INFORME FINAL

DICIEMBRE DE 2018

LICITACIÓN PÚBLICA

PROYECTO FIPA N° 2015-12

SUBSECRETARIA DE PESCA Y ACUICULTURA

"INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMON Y PISCIRICKETTSIOSIS."

LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS ISA

LABORATORIO DE REFERENCIA NACIONAL PARA *P. SALMONIS*

LABORATORIO DE GENÉTICA E INMUNOLOGÍA MOLECULAR

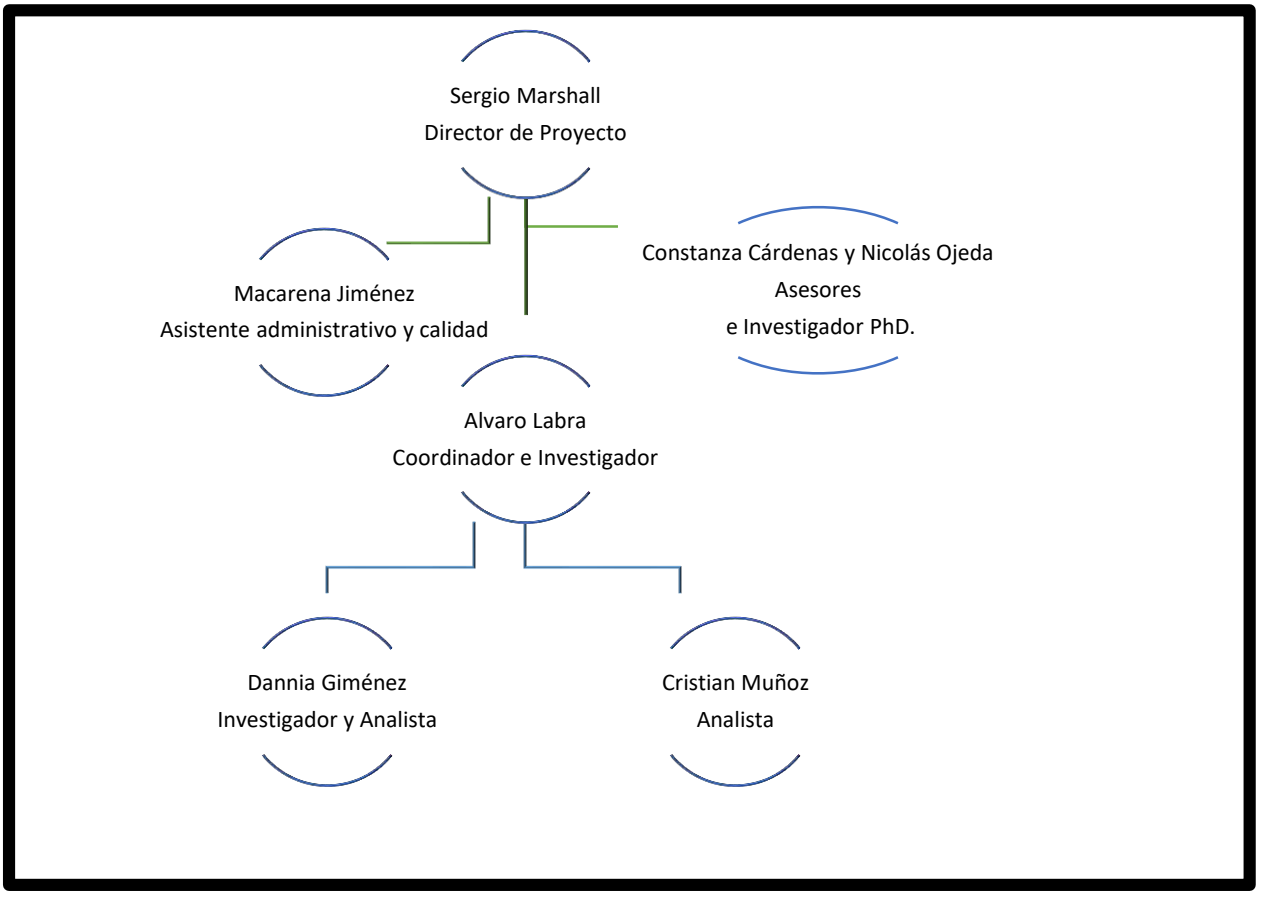
LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Equipo de Trabajo

