viruses can be detected simultaneously using a single-tube one-step multiplex RT-PCR (Yoganandhan *et al.*, 2005). Conventional real-time RT-PCR is recommended in situations where high sensitivity is required.

Pathogen / target gene	Primer (5'-3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: One step RT-PCR (Sri Widada <i>et al.</i> , 2003; Sahul Hameed <i>et al.</i> , 2004a, b; Sudhakaran <i>et al.</i> , 2007a) GenBank Accession No.: AY222840 (<i>MrNV</i>) and AY247793 (<i>XSV</i>); amplicon size: 425 bp (<i>MrNV</i>) and 546 bp (<i>XSV</i>)			
<i>MrNV</i>	Fwd: GCG-TTA-TAG-ATG-GCA-CAA-GG Rev: AGC-TGT-GAA-ACT-TCC-ACT-GG	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40sec and 68°C/60 sec
<i>XSV</i>	Fwd: CGC-GGA-TCC-GAT-GAA-TAA-GCG-CAT-TAA-TAA Rev: CCG-GAA-TTC-CGT-TAC-TGT-TCG-GAG-TCC-CAA	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40 sec and 68°C/60 sec
Method 2: nested RT-PCR using above-mentioned primers as external primers (Sudhakaran <i>et al.</i> , 2007a); amplicon size: <u>205 bp (<i>MrNV</i>) and 236 bp (<i>XSV</i>)</u>			
<i>MrNV</i>	Internal primers: Fwd: GAT-GAC-CCC-AAC-GTT-ATC-CT Rev: GTG-TAG-TCA-CTT-GCA-AGA-GG	0.02 nM <u>1000 nM</u> 0.02 nM <u>1000 nM</u>	30 cycles of: 94°C/60 sec, 55°C/60 sec and 72°C/60 sec
<i>XSV</i>	Internal primers: Fwd: ACA-TTG-GCG-GTT-GGG-TCA-TA Rev: GTG-CCT-GTT-GCT-GAA-ATA-CC-3	0.02 nM <u>1000 nM</u> 0.02 nM <u>1000 nM</u>	30 cycles of: 94°C/60 sec, 55°C/60 sec and 72°C/60 sec
Method 3: Multiplex RT-PCR (Yoganandhan <i>et al.</i> , 2005); GenBank Accession No.: AY222840 (<i>MrNV</i>) and AY247793 (<i>XSV</i>); <u>amplicon size: 681 bp (<i>MrNV</i>) and 500 bp (<i>XSV</i>)</u>			
<i>MrNV</i>	Fwd: GAT-ACA-GAT-CCA-CTA-GAT-GAC-C Rev: GAC-GAT-AGC-TCT-GAT-AAT-CC	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40 sec and 68°C/60 sec
<i>XSV</i>	Fwd: GGA-GAA-CCA-TGA-GAT-CAC-G Rev: CTG-CTC-ATT-ACT-GTT-CGG-AGT-C	0.02 nM <u>400 nM</u> 0.02 nM <u>400 nM</u>	30 cycles of: 94°C/40 sec, 55°C/40 sec and 68°C/60 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods: Loop-mediated isothermal amplification (LAMP)

Haridas *et al.* (2010) have applied loop-mediated isothermal amplification (LAMP) for rapid detection of *MrNV* and *XSV* in the freshwater prawn. A set of four primers, two outer primers and two inner primers, have been designed separately for detection of *MrNV* and *XSV*.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

The presence of *MrNV* in infected cells can be demonstrated in histological sections using a DIG-labelled DNA *in-situ* hybridisation probe specific for *MrNV* (Sri Widada *et al.*, 2003).

4.7. Immunohistochemistry

None developed.

4.8. Bioassay

Not used for diagnostic purposes.

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods

4.9.1. ELISA

Antibody-based diagnostic methods for *MrNV* include the ELISA described by Romestand & Bonami (2003) or the triple-antibody sandwich (TAS) ELISA based on a monoclonal antibody (Qian *et al.*, 2006).

4.9.2. Lateral flow assay (LFA)

An antibody-based lateral flow assay (LFA) has been developed for the early detection of *MrNV* in the PL stage (Jamalpure *et al.*, 2021).

4.10. Other methods

None

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Real-time RT-PCR is recommended for targeted surveillance to declare freedom from infection with *MrNV*.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for suspect and confirmed cases have been developed to support decision-making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOAHP Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁵

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with *MrNV* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time RT-PCR
- ii) Positive result by conventional RT-PCR
- iii) Positive result by LAMP

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with *MrNV* is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) Positive result by real-time RT-PCR result and positive result by conventional RT-PCR and sequence analysis

6.2 Clinically affected animals

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with *MrNV* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Clinical signs consistent with infection by *MrNV*
- ii) Histopathology consistent with infection by *MrNV*
- iii) Positive result by real-time RT-PCR
- iv) Positive result by conventional RT-PCR
- v) Positive result by *in situ* hybridisation
- vi) Positive result by LAMP
- vii) Positive result by Ag ELISA
- viii) Positive result by lateral flow assay

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with *MrNV* is considered to be confirmed if at least one of the following ~~criterion~~ criteria is met:

- i) Positive result by real time RT-PCR and positive result by conventional RT-PCR with sequence analysis
- ii) Positive result by ISH followed by positive result by conventional RT-PCR with sequence analysis
- iii) Positive result by ISH followed by positive result by real-time RT-PCR

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with *MrNV* are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2 (no data are currently available). This information can be used for the design of surveys for infection with *MrNV*, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the

⁵ For example transboundary commodities.

circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
RT-PCR	Diagnosis	Clinically affected PL from hatchery and nursery	Whole post-larvae	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	100 (n=20)	100 (n=20)	Western blot or ELISA	Sri Widada et al. (2003); Sahul Hameed et al. (2011)
Lateral flow immune-assay	Surveillance	PL from prawn hatcheries	Whole post-larvae	<i>Macrobrachium rosenbergii</i>	100 (n=80)	90 (n=80)	RT-PCR	Jamalpure et al. (2021)

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, RT-PCR: = reverse transcription polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, RT-PCR: = reverse transcription polymerase chain reaction.

7. References

ARCIER J.-M., HERMAN F., LIGHTNER D.V., REDMAN R.M., MARI J. & BONAMI J.-R. (1999). A viral disease associated with mortalities in hatchery-reared postlarvae of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Dis. Aquat. Org.*, **38**, 177–181.

BONAMI J.R., SHI Z., QIAN D. & SRI WIDADA J. (2005). White tail disease of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: separation of the associated virions and characterization of MrNV as a new type of nodavirus. *J. Fish Dis.*, **28**, 23–31.

FAROOK M.A., SUNDAR RAJ N., MADAN N., VIMAL S., ABDUL MAJEED S., TAJU G., RAJKUMAR T., SANTHOSH KUMAR S., SIVAKUMAR S. & SAHUL HAMEED A.S. (2014). Immunomodulatory effect of recombinant *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus capsid protein (r-MCP) against white tail disease of giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man, 1879). *Aquaculture*, **433**, 395–403.

GANGNONNGIWA W., BUNNONTAE M., PHIWSAIYAA K., SENAPINA S. & DHARA K. (2020). In experimental challenge with infectious clones of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV), MrNV alone can cause mortality in freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*). *Virology*, **540** 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.11.004>

HARIDAS D.V., PILLAI D., MANOJKUMAR B., NAIR C.M. & SHERIEF P.M. (2010). Optimisation of reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus in *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Virol. Methods*, **167**, 61–67.

-
- HERNANDEZ-HERRERA R.I., CHAPPE-BONNICHON V., ROCH P., SRI WIDADA J. & BONAMI J.R. (2007). Partial susceptibility of the SSN-1 fish cell line to a crustacean virus: a defective replication study. *J. Fish Dis.*, **30**, 673–679.
- HO K.L., GABRIELSEN M., BEH P.L., KUEH C.L., THONG Q.X. & STREETLEY J. (2018). Structure of the *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus: a new genus within the nodaviridae? *PLOS Biology*, **16**, e3000038.
- HO K.L., KUEH C.L., BEH P.L., TAN W.S. & BHELLA D. (2017). Cryo-Electron microscopy structure of the *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus capsid at 7 angstroms resolution. *Scientific Reports*, **7**, 2083.
- HSIEH C.-Y., WU Z.-B., TUNG M.-C., TU C., LO S.-P., CHANG T.-C., CHANG C.-D., CHEN S.-C., HSIEH Y.-C. & TSAI S.-S. (2006). *In situ* hybridization and RT-PCR detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus in giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man), in Taiwan. *J. Fish Dis.*, **29**, 665–671. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.2006.00762.x>
- JAMALPURE S., VIMAL S., NAFEEZ AHMED A., SAHUL HAMEED A.S., PAKNIKAR K.M. & JYTIKA M.R. (2021). On-site detection of nodavirus in post larval (PL) stage of the giant prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: A test to nip the problem in the bud. *Aquaculture*, **534**, 736292; <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736292>
- MURWANTOKO M., ARIF B., ROOSMANTO R & MASASHI K. (2016). *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus infection in a giant freshwater prawn hatchery in Indonesia. *Springer Plus*, **5**, 1729.
- NAVEENKUMAR S., SHEKAR M., KARUNASAGAR I. & KARUNAS I. (2013). Genetic analysis of RNA1 and RNA2 of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) isolated from India. *Virus Res.*, **173**, 377–385. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.01.003><https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.01.003>
- NAVEEN KUMAR S., PRAVEEN R., INDRANI K. & KARUNASAGAR I. (2021). Recombinant viral proteins delivered orally through inactivated bacterial cells induce protection in *Macrobrachium rosenbergii* (de Man) against White Tail Disease. *J. Fish Dis.*, **44**, 601–612.
- OWENS L., LA FAUCE K., JUNTUNEN K., HAYAKIJKOSOL O. & ZENG C. (2009). *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus disease (white tail disease) in Australia. *Dis. Aquat. Org.*, **85**, 175–180.
- QIAN D., LIU W., JIANXIANG W. & YU L. (2006). Preparation of monoclonal antibody against *Macrobrachium rosenbergii* Nodavirus and application of TAS-ELISA for virus diagnosis in post-larvae hatcheries in east China during 2000–2004. *Aquaculture*, **261**, 1144–1150.
- QIAN D., SHI Z., ZHANG S., CAO Z., LIU W. LI L., XIE Y., CAMBOURNAC I. & BONAMI J.R. (2003). Extra small virus-like particles (XSV) and nodavirus associated with whitish muscle disease in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *J. Fish Dis.*, **26**, 521–527.
- RAVI N. & SAHUL HAMEED A.S. (2016). Effect of chemical and physical treatments on the inactivation of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV). *Aquaculture Res.*, **47**, 1231–1237.
- ROMESTAND B. & BONAMI J.R. (2003). A sandwich enzyme linked immunosorbent assay (S-ELISA) for detection of MrNV in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). *J. Fish Dis.*, **26**, 71–75.
- SAEDI T. A., HASSAN M., WENS T., KHATIJAH Y., HASSAN M.D., KUA B.C., SOON G.T. & SUBHA B. (2012). Detection and phylogenetic profiling of nodavirus associated with white tail disease in Malaysian *Macrobrachium rosenbergii* de Man. *Mol. Biol. Rep.*, **39**, 5785–5790.
- SAHUL HAMEED A.S. & BONAMI J.R. (2012). White Tail Disease of Freshwater Prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Indian J. Virol.*, **23**, 134–140.
- SAHUL HAMEED A.S., RAVI M., FAROOK M.A., TAJU G., HERNANDEZ-HERRERA R.I. & BONAMI J.R. (2011). Screening the post-larvae of *Macrobrachium rosenbergii* for early detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) by RT-PCR and immunological techniques. *Aquaculture*, **317**, 42–47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2011.04.022>
-

SAHUL HAMEED A.S., YOGANANDHAN K., SRI WIDADA J. & BONAMI J.R. (2004a). Experimental transmission and tissue tropism of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and its associated small virus (XSV). *Dis. Aquat. Org.*, **62**, 191–196.

SAHUL HAMEED A.S., YOGANANDHAN K., SRI WIDADA J. & BONAMI J.R. (2004b). Studies on the occurrence of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus-like particles associated with white tail disease of *M. rosenbergii* in India by RT-PCR detection. *Aquaculture*, **238**, 127–133.

SENAPIN S., JAENGSAKONG C., PHIWSAIYA K., PRASERTSRI S., LAISUTISAN K., CHUCHIRD N. & FLEGEL T.W. (2012). Infections of MrNV (*Macrobrachium rosenbergii* nodavirus) in cultivated whiteleg shrimp *Penaeus vannamei* in Asia. *Aquaculture*, **338–341**, 41–46. [10.1016/j.aquaculture.2012.01.019](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.01.019)

SRI WIDADA J., DURAND S., CAMBOURNAC I., QIAN D., SHI Z., DEJONGHE E., RICHARD V. & BONAMI J.R. (2003). Genome-based detection methods of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus, a pathogen of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*: dot-blot, *in situ* hybridization and RT-PCR. *J. Fish Dis.*, **26**, 583–590.

SRI WIDADA J., RICHARD V., SHI Z., QIAN D. & BONAMI J.R. (2004). Dot-Blot hybridization and RT-PCR detection of extra small virus (XSV) associated with white tail disease of prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Dis. Aquat. Org.*, **58**, 83–87.

SUDHAKARAN R., HARIBABU P., KUMAR S.R., SARATHI M., AHMED V.P., BABU V.S., VENKATESAN C. & HAMEED A.S. (2008). Natural aquatic insect carriers of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV). *Dis. Aquat. Org.*, **79**, 141–145. doi: 10.3354/dao01886.

SUDHAKARAN R., ISHAQ AHMED V.P., HARIBABU P., MUKHERJEE S.C., SRI WIDADA J., BONAMI J.R. & SAHUL HAMEED A.S. (2007a). Experimental vertical transmission of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) from brooders to progeny in *Macrobrachium rosenbergii* and *Artemia*. *J. Fish Dis.*, **30**, 27–35.

SUDHAKARAN R., PARAMESWARAN V. & SAHUL HAMEED A.S. (2007b). *In vitro* replication of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus (XSV) in C6/36 mosquito cell line. *J. Virol. Methods*, **146**, 112–118.

SUDHAKARAN R., SYED MUSTHAQ S., HARIBABU P., MUKHERJEE S.C., GOPAL C. & SAHUL HAMEED A.S. (2006). Experimental transmission of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (MrNV) and extra small virus (XSV) in three species of marine shrimp (*Penaeus indicus*, *Penaeus japonicus* and *Penaeus monodon*). *Aquaculture*, **257**, 136–141.

WANG C.S., CHANG J.S., WEN C.M., SHIH H.H., & CHEN S.N. (2008). *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus infection in *M. rosenbergii* (de Man) with white tail disease cultured in Taiwan. *J. Fish Dis.*, **31**, 415–422.

YOGANANDHAN K., LEARTVIBHAS M., SRIWONGPUK S. & LIMSUVAN C. (2006). White tail disease of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* in Thailand. *Dis. Aquatic. Org.*, **69**, 255–258.

YOGANANDHAN K., SRI WIDADA J., BONAMI J.R. & SAHUL HAMEED A.S. (2005). Simultaneous detection of *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus and extra small virus by a single tube, one-step multiplex RT-PCR assay. *J. Fish Dis.*, **28**, 65–69.

ZHANG H., WANG J., YUAN J., LI L., ZHANG J., BONAMI J.-R. & SHI Z. (2006). Quantitative relationship of two viruses (MrNV and XSV) in white tail disease of *Macrobrachium rosenbergii*. *Dis. Aquat. Org.*, **71**, 11–17.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (white tail disease) (please consult the WOA web site: <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>) any further information on infection with *Macrobrachium rosenbergii* nodavirus (white tail disease)

NB: FIRST ADOPTED IN 2009. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2017.

CHAPTER 2.2.9

INFECTION WITH YELLOW HEAD VIRUS GENOTYPE 1

1. Scope

Infection with yellow head virus genotype 1 means infection with the pathogenic agent yellow head virus genotype 1 (YHV1) of the Genus *Okavirus* and Family *Roniviridae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Yellow head virus genotype 1 (YHV1; species *Yellow head virus*) is one of eight known genotypes in the yellow head complex of viruses and is the only known genotype that causes yellow head disease. YHV1 forms enveloped, rod-shaped particles 40–50 nm × 150–180 nm (Chantanachookin *et al.*, 1993; Wongteerasupaya *et al.*, 1995). Envelopes are studded with prominent peplomers projecting approximately 11 nm from the surface. Nucleocapsids appear as rods (diameter 20–30 nm) and possess a helical symmetry with a periodicity of 5–7 nm. Virions comprise three structural proteins (nucleoprotein p20 and envelope glycoproteins gp64 and gp116) and a ~26 kb positive-sense single-stranded RNA genome. The nucleotide sequence of the ORF1b region of the viral genome has been used to determine the phylogenetic relationships of YHV1 and other yellow head virus genotypes (Dong *et al.*, 2017; Mohr *et al.*, 2015; Wijegoonawardane *et al.*, 2008a).

YHV1, yellow head virus genotype 2 (YHV2; species *Gill-associated virus*) and yellow head virus genotype 8 (YHV8; species *Okavirus 1*) have been formally classified by the International Committee on Taxonomy of Viruses (Walker *et al.*, 2021). Four other genotypes in the complex (YHV3–YHV6) occur commonly in healthy *Penaeus monodon* in East Africa, Asia and Australia and are rarely or never associated with disease (Walker *et al.*, 2001; Wijegoonawardane *et al.*, 2008a). Of the remaining two yellow head virus genotypes, YHV7 was detected in diseased *P. monodon* in Australia (Mohr *et al.*, 2015) and YHV8 was detected in *P. chinensis* suspected of suffering from acute hepatopancreatic necrosis disease (Liu *et al.*, 2014). There is evidence of genetic recombination between genotypes (Wijegoonawardane *et al.*, 2009).

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

YHV1, identified by either transmission electron microscopy (TEM) (Nunan *et al.*, 1998), or molecular methods (Durand *et al.*, 2000; McColl *et al.*, 2004), has been detected in frozen commodity prawns with infectivity demonstrated by bioassay.

2.1.3. Survival and stability outside the host

YHV1 remains viable in aerated seawater for up to 72 hours (Flegel *et al.*, 1995b).

For inactivation methods, see Section 2.4.5.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with YHV1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: blue shrimp (*Penaeus stylirostris*), dagger blade grass shrimp (*Palaemonetes pugio*), giant tiger prawn (*Penaeus monodon*), jinga shrimp (*Metapenaeus affinis*) and whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*).

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with YHV1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* are:

Family	Scientific name	Common name
Palaemonidae	<i>Palaemon serrifer</i>	carpenter prawn
	<i>Palaemon styliferus</i>	Pacific blue prawn
	<i>Macrobrachium sintangense</i>	Sunda river prawn
Parastacidae	<i>Cherax quadricarinatus</i>	red claw crayfish
Penaeidae	<i>Metapenaeus brevicornis</i>	yellow shrimp
	<i>Penaeus aztecus</i>	northern brown shrimp
	<i>Penaeus duorarum</i>	northern pink shrimp
	<i>Penaeus japonicus</i>	kuruma prawn
	<i>Penaeus merguensis</i>	banana prawn
	<i>Penaeus setiferus</i>	northern white shrimp

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the

following species, but an active infection has not been demonstrated: acorn barnacle (*Chelonibia patula*), blue crab (*Callinectes sapidus*), cyclopoid copepod (*Ergasilus manicatus*), gooseneck barnacle (*Octolasmis muelleri*), Gulf killifish (*Fundulus grandis*) and paste shrimp (*Acetes* sp.).

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

Penaeus monodon are susceptible to YHV1 infection beyond PL15 (Khongpradit et al., 1995). Lightner et al. (1998) YHV1 challenge caused disease in juveniles of *Penaeus aztecus*, *P. duorarum*, *P. setiferus*, and *P. vannamei* but postlarvae appeared resistant (Lightner et al. 1998). YHV1 infections are usually detected only when disease is evident, however infections have been detected in healthy wild populations of *P. stylirostris* (Castro-Longoria et al., 2008). Natural YHV1 infections have been detected in *P. japonicus*, *P. merguensis*, *P. setiferus*, *Metapenaeus ensis*, and *P. styliferus* (Cowley et al., 2002; Flegel et al., 1995a; 1995b).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

YHV1 targets tissues of ectodermal and mesodermal origin including lymphoid organ, haemocytes, haematopoietic tissue, gill lamellae and spongy connective tissue of the subcutis, gut, antennal gland, gonads, nerve tracts and ganglia (Chantanachookin et al., 1993; Lightner, 1996).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

YHV1 was detected by reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in clinically normal wild *P. stylirostris* collected for surveillance purposes in the Gulf of California in 2003 (Castro-Longoria et al., 2008). The infectious nature of the YHV1 detected was confirmed by experimental infections. There is also evidence that YHV1 can persist in survivors of experimental infection (Longyant et al., 2005; 2006).

2.2.6. Vectors

There are no known vectors of YHV1.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

In farmed *P. monodon*, YHV disease can cause up to 100% mortality within 3–5 days of the first appearance of clinical signs (Chantanachookin *et al.*, 1993). Mortalities can be induced by experimental exposure of *P. monodon* to YHV1 (Oanh *et al.*, 2011).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Shrimp from late postlarvae (PL) stages onwards can be infected experimentally with YHV1. In cultured shrimp, infection can result in mass mortality occurring, usually in early to late juvenile stages. Moribund shrimp may exhibit a bleached overall appearance and a yellowish discoloration of the cephalothorax. However, these disease features are not particularly distinctive, and gross signs are not reliable even for preliminary diagnosis of YHV1.