Nombre	Institución	Cargo en el Proyecto	Funciones
Sergio Marshall (SM)	PUCV	Director del Proyecto	Coordinación general de Investigación y transferencia tecnológica
Constanza Cárdenas (CC)	PUCV – FCR	Asesor e Investigador PhD.	Análisis bioinformáticos de secuencias y análisis de información
Álvaro Labra (AL)	PUCV	Coordinador General e Investigador	Coordina Actividades de I+D, Mantiene el contacto permanente entre la PUCV, Subsecretaria de Pesca y Sernapesca. Desarrollo de nuevas técnicas
Dannia Giménez (DG)	PUCV	Investigador y Analista	Aplicación y validación de técnicas
Macarena Jiménez (MJ)	PUCV	Asistente administrativo	Aplicación y validación de técnicas. Apoyo administrativo general.
Cristian Muñoz (CM)	PUCV	Analista	Aplicación de técnicas y registro de resultados

Organigrama



Resumen Ejecutivo

Nombre del Proyecto: Investigación en Factores Epidemiológicos, de Patogenicidad, Desarrollo, Validación y Control de Técnicas de Diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmón y Piscirickettsiosis.

Beneficiario: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV).

Mandantes: Fondo de Investigación Pesquera y de Acuicultura (FIPA).

Contrapartes Técnicas: División de Acuicultura de Subsecretaria de Pesca y Acuicultura (Subpesca) y Departamento de Salud Animal del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca).

Considerando que tanto la anemia infecciosa del salmón (ISAv) como la Piscirickettsiosis (*P. salmonis*), son enfermedades endémicas de alto impacto sanitario en la salmonicultura nacional y que siguen amenazando su sustentabilidad y eficiencia productiva, mediante el presente proyecto quisimos contribuir a la disminución de sus impactos, definiendo aspectos fundamentales de la biología y epidemiología de ambos agentes que permitan diseñar estrategias de prevención y profilaxis de las enfermedades que provocan. En este marco referencial, quisimos definir la importancia que tiene la transmisión horizontal y vertical de los agentes en campo, y determinar la validez tanto de las técnicas de diagnóstico disponibles para ambos agentes infecciosos, así como las entidades responsables de certificarlos. Adicionalmente, y dado que existía evidencia preliminar que asociaba la persistencia de estos dos patógenos con el parásito externo de los salmones, *Caligus rogercresseyi,* también evaluamos si dicha información tenía algún asidero real.

Para lograrlo, primero realizamos una exhaustiva revisión bibliográfica nacional e internacional respecto al estado del arte sobre ambos agentes patógenos (*P. salmonis* e ISAv) así como de las enfermedades que provocan y/o a las que se les asocia. Gracias a ello, generamos, como resultado tangible, fichas técnicas validadas y conteniendo una actualizada evaluación de brechas existentes sobre el conocimiento de ambos patógenos. En relación al rol epidemiológico de *Caligus rogercresseyi* con las dos patologías centrales de nuestro estudio, pudimos concluir en forma robusta, que su rol en la transmisión tanto de *P. salmonis* como de ISAV, es solo como vector mecánico y exclusivamente durante las primeras horas de interacción del parásito con el pez blanco descartándose así la posibilidad de que actúe como vector biológico. En el ámbito de las técnicas de diagnóstico y de los responsables involucrados en certificarlos, en nuestra calidad de Laboratorio de Referencia para Sernapesca de ambos patógenos, realizamos ring test con los laboratorios de

la red registrados por la entidad, los que entregaron resultados contundentes que nos permiten concluir que todos ellos ofrecen confianza al sector productivo y de gestión, ya que sus diagnósticos en la detección de ISAV tanto de las variantes patogénicas como de la no patogénica HPR0 y las correspondientes a *Piscirickettsia salmonis* son asertivos, confiables y reproducibles dentro de los rangos que involucra el carácter semi cuantitativo de los mismos.