Exceptionally high feeding activity followed by an abrupt cessation of feeding may occur within 2–4 days of the appearance of gross clinical signs of disease and mortality. Moribund shrimp may congregate at pond edges near the surface (Chantanachookin *et al.*, 1993).

2.3.3 Gross pathology

The yellow hepatopancreas of diseased shrimp may be exceptionally soft when compared with the brown hepatopancreas of a healthy shrimp (Chantanachookin *et al.*, 1993).

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

YHV1 can be transmitted horizontally by ingestion of infected tissue, immersion in membrane-filtered tissue extracts, or by cohabitation with infected shrimp (Walker & Sittidilokratna, 2008). YHV1 replicates in the cytoplasm of infected cells in which long filamentous pre-nucleocapsids are abundant and virions bud into cytoplasmic vesicles in densely packed paracrystalline arrays for egress at the cytoplasmic membrane (Chantanachookin *et al.*, 1993).

2.3.5. Environmental factors

Elevated virus infection levels accompanied by disease can be precipitated by physiological stress induced by sudden changes in pH or dissolved oxygen levels, or other environmental factors (Flegel *et al.*, 1997).

2.3.6. Geographical distribution

YHV1 has been reported in South-East Asia (Walker *et al.*, 2001). YHV1 has also been detected in *P. stylirostris* and *P. vannamei* in the Americas (Castro-Longoria *et al.*, 2008; Sanchez-Barajas *et al.*, 2009).

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

None available.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

No effective commercial anti-viral product is yet available.

2.4.3. Immunostimulation

A multi-target dsRNA for simultaneous inhibition of YHV1 and white spot syndrome virus demonstrated inhibition of the two viruses when administered to shrimp by injection (Chaimongkon *et al.*, 2020)

2.4.4. Breeding resistant strains

Not reported.

2.4.5. Inactivation methods

YHV1 can be inactivated by heating at 60°C for 15 minutes (Flegel *et al.*, 1995b). Little information is available on other inactivation methods but the virus appears to be susceptible to treatment with chlorine at 30 parts per million (0.03 mg ml⁻¹) (Flegel *et al.*, 1997).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

Not reported.

2.4.7. General husbandry

The focus is to exclude YHV1 from entering production systems; for example, by using specific pathogen-free (SPF) stock, batch testing stock and biosecurity measures to reduce entry into culture systems.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

For diagnosis during a disease outbreak, moribund shrimp collected from pond edges are the preferred source of material for examination. Apparently healthy shrimp should also be collected from the same ponds. For surveillance in populations of apparently healthy shrimp, life stages from PL stage 15 onwards can provide tissue sources useful for testing.

3.2. Selection of organs or tissues

In moribund shrimp suspected to be infected with YHV1, pleopods, gill and lymphoid organ are the most suitable sample tissues. For screening or surveillance of juvenile or adult shrimp that appear grossly normal, pleopods or gills are preferred.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Not determined.

3.4. Non-lethal sampling

Haemolymph can be used for non-lethal sampling.

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.1. Samples for bioassay

The success of bioassay depends strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (absolute) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human

health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it can be frozen at -20°C or below for 1 month or less; for long-term storage, -80°C is recommended.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5. of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.2.2 of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.4. Samples for other tests

Not applicable.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger specimens should be processed and tested individually. Small life stages can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

- +++ = Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
- ++ = Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
- + = Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.
- Shaded boxes = Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOA Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAAH recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	A. Surveillance of apparently healthy animals				B. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				C. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology						++	++	1				
Cell culture												
Real-time RT-PCR												
Conventional RT-PCR	++	++	++	1	++	++	++	1				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									++	+++	+++	1
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	1				
Bioassay					+	+	+	1				
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods ³												
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAAH Pathway (chapter 1.1.2); PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Not applicable.

4.2. Histopathology and cytopathology

Fix the cephalothorax tissues of moribund shrimp suspected to be affected by YHV1 in Davidson's fixative, prepare tissue sections and stain with Meyer's haematoxylin and eosin (H&E) using standard histological procedures (Lightner, 1996). Examine tissues of ectodermal and mesodermal origin by light microscopy for the presence of moderate to large numbers of deeply basophilic, evenly stained, spherical, cytoplasmic inclusions approximately 2 µm in diameter or smaller (Chantanachookin *et al.*, 1993). Tissues of the lymphoid organ, stomach subcuticulum and gills are particularly informative.

Lymphoid organ spheroids are commonly observed in healthy *P. monodon* chronically infected with YHV1 or GAV and lymphoid organ necrosis often accompanies disease (Spann *et al.*, 1997). However, spheroid formation and structural degeneration of lymphoid organ tissue also result from infection by other shrimp viruses (Lightner, 1996).

4.3. Cell culture for isolation

Although primary shrimp cell culture methods are available, they are not recommended to isolate and identify YHV1 as a routine diagnostic method. No continuous cell lines suitable for YHV1 culture are available.

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5 *Use of molecular and antibody-based techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans). Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time PCR

Not available.

4.4.2. Conventional RT-PCR

Three RT-PCR protocols are described. For all conventional RT-PCR protocols, assignment to YHV genotype 1 can be achieved by nucleotide sequence analysis of the RT-PCR amplicon. Reference sequences for YHV1 include:

Protocol 1 is a 1-step RT-PCR that can be used to detect YHV1 in affected shrimp. The protocol is as described by Mohr *et al.* (2015) and adapted from Wongteerasupaya *et al.* (1997). This protocol will detect YHV1 but not GAV or any of the other genotypes currently recognised.

Protocol 2 is a more sensitive multiplex nested RT-PCR that can be used to differentiate YHV1 from GAV. The protocol is as described by Mohr *et al.* (2015) and adapted from Cowley *et al.* (2004). The first stage of the multiplex nested RT-PCR (primary RT-PCR) was designed to detect YHV1 and GAV but has been reported to also detect YHV7 (Mohr *et al.*, 2015). Both the primary RT-PCR and the nested PCR detected the novel YHV genotype from China (People's Rep. of) (Liu *et al.*, 2014). In the second PCR step, a 277 bp product indicates detection of YHV and a 406 bp product indicates detection of GAV. The presence of both 406 bp and 277 bp products indicates a dual infection with GAV and YHV1. The nested PCR can be run as two separate assays specific for YHV1 or GAV by omitting either the G6 or Y3 primer, respectively. **NOTE:** Due to reported problems with primer specificity for some emerging strains, all PCR products generated using protocol 2 should be sequenced to confirm the virus genotype.

Protocol 3 is a multiplex nested RT-PCR protocol that can be used for screening shrimp for any of the seven genotypes of the yellow head complex of viruses. The protocol is as described by Mohr *et al.* (2015) and adapted from Wijegoonawardane *et al.* (2008b). Two primers were designed to each site, one accommodating sequence variations amongst YHV1 isolates and the other variations amongst isolates of the other genotypes (Wijegoonawardane *et al.*, 2008b). It is not known whether this assay will detect the YHV8 genotype recently detected in China (People's Rep. of) (Liu *et al.*, 2014).

Primer sequences

Pathogen / target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Protocol 1 (Wongteerasupaya <i>et al.</i> , 1997; GenBank Accession No.: FJ848675.1 ; amplicon size: 135 bp)			
YHV1 / ORF1b	10F: CCG-CTA-ATT-TCA-AAA-ACT-ACG 144R: AAG-GTG-TTA-TGT-CGA-GGA-AGT	180 nM 180 nM	40 cycles of 94°C/30sec, 58°C/45 sec, 68°C/45 sec,
Protocol 2 (Cowley <i>et al.</i> , 2004; GenBank Accession No.: FJ848675.1)			
YHV1 and GAV / ORF1b	<p>Primary (Amplicon size: 794 bp) GY1: 5GAC-ATC-ACT-CCA-GAC-AAC-ATC-TG GY4: GTG-AAG-TCC-ATG-TGT-GTG-AGA-CG</p> <p>Nested for detection of YHV1 (Amplicon size: 277 bp) GY2: CAT-CTG-TCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA Y3: ACG-CTC-TGT-GAC-AAG-CAT-GAA-GTT</p> <p>Nested for detection of GAV (Amplicon size: 406 bp) GY2: CAT-CTG-TCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA G6: GTA-GTA-GAG-ACG-AGT-GAC-ACC-TAT</p>	180 nM 180 nM 360 nM 360 nM 360 nM 360 nM	35 cycles of 95°C/30 sec, 66°C/30 sec, and 68°C/45 sec
Protocol 3 (Wijegoonawardane <i>et al.</i> , 2008b; GenBank Accession No.: FJ848675.1)			
YHV1 to YHV7 / ORF1b	<p>Primary (amplicon size: 359 bp) YC-F1ab pool: ATC-GTC-GTC-AGC-TAC-CGC-AAT-ACT-GC ATC-GTC-GTC-AGY-TAY-CGT-AAC-ACC-GC</p> <p>YC-R1ab pool: TCT-TCR-CGT-GTG-AAC-ACY-TTC-TTR-GC TCT-GCG-TGG-GTG-AAC-ACC-TTC-TTG-GC</p> <p>Nested (amplicon size: 147 bp) YC-F2ab pool: CGC-TTC-CAA-TGT-ATC-TGY-ATG-CAC-CA CGC-TTY-CAR-TGT-ATC-TGC-ATG-CAC-CA</p> <p>YC-R2ab pool: RTC-DGT-GTA-CAT-GTT-TGA-GAG-TTT-GTT GTC-AGT-GTA-CAT-ATT-GGA-GAG-TTT-RTT Mixed base codes: R(AG), Y(CT), M(AC), K(GT), S(GC), W(AT), H(ACT), B(GCT), V(AGC), D(AGT), N(AGCT).</p>	180 nM 180 nM 180 nM 180 nM 180 nM 180 nM 180 nM 180 nM	35 cycles of 94°C/45 sec, 60°C/45 sec, 68°C/45 sec, 35 cycles of 94°C/45 sec, 60°C/45 sec, 72°C/45 sec;

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

The [Protocol 2 Y3](#) primer contains a mismatch for GAV but is specific for YHV1. The mismatch can cause false-positives with GAV in the nested PCR of protocol 2 where GAV generates an amplicon of very similar size to the expected size of the YHV1 amplicon. For GAV, the 7th base from left (T) is substituted for C so that the primer sequence for GAV should be 5' CAT-CTG-CCC-AGA-AGG-CGT-CTA-TGA-3', according to the sequence data of the GAV genome (database accession numbers: NC_010306.1 and AF227196.2).

The following controls should be run with each assay: negative extraction control; positive control; no template control; internal PCR control.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

Not available.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

The protocol of Tang *et al.* (2002) is suitable for detecting YHV1 or GAV (Tang & Lightner, 1999). To preserve viral RNA accessibility, fix tissues sampled from live shrimp in neutral-buffered, modified Davidson's fixative without acetic acid (RF-fixative) (Hasson *et al.*, 1997). To achieve good tissue preservation whilst also preserving RNA accessibility, normal Davidson's fixative can be used as long as the fixation time is limited to 24 hours (maximum of 48 hours). Detailed methods can be found in Tang *et al.* (2002) YHV-infected cells give a blue to purple-black colour against the brown counter stain. Positive controls of YHV-infected tissue and negative controls of uninfected shrimp tissue should be included. The digoxigenin-labelled DNA probe can be prepared by PCR labelling using the following primers:

YHV1051F: 5'-ACA-TCT-GTC-CAG-AAG-GCG-TC-3'

YHV1051R: 5'-GGG-GGT-GTA-GAG-GGA-GAG-AG-3'

4.7. Immunohistochemistry

Not applicable.

4.8. Bioassay

The bioassay procedure is based on that described by Spann *et al.* (1997), but similar procedures have been described by several other authors (e.g. Lu *et al.*, 1994). The bioassay should be conducted in susceptible shrimp that have been determined to be free from YHV complex viruses.

Suspect YHV1-infected samples should be maintained at 4°C or on ice. If necessary, the whole shrimp or the retained cephalothorax may be snap-frozen and stored at -80°C or in liquid nitrogen until required. Viral inoculum should be prepared as described by Spann *et al.* (1997).

Juvenile shrimp of a known susceptible species are injected with viral inoculum. Negative controls (buffer injected) and positive controls (known YHV1 positive material) treatment groups are required. Shrimp should be maintained separately to prevent cross-contamination between treatments. Observe the shrimp and record mortalities for at least 21 days or until the test and positive control groups reach 100% mortality.

Dead shrimp can be processed for PCR and sequence analysis. The surviving shrimp are processed for gross signs, histopathology, PCR and sequence analysis. A positive result is indicated by the detection of gross signs and characteristic histological lesions, and by PCR and amplicon sequence analysis. The negative control shrimp must remain negative for at least 21 days for gross or histological signs of infection with YHV1.

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods (ELISA, etc.)

None has been successfully developed.

4.10. Other methods

None at present.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Nested-RT-PCR (Protocol 3) is recommended for demonstrating freedom from YHV1 in an apparently healthy populations. Sequencing of any amplified PCR products is required to determine the YHV genotype. Two-step PCR negative results are required for YHV1.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOA Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁶

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with YHV1 shall be suspected if the following criterion is met:

- i) Positive result by a ~~recommended~~ conventional RT-PCR detection test

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with YHV1 is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) ~~A positive result by conventional RT-PCR and identification of YHV1 by sequence analysis of the amplicon from each of two different RT-PCR methods followed by sequence analysis of the amplicons to identify YHV1~~

6.2. Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with YHV1 shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs consistent with YHV1 infection
- ii) Histopathology consistent with YHV1 infection
- iii) Positive result by conventional RT-PCR
- iv) Positive result by ISH

⁶ For example transboundary commodities.

- v) Positive result by bioassay

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with YHV1 is considered to be confirmed if the following criterion is met:

- i) A positive result from each of two different RT-PCR methods ~~targeting non-overlapping parts of the genome~~ followed by sequence analysis of the amplicons to identify YHV1

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with YHV1 are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2 (no data are currently available for either). ~~This information can be used for the design of surveys for infection with YHV1, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions.~~ Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, PCR: = polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, PCR: = polymerase chain reaction.

7. References

- CASTRO-LONGORIA R., QUINTERO-ARREDONDO N., GRIJALVA-CHON J.M. & RAMOS-PAREDES J. (2008). Detection of the yellow-head virus (YHV) in wild blue shrimp, *Penaeus stylirostris*, from the Gulf of California and its experimental transmission to the Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *J. Fish Dis.*, **31**, 953–956.
- CHAIMONGKON D., ASSAVALAPSAKUL W., PANYIM S. & ATTASART P. (2020). A multi-target dsRNA for simultaneous inhibition of yellow head virus and white spot syndrome virus in shrimp. *J. Biotechnol.*, **321**, 48–56. doi: 10.1016/j.jbiotec.2020.06.022. Epub 2020 Jun 29. PMID: 32615142.
- CHANTANACHOOKIN C., BOONYARATPALIN S., KASORNCHANDRA J., DIREKBUSARAKOM S., AEKPANITHANPONG U., SUPAMATTAYA K., SRIURAITANA S. & FLEGEL T.W. (1993). Histology and ultrastructure reveal a new granulosis-like virus in *Penaeus monodon* affected by yellow-head disease. *Dis. Aquat. Org.*, **17**, 145–157.
- COWLEY J.A., CADOGAN L.C., WONGTEERASUPAYA C., HODGSON R.A.J., BOONSAENG V. & WALKER P.J. (2004). Multiplex RT-nested PCR differentiation of gill-associated virus (Australia) from yellow head virus (Thailand) of *Penaeus monodon*. *J. Virol. Methods*, **117**, 49–59. doi: 10.1016/j.jviromet.2003.11.018.

COWLEY J.A., HALL M.R., CADOGAN L.C., SPANN K.M. & WALKER P.J. (2002). Vertical transmission of gill-associated virus (GAV) in the black tiger prawn *Penaeus monodon*. *Dis. Aquat. Org.*, **50**, 95–104.

DONG X., LIU S., ZHU L., WAN X., LIU Q., QIU L., ZOU P., ZHANG Q. & HUANG J. (2017) Complete genome sequence of an isolate of a novel genotype of yellow head virus from *Fenneropenaeus chinensis* indigenous in China. *Arch Virol* **162**, 1149–1152.

DURAND S.V., TANG K.F.J. & LIGHTNER D.V. (2000). Frozen commodity shrimp: potential avenue for introduction of white spot syndrome virus and yellow head virus. *J. Aquatic Anim. Health*, **12**, 128–135.

FLEGEL T.W., BOONYARATPALIN S. & WITHYACHUMNARNKUL B. (1997). Current status of research on yellow-head virus and white-spot virus in Thailand. *In: Diseases in Asian Aquaculture III*, Flegel T.W. & MacRae I.H., eds. Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, 285–296.

FLEGEL T.W., FEGAN D.F. & SRIURAIRATANA S. (1995a). Environmental control of infectious shrimp diseases in Thailand. *In: Diseases in Asian Aquaculture II*, Shariff M., Subasinghe R.P. & Arthur J.R., eds. Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, 65–79.

FLEGEL T.W., SRIURAIRATANA S., WONGTERRASUPAYA C., BOONSAENG V., PANYIM S. & WITHYACHUMNARNKUL B. (1995b). Progress in characterization and control of yellow-head virus of *Penaeus monodon*. *In: Swimming Through Troubled Water, Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95*, Browdy C.L. & Hopkins J.S., eds. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA, 76–83.

HASSON K.W., HASSON J., AUBERT H., REDMAN R.M. & LIGHTNER D.V. (1997). A new RNA-friendly fixative for the preservation of penaeid shrimp samples for virological assay using cDNA probes. *J. Virol. Methods*, **66**, 227–236.

KHONGPRADIT R., KASORNCHANDRA J. & BOONYARATPALIN S. (1995). Susceptibility of the postlarval stages of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) to yellow-head baculovirus (YBV). *In: Diseases in Asian Aquaculture II*, Shariff M., Subasinghe R.P. & Arthur J.R., eds. Asian Fisheries Society, Manila, the Philippines, p. 6.

LIGHTNER D.V. (Ed.) (1996). Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid Shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge, USA.

LIGHTNER D.V., HASSON K. W., WHITE B. L. & REMAN R. M. (1998) Experimental infection of western hemisphere penaeid shrimp with Asian white spot syndrome virus and Asian yellow head virus *J. Aquatic Anim. Health*, **10**, 271–281

LIU Q., HUANG J., YANG H.-L., YANG B., WANG H.-L., WANG Q.-T., LIU F. & ZHANG Q.-L. (2014) Detection of a new genotype of yellow-head virus in farmed shrimp suspicious of EMS/AHPNS infection. *Oceanol. Limnol. Sin.*, **45**, 703–709.

LONGYANT S., SATTAMANS., CHAVISUTHANGKURA P., RUKPRATANPORN S., SITHIGORNGUL W. & SITHIGORNGUL P. (2006). Experimental infection of some penaeid shrimps and crabs by yellow head virus (YHV). *Aquaculture*, **257**, 83–91.

LONGYANT S., SITHIGORNGUL P., CHAVISUTHANGKURA P., RUKPRATANPORN S., SITHIGORNGUL W. & MENASVETA P. (2005). Differences in the susceptibility of palaemonid shrimp species to yellow head virus (YHV) infection. *Dis. Aquat. Org.*, **64**, 5–12.

LU Y., TAPAY L.M., BROCK J.A. & LOH P.C. (1994). Infection of the yellow head baculo-like virus (YBV) in two species of penaeid shrimp *Penaeus stylirostris* (Stimpson) and *Penaeus vannamei* (Boone). *J. Fish Dis.*, **17**, 649–656.

MCCOLL K.A., SLATER J., JEYASEKARAN G., HYATT A.D. & CRANE M.St.J. (2004). Detection of white spot syndrome virus and yellowhead virus in prawns imported into Australia. *Aust. Vet. J.*, **82**, 69–74.

MOHR P.G., MOODY N.J.G., HOAD J., WILLIAMS L.M., BOWATER R.O., CUMMINS D.M., COWLEY J.A. & CRANE M.St.J. (2015). New yellow head virus genotype (YHV7) in giant tiger shrimp *Penaeus monodon* indigenous to northern Australia. *Dis. Aquat. Org.*, **115**, 263–268.

MOODY N. ET AL (IN PREPARATION). Development of a real-time and conventional PCR assays for the detection of yellow head virus genotype 1.

NUNAN L.M., POULOS B.T. & LIGHTNER D.V. (1998). The detection of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV) in imported commodity shrimp. *Aquaculture*, **160**, 19–30.

OANH D.T., VAN HULTEN M.C., COWLEY J.A. & WALKER P.J. (2011). Pathogenicity of gill-associated virus and Mourilyan virus during mixed infections of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *J. Gen. Virol.*, **92**, 893–901.

SANCHEZ-BARAJAS M., LINAN-CABELLO M.A. & MENA-HERRERA A. (2009). Detection of yellow-head disease in intensive freshwater production systems of *Litopenaeus vannamei*. *Aquacult. Int.*, **17**, 101–112.

SPANN K.M., COWLEY J.A., WALKER P.J. & LESTER R.J.G. (1997). A yellow-head-like virus from *Penaeus monodon* cultured in Australia. *Dis. Aquat. Org.*, **31**, 169–179.

TANG K.F.J. & LIGHTNER D.V. (1999). A yellow head virus gene probe: nucleotide sequence and application for *in situ* hybridization. *Dis. Aquat. Org.*, **35**, 165–173.

TANG K.F.J., SPANN K.M., OWENS L. & LIGHTNER D.V. (2002). *In situ* detection of Australian gill-associated virus with a yellow head virus gene probe. *Aquaculture*, **205**, 1–5.

WALKER P.J., COWLEY J.A., SPANN K.M., HODGSON R.A.J., HALL M.R. & WITHYACHUMNARNKUL B. (2001). Yellow head complex viruses: Transmission cycles and topographical distribution in the Asia-Pacific Region. *In: The New Wave, Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Culture, Aquaculture 2001*, Browdy C.L. & Jory D.E., eds. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, 292–302.

Walker P.J. & Sittidilokratna N. (2008). Yellow Head Virus. *In: Encyclopedia of Virology*, third edition. Academic Press, 476–483. <https://doi.org/10.1016/B978-012374410-4.00779-2>

WIJEGONAWARDANE P.K.M., COWLEY J.A., SITTIDILOKRATNA, N., PHETCHAMPAI, N., COWLEY, J.A., GUDKOV, N. & WALKER P.J. (2009). Homologous genetic recombination in the yellow head complex of nidoviruses infecting *Penaeus monodon* shrimp. *Virology* doi: 10.1016/j.virol.2009.04.015.

WIJEGONAWARDANE P.K.M., COWLEY J.A., PHAN T., HODGSON R.A.J., NIELSEN L., KIATPATHOMCHAI W. & WALKER P.J. (2008a). Genetic diversity in the yellow head nidovirus complex. *Virology* **380**, 213–225.

WIJEGONAWARDANE P.K.M., COWLEY J.A. & WALKER P.J. (2008b). Consensus RT-nested PCR to detect yellow head virus genotypes in penaeid shrimp. *J. Virol. Methods*, **153**, 168–175.

WONGTEERASUPAYA C., BOONSAENG V., PANYIM S., TASSANAKAJON A., WITHYACHUMNARNKUL B. & FLEGEL T.W. (1997). Detection of yellow-head virus (YHV) of *Penaeus monodon* by RT-PCR amplification. *Dis. Aquat. Org.*, **31**, 181–186.

WONGTEERASUPAYA C., SRIURAIATANA S., VICKERS J.E., AKRAJAMORN A., BOONSAENG V., PANYIM S., TASSANAKAJON A., WITHYACHUMNARNKUL B. & FLEGEL T.W. (1995). Yellow-head virus of *Penaeus monodon* is an RNA virus. *Dis. Aquat. Org.*, **22**, 45–50.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with yellow head virus genotype 1 (please consult the WOA web site: <https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>). Please contact the WOA Reference Laboratories for any further information on infection with yellow head virus genotype 1

NB: FIRST ADOPTED IN 1995 AS YELLOWHEAD DISEASE. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2019.

CHAPTER 2.2.X.

INFECTION WITH DECAPOD IRIDESCENT VIRUS 1

1. Scope

Infection with decapod iridescent virus 1 means infection with the pathogenic agent decapod iridescent virus 1 (DIV1), Genus *Decapodiridovirus*, Subfamily *Betairidovirinae*, Family *Iridoviridae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

DIV1 is the only species of the genus *Decapodiridovirus* assigned to the subfamily *Betairidovirinae*, family *Iridovirus* (ICTV, 2023). DIV1 is a 150–158 nm, enveloped icosahedral double-stranded DNA virus, with a linear genome of 165 kb composed of 34.6% G + C content and 170–178 putative open reading frames (ORFs) (Li *et al.*, 2017; Qiu *et al.*, 2017; 2018a; Xu *et al.*, 2016). Although *Cherax quadricarinatus* iridovirus (CQIV) (Xu *et al.*, 2016) and shrimp haemocyte iridescent virus (SHIV) (Qiu *et al.*, 2017) have been reported from the redclaw crayfish (*C. quadricarinatus*), and the whiteleg shrimp (*L. vannamei*), respectively, they are classified as different isolates (strains) within the DIV1 species.

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

DIV1-infected cephalothoraxes are infectious after homogenisation, centrifugation, filtration and storage at –80°C (Qiu *et al.*, 2022a; Xu *et al.*, 2016).

2.1.3. Survival and stability outside the host

Not available.

For inactivation methods, see Section 2.4.5.

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with DIV1 according to chapter 1.5. *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* include: fleshy prawn (*Penaeus chinensis*), gazami crab (*Portunus trituberculatus*), giant river prawn (*Macrobrachium rosenbergii*), kuruma prawn (*Penaeus japonicus*), Oriental river prawn (*Macrobrachium nipponense*), red claw crayfish (*Cherax quadricarinatus*), red swamp crawfish (*Procambarus clarkii*), ridgetail prawn (*Palaemon carinicauda*), and whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*).

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with DIV1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* include: giant tiger prawn (*Penaeus monodon*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but an active infection has not been demonstrated: channeled applesnail (*Pomacea*

canaliculata), *Helice tientsinensis*, Japanese shore crab (*Hemigrapsus penicillatus*), *Macrobrachium superbum* and *Plexippus paykulli*.

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

All live stages are potentially susceptible to infection; DIV1 has been detected in post-larvae (PL), juvenile and sub-adult stages of shrimp (*Penaeus vannamei*, *P. chinensis*, *Exopalaemon carinicauda*, *Macrobrachium nipponense*, *M. rosenbergii*, crayfish [*Cherax quadricarinatus*, *Procambarus clarkia*] and crab [*Portunus trituberculatus*]) as natural infection or by experimental (per os) exposure (Chen et al., 2019; Qiu et al., 2018; 2019b; 2020b; 2021b; 2022b). Species with a positive DIV1 polymerase chain reaction (PCR) result, without an active infection include: *Penaeus monodon*, *Pomacea canaliculata*, *Macrobrachium superbum*, *Plexippus paykulli* and *Hemigrapsus penicillatus* (Qiu et al., 2021; 2019a; 2022b; Srisala et al., 2021).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

The principal target tissues for DIV1 include lymphoid organ, haematopoietic tissues, as well as epithelia and haemocytes in gills, muscle, hepatopancreas, pereopods, pleopods, uropods, and antenna (Qiu et al., 2017; 2019a; 2021a; Sanguanrut et al., 2021).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

There is evidence that crustacean species may become reservoirs of DIV1 infection. DIV1 was detected in non-clinical adult wild giant tiger prawn (*P. monodon*) (Srisala et al., 2021), wild crabs (*Helis tientsinensis*, *Hemigrapsus penicillatus*) in drainage ditches (Qiu et al., 2022a), and *Macrobrachium superbum* in affected shrimp ponds (Qiu et al., 2019a).

Subclinical infection has been reported in gazami crab, *Portunus trituberculatus*, which is widely distributed in environmental waters in Asia and could be a potential source of DIV1 infection on shrimp farms (Qiu et al., 2022a).

2.2.6. Vectors

There are no confirmed vectors of DIV1.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

Mortality can be high (80–100%) after a natural infection with DIV1 in shrimp and crayfish species, which has been confirmed by experimental infection through intramuscular injection or oral administration in *P. vannamei*, *Cherax quadricarinatus*, *Procambarus clarkii* and *Macrobrachium rosenbergii* (Qiu et al., 2017; 2019a; Xu et al., 2016). Experimental infection with DIV1 administered orally or by intramuscular injection resulted in 50% and 100% mortality, respectively, in the gazami crab (*Portunus trituberculatus*) (Qiu et al., 2022a).

In pathogenicity studies of crustacean species, mortalities rose more rapidly in *Litopenaeus vannamei* compared with *Cherax quadricarinatus* or *Procambarus clarkii* in experimental infections (Xu et al., 2016).

The prevalence of DIV1 infection was 15.5, 15.2, and 50% in *P. vannamei*, *P. chinensis*, and *M. rosenbergii*, respectively, in a survey of shrimp farms tested in the period 2014 to 2016 (Qiu et al., 2017).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Clinical signs in affected whiteleg shrimp (*P. vannamei*) are reddish bodies, white atrophied hepatopancreas, soft shells and empty stomachs and intestines, while giant freshwater shrimp (*M. rosenbergii*) showed a white discoloration at the base of the rostrum (white head) and hepatopancreatic atrophy (Qiu et al., 2017; 2019a). However, these disease signs are not always distinctive because the course of the disease varies in affected animals.

2.3.3 Gross pathology

See Section 2.3.2.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Based on experimental and natural infections, DIV1 is thought to be transmitted horizontally by oral routes and contaminated water (Qiu *et al.*, 2017; 2019a; 2022a; Xu *et al.*, 2016).

2.3.5. Environmental factors

Temperature and co-culture play an important role in DIV1 infection. DIV1 has been detected in shrimp and crayfish reared at 16–32°C, but not at temperatures above 32°C in a 2017–2018 survey (Qiu *et al.*, 2018b; 2019b; 2020b; 2021b 2022b). In shrimp farm management, polyculture with different species of crustaceans increases the risk of DIV1 infection in farmed shrimp due to cross-species transmission (Qiu *et al.*, 2019a; 2022a).

2.3.6. Geographical distribution

DIV1 has been reported in farmed shrimp and crayfish in the Asia-Pacific region (Qiu *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2016).

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

Not available.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

Not available.

2.4.3. Immunostimulation

Not available.

2.4.4. Breeding resistant strains

Not available.

2.4.5. Inactivation methods

Not known.

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

Not available

2.4.7. General husbandry

Biosecurity practices can be used to reduce the risk of DIV1 infection. These includes PCR pre-screening of broodstock and larvae, PCR pre-screening of polychaetes and food organisms for broodstock and larvae, disinfection of rearing water and farming equipment, controlled stocking density, and avoidance of polyculture with different crustacean species.

Using a protocol of 15-day thermal treatment at 36°C combined with 15-day restoration treatment at 28°C, *P. vannamei* infected by intramuscular injection of DIV1 showed no clinical signs, no DNA replication, no histopathology and ISDL results, indicating DIV1 can be eliminated from challenged shrimp after 36°C treatment (Guo *et al.*, 2022).

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

For diagnosis during a disease outbreak, moribund and apparently healthy crustacean specimens of susceptible species (see Section 2.2.3) from the same ponds, especially in polyculture mode, are selected as samples for identification testing. Apparently healthy or even dead and dried samples from crustacean farms next to the affected farms can be used as sources of materials for examination (Qiu *et al.*, 2019a). For surveillance in apparently healthy populations, all life stages of samples reared at 16–32°C should be suitable for testing (see Section 2.3.5)

Shrimp and crayfish that are 4–7 cm in body length provide the highest detection rate of DIV1 when used for examination (Qiu *et al.*, 2018b ;2019b ;2020b; 2021b ;2022b).

3.2. Selection of organs or tissues

Suitable tissues for testing are lymphoid organ, haematopoietic tissues, muscle, gills, hepatopancreas, pereopods, pleopods, uropods, and antennae (Qiu *et al.*, 2017; 2019a; 2021a; Srisala *et al.*, 2021). Quantitative virus analysis from different tissues of naturally infected *Macrobrachium rosenbergii* showed that muscle and hepatopancreas had lower virus load compared with that of the lymphoid organ, haematopoietic tissues, gills, pereopods, pleopods, uropods and antennae (Qiu *et al.*, 2019a).

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Autolytic and compound eyes samples are not suitable for PCR-based pathogen detection.

3.4. Non-lethal sampling

If non-lethal tissue sample types differ from recommended tissues (see Section 3.2.), or from the tissue samples used in validation studies, the effect on diagnostic performance should be considered.

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The success of pathogen isolation and results of bioassay depend strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed, it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5 of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.3 of Chapter 2.2.0 *General information* (diseases of crustaceans).

3.5.4. Samples for other tests

Not available

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger shrimp (or other decapod crustaceans) should be processed and tested individually. Small life stages such as larvae or PLs can be pooled to obtain the minimum amount of material for virus isolation or molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

- +++ = Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
- ++ = Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
- + = Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.

Shaded boxes = Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAH recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	Surveillance of apparently healthy animals				Presumptive diagnosis of clinically affected animals				Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Histopathology						++	++	1				
Cell culture												
Real-time PCR	++	+++	+++	NA	+++	+++	+++	1	+++	+++	+++	1
Conventional PCR	++	++	++	NA	++	++	++	NA				
Conventional nested PCR followed by amplicon sequencing									+	+	+	1
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	1
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	1		+++	+++	1
Bioassay					+	+	+	NA				
LAMP	+	+	+	NA	+	+	+	NA				
Quantitative LAMP	++	++	++	NA	++	++	++	1				
Ag-ELISA												
RPA	++	++	++	NA	++	++	++	1				
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHP Pathway (chapter 1.1.2); NA = not available;

PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification

Ag-ELISA = antigen enzyme-linked immunosorbent assay; RPA = recombinase polymerase amplification

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Not relevant

4.2. Histopathology and cytopathology

Histopathological examination revealed pathognomonic dark eosinophilic cytoplasmic inclusion bodies in the karyopyknotic cells of haemopoietic tissues and lymphoid organs, and in the haemocytes of gills, pereopods and sinus of the hepatopancreas (Qiu *et al.*, 2017; 2019a), as well as cuticular epithelium under the cuticles (Chen *et al.*, 2019).

4.3. Cell culture for isolation

Not available.

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section 5.5 *Use of molecular and antibody-based techniques for confirmatory testing and diagnosis* of Chapter 2.2.0 *General information (diseases of crustaceans)*. Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time PCR

Table 4.4.1.1. Primers and probes (sequences) and cycling conditions for DIV1 real-time PCR

Target gene	Primer/probe (5'-3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Qiu <i>et al.</i> , 2018a; GenBank Accession No.: MF599468.1			
ATPase	SHIV-F: AGG-AGA-GGG-AAA-TAA-CGG-GAA-AAC	500 nM	40 cycles of 95°C/100 sec and 60°C/30 sec
	SHIV-R: CGT-CAG-CAT-TTG-GTT-CAT-CCA-TG Probe: FAM-CTG-CCC-ATC-TAA-CAC-CAT-CTC-CCG-CCC-TAMRA	200 nM	
Method 2: Qiu <i>et al.</i> , 2020a; GenBank Accession No.: MF599468.1			
MCP	142F: AAT-CCA-TGC-AAG-GTT-CCT-CAG-G 142R: CAA-TCA-ACA-TGT-CGC-GGT-GAA-C Probe: FAM-CCA-TAC-GTG-CTC-GCT-CGG-CTT-CGG-TAMRA	500 nM 200 nM	40 cycles of 95°C/10 sec and 60°C/30 sec
Method 3: Gong <i>et al.</i> , 2021; GenBank Accession No.: MF599468.1			
ATPase	DIV1-F: AGG-AAA-GGA-AAC-GAA-AGA-AAT-TAT-ACC DIV1-R: GCT-TGA-TCG-GCA-TCC-TTG-A Probe: FAM-CAC-ATG-ATT-TGC-AAC-AAG-CTT-CCA-GCA-TAMRA	400 nM 200 nM	40 cycles of: 95°C/10 sec and 60°C/30 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.2. Conventional PCR/nested PCR

Table 4.4.2.1. Primer sequences and cycling conditions for DIV1 PCR and nested PCR

Target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Xu <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: ; amplicon size: 103 bp			
MCP	CQIV-MCP-F: GAA-ACT-TTA-TGC-ACA-ATC-TTA-T CQIV-MCP-R: CCA-ATC-ATG-TTG-TCG-TAT-CC	NA	25 cycles of: 94°C/30 sec, 55°C/30 sec and 72°C/30 sec
Method 2: Qiu <i>et al.</i> , 2017; GenBank Accession No.: KY618040; amplicon size: 457 and 129 bp			
ATPase	Primary step: SHIV-F1: GGG-CGG-GAG-ATG-GTG-TTA-GAT SHIV-R1: TCG-TTT-CGG-TAC-GAA-GAT-GTA Nested PCR: SHIV-F2: CGG-GAA-ACG-ATT-CGT-ATT-GGG SHIV-R2: TTG-CTT-GAT-CGG-CAT-CCT-TGA	400 nM 400 nM	Primary and nested steps: 95°C/3 min; 35 cycles of 95°C/30 sec, 59°C/30 sec and 72°C/30 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

Table 4.4.3 Primers and probes (sequences) for DIV1 LAMP, RPA and qLAMP

Method / Target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a) / method
Method 1: Chen <i>et al.</i> , 2019; GenBank Accession No.:			
LAMP / DNA-directed RNA polymerase II	SHIV-FIP (F1C + F2): TGG-GGT-TTC-ATA-TGG-GCA-AA T-GAT-TTT-AAG-AAT-GGA-AAG-ATC-CTA-TCA-GC SHIV-BIP (B1C + B2): AGG-AGA-AAA-GGT-TGG-ATT-GGT-TAC-TTT-TAC-TTC-TGT-TAC-TGC-GAT-GG SHIV-LF: GAG-AGG-CGT-GCA-ACT-TTC-TG SHIV-LB: TTT-GGC-ATT-GTC-TGC-TAC-AAT-TTC-C SHIV-F3: GAT-GGC-CAT-TCC-TTC-AAA-C SHIV-B3: AAA-ATA-GTC-ATC-CTG-AAA-TCC-T	1600 nM 1600 nM 800 nM 800 nM 200 nM 200 nM	60 cycles of: 60°C 85°C/5 min:
Method 2: Chen <i>et al.</i> , 2020; GenBank Accession No.:			
RPA / MCP	RPA-F : CAG-ATC-AGA-GCG-CAT-TCG-ATC-CCA-TAG-GCA-CCG-C RPA-R: CGT-AAG-AGA-ACA-TGT-GGT-ATC-CGG-TGA-GTT-CGG-G RPA- Probe: ATA-CGA-ATC-TTC-AGA-TCG-TAT-TCC-CGT-GA(FAM-dT)G(THF)C(BHQ1-dT)GCC-GAT-TAC-TTC-TC (phosphorylation)	400 nM 400 nM 120 nM	40 cycles of: 39°C/45 sec, and 39°C/15 sec:
Method 3: Gong <i>et al.</i> , 2021; GenBank Accession No.:			
qLAMP/ ATPase	F3: GGC-TTG-GTA-TCT-TAT-TCA-GAG-AT B3: ATT-CAC-AAC-ATC-GTC-ACC-AT FIP: CTC-TTG-ATG-GAT-ACA-CTG-ATC-TTC-GGA-GCC-AGA-GAT-TGT-AAC-GG BIP: ATT-CAG-TAT-TCA-AGG-ATT-GGT-TCA-AAA-GTT-CCT-CCA-TCT-ACC-TCT-C LF: TTC-GGT-ACG-AAG-ATG-TAG-C LB: GAA-GAG-TAT-CCT-AAT-ATG-ACC-ATC-C	200 nM 200 nM 1600 nM 1600 nM 800 nM 800 nM	63°C/30 sec 40 cycles of: 63°C/60 sec:

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example, by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

In-situ hybridisation has been applied to paraffin sections to determine the specific location of DIV1 in target tissues by either DIG-labelled oligonucleotide probe or DIG-labelling-loop-mediated DNA amplification (ISDL) (Chen *et al.*, 2019; Xu *et al.*, 2016). ISDL is the preferred method to use because it is highly sensitive through simultaneous pathogen DNA amplification and labelling techniques, compared with routine probe-based *in-situ* hybridisation.

4.7. Immunohistochemistry

Not available.

4.8. Bioassay

Bioassay has application in presumptive diagnosis, but cost, accuracy, labour, timing, or other factors limit its application (Qiu *et al.*, 2017; Xu *et al.*, 2016).

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods (ELISA, etc.)

Not available.

4.10. Other methods

Not available.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Any of the real-time PCR assays is recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently health populations.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOAHP Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁷

⁷ For example transboundary commodities.

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with DIV1 shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time PCR
- ii) Positive result by conventional PCR,
- iii) Positive result by LAMP
- iv) Positive result by RPA

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with DIV1 is considered to be confirmed if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time PCR followed by conventional PCR and amplicon sequencing.
- ii) Positive result by real-time PCR followed by conventional nested PCR and amplicon sequencing.
- iii) A positive result from each of two different real-time PCR methods

6.2 Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however, they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with DIV1 shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs associated with the disease as described in this chapter, with or without elevated mortality
- ii) Positive result by real-time PCR
- iii) Positive result by conventional PCR
- iv) Positive result by LAMP
- v) Positive result by RPA
- vi) Histopathological changes consistent with the presence of the pathogen or the disease
- vii) Positive result by *in-situ* hybridisation

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with DIV1 is considered to be confirmed if at least at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional PCR followed by amplicon sequencing
- ii) Positive result by real-time PCR and positive result by conventional nested PCR and amplicon sequencing
- iii) Positive result by real-time PCR and positive result by *in-situ* hybridisation
- iv) A positive result from each of two different real-time PCR methods

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with DIV1 are provided in Tables 6.3.1 and 6.3.2 (no data are currently available for either). Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study,
PCR: = polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study,
PCR: = polymerase chain reaction.

7. References

CHEN Z., HUANG J., ZHANG F., ZHOU Y. & HUANG H. (2020). Detection of shrimp hemocyte iridescent virus by recombinase polymerase amplification assay. *Mol. Cell. Probes*, **49**, 101475.

CHEN X., QIU L., WANG H., ZOU P., DONG X., LI F. & HUANG J. (2019). Susceptibility of *Exopalaemon carinicauda* to the infection with shrimp hemocyte iridescent virus (SHIV 20141215), a strain of decapod iridescent virus 1 (DIV1). *Viruses*, **11**, 387.