Para el caso de ISAv, una de las interrogantes que necesita ser dilucidada es porqué la variante HPR0 que representa el virus completo, no espatogénica y sin embargo se replica en los peces y en células de cultivo, en cantidades basales. Para poder estudiarla, se requiere obtener suficiente biomasa, y por ello en este proyecto usamos tres estrategias no excluyentes, y aunque no obtuvimos en un 100 % lo deseado, constituye la base para nuevos experimentos que complementaremos fuera del proyecto. Estas fueron: 1.- modulación nutricional de los cultivos celulares infectados con la variante HPR0, en que mejoramos en la eficiencia del cultivo piloto y debemos entonces escalarlo para obtener la biomasa deseada. 2.- Inhibir la actividad de esterasa en la variante HPR0, demostrando que ello conduce a una mayor eficiencia de ingreso a las células infectadas, y por ende un mayor poder replicativo de la variante en el cultivo. 3.- Ensayar la infección con la variante HPR0 en líneas celulares de origen epitelial, donde las variantes patogénicas se replican con mayor eficiencia. Desgraciadamente por no tener mayores aislados de HPR0 en los tiempos del proyecto, esta estrategia deberá ser corroborada en experimentos futuros. Finalmente, y como un proyecto de bien público, se realizó un programa de capacitación que contó con 5 alumnos, todos de Sernapesca, específicamente dos de Dirección Nacional, 2 de la oficina regional de Puerto Montt y uno perteneciente a la oficina regional de Puerto Aysén. Todos ellos cumplieron con el 100% de asistencia y realizaron las actividades prácticas del curso, además aprobaron de excelente forma la evaluación teórica que se realizó una vez finalizado el curso.

Abstract

Project Name: Research in Epidemiological Factors, Pathogenicity, Development, Validation and Control of Diagnostic Techniques for Infectious Anemia of Salmon and Piscirickettsiosis.

Considering that both infectious salmon anemia *(ISAv)* and *Piscirickettsiosis (P. salmonis)* are endemic diseases with high sanitary impact in the national salmon industry and that continue to threaten their sustainability and productive efficiency, through this project we wanted to contribute to the reduction of its impacts, defining fundamental aspects of the biology and epidemiology of both agents that allow the design of strategies for prevention and prophylaxis of the diseases they cause. In this referential framework, we wanted to define the importance of horizontal and vertical transmission of agents in the field, and to determine the validity of both the diagnostic techniques available for both infectious agents as well as the entities responsible for certifying them. Additionally, and given that there was preliminary evidence associating the persistence of these two pathogens with the external parasite of salmon, *Caligus rogercresseyi*, we also evaluated whether this information had any real foothold.

In order to achieve this, we first carried out an exhaustive national and international bibliographic review of the state of the art on both pathogens (*P. salmonis* and *ISAv)* as well as the diseases that cause and / or are associated with them. Thanks to this, we generate, as a tangible result, validated technical files and containing an updated evaluation of existing gaps on the knowledge of both pathogens. In relation to the epidemiological role of *Caligus rogercresseyi* with the two central pathologies of our study, we were able to conclude in a robust way that its role in the transmission of both *P. salmonis* and *ISAv* is only as a mechanical vector and exclusively during the first hours of Parasite interaction with the white fish discarding the possibility of acting as a biological vector. In the field of diagnostic techniques and those responsible for certifying them, in our capacity as Reference Laboratory for Sernapesca of both pathogens, we performed ring tests with the laboratories of the network registered by the entity, which delivered convincing results that allow us to conclude that all of them offer confidence to the productive and management sector, since their diagnoses in the detection of ISAV of both the pathogenic variants and the non-pathogenic HPR0 and those corresponding to *Piscirickettsia salmonis* are assertive, reliable and reproducible within the ranges which involves the semi-quantitative nature of them.