GONG H.Y., LI Q.Y., ZHANG H., YE L., SHI L. & FENG Y.H. (2021). Development and comparison of qPCR and qLAMP for rapid detection of the decapod iridescent virus 1 (DIV1). *J. Invert. Pathol.*, **182**, 107567

GUO X.M., QIU L., GAO W., WANG G.H., CHEN X. & HUANG J. (2022). Radical thermal therapy against infection with decapod iridescent virus 1 (DIV1). *Aquaculture*, **561**, 738636.

INTERNATIONAL COMMITTEE OF TAXONOMY ON VIRUSES (ICTV) (2023). Genus: Decapodiridovirus. <https://ictv.global/report/chapter/iridoviridae/iridoviridae/decapodiridovirus>

LI F., XU L. & YANG F. (2017). Genomic characterization of a novel iridovirus from redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*: evidence for a new genus within the family *Iridoviridae*. *J. Gen. Virol.*, **98**, 2589–2595.

QIU L., CHEN X., GAO W., GUO X.M., XIE G.S., GONG M. & HUANG J. (2022a). Confirmation of susceptibility of swimming crab to infection with decapod iridescent virus 1. *Aquaculture*, **548**, 737607.

QIU L., CHEN X., GAO W., LI C., GUO X.M., ZHANG Q.L. & HUANG J. (2021a). Molecular epidemiology and histopathological study of a natural infection with decapod iridescent virus 1 in farmed white leg shrimp, *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, **533**, 736105.

QIU L., CHEN X., GUO X.M., GAO W., ZHAO R.H., ZHANG Q.L., YANG B. & HUANG J. (2020a). A TaqMan probe based real-time PCR for the detection of Decapod iridescent virus 1. *J. Invertebr. Pathol.*, **173**, 107367. doi: 10.1016/j.jip.2020.107367.

QIU L., CHEN M.M., WAN X.Y., LI C., ZHANG Q.L., WANG R.Y. & HUANG J. (2017). Characterization of a new member of Iridoviridae, shrimp hemocyte iridescent virus (SHIV), found in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Sci. Rep.*, **7**, 11834.

QIU L., CHEN M.M., WAN X.Y., ZHANG Q.L., LI C., DONG X. & HUANG J. (2018a). Detection and quantification of shrimp hemocyte iridescent virus by TaqMan probe based real-time PCR. *J. Invert. Pathol.*, **154**, 95–101.

QIU L., CHEN X., ZHAO R.H., LI C., GAO W., ZHANG Q.L. & HUANG J. (2019a). Description of a natural infection with decapod iridescent virus 1 in farmed giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Viruses*, **11**, 354.

QIU L., DONG X., WAN X.Y. & HUANG J. (2018b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID). *In: Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China in 2017* (in Chinese). Fishery and Fishery Administration Bureau under the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fishery Technical Extension Center, Eds., China Agriculture Press, Beijing, 187–204, ISBN 978-7-109-24522-8.

QIU L., DONG X., WAN X.Y. & HUANG J. (2019b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID) in 2018. *In: Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China in 2018*. Fishery and Fishery Administration Bureau under the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fishery Technical Extension Center, Eds., (in press) (in Chinese).

QIU L., DONG X., WAN X. Y., ZHANG Q.-L. & HUANG J. (2020b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID) in 2019. *In: Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center (Ed.), 2020 Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China*. China Agriculture Press, Beijing, pp. 185–200 (in Chinese).

QIU L., DONG X., WAN X. Y., ZHANG Q.-L. & HUANG J. (2021b). Analysis of iridescent viral disease of shrimp (SHID) in 2020. *In: Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center (Ed.), 2021 Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China*. China Agriculture Press, Beijing, pp. 182–196 (in Chinese).

QIU L., DONG X., WAN X. Y. & ZHANG Q.-L. (2022b). Analysis of infection with Decapod iridescent virus 1 (iDIV1) in 2021. *In: Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center (Ed.), 2022 Analysis of Important Diseases of Aquatic Animals in China*. China Agriculture Press, Beijing, pp. 161–174 (in Chinese).

SANGUANRUT P., THAIUE D., THAWONSUWAN J., ALDAMA-CANO D.J., FLEGEL T.W. & SRITUNYALUCKSANA K. (2021). The lymphoid organ (LO) is an additional, prime target for decapod iridescent virus 1 (DIV1) in *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, **547**, 737482.

RISALA J., SANGUANRUT P., THAIUE D., LAIPHROM S., SIRIWATTANO J., KHUDET J., THAIUE D., POWTONGSAK S., FLEGEL T.W. & SRITUNYALUCKSANA K. (2021). Infectious myonecrosis virus (IMNV) and decapod iridescent virus 1 (DIV1) detected in captured, wild *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, **545**, 737262.

XU L., WANG T., LI F. & YANG F. (2016) Isolation and preliminary characterization of a new pathogenic iridovirus from redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Dis. Aquat. Org.*, **120**, 17–26.

*
* *

NB: There is a WOAHP Reference Laboratory for infection with decapod iridescent virus 1
(please consult the WOAHP web site:

<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact the WOAHP Reference Laboratories for any further information on
infection with decapod iridescent virus 1

NB: FIRST ADOPTED IN 20XX.

SECTION 2.4.
DISEASES OF MOLLUSCS

CHAPTER 2.4.0.
GENERAL INFORMATION

A. SAMPLING

1. Assessing the health status of the epidemiological unit

1.1. Sample material to be used for tests

Sample material and the number of samples to be collected depend on the specific disease or pathogen, the size of animals and the objective of testing (i.e. surveillance of apparently healthy animals, presumptive diagnosis of clinically affected animals or confirmatory diagnosis of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis). See individual disease chapters in this *Aquatic Manual* for specific details of sample requirements.

1.2. Specifications according to mollusc populations

For details of animals to sample for a specific listed disease, see the relevant disease chapter in this *Aquatic Manual*. The design of a surveillance system for demonstrating disease-free status for a country, zone or compartment should be in accordance with the recommendations of the WOAHA *Aquatic Code* Chapter 1.4. *Aquatic animal disease surveillance*.

The following factors should be considered when selecting animals to be sampled:

- i) for apparently healthy populations, susceptible species should be sampled proportionately or following risk-based criteria for targeted selection of lots, epidemiological units or populations with a history of abnormal mortality or potential exposure events (e.g. stocking with animals of unknown disease status)
- ii) If weak, abnormally behaving or freshly dead (not decomposed) animals are present, such animals should be selected. If such animals are not present, animals should be selected in such a way that all epidemiological units of the farm or waterbody are proportionately represented in the sample;
- iii) if more than one water source is used for production, animals from all water sources should be included in the sample.

1.3. Specifications according to clinical status

In addition to sampling of target tissues, other organs showing macroscopic abnormalities or lesions should also be sampled. For disease outbreaks, at least ten diseased or moribund molluscs should be sampled for testing. Parallel samples ($n > 10$) from apparently normal animals in the same production region should also be collected. Collection of dead specimens during disease outbreaks should be avoided when possible, but recently dead samples may be suitable for some diagnostic assays provided the animals are not decomposed. Disease-specific

recommendations are provided in Section 3 *Sample selection, sample collection, transportation and handling* of the individual chapters.

1.4. Specifications according to mollusc size

For the WOA-listed diseases it is recommended that the scheduling of sampling be planned (i.e. by farm schedule, season, etc.) so that the particular life-stage(s) are sampled at a time when the pathogen of concern is most likely to be detected.

1.4.1. For the listed parasites

Juveniles below 1.5 cm: sample the entire animal but remove the shell when possible or proceed with a decalcification protocol. When animals are too small for individual analyses, analyses can be performed on pools of several animals.

Juveniles 1.5–3 cm: sample the entire mollusc and cut in half sagittally. Keep one half of the animal for histological analyses and the other half for molecular analyses.

Molluscs over 3 cm: take a cross-section of the body, passing through the mantle, gills, digestive gland and gonads for histological analyses. Keep the remaining tissues for molecular analyses.

2. General processing of samples

Sampled molluscs should be delivered alive to the diagnostic laboratory. The laboratory should be informed of the estimated time of arrival of the sample so the required materials to process the molluscs can be prepared before receipt of the samples.

Mollusc samples should be packed appropriately in order to keep them alive. Required samples should be shipped as soon as possible after collection from the water. Unless otherwise specified, moribund animals should be sent on ice (but not frozen) to reduce sample decomposition.

For samples that cannot be delivered live to the diagnostic laboratory, specimens should be fixed on site as recommended in the following sections of this chapter or the relevant disease chapters of this *Aquatic Manual*. While this may be suitable for subsequent histology, transmission electron microscopy examination or PCR analyses for example, other techniques, such as fresh smears, tissue imprints, routine bacteriology, mycology or Ray's fluid thioglycollate culture of *Perkinsus* spp., cannot be performed on such samples. Diagnostic needs and sample requirements should be discussed with the diagnostic laboratory prior to collection of the sample.

2.1. Macroscopic examination

The gross observation of molluscs should target, as far as possible, animal behaviour, shell surface, inner shell and soft tissues.

It is often difficult to observe the behaviour of molluscs in open systems. However, observation of molluscs in certain rearing facilities, such as broodstock in tanks and larvae in hatcheries, can provide useful indications of disease-related behavioural changes. If signs are noted (e.g. pre-settlement of larvae on the bottom, food accumulation in tanks, signs of weakening, etc.), samples may be examined for gross signs, including observation under a dissecting microscope for abnormalities and deformities, fouling organisms, and fixed for further processing as recommended below. For adults and juveniles, signs of weakening may include gaping, accumulation of sand, mud and debris in the mantle and on the gills, mantle retraction away from the edge of the shell, decreased activity (scallop swimming, clam burrowing, abalone grazing), etc. The righting reflex of abalone after being inverted does not occur in weakened animals, and it is a good indicator of weakness. Mortality in open systems should be monitored for patterns of losses, and samples should be collected for further analysis. Environmental factors, pre- and post-mortality, should be recorded.

Even under culture conditions, the shells of molluscs may not be clean and fouling organisms are normal colonists of mollusc shell surfaces. Organisms such as barnacles, limpets, sponges, polychaete worms, bivalve larvae,

tunicates, bryozoans, etc., do not normally threaten the health of molluscs. Culture systems, such as suspension and shallow water culture, can even increase exposure to fouling organisms and shells may become covered by other animals and plants. This can affect health directly by impeding shell opening and closing or indirectly through competition for food resources. Signs of weakening associated with heavy fouling should be a cause for concern rather than fouling itself. Shell damage by boring organisms, such as sponges and polychaete worms, are usually benign, but under certain conditions may reach proportions that make the shell brittle or pierce through to the soft tissues. This degree of shell damage can weaken the mollusc and render it susceptible to pathogen infections. Shell deformities (shape, holes in the surface), fragility, breakage or repair should be noted, but may not be indicative of a disease concern. Burrowing epibionts may cause deformities and weaken the shell(s). Abnormal coloration and smell may indicate a possible soft-tissue infection that may need to be examined at a laboratory.

The molluscs should be opened carefully so as not to damage the soft tissues, in particular the mantle, gills, heart and digestive gland. The presence of fouling organisms on the inner shell surface is a clear indication of weakness. The inner surface of the shell is usually smooth and clean because of mantle and gill action. Perforation of the inner surface may occur but can be sealed off by the deposition of additional conchiolin and nacre. This may result in formation of mud- or water-filled blisters. Blisters may also form over superficial irritants such as foreign bodies. The degree of shell perforation can be determined by holding the shell up to a strong light. Where abnormalities occurring within the matrix of the shell warrant further investigation, freshly collected specimens can be brought intact to the laboratory or fixed for subsequent decalcification, as required. The appearance of the soft tissues is frequently indicative of the physiological condition of the animal. Soft tissues should be examined for the presence of abscess lesions, pustules, tissue discoloration, pearls, oedema, overall transparency or wateriness, gill deformities, etc., and, when found in association with weak or dying animals. Abnormalities and lesions of the tissues should be noted and recorded, as well as any shell deformities, shell-boring organisms and conspicuous mantle inhabitants. Levels of tissue damage should be recorded and samples of affected and unaffected animals collected for laboratory examination as soon as possible.

2.2. Virological examination

See Chapter 2.4.1. Infection with abalone herpesvirus for specific details.

2.3. Bacteriological examination

See Chapter 2.4.7. Infection with *Xenohaliotis californiensis* for specific details.

2.4. Parasitic (protists) examination

See Chapters 2.4.2 to 2.4.6. Infections with listed protists for specific details.

2.5. Fungal examination

Not applicable for currently listed diseases.

B. MATERIALS AND BIOLOGICAL PRODUCTS REQUIRED FOR THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MOLLUSC PATHOGENS

1. Mollusc viruses

1.1. Mollusc cell lines

Not applicable. There are currently no confirmed or documented mollusc cell lines suitable for virus isolation.

1.2. Culture media

Not applicable.

1.3. Virus positive controls and antigen preparation

1.3.1. Virus nomenclature

In general, the virus nomenclature used in the disease-specific chapters follows the most recent taxonomy for viruses as given in the Report of the Committee on Taxonomy of Viruses (see: [ICTV \[ictvonline.org\]](http://ictvonline.org) for latest information).

1.3.2. Virus production for experimental purposes

As no cell lines are known that can be used to produce mollusc virus stocks, infection of known susceptible host species (which are free of infection with the pathogenic agent in question) is the preferred method for virus production for experimental purposes or for the production of positive control material.

1.3.3. Virus preservation and storage

Infectivity of all of the WOAH-listed mollusc viruses can be preserved by freezing infected whole molluscs or infected target tissues at -20°C for short-term storage, or at -80°C or lower for long-term storage.

2. Mollusc bacteria

Not applicable. There is currently no developed procedure to cultivate *Xenohaliotis californiensis*.

3. Mollusc parasites (protists)

3.1. Culture media

See Chapters 2.4.5 Infection with *Perkinsus marinus* and 2.4.6 Infection with *Perkinsus olseni* for details.

3.2. Storage of cultures

Perkinsus spp. cultures in the exponential phase of growth can be pelleted by centrifugation and cryopreserved by resuspending the pellet in 40% DMEM Ham's F-12 (1:1) culture medium with 10% glycerol and 50% FBS and freezing them using standard procedures.

4. Mollusc fungi

4.1. Culture media

Not applicable for currently listed diseases.

4.2. Storage of cultures

Not applicable for currently listed diseases.

5. Techniques

The available diagnostic methods that may be selected for diagnosis of the WOAH-listed mollusc diseases or detection of their aetiological agents are based on:

- i) Gross and clinical signs.
- ii) Direct bright-field, phase-contrast or dark-field microscopy with whole stained or unstained tissue wet-mounts, tissue squashes, and impression smears.
- iii) Histology, *in-situ* hybridisation and electron microscopy of fixed specimens.

-
- iv) Culture methods where applicable.
 - v) Molecular methods (including sequencing): Conventional and real-time PCR and LAMP for direct assay with fresh, frozen or ethanol fixed-tissue samples or with extracted DNA.

Bioassays of suspect or subclinical carriers using a highly susceptible host (life stage or species) may also be used as an indicator for the presence of the pathogen.

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger molluscs should be processed and tested individually. However, for eggs, larvae and postlarvae, pooling of individuals may be necessary to obtain sufficient sample material to run a diagnostic assay.

5.1. Gross and clinical signs

Macroscopic examination of gross and clinical signs reveals non-specific signs only (e.g. gaping in bivalves or general weakness of the foot muscle in abalone), and mortality may be caused by several disease agents or physiological problems, such as loss of condition following spawning. To obtain a definitive diagnosis further investigation is required and this can only be determined using a range of other techniques including histology/electron microscopy and molecular techniques such as PCR and gene sequence analysis.

5.2. Direct microscopy

Samples for direct microscopic examination should be examined as soon as possible after collection. Use live specimens whenever possible, or use fresh, chilled, or fixed specimens when live specimens are not practical. If an adequate field laboratory is available, it should be used to process and examine samples near the site of collection.

5.3. Histological techniques

Live moribund animals or freshly dead (within minutes) animals provide the optimal tissues for examination. Due to tissue lysis that occurs during the freeze-thaw cycle, frozen samples are not appropriate for histology. Should a delay between animal mortality and sampling occur, it is recommended that animals be stored intact on ice or in a refrigerator.

To obtain a sample that includes all the major tissues, a section should be taken to include digestive gland, gills, gonad, mantle and palps, where possible. For large specimens, it may be necessary to take several sections to include all the important tissues. Tissue preparation for examination by light microscopy involves several steps, including tissue fixation, dehydration, impregnation and embedding of samples, preparation of sections, staining and mounting of slides.

5.3.1. Tissue fixation

Tissue fixation is required to maintain the morphology of the tissues and to prevent post-sampling necrosis. Recommended fixatives used for the study of marine molluscs are Davidson's solution, Carson's solution and 10% formalin in filtered sea water. The ratio of fixative to tissue volume should be at least 10:1 to ensure good fixation.

<i>Davidson's solution:</i>	
1 µm filtered sea water	1200 ml
95% Alcohol	1200 ml
35–40% Formaldehyde ⁸	800 ml
Glycerol	400 ml

⁸ A saturated 37–39% aqueous solution of formaldehyde gas.

Glacial acetic acid	10% (add just prior to use)
---------------------	-----------------------------

Carson's solution:

NaH ₂ PO ₄ ·2H ₂ O	23.8 g
Sodium hydroxide (NaOH)	5.2 g
Distilled water	900 ml
40% Formaldehyde ¹	100 ml

Adjust the pH to 7.2–7.4

10% formalin in filtered sea water solution:

1 µm filtered sea water	900 ml
35–40% Formaldehyde ¹	100 ml

These solutions allow tissue structure to be preserved and different histochemical methods to be used including for *in-situ* hybridisation with DNA probes. Over-fixation (over 24–48 hours) should be avoided. After fixation, the specimens should be transferred to 70% ethyl alcohol, where they can be stored indefinitely. Davidson's solution is normally used because it provides better preservation of the cell nuclei. Carson's solution or 10% formalin in seawater can be used to examine tissues by electron microscopy. As electron microscopy can be a valuable aid in diagnosing or confirming infections in bivalve molluscs, fixing some samples (particularly the smaller ones) with glutaraldehyde, as described in Section B.5.4.1 of this chapter, may be considered, and will provide electron micrographs of the highest quality. It is recommended that a representative portion of the mollusc is fixed in Davidson's solution, while another representative portion is fixed in Carson's solution for further examination to ensure that all tissues/organs are fixed in both fixatives. If neither is available, 10% formalin buffered with filtered seawater will suffice.

For transport and shipping, see *Aquatic Code Chapter 5.10 Measures concerning international transport of aquatic animal pathogens and pathological material*.

5.3.2. Dehydration, impregnation and embedding of the samples

The fixed samples are transferred through a series of graded alcohols (70–95% [v/v]) before final dehydration in absolute ethanol. The alcohol contained in the tissues is next eliminated by immersing them in xylene. The tissues are then impregnated with paraffin, which is soluble in xylene, at 60°C. These steps are often carried out automatically using a tissue processing machine. Should processing be delayed, fixed tissues may be stored in 70% ethanol.

Histological blocks are produced by letting the tissues cool in moulds filled with paraffin on a cooling table.

5.3.3. Preparation of the sections

After the blocks have cooled and the paraffin has solidified, histological sections of about 2–5 µm are cut using a microtome. The sections are recovered on histological slides, drained and dried for up to 1 hour at 40–42°C or overnight at room temperature.

5.3.4. Staining and mounting the slides

Before staining, the paraffin is removed from the sections by immersing them in xylene or equivalent clearing solution for 10–20 minutes. This is repeated once and then the solvent is eliminated by immersion in two successive absolute ethanol baths for 10-minute periods each, and they are then rehydrated through a descending series of ethanol baths (for example 95%, 70%, 50%, 30%, 10 minutes each) with a final immersion in tap water for 10 minutes. Different topographical or histochemical staining techniques can then be performed.

When haematoxylin–eosin (H&E) stain is used (haematoxylin or equivalent), nuclear and basophilic structures stain a blue-to-dark-purple colour, the endoplasmic reticulum stains blue, while the cytoplasm takes on a grey colour. The acid dye eosin stains the other structures pink. This staining technique is simple and reproducible and, although it only allows a limited differentiation of cell structures, it is possible to detect any abnormalities in tissue and cellular structure. Other techniques may be applied to demonstrate particular structures or features as required (e.g. trichrome for connective tissue and cytoplasmic granules).

5.4. Transmission electron microscopy methods

Transmission electron microscopy can be used as part of the diagnostic procedures for diseases of molluscs.

Fixation for electron microscopy should be done immediately after the animal has been killed and before fixation for histology. Only samples taken rapidly from live animals will be of any use. The preparation of samples for electron microscopy involves the following steps: tissue fixation, decalcification of the samples (when necessary), dehydration, impregnation and embedding of the samples, preparation and counterstaining of the sections.

5.4.1. Tissue fixation

For tissues that are to be examined by electron microscopy, it is important that the fixation be performed correctly in order to cause as little damage as possible to the ultrastructure. The specimens are cut such that their dimensions do not exceed 1–2 mm. This small size allows rapid penetration of the various solutions into the tissue sample.

Fixation is carried out directly in 3% glutaraldehyde for 1–4 hours. The samples are washed in buffer three times, then post-fixed in 1% osmic acid (aqueous OsO₄) and washed twice again in buffer. Various formulations of glutaraldehyde fixative and buffers work equally well.

In order to cause as little damage as possible to the ultrastructure, the samples are treated with solutions that have an osmolarity close to that of the tissues. Thus, mollusc tissues are treated with solutions with an osmolarity of approximately 1000 mOsm. The osmolarity of the solutions is adjusted with artificial sea salts or NaCl. Alternatively, the glutaraldehyde can be formulated with 0.22 µm filtered seawater, and filtered seawater used for subsequent washes.