In the case of *ISAv*, one of the questions that needs to be clarified is why the HPR0 variant that represents the complete form of the virus does not produce the disease and yet replicates in fish and in culture cells, in

basal quantities. In order to study its action, it is necessary to obtain enough biomass, and therefore in this project we used three non-exclusive strategies, and although we did not obtain 100% of what was desired, it is the basis for new experiments that we will complement outside the project. These were: 1.- nutritional modulation of cell cultures infected with the HPR0 variant, in which we improve the efficiency of the pilot culture and we must then scale it to obtain the desired biomass. 2.- Inhibit the esterase activity in the HPR0 variant, demonstrating that this leads to a higher efficiency of entry to the infected cells, and therefore a greater replicative power of the variant in the culture. 3.- Test the infection with the HPR0 variant in cell lines of epithelial origin, where the pathogenic variants replicate with greater efficiency. Unfortunately for not having greater isolates of HPR0 at the time of the project, this strategy should be corroborated in future experiments. Finally, and as a public good project, a training program was carried out with 5 students, all from Sernapesca, specifically two from National Direction, 2 from the regional office of Puerto Montt and one belonging to the regional office of Puerto Aysén. All of them fulfilled 100% of attendance and carried out the practical activities of the course, besides they approved of excellent form the theoretical evaluation that was realized once finalized the course.

Índice General

Equipo de Trabajo.....1
Organigrama.....1
Resumen Ejecutivo.....2
Abstract.....4
Índice General.....6
Índice de tablas, gráficos y figuras.....10
Objetivos.....18
Objetivo General.....18
Objetivos Específicos.....18
Solicitud de Modificaciones de Objetivos Específicos.....19
Antecedentes.....20
Antecedentes Generales 20
Antecedentes Específicos..... 20
Problema 22
Objetivo Específico 1. Metodología..... 24
Actividades 1, 2 y 3 objetivo especifico 1. 24
Actividades 4 y 5 objetivo específico 1. 24
Resultados Objetivo 1 actividades 4 y 5..... 25
Ficha Técnica Anemia Infecciosa del Salmón.....26
Ficha Técnica Piscirickettsiosis.....51
Objetivo Específico 2. Metodologia y resultados por etapa.....76
Etapa 1. Diseño y validación de alternativas de diagnóstico de ISAV y P. salmonis desde Caligus rogercresseyi. 77
Actividad 1.1. Evaluar alternativas de extracción de material genético desde Caligus.....77
Actividad 1.2. Evaluar alternativas de diagnóstico a partir del material genético recuperado para *P. salmonis*.....77
Actividad 1.3. Evaluar variaciones necesarias por estados de desarrollo.....77
Actividad 1.4. Validación de técnicas.....77
Resultados etapa 1..... 78

Actividad 1.1. Protocolo Experimental para la Evaluación de la Homogenización y Extracción RNA total desde *Caligus rogercresseyi*.....78

Actividad 1.2. Resultados obtenidos de la evaluación de alternativas diagnósticas a partir del material genético recuperado para *P. salmonis*.....83

Actividad 1.3. Variaciones del metódo de análisis según estadio del parásito.....83

Actividad 1.4. Validación, Según LABD/NT 3, de la Técnica de RT-PCR en Tiempo Real Para el Diagnóstico de Piscirickettsia salmonis Basado en la Publicación de Marshall *et al.,* 1998.....84

Etapa 2. Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con P. salmonis. 93

Actividad 2.1. Muestreo.....93

Actividad 2.2. Clasificación y confirmacion de diagnostico.....93

Resultados Etapa 2.....97

Actividad 2.1. Informe de Muestreo.....97

Actividad 2.2. Clasificación y confirmacion de diagnostico.....99

Etapa 3. Infección de peces susceptibles con parásitos infectados *in vitro* con *P. salmonis* y verificación de la capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos. 100

Actividad 3.1. Producción de Caligus infectados con *P. salmonis*.....100

Actividad 3.2. Infestación de peces con los Caligus experimentalmente infectados.....102

Actividad 3.3. Confirmación del diagnóstico.....103

Resultados Etapa 3. 103

Objetivo Específico 3. Metodología.....105

Resultados 105

Objetivo Específico 4. Metodología.....110

Etapa 1. Ring Test para la detección de ISAV 111

Actividades 1 y 2 Propuesta Ring Test para la detección de ISAV.....111

Actividad 3. Preparación y evaluación preliminar de muestras.....114

Actividad 4. Preparación y evaluación definitivas de muestras.....116

Actividad 5. Instructivo de procesamiento de muestras para el “Ensayo de Comparación Inter-laboratorios para la Evaluación de la Técnica de Detección de ISAV mediante qRT-PCR”.....118