Sodium cacodylate	0.4 M: 8.6 g in 100 ml of distilled water
-------------------	---

Sodium chloride	10% in distilled water
-----------------	------------------------

Cacodylate buffer, pH 7.4:

1000 mOsm

Sodium cacodylate	50 ml from 0.4 M stock solution
-------------------	---------------------------------

NaCl	20 ml from 10% stock solution
------	-------------------------------

Distilled water	30 ml
-----------------	-------

Adjust the pH to 7.4

3% Glutaraldehyde:

1000 mOsm

25% glutaraldehyde	2.5 ml
--------------------	--------

0.4 M sodium cacodylate	5 ml
-------------------------	------

10% NaCl	3.5 ml
----------	--------

Distilled water	9 ml
-----------------	------

1% Osmic acid:

1000 mOsm

4% Osmic acid	1 volume
---------------	----------

0.4 M sodium cacodylate	1 volume
-------------------------	----------

NaCl	1 volume from 10% stock solution
------	----------------------------------

Distilled water	1 volume
-----------------	----------

5% ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA):

Disodium EDTA	5 g
---------------	-----

Cacodylate buffer	100 ml
-------------------	--------

EDTA dissolves when the pH is above 8. When the solution becomes clear adjust the pH to 7.4 by adding concentrated HCl.

If the samples have been previously fixed and stored in Carson's solution, they should be washed several times in a bath of buffer before fixation with 3% glutaraldehyde.

5.4.2. Dehydration, impregnation and embedding of the samples

The samples are dehydrated in successive baths of ethanol: 70% ethanol once, 95% ethanol twice, absolute ethanol three times. The dehydration is completed by two baths of propylene oxide, which allows subsequent impregnation with Epon.

The samples are impregnated progressively. After a first bath in a mixture of polypropylene oxide-Epon (50/50), the samples are placed in a bath of Epon. The longer the incubation, the better the impregnation of the tissues.

Embedding is carried out by placing the samples in moulds filled with Epon resin. A label identifying the sample is included in each block and the blocks are then placed at 60°C (the temperature at which Epon resin polymerises) for 48 hours.

5.4.3. Preparation of the sections and the counterstaining

The blocks are cut to appropriate sizes with a razor blade and, using an ultra-microtome, semi-thin sections (0.5–1 µm) are cut and placed on glass slides. These will be used to monitor the quality of the samples by light microscopy and to locate the areas of interest on the section.

The semi-thin sections are stained at 90–100°C with 1% toluidine blue solution. After drying, the slides are mounted under cover-slips with a drop of synthetic resin and observed using the light microscope.

Ultra-thin sections 80–100 nm thick are placed on mesh copper grids for electron microscopy. Uranyl acetate and lead citrate are used to counterstain the ultra-thin sections.

5.5. Use of molecular techniques for surveillance, confirmatory testing and diagnosis

Molecular techniques, including the use of nucleic acid probes for *in-situ* hybridisation, conventional PCR and real-time PCR, have been developed for the identification of many pathogens of aquatic animals. Real-time PCR methods, in general, have high sensitivity and specificity and, following adequate validation, can be used for direct detection of pathogen nucleic acids in samples prepared from mollusc tissues. These techniques can be used in direct surveillance of apparently healthy populations, if they have a high level of diagnostic sensitivity, as well as in the diagnosis of clinically affected animals.

When using PCR as a diagnostic method, the design of primers and probe, the use of positive and negative controls, as well as validation of the PCR method chosen are important. Real-time PCR is a powerful technique particularly for analysing relatively high numbers of samples (e.g. for surveillance) via high-throughput testing. Several nucleic acid probe and PCR protocols are included in this version of the *Aquatic Manual* as screening, diagnostic or confirmatory methods for molluscs and can be undertaken as the standard method. Following real-time PCR-positive results, where possible, conventional PCR with sequence analysis of PCR products should be used for confirmation of pathogen identity.

As with all PCR protocols, optimisation may be necessary depending on the reagents, equipment and the plasticware used. PCR is prone to false-positive and false-negative results. False-positive results (negative samples giving a positive reaction) may arise from either product carryover from positive samples or, more commonly, from cross-contamination by PCR products from previous tests. Therefore, each assay and tissue extraction should include a negative control to rule out contamination. False-negative results (positive samples giving a negative result) may lead to unwanted transmission of pathogens and biosecurity failure. Therefore, each assay (and ideally each tissue extraction) should include positive controls to ensure the assay performed correctly. Additionally, mollusc tissues are known to potentially contain PCR inhibitors. It is therefore recommended to check for the presence of PCR inhibitors in DNA extracts to avoid false negative results.

To minimise the risk of contamination, aerosol barrier pipette tips should be used for all sample preparation and PCR steps. Additionally, all PCRs should be prepared in a clean area that is separate from the area where the nucleic

acid extraction, amplification and gel electrophoresis are performed. Do not share equipment (e.g. laboratory coats and consumables) between areas and, where possible, restrict access between areas. Contaminating PCR products can be carried on equipment, clothes, shoes and paper (e.g. workbooks). Also, ensure all work-tops and air-flow hoods/cabinets used for the extractions and PCR set-up are regularly cleaned and decontaminated. To ensure sample integrity, always store the samples (e.g. in a freezer or refrigerator) in a location separate from the molecular biology laboratory and reagents.

Nested PCR involves two rounds of PCR and may be used to achieve increased sensitivity and specificity; however, it increases the risk of contamination. Contaminants from previous reactions can carry over and lead to false-positive results. Strict laboratory practices such as separate workspaces, dedicated equipment, and meticulous pipetting techniques are essential to mitigate this risk. In conclusion, nested PCR is not recommended for surveillance but may sometimes be used for confirmative studies.

5.5.1. Sample preparation

Samples should be prepared to preserve the nucleic acid of the pathogen and should be handled and packaged with the greatest care to minimise the potential for cross-contamination amongst the samples or target degradation before the assay can be performed. A water-resistant label, with the appropriate data filled out, should be placed within each package or container for each sample set. Use of household permanent markers should be avoided as their ink dissolves in ethanol and may result in loss of the sample label. Use pencil or histology pens only to label vials or jars.

Some suitable methods for preservation and transport of samples taken for molecular tests are:

- i) *Live, iced specimens or chilled specimens*: for specimens that can be rapidly transported to the laboratory for testing within 24 hours, pack samples in sample bags in an insulated box containing a cold pack and ship to the laboratory. Note: cold packs should not be in direct contact with the animals to avoid freezing some parts of the tissues if histological analyses are also planned on the samples (histology cannot be performed on frozen tissues).
- ii) *Frozen whole specimens*: select live specimens according to the purpose of sampling, quick freeze in the field using crushed dry-ice, or freeze in a field laboratory using a mechanical freezer at -20°C or lower temperature. Prepare and insert the label into the container with the samples, pack samples with an adequate quantity of dry-ice in an insulated box, and ship to the laboratory.
- iii) *Alcohol-preserved samples*: 80% analytical grade ethanol (i.e. methanol-free ethanol) can be used to preserve, store, and transport mollusc tissues. Tissues should be fully immersed in ethanol. Shipment can be performed at room temperature.
- iv) *Fixed tissues for in-situ hybridisation*: for this purpose, classic methods for preservation of the tissues for histology are adequate. Davidson's solution is usually a good choice for later use of molecular probes (See Section B.5.3). For DNA, specifically, over-fixation (more than 48 hours) should be avoided.

5.5.2. Preservation of DNA in tissues

For routine diagnostic testing by PCR, samples must be prepared to preserve the pathogen's nucleic acid. For most purposes, preservation of samples in analytical grade ethanol (80%) at room temperature is the preferred method for subsequent molecular tests. Samples preserved in this way can be stored for up to 1 week at 4°C or 25°C for 1 week or for extended periods at -20°C or below. In addition, other products (e.g. nucleic acid preservatives, various lysis buffers, etc.) are acceptable and are commercially available for the same purpose.

5.5.3. Nucleic acid extraction

To isolate nucleic acids from tissues preserved in ethanol or other preservative, simply remove the tissue from the fixative or preservative, press the tissues on absorbent paper to remove the excess of ethanol and let the ethanol evaporate, then treat it as fresh or frozen samples. Most fresh and preserved or fixed tissues can be homogenised (e.g. with a mortar and pestle or in bead-beating tubes) directly in the lysis or extraction buffer provided with commercially available DNA and RNA extraction kits. Commercial kits should be validated or undergo equivalence testing with current validated extraction procedures prior to routine use.

5.5.4. Preparation of slides for *in-situ* hybridisation

For *in-situ* hybridisation, molluscs are fixed and embedded in paraffin, according to the methods described above for histology. Sections are cut at 5 µm thick and placed on aminoalkylsilane-coated slides, which are then dried overnight at room temperature or in an oven at 40°C. The sections are dewaxed by immersing in xylene for 10 minutes. This step is repeated once and then the solvent is eliminated by immersion in two successive absolute ethanol baths for 10 minutes each. The sections could be rehydrated by immersion in a descending ethanol series. The protocol may require a step of membrane permeabilisation enabling access to the target DNA. For this purpose, sections are treated with proteinase K (100 µg ml⁻¹) in TE buffer (Tris [50 mM], EDTA [10 mM]), at 37°C for 10–30 minutes in a humid chamber. Slides are dehydrated by immersion in one or several ethanol series and then air-dried. For *in-situ* hybridisation tests (see individual chapters for details), it is essential that both a known positive and a known negative slide be stained to eliminate false positive results due to non-specific staining/stain dropout, and false negative results due to errors in the staining protocol. It is also recommended to test non-specific ISH probes (e.g. “universal” 18S probes) on tested samples to check if the material is suitable for ISH analyses.

For further details see disease-specific chapters in this *Aquatic Manual*.

6. Additional information to be collected

Sample information should include the collector's name, organisation, date, time, and description of the geographical location of the place of origin. The geographical location of the place of origin of samples may be described as the name or location of the site from which the sample has originated, or its geographical co-ordinates. There should also be records that provide information to allow trace-backs on the sample movement from the site of origin to the storage facility or laboratory and within those facilities.

Samples should be accompanied with background information, including the reason for submitting the sample (surveillance, abnormal mortality, abnormal growth, etc.), gross observations and associated environmental parameters, approximate prevalence and patterns of mortality, origin and nature of the molluscs (species, age, whether or not the samples are from local mollusc populations or stocks transferred from another site, date of transfer and source location, etc.). This information should identify possible changes in handling or environmental conditions that could be a factor in mortality in association, or not, with the presence of infectious agents

Information on the preservation method, storage location, and date and time of storage at each storage locker or freezer along with information on the storage temperature (continuously monitored is preferable) should be collected. This information should be tracked with a unique sample code for all samples. For laboratories, the date of receipt, storage location information, date of analysis, analysis notes, and report date should be maintained for all uniquely coded samples. These data will greatly facilitate the tracking of sample problems and provide assurance that the samples were properly handled.

See disease-specific chapters in this *Aquatic Manual* for recommendations on any additional information that may be required or that may assist the diagnostic laboratory in determining the most appropriate test(s) to be run for submitted samples.

7. Key references for further reading

ALMEIDA M., BERTHE F., THEBAULT A. & DINIS M.T. (1999). Whole clam culture as a quantitative diagnostic procedure of *Perkinsus atlanticus* (Apicomplexa, Perkinsea) in clams *Ruditapes decussatus*. *Aquaculture*, **177**, 325–332.

ARZUL I., CORBEIL S., MORGA B. & RENAULT T. (2017). Viruses infecting marine molluscs. *J. Invert. Pathol.*, **147**, 118–135.

BERTHE F.C.J., LE ROUX F., ADLARD R.D. & FIGUERAS A.J. (2004). Marteiliosis of molluscs: a review. *Aquat. Living Resour.*, **17**, 433–448.

BONDAD-REANTASO M.G., MCGLADDERY S.E., EAST I. & SUBASINGHE R.P. (2001). Asian Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. *FAO Fisheries Technical Paper*, No. 402, supplement 2. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome, Italy, 240 pp.

BUSHEK D., FORD S.E. & ALLEN S.K. (1994). Evaluation of methods using Ray's fluid thioglycollate medium for diagnosis of *Perkinsus marinus* infections in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*. *Ann. Rev. Fish Dis.*, **4**, 201–217.

GUO X. & FORD S.E. (2015). Infectious diseases of marine molluscs and host responses as revealed by genetic tools. *Phil. Trans. R. Soc.*, **B 371**, 20150206.

HOWARD D.W. LEWIS E.J., KELLER J. & SMITH C.S. (2004). Histological techniques for marine bivalve molluscs and crustaceans. *NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS5*, 218 pp.

MCDOWELL E. & TRUMP B.F. (1976). Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, **100**, 405–414.

MOODY N.J.G. & CRANE M.ST.J. (2016). Validation of diagnostic tests in the OIE manual for aquatic animals. In: Proc. 3rd OIE Global Conference on Aquatic Animal Health – “Riding the Wave of the Future”, Ho Chi Minh City, Vietnam, 20–22 January 2015, pp.119–126.

QADIRI S.S.N., SOO-JIN KIM S.-J., KRISHNAN R., KIM J.-O., KOLE S., KIM W.-S. & OH M.-J. (2019). Localization and tissue tropism of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) in experimentally infected juvenile olive flounder, *Paralichthys olivaceus*: An *in situ* hybridization and immunohistochemical study. *Aquaculture*, **505**, 242–252.

VALVERDE E.J., BORREGO J.J., SARASQUETE M.C., ORTIZ-DELGADO J.B. & CASTRO D. (2017). Target organs for lymphocystis disease virus replication in gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Vet. Res.*, **48**, 21. doi 10.1186/s13567-017-0428-3.

VILLALBA A., REECE K.S., ORDÁS M.C., CASAS S.M. & FIGUERAS A.J. (2004). Perkinsosis in molluscs. *Aquat. Living Resour.*, **17**, 411–432.

*

* *

NB: FIRST ADOPTED IN 1997. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.4.1.

INFECTION WITH ABALONE HERPESVIRUS

1. Scope

Infection with abalone herpesvirus means infection with the pathogenic agent *Aurivirus haliotidmalaco1* (commonly known as *Haliotid herpesvirus 1* [AbHV-1]) of the genus *Aurivirus* and the Family *Malacoherpesviridae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

AbHV-1 is the aetiological agent of abalone viral ganglioneuritis (AVG), a contagious disease of abalone species in Australia (Ellard *et al.*, 2009; Hooper *et al.*, 2007), China (People's Rep. of) (Gu *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2004) and Chinese Taipei (Chang *et al.*, 2005). Comparison of nucleotide sequences of the Victorian isolate of AbHV-1 and ostreid herpesvirus-1 (Davison *et al.*, 2009; Le Deuff & Renault, 1999) over common coding regions identified similarities ranging from 19% to 53%, indicating that these viruses share a low level of sequence similarity (Savin *et al.*, 2010). AbHV-1 has been assigned as a second member of the *Malacoherpesviridae* (ICTV, 2022). Complete genome sequences of isolates demonstrated that there are at least five genetic variants of AbHV-1 within Australia (Cowley *et al.*, 2012; Corbeil *et al.*, 2016) and one Chinese Taipei strain (Chang *et al.*, 2005). More recent analysis demonstrated that the Chinese strain represents a further variant (Bai *et al.*, 2019b).

Purified AbHV-1 particles (Tan *et al.*, 2008) observed by transmission electron microscopy are enveloped and icosahedral with electron dense cores and 100–110 nm in diameter. The intranuclear location of AbHV-1 particles, their size and ultrastructure are characteristic of members of the *Herpesviridae*. Isopycnic gradient centrifugation (in potassium tartrate and caesium chloride density gradients) indicated a virus particle buoyant density of 1.17–1.18 g ml⁻¹ (Tan *et al.*, 2008).

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

Virus derived from tissue obtained from experimentally infected abalone that had been homogenised in sterile EMEM Gibco) containing 10% fetal bovine serum, centrifuged (1500 g for 20 minutes at 4°C), filtered (0.22 µm) and stored as 250 µl aliquots in liquid nitrogen remains infectious for at least 21 months (Corbeil *et al.*, 2012b).

2.1.3. Survival and stability outside the host

Experimental studies (Corbeil *et al.*, 2012b) demonstrated that AbHV-1 remained infectious for up to 5 days when held in seawater at 4°C and for only 1 day at 15°C.

2.2. Host factors

Acute disease was first reported in farmed *Haliotis diversicolor supertexta* in Chinese Taipei (Chang *et al.*, 2005). Subsequently, disease outbreaks occurred in both farmed and wild abalone populations in Australia in all age classes of *H. rubra*, *H. laevigata*, and their hybrids (Hooper *et al.*, 2007). AbHV-1 is also suspected to be the aetiological agent of an epizootic disease that devastated the abalone aquaculture industry in southeastern China (People's Rep. of) starting in 1999 and continuing through the early 2000s (Gu *et al.*, 2019; Wei *et al.*, 2018; Wu &

Zhang, 2016). Interestingly, New Zealand pāua (*H. iris*) was highly resistant to experimental infection (Corbeil *et al.*, 2017).

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with AbHV-1 according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: small abalone (*Haliotis diversicolor*), Greenlip abalone (*Haliotis laevis*), Blacklip abalone (*Haliotis rubra*) and hybrids of Greenlip × Blacklip abalone (*Haliotis laevis* × *Haliotis rubra*).

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with AbHV-1 according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* are: Japanese abalone (*Haliotis discus*) and Rainbow abalone (*Haliotis iris*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but no active infection has been demonstrated: none

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

All age classes of *H. diversicolor*, *H. rubra*, *H. laevis*, and hybrids of *H. rubra* × *H. laevis* appear to be highly susceptible to disease (Corbeil 2020; Gu *et al.*, 2019).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

The major histopathological lesion identified in abalone affected with AVG is ganglioneuritis: inflammation confined to neural tissue. The cerebral, pleuropedal and buccal ganglia can be affected as well as the cerebral commissure and associated peripheral nerves (Bai *et al.*, 2019a; Chang & Handler, 2022; Hooper *et al.*, 2007). The Chinese variant is also able to infect and replicate in haemocytes of *H. diversicolor* (Bai *et al.*, 2020)

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

No information available.

2.2.6. Vectors

No information available.

2.3. Disease pattern

Outbreaks of AVG in both farmed and wild abalone populations in Australia are associated with the rapid onset of high mortality rates (up to 90%) in all age classes (Corbeil *et al.*, 2010). Similarly, in Chinese Taipei, during the epizootic in cultured abalone (the water temperature was 16–19°C), both adult and juvenile abalone suffered from the disease, with cumulative mortalities of 70–80%. It was reported that death of all of the abalone in a pond could occur within 3 days of the onset of clinical signs (Chang *et al.*, 2005). A similar disease pattern occurred with experimental infections (Chang *et al.*, 2005; Crane *et al.*, 2009).

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

In on-farm epizootics in Australia cumulative mortality in all age classes can reach >90%. In experimental trials, 100% mortality can occur within 5 days post-exposure. Most abalone that display gross signs are likely to die within 1–2 days.

In Australia, and similarly in Chinese Taipei, an outbreak of AVG is associated with a rapid rise in mortality rate (up to 90% or more). Affected abalone demonstrating clinical signs (e.g. curling of the foot) are likely to die within 1 day of showing these signs. Ganglioneuritis is observed in sections of neural tissue by light microscopy and confirmation of the presence of AbHV-1 is obtained by real-time PCR or *in-situ* hybridisation (Crane *et al.*, 2016). The precise prevalence of AVG in wild abalone populations in Australian waters is

unknown. The first epidemiological study undertaken in China (People's Rep. of), using real-time PCR (Gu et al., 2019), revealed a detection rate of 27–30% in abalone (*H. diversicolor* and *H. discus hannai*) farms with both healthy and diseased abalone.

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

AVG outbreaks in both farmed and wild abalone were associated with high mortality rates (up to 90% on farm). Clinically, abalone may demonstrate one or more of the following signs: irregular peripheral concave elevation of the foot; swollen and protruding mouth parts; eversion of the radula; minimal movement of the pedal muscle; excessive mucus production; absence of the marked extension of the foot shown in the righting reflex when healthy abalone are turned onto their backs; reduced pedal adhesion to the substrate. In Tasmania, abalone affected by AVG in processing plants exhibited 'hard foot' or tetany, excessive mucus production, abnormal spawning and 'bloating' (Ellard et al., 2009). These facilities also experienced much lower morbidity and mortality rates than reported on farms or in wild abalone in Victoria, Australia. Similar signs have been reported for an abalone disease epizootic in Chinese Taipei (Chang et al., 2005).

AVG is normally an acute disease, with abalone dying within 1–2 days of demonstrating gross signs of the disease. Wild harvested abalone held in live-holding facilities in Tasmania have previously exhibited slower onset of clinical signs and mortality. Some Tasmanian wild caught abalone have previously tested positive for AVG using real-time PCR without overt clinical or histological signs.

2.3.3 Gross pathology

Abalone that are loosely attached to the substrate owing to weakness or abnormalities of the pedal muscle should be selected for sampling. If this gross pathology is caused by acute AVG, it is likely that these abalone will die within 1–2 days.

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Horizontal transmission (Bai et al., 2019a; Chang et al., 2005; Crane et al., 2009) has been demonstrated experimentally by:

1. exposing healthy abalone to water containing diseased abalone in the same tank without direct contact between the diseased and healthy abalone;
2. placing healthy abalone in water that was previously inhabited by diseased abalone.