Actividad 6. Recepción y análisis de resultados.....123

Resultados Etapa 1. Informe de Resultados Ring Test ISAV..... 123

Resultados Repetición Etapa 1. Informe de Resultados Ring Test ISAV 155

Etapa 2. Ring Test para la detección de ISAV HPR0 177

Actividades 1 y 2. Propuesta de Validación y Comparación Inter-laboratorio (Ring Test) del qRT-PCR Específico para la Variante HPR0 del ISAV.....177

Actividad 3 y 4. Preparación y evaluación preliminar y definitiva de muestras.....181

Actividad 5. Instructivo Para la Evaluación de Especificidad según punto 1.3.2 del procedimiento de validación del ensayo de qRT-PCR específico para virus ISA HPR0, descrito según LABD/NT 3 del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.....183

Actividad 6. Recepción y análisis de resultados.....187

Resultados Etapa 2. Informe "Ensayo de Comparación Inter-laboratorio para Evaluar el Ensayo de RT-PCR en Tiempo Real Específico para Virus ISA HPR0" 188

Etapa 3. Ring Test para la detección de *Piscirickettsia salmonis.* 200

Actividades 1 y 2 Propuesta Ring Test para la detección de *Piscirickettsia salmonis*.....200

Actividad 3 y 4. Evaluación preliminar y definitiva de muestras.....204

Actividad 5. Instructivo de procesamiento de muestras para el "Ensayo de Comparación Inter-laboratorios para la Evaluación de la Técnica de Detección de *Piscirickettsia salmonis* mediante qRT-PCR".....205

Actividad 6. Recepción y análisis de resultados.....211

Resultados Etapa 3. Informe "Ensayo de Comparación Inter-laboratorio para Evaluar el Ensayo de PCR o RT-PCR en Tiempo Real para el Diagnóstico de Piscirickettsiosis" 211

Objetivo Específico 5. Metodología.....226

Actividad 1. Diseño de un estudio sistemático que considere nuevas estrategias científicas para el aislamiento de ISAv HPR0.....226

Resultados actividad 1. Diseño de estrategia para cultivo de ISAV HPR0.....226

Actividad 2. Aplicación de la o las metodologías para el aislamiento de ISAv HPR0.....228

Resultados actividad 2.....229

Objetivo Especifico 6. Análisis de Muestras.....237

Resultados Actividad 1. Metodología de Muestreo y Análisis Para Estudio de Casos Positivos a ISAV.....237

Resultados Actividad 2. Resultados de muestras analizadas durante el proyecto.....247

Objetivo Especifico 7. Capacitación de Profesionales en Diagnóstico Molecular de ISA y *P. salmonis*.....255

Actividad 1. Diseño y propuesta de un programa de capacitación.....256

Actividad 2. Elaboración y selección del material de apoyo.....256

Resultados actividades 1 y 2. Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*".....257

Resultados Actividades 3, 4 y 5.....258
Análisis y discusión de resultados.....260
Objetivo 1. 260
Objetivo 2. 261
Objetivo 3. 262
Objetivo 4. 264
Objetivo 5. 265
Objetivo 6. 265
Objetivo 7. 266
Taller de Difusión de Resultados.....267
Conclusiones.....270
Referencias Bibliográficas.....275
Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón.....275
Piscirickettsia salmonis..... 281
ANEXOS.....293

Índice de tablas, graficos y figuras **Pag.**

Tabla Nº0	Personal Participante por Actividad y Número de Horas totales Empleadas	.....	4
Figura N°1.	Proyección de la capacidad productiva de salmones para Chile al 2016 (Sernapesca, 2012)	.....	21
Tabla N°1.	Partidores y Sondas para segmentos 7 y 8 según Snow et al., 2006 y para segmento 6 (HPR) según OIE Ref. Lab	.....	46
Tabla N°2.	Métodos de vigilancia dirigida y diagnóstico	.....	47
Figura N°2.	Proceso de homogenización y extracción de RNA total desde Caligus Rogercresseyi	.....	79
Tabla Nº 3	Kit de extraccion utilizados.	.....	80
Tabla Nº 4.	Valores de Ct obtenidos en la amplificación del Factor de elongación 1 alfa (ELF-1α)	.....	81
Figura N° 3.	Valores medios de Ct obtenidos en la amplificación del Factor de elongación 1 alfa (ELF-1α)	.....	82
Tabla Nº 5.	Resumen de resultados obtenidos de la evaluación de la metodología diagnóstica para P. salmonis aplicada a material genético recuperado desde C. rogercresseyi.	.....	83
Tabla Nº 6.	Volúmenes y concentraciones recomendados por el fabricante	.....	85
Tabla Nº 7.	Los resultados obtenidos de los ensayos de comparación de tres diferentes temperaturas de hibridación (58°C - 60°C - 62°C)	.....	86
Tabla Nº 8a.	Resultados obtenidos de los ensayos de comparación de tres diferentes volúmenes de partidores (0,2µl – 0,4µl – 0,6µl)	.....	87
Tabla Nº 8b	Resultados obtenidos de los ensayos de comparación de tres diferentes volúmenes de sonda (0,2µl – 0,3µl – 0,4µl)	.....	88
Tabla Nº 9.	Resultados	.....	89

Tabla Nº 10.	Porcentaje de coeficiente de variación	.....	89
Tabla Nº 11.	Parámetros esenciales de control de la técnica se definieron 5 puntos críticos	.....	90
Tabla Nº 12a.	Promedios de los CT y los valores de intensidad de fluorescencia	.....	90
Tabla Nº 12b	Sensibilidad y especificidad analítica	.....	91
Tabla Nº 13.	Los resultados de análisis.	.....	92
Tabla Nº 14.	Reactivos y volúmenes para la preparación de la mezcla de RT-PCR.	.....	95
Tabla Nº 15.	Sondas y partidores usados	.....	95
Tabla Nº 16.	Programa Real Time	.....	95
Figura N°4	Gráfico de la diferencia de intensidad de fluorescencia versus los ciclos de amplificación en una muestra positiva (azul) y una negativa (roja).	.....	96
Tabla Nº 17	Resumen de resultados obtenidos por tipo de muestra, horas de muestreoy técnica de diagnóstico utilizada	.....	99
Tabla N° 17-1	Resultados obtenidos del análisis de muestras de peces y caligus derivados de la etapa 3.	.....	104
Tabla Nº 18.	Muestras del Ring Test	.....	117
Tabla Nº 19.	Formulario de resultados	.....	122
Tabla Nº 20.	Código numeral asignado a cada laboratorio para este ensayo, el cual será usado para presentar los resultados a lo largo del informe	.....	128
Tabla Nº 21.	Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección de ISAv y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan para el segmento 8 (Snow *et al.*, 2006).	.....	129
Tabla Nº 22.	Sondas, partidores, respectivas marcas y volúmenes utilizados por cada laboratorio para la amplificación del segmento 8 del ISAV y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan.	.....	130

Gráfico Nº 1	Resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras de tejido.	.....	132
Gráfico Nº 2	Resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras de cultivo celular.	.....	132
Tabla Nº 23	Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante del ensayo	.....	134
Tabla Nº 24	Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante del ensayo según muestra de cultivo celular y lote de amplificación.	.....	135
Tabla Nº 25	Interpretación de resultados de cada laboratorio por muestra y segmentado por lote de análisis. Calculo de sensibilidad y especificidad por laboratorio.	.....	138
Tabla Nº 26	Cálculo de sensibilidad y especificidad de la técnica para el ensayo	.....	139
Tabla Nº 27	Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real	.....	140
Tabla Nº 28	Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real	.....	141
Gráfico Nº 3	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1.	.....	143
Gráfico Nº 4	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1.	.....	143
Gráfico Nº 5	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2.	.....	144
Gráfico Nº 6	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2.	.....	144
Gráfico Nº 7	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3.	.....	145
Gráfico Nº 8	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3.	.....	145