In all cases, 100% mortality was observed with a preclinical period of 1–2 days following exposure and then mortality commenced until 100% mortality occurred within 2–5 days post-infection.

2.3.5. Environmental factors

In Australia, the initial outbreak of AVG occurred on a farm during summer 2005/2006 and subsequently appeared to spread to wild populations, which experienced mortality throughout the following year i.e. during all seasons. All experimental infections to date have been carried out in the temperature range 15–18°C. In Chinese Taipei, during the reported epizootic, the water temperature was 16–19°C, and experimental infections were carried out at 17–20°C. In China (People's Rep. of), natural infections were only detected at water temperatures below 23°C (Gu et al., 2019). How temperature affects viral replication and onset of disease has yet to be determined. The possible effects of changes in other environmental factors such as salinity and dissolved oxygen are unknown.

2.3.6. Geographical distribution

Reported in Asia-Pacific.

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

None.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

No data available.

2.4.3. Immunostimulation

No data available.

2.4.4. Breeding resistant strains

No data available.

2.4.5. Inactivation methods

AbHV-1 was inactivated by treatment with 50 ppm of the iodophor Buffodine® as well as a 1% solution of the non-ionic surfactant Impress®. Calcium hypochlorite (1.5 ppm) treatment also inactivated the virus (Corbeil *et al.*, 2012b).

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

No data available.

2.4.7. General husbandry

To date, experimental data indicates that AbHV-1 is highly virulent. Practices that could be implemented to reduce the severity of the disease have not been identified. It is interesting to note that, in contrast to the situation in Victoria, Australia, clinical disease has not been reported in wild abalone populations in Tasmania, Australia. Disease outbreaks in processing plants in Tasmania suggest that stress factors may influence expression of subclinical infection.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

At the first signs of increased numbers of abalone appearing to be weak or behaving abnormally, or sudden onsets of unexplained mortality, live moribund individuals should be selected for sampling. If moribund or freshly dead abalone are not available, samples of overtly normal abalone from all parts of the farm, and representing all age classes, should be selected for sampling.

3.2. Selection of organs or tissues

Neural tissue that includes the cerebral, pleuropedal and buccal ganglia.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

To date, lesions have not been detected consistently in non-neural tissues.

3.4. Non-lethal sampling

Not available.

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.4.0 *General information (diseases of molluscs)*.

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The results of bioassay depend strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 70–90% (v/v) analytical/reagent-grade (undenatured) ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for molecular techniques can be found in Section B.5.5 of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs).

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.3 of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs).

3.5.4. Samples for other tests

Not applicable.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger specimens should be processed and tested individually. Small life stages such as larvae can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

+++ =	Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
++ =	Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
+ =	Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.
Shaded boxes =	Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting

amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAHP Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAH recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	D. Surveillance of apparently healthy animals				E. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				F. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts												
Imprints												
Histopathology		+	+	NA		++	++	2		++	++	2
Transmission electron microscopy						+	+	NA		+	+	NA
Real-time PCR		+++	+++	2		+++	+++	2		+++	+++	2
Conventional PCR						++	++	2				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing										+++	+++	2
<i>In-situ</i> hybridisation						++	++	NA		++	++	NA
Bioassay						+	+	NA				
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods												
Other methods												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAHPathway (chapter 1.1.2); PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification;

Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Not applicable.

4.2. Electron microscopy/cytopathology

Transmission electron microscopy is not a routine diagnostic method but can be used to confirm the presence of viral particles in infected ganglia. AbHV-1 particles are icosahedral with electron dense cores and a diameter of 100–110 nm. The intranuclear location of the particles and their ultrastructure are characteristic of members of the *Herpesviridae* (Tan *et al.*, 2008).

Tissue samples (containing pleuropedal ganglion) for examination by electron microscopy should be fixed using 2.5% (v/v) glutaraldehyde and 2–4% (v/v) paraformaldehyde in 0.1 M cacodylate buffer and post-fixed in 1% (w/v) osmium tetroxide, washed in reverse osmosis water (3 × 5 minutes), dehydrated in a graded series of 'analytical grade' ethanol (70%, overnight at 4°C; 95%, 20 minutes; 100%, 3 × 20 minutes), infiltrated in 100% Spurr's resin (overnight) and then embedded in Spurr's resin.

4.3. Histopathology

Neural tissue (cerebral, pleuropedal and buccal ganglia, branches of the pedal nerve and peripheral nerves) is the prime target and should be sampled, fixed (using 10% formalin) and processed using standard procedures, and stained with haematoxylin and eosin for histological examination.

Abalone affected with AVG demonstrate inflammation (increased infiltration by haemocytes) and necrosis confined to neural tissue (cerebral, pleuropedal and buccal ganglia, branches of the pedal nerve and peripheral nerves) as observed in histological sections of neural tissue stained with haematoxylin and eosin and examined by light microscopy (Chang & Handlinger, 2022; Ellard *et al.*, 2009; Hooper *et al.*, 2007).

4.4. Nucleic acid amplification

PCR assays should always be run with the controls specified in Section B.5.5 *Molecular methods* of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). An 18S rDNA real-time PCR can be used to validate nucleic acid extraction and integrity, and the absence of PCR inhibitors (Crane *et al.*, 2016). Each sample should be tested in duplicate.

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.4.1. Real-time PCR

Following validation of the real-time PCR test targeted to ORF49 (Corbeil *et al.*, 2010), the discovery of genotypic variants in Australia not recognised by this test necessitated other real-time PCR tests to be developed based on more conserved regions of the viral genome. Real-time PCR tests targeted to ORF49 and ORF66 have been used extensively in disease investigations and the accumulated data have been used in test validation (Caraguel *et al.*, 2019). For the detection of all genetic variants, the ORF49 and ORF66 real-time PCR tests should be run in parallel, and infection with AbHV can be confirmed by a positive result from either of the two tests. Each of these tests can be multiplexed with an 18S rDNA real-time PCR test, used to validate nucleic acid extraction and integrity, and the absence of PCR inhibitors (Crane *et al.*, 2016).

Primers and probes (sequences)

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Crane <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: MW412419.1			
AbHV ORF49	ORF49F1: AAC-CCA-CAC-CCA-ATT-TTT-GA ORF49R1: CCC-AAG-GCA-AGT-TTG-TTG-TT 49Prb1: 6FAM-CCG-CTT-TCA-ATC-TGA-TCC-GTG- G-TAMRA	300 nM 300 nM 100 nM	50 cycles of: 95°C/3 sec and 62°C/30 sec
Crane <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: MW412419.1			
AbHV ORF66	ORF66F1: TCC-CGG-ACA-CCA-GTA-AGA-AC ORF66R1: CAA-GGC-TGC-TAT-GCG-TAT-GA 66Prb1: 6FAM-TGG-CCG-TCG-AGA-TGT-CCA- TG-TAMRA	300 nM 300 nM 100 nM	50 cycles of: 95°C/3 sec and 60°C/30 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.2. Conventional PCR

Conventional PCR may also be used for detection of AbHV-1 in tissue samples. Nucleic acid is extracted as described above. The AbHV1617 PCR has been shown to generate amplicons of various length (522bp to 588bp) depending on the AbHV-1 isolate. Thus it is potentially useful for epidemiological studies and to confirm positive real-time PCR results (Crane *et al.*, 2016). A second PCR targeting the Taiwanese AbHV-1 DNA polymerase gene has also been developed (Chen *et al.*, 2012). The primer sequences for the two tests are detailed below.

Primer sequences

Pathogen/ target gene	Primer (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Crane <i>et al.</i> , 2016; GenBank Accession No.: MW412419.1 amplicon size: 522–588 bp (depending on genetic variant)			
AbHV	AbHV-16: GGC-TCG-TTC-GGT-CGT-AGA-ATG AbHV-17: TCA-GCG-TGT-ACA-GAT-CCA-TGT-C	360 nM 360 nM	40 cycles of: 94°C/30 sec and 52°C/30 sec
Method 2: Chen <i>et al.</i> , 2012; GenBank Accession No.: HQ317456; amplicon size: 606 bp			
AbHV	40f: TCC-ATC-GAG-ATT-CCC-AGT-TC 146r: ACG-CCA-CCC-TGT-ATA-ACG-AG	400 nM 400 nM	35 cycles of: 94°C/60 sec and 52°C/60 sec

^(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.4.3. Other nucleic acid amplification methods

A loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of AbHV-1 has been developed that is 100-fold more sensitive than conventional PCR (Chen *et al.*, 2014) but is not widely used because of false positive and false negative results.

4.5. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon should be verified, for example by agarose gel electrophoresis. Both DNA strands of the PCR product must be sequenced and analysed in comparison with reference sequences.

4.6. *In-situ* hybridisation

In-situ hybridisation localises AbHV-1-infected cells within the neural tissue which, on histological examination, demonstrates ganglioneuritis typified by an inflammatory change with increased cellularity involving mainly haemocytes and glial cells, and cell necrosis in the affected nerves (Mohammad *et al.*, 2011).

The *in-situ* hybridisation (ISH) procedure uses a digoxigenin (DIG)-labelled DNA probe to detect AbHV-1 in formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) tissue sections and is described in Crane *et al.* (2016).

4.7. Immunohistochemistry

Not applicable.

4.8. Bioassay

A bioassay is not normally required for routine diagnosis. However, when there is a suspect case due to the presence clinical signs and/or histopathology but molecular tests yield negative results, a bioassay (Corbeil *et al.*, 2012a) can be used for confirmation of the presence of a previously unknown genetic variant. Homogenised and clarified neural tissue is used as inoculum and injected (i.m.) into the foot of known uninfected susceptible abalone host species. The inoculated abalone are monitored for clinical signs such as loss of adhesion to the substrate and then samples taken for histology, molecular analyses and electron microscopy. If presence of a herpesvirus is confirmed by electron microscopy further investigation such as whole genome sequencing should be initiated.

4.9. Antibody- or antigen-based detection methods

None currently available.

4.10. Other methods

None.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

The real-time PCR assays targeting ORF49 and ORF66 performed in parallel is recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently health populations (Caraguel *et al.*, 2019).

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOAHP Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status⁹

⁹ For example transboundary commodities.

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link(s) to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with abalone herpesvirus shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by a real-time PCR
- ii) Histopathological changes consistent with the presence of the pathogen

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of Infection with abalone herpesvirus is considered to be confirmed if one of the following criteria are met:

- i) Positive results by real-time PCR and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon
- ii) Positive results by *in-situ* hybridisation and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon

6.2 Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however, they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with abalone herpesvirus shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Gross pathology or clinical signs associated with the disease as described in this chapter, with or without elevated mortality
- ii) Positive result by a real-time PCR
- iii) Positive result by conventional PCR
- iv) Histopathological changes consistent with the presence of the pathogen or the disease
- v) Positive result of a bioassay

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with abalone herpesvirus is considered to be confirmed if one of the following criteria are met:

- i) Positive results by real-time PCR and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon
- ii) Positive results by *in-situ* hybridisation and by conventional PCR followed by sequence analysis of the amplicon

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with abalone herpesvirus are provided in Tables 6.3.1. and 6.3.2. This information can be used for the design of surveys for infection with abalone herpesvirus, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented

where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
Real-time PCR	Diagnosis	Clinically diseased abalone from the wild and processing plants	Pleuropedal ganglion or pedal nerve cords	<i>Haliotis rubra</i>	100 (48)	100 (48)	Histopathology	Corbeil et al., 2010
Conventional PCR								
Histopathology								

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, PCR: = polymerase chain reaction.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
Real-time PCR	Surveillance	Naturally AbHV-1 infected wild and farmed populations; AbHV-1 free populations	Pleuropedal ganglion or pedal nerve cords	<i>Haliotis laevigata</i> ; <i>H. rubra</i> ; <i>H. laevigata</i> x <i>H. rubra</i> hybrids	90.1 (1452)	97.7 (1452)	Histopathology	Caraguel et al., 2019
Histopathology								

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, PCR: = polymerase chain reaction.

7. References

- BAI C.-M., LI Y.-N., CHANG P.-H., JIANG J.-Z., XIN L.-S., LI C., WANG J.-Y. & WANG C.-M. (2019a). Susceptibility of two abalone species, *Haliotis diversicolor supertexta* and *Haliotis discus hannai*, to *Haliotid herpesvirus 1* infection. *J. Invertebr. Pathol.*, **160**, 26-32.
- BAI C.-M., LI Y.-N., CHANG P.-H., JIANG J.-Z., XIN L.-S., LI C., WANG J.-Y. & WANG C.-M. (2020). *In situ* hybridization revealed wide distribution of *Haliotid herpesvirus 1* in infected small abalone, *Haliotis diversicolor supertexta*. *J. Invertebr. Pathol.*, **173**, 107356.
- BAI C.-M., ROSANI U., LI Y.-N., ZHANG S.-M., XIN L.-S. & WANG C.-M. (2019b). RNA-seq of HaV-1-infected abalones reveals a common transcriptional signature of Malacoherpesviruses. *Nature Sci. Rep.*, **9**, 938.
- CARAGUEL C.G.B., ELLARD K., MOODY N.J.G., CORBEIL S., WILLIAMS L.M., MOHR P.G., CUMMINS D.M., HOAD J., SLATER J. & CRANE M.ST.J. (2019). Diagnostic test accuracy when screening for *Haliotid herpesvirus 1* (AbHV) in apparently healthy populations of Australian abalone *Haliotis* spp. *Dis. Aquat. Org.*, **136**, 199-207.
- CHANG P.H. & HANDLINGER J. (2022). ABALONE HERPESVIRUS. In: *Aquaculture Pathophysiology, Vol. II. Crustacean and Mollusks Diseases*, (K.S.B. Kibenge, R.S.-M. Chong, B. Baldisserotto (eds.)), Pp. 451-459. Academic Press, Elsevier.
- CHANG P.H., KUO S.T., LAI S.H., YANG H.S., TING Y.Y., HSU C.L. & CHEN H.C. (2005). Herpes-like virus infection causing mortality of cultured abalone *Haliotis diversicolor supertexta* in Taiwan. *Dis. Aquat. Org.*, **65**, 23-27.

-
- CHEN M.H., KUO S.T., RENAULT T., FRIEDMAN C.S. & CHANG P.H. (2012). Development of a polymerase chain reaction for the detection of abalone herpesvirus infection based on the DNA polymerase gene. *J. Virol. Meths.*, **185**, 1-6.
- CHEN M.H., KUO S.T., RENAULT T. & CHANG P.H. (2014). The development of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and sensitive detection of abalone herpesvirus DNA. *J. Virol. Meths.*, **196**, 199-2013.
- CORBEIL S. (2020). Abalone Viral Ganglioneuritis. *Pathogens*, **9**, 720.
- CORBEIL S., COLLING A., WILLIAMS L.M., WONG F.Y.K., SAVIN K., WARNER S., MURDOCH B., COGAN N.O.I., SAWBRIDGE T.I., FEGAN M., MOHAMMAD I., SUNARTO A., HANDLINGER J., PYECROFT S., DOUGLAS M., CHANG P.H. & CRANE M.ST.J. (2010). Development and validation of a TaqMan® PCR assay for the Australian abalone herpes-like virus. *Dis. Aquat. Org.*, **92**, 1-10.
- CORBEIL S., MCCOLL K.A., WILLIAMS L.M., MOHAMMADI., HYATT A.D., CRAMER S.G., FEGAN M. & CRANE M.ST.J. (2012a). Abalone viral ganglioneuritis: Establishment and use of an experimental immersion challenge system for the study of abalone herpesvirus infections in Australian abalone. *Virus Res.*, **165**, 207-213.
- CORBEIL S., MCCOLL K.A., WILLIAMS L.M., SLATER J. & CRANE M.ST.J. (2017). Innate resistance of New Zealand pāua to abalone viral ganglioneuritis. *J. Invertebr. Pathol.*, **146**, 31-35.
- CORBEIL S., WILLIAMS L.M., BERGFELD J. & CRANE M.ST.J. (2012b). Abalone herpes virus stability in sea water and susceptibility to chemical disinfectants. *Aquaculture*, **326-329**, 20-26.
- CORBEIL S., WILLIAMS L.M., MCCOLL K.A. & CRANE M.ST.J. (2016). Australian abalone (*Haliotis laevigata*, *H. rubra* and *H. conicopora*) are susceptible to infection by multiple abalone herpesvirus genotypes. *Dis. Aquat. Org.*, **119**, 101-106.
- COWLEY J.A., CORBEIL S., BULACH D., MOODY N.J., ELLARD K., FEGAN M., SAVIN K., WARNER S. & CRANE M.ST.J. (2012). Complete genome sequences of abalone herpes virus (AbHV) strains from Victoria and Tasmania provide insights into its origins and identity variations useful for epidemiology. In: 8th International Abalone Symposium Hobart, Tasmania, Australia, 6-11 May 2012.
- CRANE M.ST.J., CORBEIL S., FEGAN M. & WARNER S. (2009). Aquatic Animal Health Subprogram: Development of molecular diagnostic procedures for the detection and identification of herpes-like virus of abalone (*Haliotis* spp.). ISBN 978 0 643 09835 0. 79 pp.
- CRANE M.ST.J., MCCOLL K.A., COWLEY J.A., ELLARD K., SAVIN K.W., CORBEIL S., MOODY N.J.G., FEGAN M. & WARNER S. (2016). Abalone Herpesvirus In: Molecular Detection of Animal Viral Pathogens (D. Liu (ed.)) Pp 807-815. CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton, USA.
- 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.
- ELLARD K., PYECROFT S., HANDLINGER J. & ANDREWARTHA R. (2009). Findings of disease investigations following the recent detection of AVG in Tasmania. Proceedings of the Fourth National FRDC Aquatic Animal Health Scientific Conference, Cairns, Australia, 22-24 July 2009.
- GU L., QI R.-J., YANG R., HAN T., JIANG J.-Z. & WANG J.-Y. (2019). The prevalence of abalone herpesvirus in two *Haliotis* species in South China during 2002-2013. *Aquaculture*, **505**, 18-29.
- HOOPER C., HARDY-SMITH P. & HANDLINGER J. (2007). Ganglioneuritis causing high mortalities in farmed Australian abalone (*Haliotis laevigata* and *Haliotis rubra*). *Aus. Vet. J.*, **85**, 188-193.
- INTERNATIONAL COMMITTEE OF TAXONOMY ON VIRUSES (ICTV) (2022). *Abolish 6 species and rename 1 family, 4 genera and 124 species in the order Herpesvirales.* <https://ictv.global/filebrowser/download/11652>
- 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.
-

MOHAMMAD I.M., WARNER S., KVALHEIM N., CRANE M.STJ. & FEGAN M. (2011) Development of an *in situ* hybridisation assay for the detection and identification of the abalone herpes-like virus. Proceedings of the First FRDC Australasian Scientific Conference on Aquatic Animal Health, Cairns, Australia, 5–8 July 2011.

SAVIN K.W., COCKS B.G., WONG F., SAWBRIDGE T., COGAN N., SAVAGE D. & WARNER S. (2010). A neurotropic herpesvirus infecting the gastropod, abalone, shares ancestry with oyster herpesvirus and a herpesvirus associated with the amphioxus genome. *Virology*, **7**, 308. <http://www.virology.com/content/7/1/308>.

TAN J., LANCASTER M., HYATT A., VAN DRIEL R., WONG F. & WARNER S. (2008). Purification of a herpes-like virus from abalone (*Haliotis* spp.) with ganglioneuritis and detection by transmission electron microscopy. *J. Virol. Methods*, **149**, 338–341.

WANG J., GUO Z., FENG J., LIU G., XU L., CHEN B. & PAN J. (2004). Virus infection in cultured abalone, *Haliotis diversicolor* Reeve in Guangdong Province, China. *J. Shellfish Res.*, **23**, 1163–1168.

WEI H.Y., HUANG S., YAO T., GAO F., JIANG J.Z. & WANG J.Y. (2018). Detection of viruses in abalone tissue using metagenomics technology. *Aquaculture Res.*, **49**, 2704–2713. doi:10.1111/are.13731.

WU F.C. & ZHANG G.F. (2016). Pacific Abalone Farming in China: Recent Innovations and Challenges. *J. Shellfish. Res.*, **35**, 703–710.

*
* *

NB: There is a WOA Reference Laboratory for infection with abalone herpesvirus
(please consult the WOA web site:

<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact WOA Reference Laboratories for any further information on infection with abalone herpesvirus

NB: FIRST ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.4.4.

INFECTION WITH *MARTEILIA REFRINGENS*

1. Scope

Infection with *Marteilia refringens* means infection with the pathogenic agent *M. refringens* (including O and M types) of the Family *Marteiliidae*.

2. Disease information

2.1. Agent factors

2.1.1. Aetiological agent

Marteilia refringens is a protozoan parasite of the Family *Marteiliidae* (Cavalier-Smith & Chao, 2003; Feist et al., 2009) infecting the digestive system of several bivalve species and inducing physiological disorders and eventual death of the animal (Alderman, 1979; Grizel et al., 1974). Two types of *M. refringens* (Grizel et al., 1974), types O and M, were defined by Le Roux et al. (2001). Although more recent results suggest that *M. refringens* should be distinguished from *M. pararefringens* (previously *M. maurini* or *M. refringens* type M) (Kerr et al., 2018), a larger set of samples is required to properly define both species and most available data in the literature do not allow differentiation of *M. refringens* type O (= *M. refringens* in Kerr et al., 2018) or *M. refringens* type M (= *M. pararefringens* in Kerr et al., 2018) to be made.

2.1.2. Survival and stability in processed or stored samples

No information available

2.1.3. Survival and stability outside the host

After its release from the European flat oyster (*Ostrea edulis*), *M. refringens* can survive at least 20 days in seawater and faeces. Parasite survival seems improved in faeces compared with seawater (Mérrou et al., 2022).

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *Marteilia refringens* according to Chapter 1.5. of the *Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code)* are: blue mussel (*Mytilus edulis*), dwarf oyster (*Ostrea stentina*), European flat oyster (*Ostrea edulis*), European razor clam (*Solen marginatus*), golden mussel (*Xenostrobus securis*), Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) and striped venus clam (*Chamelea gallina*). Additionally, a copepod species (*Paracartia grani*) has been found to meet the criteria for listing as susceptible to infection with *M. refringens* and is considered an intermediate host.

2.2.2. Species with incomplete evidence for susceptibility

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *M. refringens* according to Chapter 1.5 of the *Aquatic Code* are: Chilean flat oyster (*Ostrea chilensis*), a copepod (*Paracartia latisetosa*) and Japanese flat oyster (*Ostrea denselamellosa*). In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but no active infection has been demonstrated: Cortez oyster (*Crassostrea corteziensis*), grooved carpet shell

(*Ruditapes decussatus*), Pacific cupped oyster (*Magallana* [syn. *Crassostrea*] *gigas*) and zooplankton (*Acartia discaudata*, *Centropages typicus*, *Euterpina acutifrons*, unidentified *Oithona* sp., *Penilia avirostris*).

2.2.3. Likelihood of infection by species, host life stage, population or sub-populations

Marteilia refringens usually causes clinical infection in the European flat oyster, *O. edulis* (Berthe et al., 2004; Grizel et al., 1974). In flat oysters and mussels, prevalence and infection intensity are generally higher in individuals 2 years old or older (Audemard et al., 2001; Villalba et al., 1993b).

2.2.4. Distribution of the pathogen in the host

Marteilia refringens infects the digestive tract. Young plasmodia are mainly found in the epithelium of labial palps, oesophagus and the stomach (Grizel et al., 1974). Sporulation takes place in the digestive gland tubules and ducts. Propagules are released into the lumen of the digestive tract and shed into the environment in faeces (Audemard et al., 2002; Berthe et al., 2004; Mérou et al., 2022).

2.2.5. Aquatic animal reservoirs of infection

Infected flat oysters, *O. edulis*, and mussels, *Mytilus edulis* and *M. galloprovincialis*, might not exhibit clinical signs or mortality, however they can release parasite sporangiospores (Arzul et al., 2014; Mérou et al., 2023).

2.2.6. Vectors

None known.

2.3. Disease pattern

2.3.1. Mortality, morbidity and prevalence

Infection is lethal for oysters: a 50–90% mortality rate is usually reported during summer and autumn and is associated with sporulation of the parasite (Grizel, 1985; Grizel et al., 1974). Similarly, morbidity is higher during warmer periods. Mussels are less affected by infection but mortalities up to 40% were reported in impacted areas (Berthe et al., 2004; Villalba et al., 1993b) and naïve mussels presented 100% mortality after being cultured for 6 months in an infected area (Thébault et al., 1999).

Prevalence is highly variable – up to 98% in *O. edulis*. Higher prevalence is expected depending on farming practices and in areas where potential hosts have had more than 1 year of exposure to infection (Berthe et al., 2004; Grizel, 1985). Prevalence usually peaks in summer whereas the parasite is usually absent or found at lower infection intensity in winter and early spring (Audemard et al., 2001; Mérou et al., 2023). An additional prevalence peak in spring has been reported in several studies (Arzul et al., 2014; Boyer et al., 2013; Carrasco et al., 2007; Mérou et al., 2023).

2.3.2. Clinical signs, including behavioural changes

Clinical signs include dead or gaping molluscs (Grizel, 1985; Grizel et al., 1974) but are not specific for infection with *M. refringens* and could be indicative of other infections.

2.3.3. Gross pathology

Pale digestive gland, thin watery flesh, mantle retraction and reduced growth rate were reported for infected flat oysters (Berthe et al., 2004; Grizel, 1985; Grizel et al., 1974), although these gross signs are not specific for infection with *M. refringens*. Reduced growth rate and inhibition of gonad development were reported for infected mussels (Villalba et al., 1993a).

2.3.4. Modes of transmission and life cycle

Horizontal transmission of *M. refringens* occurs, probably via an intermediate host (Audemard et al., 2002; Carrasco et al., 2008b). The parasite could be experimentally transmitted from *O. edulis* and *M. galloprovincialis* to the copepod *Paracartia grani* (Audemard et al., 2002; Carrasco et al., 2008b). Transmission from *P. grani* to *O. edulis* or *M. galloprovincialis* has not been demonstrated experimentally

(Audemard *et al.*, 2002; Carrasco *et al.*, 2008b). In oysters, the early stages of disease occur in the oesophagus, stomach, palps and even gill epithelia. It is thought that initial infection occurs via feeding currents. In mussels, the early stages have been observed in the epithelium of the gills, mantle, stomach and primary digestive tubules (Carrasco *et al.*, 2008a).

The life cycle of *M. refringens* is suspected to be indirect and may include *P. grani* (Audemard *et al.*, 2001; 2002), at least in pond systems. Other species (see Sections 2.2.5 and 2.2.6) might be involved as reservoirs or vectors in the *M. refringens* life cycle but their role has not been demonstrated).

The detection of *M. refringens* DNA in plankton, particularly nanoplankton, and in the benthos, suggests their involvement in the parasite life-cycle including transmission and storage or possible overwintering, respectively (Mérou *et al.*, 2023).

2.3.5. Environmental factors

The threshold temperature for parasite sporulation and transmission is 17°C. This temperature is common in estuaries or bays where prevalence is usually higher in the upper parts of the water column (Audemard *et al.*, 2001; Berthe *et al.*, 2004; Carrasco *et al.*, 2007; Grizel, 1985). Infection with *M. refringens* is seldom observed in open sea waters (Grizel, 1985). High salinity and water renewal could be detrimental to *M. refringens* development and transmission, although these parameters appear to be less significant than temperature (Audemard *et al.*, 2001).

Parasite DNA detection in pelagic compartments was found higher when temperature, salinity and chlorophyll-a were higher (Mérou *et al.*, 2023).

2.3.6. Geographical distribution

Reported in Europe and North Africa.

See WAHIS (<https://wahis.woah.org/#/home>) for recent information on distribution at the country level.

2.4. Biosecurity and disease control strategies

2.4.1. Vaccination

None.

2.4.2. Chemotherapy including blocking agents

None.

2.4.3. Immunostimulation

None.

2.4.4. Breeding resistant strains

None.

2.4.5. Inactivation methods

No data available.

2.4.6. Disinfection of eggs and larvae

No data available.

2.4.7. General husbandry

Stocking at low density or in association with resistant mollusc species, such as *Crassostrea gigas*, has been shown to be effective (Grizel, 1985). Stocking bivalves in deep zones exposed to currents seems to limit the

transmission of the parasite. Considering the possible presence of the parasite in the sediment (Mérout *et al.*, 2023), maintaining bivalves at distance from the bottom should limit the number of infected animals.

3. Specimen selection, sample collection, transportation and handling

This section draws on information in Sections 2.2, 2.3 and 2.4 to identify populations, individuals and samples that are most likely to be infected.

3.1. Selection of populations and individual specimens

Gaping or freshly dead individuals (2 or more years old) of species referred to in Section 2.2.1., should be sampled preferentially, to increase the chances of finding infected bivalves. For histology, only live (including moribund) bivalves should be sampled.

Sampling of bivalves should be organised when prevalence is known to be at a maximum. When such data are not available in a particular ecosystem, sampling should preferably be carried out when temperature reaches the yearly maximum (Audemard *et al.*, 2001; Carrasco *et al.*, 2007).

3.2. Selection of organs or tissues

A 3–5 mm thick section of tissues including gills and digestive mass is used for diagnosis of *M. refringens* infection by histology and PCR. A piece of digestive gland is preferred for imprints.

3.3. Samples or tissues not suitable for pathogen detection

Tissues other than gills and digestive mass are not suitable.

3.4. Non-lethal sampling

Examination of fresh samples of faeces collected from potentially infected bivalves using light microscopy is possible although this approach has not been validated (See Section 4.1)

3.5. Preservation of samples for submission

For guidance on sample preservation methods for the intended test methods, see Chapter 2.4.0 *General information (diseases of molluscs)*.

3.5.1. Samples for pathogen isolation

The success of pathogen isolation and results of bioassay depend strongly on the quality of samples (time since collection and time in storage). Fresh specimens should be kept on ice and preferably sent to the laboratory within 24 hours of collection. To avoid degradation of samples, use alternative storage methods only after consultation with the receiving laboratory.

3.5.2. Preservation of samples for molecular detection

Tissue samples for PCR testing should be preserved in 80% (v/v) analytical-grade ethanol. The recommended ratio of ethanol to tissue is 10:1 based on studies in terrestrial animal and human health. The use of lower grade (laboratory or industrial grade) ethanol is not recommended. If material cannot be fixed it may be frozen.

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.5 of Chapter 2.4.0 *General information (diseases of molluscs)*.

3.5.3. Samples for histopathology, immunohistochemistry or *in-situ* hybridisation

Standard sample collection, preservation and processing methods for histological techniques can be found in Section B.5.3 of Chapter 2.4.0 *General information (diseases of molluscs)*.

3.5.4. Samples for other tests

None.

3.6. Pooling of samples

Pooling of samples from more than one individual animal for a given purpose is only recommended where robust supporting data on diagnostic sensitivity and diagnostic specificity have been evaluated and found to be suitable. If the effect of pooling on diagnostic sensitivity has not been thoroughly evaluated, larger specimens should be processed and tested individually. Small life stages such as spat can be pooled to obtain the minimum amount of material for molecular detection.

Performances of diagnostic methods applied on pools have not been evaluated.

4. Diagnostic methods

The methods currently available for pathogen detection that can be used in i) surveillance of apparently healthy animals, ii) presumptive diagnosis in clinically affected animals and iii) confirmatory diagnostic purposes are listed in Table 4.1. by animal life stage.

Ratings for purposes of use. For each recommended assay a qualitative rating for the purpose of use is provided. The ratings are determined based on multiple performance and operational factors relevant to application of an assay for a defined purpose. These factors include appropriate diagnostic performance characteristics, level of assay validation, availability cost, timeliness, and sample throughput and operability. For a specific purpose of use, assays are rated as:

- +++ = Methods are most suitable with desirable performance and operational characteristics.
- ++ = Methods are suitable with acceptable performance and operational characteristics under most circumstances.
- + = Methods are suitable, but performance or operational characteristics may limit application under some circumstances.

Shaded boxes = Not appropriate for this purpose.

Validation stage. The validation stage corresponds to the assay development and validation pathway in chapter 1.1.2. The validation stage is specific to each purpose of use. Where available, information on the diagnostic performance of recommended assays is provided in Section 6.3.

WOAH Reference Laboratories welcome feedback on diagnostic performance of recommended assays, in particular PCR methods. Of particular interest are any factors affecting expected assay sensitivity (e.g. tissue components inhibiting amplification) or expected specificity (e.g. failure to detect particular genotypes, detection of homologous sequences within the host genome). These issues should be communicated to the WOAH Reference Laboratories so that advice can be provided to diagnostic laboratories and the standards amended if necessary.

Table 4.1. WOAH recommended diagnostic methods and their level of validation for surveillance of apparently healthy animals and investigation of clinically affected animals

Method	G. Surveillance of apparently healthy animals				H. Presumptive diagnosis of clinically affected animals				I. Confirmatory diagnosis ¹ of a suspect result from surveillance or presumptive diagnosis			
	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV	Early life stages ²	Juveniles ²	Adults	LV
Wet mounts						+	+	NA				
Tissue imprints		++	++	NA		+++	+++	NA				
Histopathology		++	++	2		+++	+++	NA				
Transmission electron microscopy									+	++	++	NA
Real-time PCR	+++	+++	+++	3	+++	+++	+++	NA	+++	+++	+++	NA
Conventional PCR	++	++	++	2	+++	+++	+++	NA				
Conventional PCR followed by amplicon sequencing									+++	+++	+++	NA
<i>In-situ</i> hybridisation									+	+++	+++	NA
Bioassay												
LAMP												
Ab-ELISA												
Ag-ELISA												
Other antigen detection methods ³												
Other methods ³												

LV = level of validation, refers to the stage of validation in the WOAH Pathway (chapter 1.1.2); PCR = polymerase chain reaction; LAMP = loop-mediated isothermal amplification; Ab- or Ag-ELISA = antibody or antigen enzyme-linked immunosorbent assay, respectively; IFAT = indirect fluorescent antibody test.

¹For confirmatory diagnoses, methods need to be carried out in combination (see Section 6). ²Susceptibility of early and juvenile life stages is described in Section 2.2.3.

³Specify the test used. Shading indicates the test is inappropriate or should not be used for this purpose.

4.1. Wet mounts

Samples to be taken consist of gaping oysters/mussels or freshly dead oysters/mussels.

Squash a piece of digestive gland on a glass slide. Observations are then made at ×400 magnification and can potentially show refringent granules in mature sporangia.

Marteilia species are indicated by the presence of large (9–30 µm) spherical bodies containing thick wall structures.

4.2. Imprints

In moderate and advanced infections, digestive gland imprints are prepared.

Samples to be taken consist of fresh, gaping, or freshly dead bivalves.

After drying tissues on absorbent paper, several imprints are made on a glass slide. Slides are air-dried, fixed and stained using a commercially available blood-staining kit, in accordance with the manufacturer's instructions; fixation can be done using methanol or absolute ethanol. After rinsing in tap water and drying, the slides are mounted with a cover-slip using an appropriate synthetic resin. Slides are observed first at ×200 magnification and then under oil immersion at ×1000 magnification.

The observation of cells with a range in size of 5–8 µm diameter in the early stages of development and up to 30–40 µm during sporulation, may indicate infection with *Marteilia refringens*. The cytoplasm stains basophilic, whereas the nucleus stains eosinophilic. Pale halos around large, strongly stained (refringent) granules and, in larger cells, cell-within-cell arrangements are observed. In advanced stages, eight secondary cells can be observed in the primary cells and four spores in each secondary cell (Berthe *et al.*, 2000; 2004; Grizel *et al.*, 1974).

4.3. Histopathology

Samples to be taken consist of live or moribund bivalves.

Sections of tissues that include gills, digestive gland, mantle and gonad should be fixed for a minimum of 24 hours in a recommended fixative followed by standard processing for histology as described in section 5.3 of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). Observations are made at increasing magnifications up to ×1000.

Specificity and sensitivity: values of diagnostic sensitivity and specificity for histology were estimated at 70% and 99%, respectively (Thébault *et al.*, 2005).

The observation of cells ranging in size from 4 to 40 µm may be indicative of infection with *Marteilia refringens*. Young stages (uninucleated primary cells) are mainly found in the apical part of the epithelium of labial palps, stomach and sometimes in the digestive tubules. Sporulation involves divisions of cells within cells and generally takes place in the digestive gland tubules and ducts. Refringent granules appear during sporulation but are not observed in early stages. The cytoplasm stains basophilic, whereas the nucleus stains eosinophilic. The granules can range from deep orange to deep red; *M. refringens* can sometimes be observed in other organs including gill and mantle connective tissues (Carrasco *et al.*, 2015; Grizel *et al.*, 1974).

Marteilia refringens is slightly different from other *Marteilia* species including *M. sydneyi* or *M. octospora*. Recognition criteria are mainly based on the number of secondary and tertiary cells (respectively 8 and 4 for *M. refringens*). Although *M. christenseni* and *Eomarteilia granula* display the same number of secondary and tertiary cells as *M. refringens*, they infect different host species in different geographic zones.

4.4. Transmission electron microscopy

A small-sized piece of digestive gland (1–2 mm) should be fixed in an appropriate fixative for at least 1 hour and then processed as described in Section B.5.4 *Transmission electron microscopy methods* of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs).

The presence of parasites within the epithelia of the digestive gland or the stomach may be indicative of infection with *Marteilia refringens*. Different parasite stages can be observed (Grizel *et al.*, 1974; Longshaw *et al.*, 2001). The first stage (= primary cell) is uninucleated but is often observed presenting a single secondary cell within it. Secondary cells result from a series of divisions within the primary cells and include eight presporangia. These presporangia (=secondary cells) divide and contain four-spore primordia (= tertiary cells). Spore primordia cleave internally to produce mature spores. Mature spores consist of three sporoplasms, one inside the other, the outermost one containing haplosporosomes.

4.5. Nucleic acid amplification

Samples to be taken consist of tissues of digestive gland and gills from live or freshly dead molluscs.

PCR assays should always include the controls specified in Section B.5.5 *Molecular methods* of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). Molluscs are known to potentially contain substances that can inhibit PCR reactions. It is recommended to check for the presence of PCR inhibitors in DNA extracts to avoid false negative results. In case PCR inhibitors are present, DNA samples can be diluted prior to PCR analyses (a 1/10 dilution resolves most cases of PCR inhibition).

Extraction of nucleic acids

Different kits and procedures can be used for nucleic acid extraction. The quality and concentration of the extracted nucleic acid is important and can be checked using a suitable method as appropriate to the circumstances.

4.5.1. Real-time PCR

Two multiplex real-time PCR assays targeting the ITS (internal transcribed spacer) gene have been developed for the specific detection and discrimination of *M. refringens* type O and type M (Carrasco *et al.*, 2017; EURL, 2023).

Additionally, a multiplex real-time PCR assay targeting the 18S gene allows the concomitant detection of *M. refringens* and *Bonamia* spp. parasites (Canier *et al.*, 2020). However, validation tests showed that this PCR assay is less specific and also amplifies *M. cochillia* and to a lesser extent *M. sydneyi*.

Primers and probes (sequences)

Pathogen/ target gene	Primer/probe (5'–3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Carrasco <i>et al.</i> (2017); GenBank Accession No.: MH304865.1			
<i>M. refringens</i> types O and M	Fwd Mare-F: YCA-GGC-GAG-TGC-TCT-CGT-T Rev Mare-R: TGA-TCT-GAT-ATT-ATT-CAG-CTG-TTC-GA	400 nM 400 nM	50 cycles of: 95°C/3 sec and 60°C/30 sec
ITS	Probe Mare-O: CCT-TTC-CCC-GAC-GGC (VIC MGB-NFQ) Probe MareM: GCT-TGC-CCT-ACG-GCC (FAM MGB-NFQ)	80 nM 80 nM	
Method 2: EURL (2023); GenBank Accession No.: MH304863.1			
<i>M. refringens</i> types O and M	Fwd TaqMar-F: GTG-TTC-GGC-ACG-GGT-AGT Rev TaqMar-R: TGA-TCT-GAT-ATT-ATT-CAG-CTG-TTC-G	100 nM 300 nM	40 cycles of: 95°C/30 sec and 60°C/1 min
ITS			

	TaqProb-O: GCC-CTT-TCC-CCG-ACG-GCC-G (FAM-BHQ-1) TaqProb-M: GCG-CTT-GCC-CTA-CGG-CCG-TGC (HEX-BHQ-1)	250 nM 250 nM	
Method 3: Canier et al. (2020); GenBank Accession No.: MH342044.1			
<i>M. refringens</i> Also amplifies <i>M. cochillia</i> and <i>M. sydneyi</i> 18S	Fwd Mar_18S_F: ACG-ATC-AAA-GTG-AGC-TCG-TG Rev Mar_18S_R: CAG-TTC-CCT-CAC-CCC-TGA-T Probe Mar_18S_IN: GCA-TGG-AAT-CGT-GGA-ACG-GG (FAM-BHQ-1)	400 nM 400 nM 300 nM	40 cycles of: 95°C/15 sec and 60°C/1 min

(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.5.2. Conventional PCR

PCR primers are available that target the ITS1 (internal transcribed spacer) region (Le Roux et al., 2001), 18S gene (Le Roux et al., 1999) and the IGS (rDNA intergenic spacer) region (López-Flores et al., 2004).

Primer sequences

Pathogen/ target gene	Primer (5'-3')	Concentration	Cycling parameters ^(a)
Method 1: Le Roux et al. (2001); GenBank Accession No.: MH329403.1; amplicon size 412 bp			
<i>M. refringens</i> types M and O Also amplifies <i>M. cochillia</i> ITS-1	Fwd Pr4 (M2A): CCG-CAC-ACG-TTC-TTC-ACT-CC Rev Pr5 (M3AS): CTC-GCG-AGT-TTC-GAC-AGA-CG	1000 nM 1000 nM	30 cycles of: 95°C/1 min and 55°C/1 min and 72°/1 min
Method 2: Lopez-Flores et al. (2004) (nested PCR) ; GenBank Accession No.: MH356753.1; amplicon size [525bp & 358 bp]			
<i>M. refringens</i> types M and O Also amplifies <i>M. cochillia</i> and possibly other species IGS	PCR1 Fwd MT1: GCC-AAA-GAC-ACG-CCT-CTA-C Rev MT2: AGC-CTT-GAT-CAC-ACG-CTTT PCR2 Fwd MT-1B: CGC-CAC-TAC-GAC-CGT-AGC-CT Rev MT-2B: CGA-TCG-AGT-AAG-TGC-ATG-CA	1000 nM 1000 nM 1000 nM 1000 nM	PCR 1 130 cycles of: 95°C/1 min and 55°C/1 min and 72°/1 min PCR2 25 cycles of: 95°C/30 sec and 60°C/30 sec and 72°/30 sec
Method 3: Le Roux et al. (1999); GenBank Accession No.: MH342044.1; amplicon size [266bp or 700 bp]			
<i>Marteilia</i> spp. amplifies <i>M. refringens</i> types M and O, <i>M. cochillia</i> , and possibly other species 18S	Fwd SS2: CCG-GTG-CCA-GGT-ATA-TCT-CG (Rev SAS1: TTC-GGG-TGG-TCT-TGA-AAG-GC) Or Rev SAS2: CGA-ACG-CAA-ATT-GCG-CAG-GG	1000 nM 1000 nM 1000 nM	30 cycles of: 95°C/1 min and 55°C/1 min and 72°/1 min
Note: according to the alignment of available sequences Rev SAS1 primer sequence should be: TTC-GG-TGG-TCT-TGA-AAG-GC			

(a)A denaturation step prior to cycling has not been included.