Gráfico Nº 9	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4.	.....	146
Gráfico Nº 10	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4.	.....	146
Gráfico Nº 11	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5.	.....	147
Gráfico Nº 12	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5.	.....	147
Gráfico Nº 13	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 1.	.....	148
Gráfico Nº 14	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 1	.....	148
Gráfico Nº 15	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a *P. salmonis)*.	.....	149
Gráfico Nº 16	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a *P. salmonis)*.	.....	149
Gráfico Nº 17	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 1.	.....	150
Gráfico Nº 18	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 1	.....	150
Gráfico Nº 19	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 2	.....	151
Gráfico Nº 20	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 2.	.....	151
Gráfico Nº 21	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al cultivo celular negativo.	.....	152
Gráfico Nº 22	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al cultivo celular negativo.	.....	152
Tabla Nº 23	Resumen de cumplimiento, por parte de cada participante, de parámetros impuestos por el ensayo.	.....	154

Tabla Nº 24	Código numeral asignado a cada laboratorio para este ensayo, el cual será usado para presentar los resultados a lo largo del informe	.....	159
Tabla Nº 25	Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección de ISAv y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan para el segmento 8 (Snow *et al*., 2006).	.....	160
Tabla Nº 26	Sondas, partidores, respectivas marcas y volúmenes utilizados por cada laboratorio para la amplificación del segmento 8 del ISAV y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan	.....	160
Gráfico Nº 23	Resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras de tejido	.....	162
Tabla Nº 26	Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante del ensayo	.....	163
Tabla Nº 27	Interpretación de resultados de cada laboratorio por muestra y segmentado por lote de análisis.	.....	165
Tabla Nº 28	Cálculo de sensibilidad y especificidad de la técnica para el ensayo	.....	166
Tabla Nº 29	Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real	.....	167
Gráfico Nº 24	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1.	.....	169
Gráfico Nº 25	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1.	.....	169
Gráfico Nº 26	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2.	.....	170
Gráfico Nº 27	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2.	.....	170
Gráfico Nº 28	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar.	.....	171

Gráfico Nº 29	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3.	.....	171
Gráfico Nº 30	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4.	.....	172
Gráfico Nº 31	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4.	.....	172
Gráfico Nº 32	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5.	.....	173
Gráfico Nº 33	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5.	.....	173
Gráfico Nº 34	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 1.	.....	174
Gráfico Nº 35	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 1.	.....	174
Gráfico Nº 36	Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a P. salmonis)	.....	175
Gráfico Nº 37	Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a P. salmonis).	.....	175
Tabla Nº 30	Resumen de cumplimiento, por parte de cada participante, de parámetros impuestos por el ensayo	.....	176
Gráfico 38	Valores de Ct obtenidos para S8 y S6 de las multiples diluciones y evaluaciones realizadas.	.....	182
Tabla Nº 31.	Resultados obtenidos por el Laboratorio PUCV en el análisis de las muestras en forma previa a su envío	.....	190
Figura 5	Curvas de amplificación para las diluciones de la muestra HPR0	.....	191
Tabla Nº 32	Codificación de muestras enviadas	.....	192
Tabla Nº 33	Laboratorios participantes con su respectivo código asignado, método y química utilizada.	.....	194

Tabla Nº 34	Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección especifica de ISAV HPR0 mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan® y/o SybrGreen	.....	195
Figura 6	Curvas de amplificación para las diluciones de la muestra HPR0, obtenidas por el laboratorio de Patógenos Acuícolas con su ensayo qRT-PCR específico para HPR0.	.....	196
Figura 7	Curvas de amplificación para las diferentes variantes analizadas (HPR14, HPR8, HPR7, HPR5, HPR3, HPR2 y HPR0), obtenidas por el laboratorio de Patógenos Acuícolas con su ensayo qRT-PCR específico para HPR0.	.....	196
Figura 8	Curvas de amplificación para todas las muestras enviadas, obtenidas por el laboratorio de Patógenos Acuícolas con su ensayo qRT-PCR específico para una región conservada del Segmento 8	.....	197
Tabla Nº 35	Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV	.....	198
Tabla Nº 36	Evaluación, codificación y distribución de Muestras.	.....	214
Tabla Nº 37	Laboratorios participantes con su respectivo código asignado, método y química utilizada.	.....	218
Tabla Nº 38	Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección de P. salmonis mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan® y/o SybrGreen.	.....	219
Tabla Nº 39	Valores de Ct promedio, para la detección de P. salmonis mediante RT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante en el ensayo de comparación inter-laboratorio	.....	222
Tabla Nº 40	Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de P. salmonis	.....	223
Tabla Nº 41	Interpretación de resultados de cada laboratorio por muestra y segmentado por lote de análisis. Calculo de sensibilidad y especificidad de cada uno de los métodos utilizado.	.....	224
Figura N°9.	ISAV-HPR0 con tinción negativa	.....	230