4.5.3. Other nucleic acid amplification methods

A loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of *M. refringens* has been developed, but is not validated (Xie *et al.*, 2012).

4.6. Amplicon sequencing

The size of the PCR amplicon is verified by agarose gel electrophoresis and purified by excision from this gel for sequence analysis. Obtained sequences are compared with published sequences.

Sequencing is recommended as one of the final steps for confirmatory diagnostic. Targeted regions are the SSU rDNA (except 18S PCR SS2/SAS1), ITS1 and IGS (intergenic spacer). Although sequences are available in the public gene banks, it is recommended to refer such cases to the appropriate WOA Reference Laboratory.

4.7. *In-situ* hybridisation

Le Roux *et al.* (1999) developed an ISH genus-specific method targeting the 18S gene. This method allows the detection of all currently known *Marteilia* species. It has been validated against histology for the detection of *M. refringens* (Thébault *et al.*, 2005).

Two other ISH assays have been developed, one targeting the ITS1 (internal transcribed spacer) region (Le Roux *et al.*, 2001) and the other targeting the IGS (intergenic spacer) region (Lopez-Flores *et al.*, 2008a; 2008b). These assays allow the detection of *M. refringens* type O and type M.

Samples to be taken consist of live or gaping molluscs.

Technical procedure:

Reference	Pathogen/target gene	ISH probe	Probe size
Le Roux <i>et al.</i> (1999)	<i>Marteilia</i> sp. 18S	Digoxigenin-labelled PCR product obtained with SS2/SAS1 primers	266 bp
Le Roux <i>et al.</i> (2001)	<i>M. refringens</i> types M and O ITS1	Digoxigenin-labelled PCR product obtained with Pr4/Pr5 primers	412 bp
Lopez-Flores <i>et al.</i> (2004)	<i>M. refringens</i> types M and O IGS	Digoxigenin-labelled PCR product obtained with MT-1B/MT-2B primers	358 bp

The first steps follow the recommendations described in Section B.5.5.4. of Chapter 2.4.0 *General information* (diseases of molluscs). For hybridisation, sections are incubated with 100 µl of hybridisation buffer (4 × SSC [standard saline citrate], 50% formamide, 1 × Denhardt's solution, 250 µg ml⁻¹ yeast tRNA, 10% dextran sulphate) containing approx. 10 ng (2 to 5 µl µl of digoxigenin-labelled probe prepared by conventional PCR as described above (section 4.5.2; Le Roux *et al.*, 1999; 2001, Lopez-Flores *et al.*, 2004; 2008a; 2008b). Sections are covered with *in-situ* plastic cover-slips and placed on a heating block at 94°C for 5 minutes. Slides are then cooled on ice for 1 to 5 minutes before overnight hybridisation at 42°C in a humid chamber. Sections are washed twice for 5 minutes in 2 × SSC at room temperature, and once for 10 minutes in 0.4 × SSC at 42°C. The detection steps are performed according to the manufacturer's instructions. The slides are then rinsed with appropriate buffer. The sections are counter-stained with Bismarck Brown Yellow, rinsed in tap water, immersed in 95% and then 100% ethanol, 30 seconds for each, rinsed in Xylene (10–30 seconds), and cover-slips are applied using an appropriate mounting medium.

Positive/negative controls: inclusion of the following controls is compulsory. 1) Infected host positive control; 2) non-specific ISH (18S) on samples as an internal positive control. 3) No probe ISH negative control; 4) Uninfected host negative control. Positive controls are available on request from the WOA Reference Laboratory.

4.8. Immunohistochemistry

Not available.

4.9. Bioassay

Not available.

4.10. Antibody- or antigen-based detection methods (ELISA, etc.)

Not currently available or used for diagnostic purposes but monoclonal antibodies have been developed (Berthe et al., 2004). These antibodies did not cross-react with *M. sydneyi*.

4.11. Other methods

None available.

5. Test(s) recommended for surveillance to demonstrate freedom in apparently healthy populations

Real-time PCR is recommended for targeted surveillance to declare freedom from infection with *M. refringens*.

6. Corroborative diagnostic criteria

This section only addresses the diagnostic test results for detection of infection in the absence (Section 6.1.) or in the presence of clinical signs (Section 6.2.) but does not evaluate whether the infectious agent is the cause of the clinical event.

The case definitions for a suspect and confirmed case have been developed to support decision making related to trade and confirmation of disease status at the country, zone or compartment level. Case definitions for disease confirmation in endemically affected areas may be less stringent. If a Competent Authority does not have the capability to undertake the necessary diagnostic tests it should seek advice from the appropriate WOA Reference Laboratory, and if necessary, refer samples to that laboratory for confirmatory testing of samples from the index case in a country, zone or compartment considered free.

6.1. Apparently healthy animals or animals of unknown health status¹⁰

Apparently healthy populations may fall under suspicion, and therefore be sampled, if there is an epidemiological link to an infected population. Hydrographical proximity to, or movement of animals or animal products or equipment, etc., from a known infected population, equate to an epidemiological link. Alternatively, healthy populations are sampled in surveys to demonstrate disease freedom.

6.1.1. Definition of suspect case in apparently healthy animals

The presence of infection with *M. refringens* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by a recommended molecular detection test
- ii) Visual observation of the pathogen by microscopy

6.1.2. Definition of confirmed case in apparently healthy animals

The presence of infection with *M. refringens* is considered to be confirmed if the following criterion is met:

¹⁰ For example transboundary commodities.

- i) positive result by real-time PCR and conventional PCR followed by sequence analysis

6.2 Clinically affected animals

Clinical signs are not pathognomonic for a single disease; however they may narrow the range of possible diagnoses.

6.2.1. Definition of suspect case in clinically affected animals

The presence of infection with *M. refringens* shall be suspected if at least one of the following criteria is met:

- i) Positive result by wet mounts
- ii) Positive result by tissue imprints
- iii) Positive result by histopathology
- iv) Positive result by real-time PCR
- v) Positive result by conventional PCR

6.2.2. Definition of confirmed case in clinically affected animals

The presence of infection with *M. refringens* is considered to be confirmed if at least one of the following criteria is met:

- i) positive result by real-time-PCR and conventional PCR followed by sequence analysis
- ii) positive result by species-specific ISH and conventional PCR followed by sequence analysis
- iii) Positive result of real-time PCR followed by species-specific ISH

6.3. Diagnostic sensitivity and specificity for diagnostic tests

The diagnostic performance of tests recommended for surveillance or diagnosis of infection with *M. refringens* are provided in Tables 6.3.1. (no data are currently available) and 6.3.2. This information can be used for the design of surveys for infection with *M. refringens*, however, it should be noted that diagnostic performance is specific to the circumstances of each diagnostic accuracy study (including the test purpose, source population, tissue sample types and host species) and diagnostic performance may vary under different conditions. Data are only presented where tests are validated to at least level 2 of the validation pathway described in Chapter 1.1.2. and the information is available within published diagnostic accuracy studies.

6.3.1. For presumptive diagnosis of clinically affected animals [under study]

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study.

6.3.2. For surveillance of apparently healthy animals

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
Histology	Surveillance	Field samples from France and The Netherlands, representative of 3 different levels of	Section of tissues including visceral mass	Flat oysters	70% (200)	99% (200)	<i>In-situ</i> hybridisation (18S probe) Bayesian analyses	Thébault <i>et al.</i> , 2005

Test type	Test purpose	Source populations	Tissue or sample types	Species	DSe (n)	DSp (n)	Reference test	Citation
		prevalence (free, mild, high)						
<i>In-situ</i> hybridisation (18S probe)	Surveillance	Field samples from France and The Netherlands, representative of 3 different levels of prevalence (free, mild, high)	Section of tissues including visceral mass	Flat oysters	90% (200)	99% (200)	Histology Bayesian analyses	Thébault <i>et al.</i> , 2005
Real-time PCR (Canier <i>et al.</i> , 2020)	Surveillance	Field samples from the 3 main producing areas in France, representative of 3 different levels of prevalence (free, low, high)	Gills and digestive gland tissues	Flat oysters	87,2% (386)	98,4% (386)	Conventional PCR (Le Roux <i>et al.</i> , 2001) Bayesian analyses	Canier <i>et al.</i> , 2020
Conventional PCR (Le Roux <i>et al.</i> , 2001)	Surveillance	Field samples from the 3 main producing areas in France, representative of 3 different levels of prevalence (free, low, high)	Gills and digestive gland tissues	Flat oysters	60.7% (386)	99.9% (386)	Real-time PCR (Canier <i>et al.</i> , 2020) Bayesian analyses	Canier <i>et al.</i> , 2020

DSe = diagnostic sensitivity, DSp = diagnostic specificity, n = number of samples used in the study, PCR: = polymerase chain reaction.

7. References

- ALDERMAN D.J. (1979). Epizootiology of *Marteilia refringens* in Europe. *Mar. Fishery Rev.*, **41**, 67–69.
- ARZUL I., CHOLLET B., BOYER S., BONNET D., GAILLARD J., BALDI Y., ROBERT M., JOLY J.-P., GARCIA C. & BOUCHOUCHA M. (2014). Contribution to the understanding of the cycle of the protozoan parasite *Marteilia refringens*. *Parasitology*, **141**, 227–240.
- AUDEMARD C., BARNAUD A., COLLINS C.M., LE ROUX F., SAURIAU P.-G., COUSTAU C., BLACHIER P. & BERTHE F.C.J. (2001). Claire ponds as an experimental model for *Marteilia refringens* life-cycle studies: new perspectives. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **257**, 87–108.
- AUDEMARD C., LE ROUX F., BARNAUD A., COLLINS C., SAUTOUR B., SAURIAU P.-G., DE MONTAUDOUIN X., COUSTAU C., COMBES C. & BERTHE F.C.J. (2002). Needle in a haystack: involvement of the copepod *Paracartia grani* in the life cycle of the oyster pathogen *Marteilia refringens*. *Parasitology*, **124**, 315–323.
- BERTHE F.C.J., LE ROUX F., PEYRETAILLADE E., PEYRET P., RODRIGUEZ D., GOUY M. & VIVARÈS C.P. (2000). The existence of the phylum Paramyxia Desportes and Perkins, 1990 is validated by the phylogenetic analysis of the *Marteilia refringens* small subunit ribosomal RNA. *J. Euk. Microbiol.*, **47**, 288–293.
- BERTHE F.C.J., ROUX F., ADLARD R.D. & FIGUERAS A. (2004). Martelliosis in molluscs: A review. *Aquat. Living Resour.*, **17**, 433–448.
- BOYER S., CHOLLET B., BONNET D., ARZUL I. (2013). New evidence for the involvement of *Paracartia grani* (Copepoda, Calanoida) in the life cycle of *Marteilia refringens* (Paramyxia). *Int. J. Parasitol.*, **43**, 1089–1099.

-
- CANIER L., DUBREUIL C., NOYER M., SERPIN D., CHOLLET B., GARCIA C. & ARZUL I. (2020). A new multiplex real-time PCR assay to improve the diagnosis of shellfish regulated parasites of the genus *Marteilia* and *Bonamia*. *Prev. Vet. Med.*, **183**, 105126.
- CARRASCO N., ARZUL I., BERTHE F.C.J. & FURONES M.D. (2008a). *In situ* hybridization detection of initial infective stages of *Marteilia refringens* (Paramyxea) in its host *Mytilus galloprovincialis*. *J. Fish Dis.* **31**, 153–157.
- CARRASCO N., ARZUL I., CHOLLET B., ROBERT M., JOLY J.-P., FURONES M.D. & BERTHE F. (2008b). Comparative experimental infection of the copepod *Paracartia grani* with *Marteilia refringens* and *M. maurini*. *J. Fish Dis.* **31**, 497–504.
- CARRASCO N., GREEN T., ITOH N. (2015). *Marteilia* spp. parasites in bivalves: A revision of recent studies. *J. Invertebr. Pathol.*, **131**, 43–57.
- CARRASCO N., LOPEZ-FLORES I., ALCARAZ M., FURONES M.D., BERTHE F.C.J. & ARZUL I. (2007) Dynamics of the parasite *Marteilia refringens* (Paramyxea) in *Mytilus galloprovincialis* and zooplankton populations in Alfacs Bay (Catalonia, Spain). *Parasitology*, **134**, 1541–1550.
- CARRASCO N., VOORBERGEN-LAARMAN M., LACUESTA B., FURONES D. & ENGELSMA M.Y. (2017). Application of a competitive real time PCR for detection of *Marteilia refringens* genotype “O” and “M” in two geographical locations: The Ebro Delta, Spain and the Rhine-Meuse Delta, the Netherlands. *J. Invertebr. Pathol.*, **149**, 51–55.
- CAVALIER-SMITH T. & CHAO E.E. (2003). [Phylogeny and classification of phylum Cercozoa \(Protozoa\)](#). *Protist.*, **154**, 341–358.
- EUROPEAN UNION REFERENCE LABORATORY (EURL) for mollusc diseases (2023). SOP *Marteilia refringens* detection and typing by real-time polymerase chain reaction (PCR) (3rd edition, March 2023), <https://www.eurl-mollusc.eu/>
- FEIST S.W., HINE P.M., BATEMAN K.S., STENTIFORD G.E. & LONGSHAW M. (2009). *Paramarteilia canceri* sp. n. (Cercozoa) in the European edible crab (*Cancer pagarus*) with a proposal for the revision of the order Paramyxida Chatton, 1911. *Folia Parasitologica*, **56**, 73–85.
- GRIZEL H. (1985). Etude des récentes épizooties de l’huître plate (*Ostrea edulis* Linné) et leur impact sur l’ostréiculture bretonne. Thèse Doctorat es Sciences, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, France, 145 p.
- GRIZEL H., COMPS M., BONAMI J.R., COUSSERANS F., DUTHOIT J.L., & LE PENNEC M.A. (1974). Recherche sur l’agent de la maladie de la glande digestive de *Ostrea edulis* Linne. *Sci. Pêche. Bull. Inst. Pêches marit.*, **240**, 7–29.
- KERR R., WARD G., STENTIFORD G., ALFJORDEN A., MORTENSEN S., BIGNELL J., FEIST S.W., VILLALBA A., CARBALLAL M.J., CAO A., ARZUL I., RYDER D. & BASS D. (2018). *Marteilia refringens* and *Marteilia pararefringens* sp. nov. are distinct parasites of bivalves and have different European distributions. *Parasitology*, **145**, 1483–1492.
- LE ROUX F., LORENZO G., PEYRET P., AUDEMARD C., FIGUERAS A., VIVARÈS C., GOUY M. & BERTHE F.C.J. (2001). Molecular evidence for the existence of two species of *Marteilia* in Europe. *J. Euk. Microbiol.*, **48**, 449–454.
- LE ROUX F., AUDEMARD C., BARNAUD A. & BERTHE F.C.J. (1999). DNA probes as potential tools for the detection of *Marteilia refringens*. *Mar. Biotechnol.*, **1**, 588–597.
- LONGSHAW M., FEIST S.W., MATTHEWS A. & FIGUERAS A. (2001) Ultrastructural characterisation of *Marteilia* species (Paramyxea) from *Ostrea edulis*, *Mytilus edulis* and *Mytilus galloprovincialis*. *Dis. Aquat. Org.*, **44**, 137–142.
- LOPEZ-FLORES I., DE LA HERRAN R., GARRIDO-RAMOS, M.A., NAVAS J.I., RUIZ-REJON C., RUIZ-REJON M. (2004). The molecular diagnosis of *Marteilia refringens* and differentiation between *Marteilia* strains infecting oysters and mussels based on the rDNA IGS sequence. *Parasitology*, **129**, 411–419
- LOPEZ-FLORES I., GARRIDO-RAMOS M.A., DE LA HERRAN R., RUIZ-REJÓN C., RUIZ-REJÓN M. & NAVAS J.I. (2008a). Identification of *Marteilia refringens* infecting the razor clam *Solen marginatus* by PCR and *in situ* hybridization. *Mol. Cell Probes*, **22**, 151–155.
-

LOPEZ-FLORES I., ROBLES F., VALENCIA J.M., GRAU A., VILLALBA A., DE LA HERRÁN R., GARRIDO-RAMOS M.A., RUIZ-REJÓN C., RUIZ-REJÓN M. & NAVAS J.I. (2008b). Detection of *Marteilia refringens* using nested PCR and in situ hybridisation in *Chamelea gallina* from the Balearic Islands (Spain). *Dis. Aquat. Org.*, **82**, 79–87.

MEROU N., LECADET C., BILLON T., CHOLLET B., POUVREAU S. & ARZUL I. (2022). Investigating the environmental survival of *Marteilia refringens*, a marine protozoan parasite of the flat oyster *Ostrea edulis*, through an environmental DNA and microscopy-based approach. *Front. Mar. Sci.* **9**. doi: 10.3389/fmars.2022.811284

MEROU N., LECADET C., UBERTINI M., POUVREAU S. & ARZUL I. (2023). Environmental distribution and seasonal dynamics of *Marteilia refringens* and *Bonamia ostreae*, two protozoan parasites of the European flat oyster, *Ostrea edulis*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, **13**, 1154484. doi: 10.3389/fcimb.2023.1154484.

THÉBAULT A., BAUD J.P., LE SAUX J.C., LE ROUX F., CHOLLET B., LE COGUIC M.J., FLEURY P.G., BERTHE F. & GÉRARD A. (1999). Compte rendu sur les mortalité de juillet 1999 des moules (*Mytilus edulis*) en poches dans l'Aber Benoît. Rapport IFREMER. 12 p.

THEBAULT A., BERGMANN S., POUILLOT S., LE ROUX F. & BERTHE F.C.J. (2005). Validation of *in situ* hybridization and histology assays for the detection of the oyster parasite *Marteilia refringens*. *Dis. Aquat. Org.*, **65**, 9–16.

VILLALBA A., MOURELLE S.G., CARBALLAL M.J. & LOPEZ M.C. (1993a). Effects of infection by the protistan parasite *Marteilia refringens* on the reproduction of cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* in Galicia (NW Spain). *Dis. Aquat. Org.*, **17**, 205–213.

VILLALBA A., MOURELLE S.G., LOPEZ M.C., CARBALLAL M.J. & AZEVEDO C. (1993b). Marteiliasis affecting cultured mussels *Mytilus galloprovincialis* of Galicia (NW. Spain). I. Etiology, phases of the infection, and temporal and spatial variability in prevalence. *Dis. Aquat. Org.*, **16**, 61–72.

XIE L., XIE Z., PANG Y., DENG X., XIE Z. & LIU J. (2012). Development of a loop-mediated isothermal amplification assay for visual detection of *Marteilia refringens* in shellfish. *Chinese J. Vet. Sci.*, **32**, 993–996.

*
* *

NB: There is a WOAHP Reference Laboratory for infection with *Marteilia refringens*
(please consult the WOAHP web site:

<https://www.woah.org/en/what-we-offer/expertise-network/reference-laboratories/#ui-id-3>).

Please contact WOAHP Reference Laboratories for any further information on infection with *Marteilia refringens*

NB: FIRST ADOPTED IN 1995 AS MARTEILIOSIS. MOST RECENT UPDATES ADOPTED IN 2012.

CHAPTER 2.4.5.

INFECTION WITH *PERKINSUS MARINUS*

[...]

2.2. Host factors

2.2.1. Susceptible host species

Eastern oyster, *Crassostrea virginica*; Pacific oyster, *C. gigas*; suminoe oyster, *C. ariakensis*; mangrove oyster, *C. rhizophorae*; Cortez oyster, *C. corteziensis* (Andrews 1996; Calvo et al., 1999; Calvo et al., 2001; Villalba et al., 2004; Cáceres-Martínez et al., 2008); softshell clam, *Mya arenaria*; Baltic macoma, *Macoma balthica* (Dungan et al., 2007).

Species that fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *Perkinsus marinus* according to Chapter 1.5. of the Aquatic Animal Health Code (Aquatic Code) are: American cupped oyster (*Crassostrea virginica*), Ariake cupped oyster (*Magallana* [Syn. *Crassostrea*] *ariakensis*), Cortez oyster (*Crassostrea corteziensis*) and palmate oyster (*Saccostrea palmula*).

2.2.2. Susceptible stages of the host Species with incomplete evidence for susceptibility

All stages after settlement are susceptible.

Species for which there is incomplete evidence to fulfil the criteria for listing as susceptible to infection with *P. marinus* according to Chapter 1.5. of the Aquatic Code are: Gasar cupped oyster (*Crassostrea tulipa*), mangrove cupped oyster (*Crassostrea rhizophorae*), and Pacific cupped oyster (*Magallana* [Syn. *Crassostrea*] *gigas*).

In addition, pathogen-specific positive polymerase chain reaction (PCR) results have been reported in the following species, but no active infection has been demonstrated: Columbia black oyster (*Crassostrea columbiensis*), soft shell clam (*Mya arenaria*), and stone oyster (*Striostrea prismatica*).

[...]