Tabla Nº 42.	Detección por secuenciación de variantes HPR-delecionadas derivadas de ISAV-HPR0 original	.....	231
Tabla N°43	qRT-PCR muestras positivas para HPR0	.....	232
Tabla N°44	qRT-PCR con sonda TaqMan de infección con ISAV HPR0 en células EPI-1 y EPI-2	.....	232
Tabla N°45	qRT-PCR con sonda TaqMan de pisos celulares infectados con ISAV variante HPR0	.....	232
Tabla N°46	Resultados de los pisos infectados con ISA virus variante HPR7B en células SHK-1 con M.O.I. 0.1, según el método de Falk	.....	233
Tabla N°47	Resultados de los sobrenadantes infectados con virus ISA variante HPR7B en células SHK-1 con M.O.I. 0.1, según el método de Falk y del laboratorio GIM evaluados al cuarto día de infeccióna	.....	233
Figura N°10	Grafico que muestra los cambios del segmento 8 en distintos HPRs	.....	235
Figura N°11	Estado de las células en distintos momentos de la infección.	.....	236
Figura N°12.	Esquema del ingreso a la cavidad abdominal (línea discontinua) para análisis anatomopatológico en un pez con simetría bilateral	.....	240
Figura N°13	Anatomía interna de un pez óseo	.....	241
Figura N°14	Analisis para ISAV PUCV	.....	246
Tabla Nº 47	Muestras recibidas y/o analizadas hasta septiembre de 2016	.....	247

Objetivo General.

Investigar la transmisión horizontal y vertical y evaluar las técnicas de diagnóstico para el virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) y de *Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*).

Objetivos Específicos.

1. Efectuar una revisión bibliográfica nacional e internacional respecto el estado del arte en relación al conocimiento de los patógenos *P. salmonis* e ISAv y las enfermedades que provocan.

2. Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por *P. salmonis* (modificado).

3. Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAV (modificado).

4. Evaluar métodos de diagnóstico para los patógenos ISAV y *P. salmonis* utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico del Servicio y por entidades de investigación en caso de ser requerido, en especial para la cepa HPR-0.

5. Evaluar y desarrollar técnicas de aislamiento, propagación y mantención de la variante HPR0 de ISAV en cultivos celulares y realizar investigación para mejorar resultados.

6. Analizar muestras en laboratorio para el diagnóstico de ISAv y *P. salmonis*, de acuerdo a necesidad de la Autoridad sectorial.

7. Realizar una capacitación de profesionales en diagnóstico clínico o molecular de la enfermedad ISA y *P. salmonis*.

Solicitud de Modificaciones de Objetivos Específicos.

Dado que estamos inmersos en un ambiente dinamico en términos de investigación y que además tratamos con entidades bilógicas que escapan a nuestro completo control, nos hemos visto obligados a realizar modificaciones a los objetivos planteados en un principio del proyecto. Todo lo anterior lo hemos realizado con el debido aviso formal y la venia de nuestro mandante y contrapartes técnicas.

En resumen, las modificaciones realizadas son: el cumplimiento del objetivo especifico numero 3 en base a una revisión bibliográfica y el fortalecimiento del objetivo específico número 2, lo anterior debidamente justificado mediante los siguientes documentos:

1. Carta PUCV N°2 con fecha 16 de junio de 2016, dirigida al Sr. Luis Carroza Larrondo, director ejecutivo del FIPA, en la cual se propone la eliminación del objetivo 2.
2. Informe técnico "**JUSTIFICACIÓN TÉCNICA PARA LA ELIMINACIÓN DEL OBJETIVO 2 DEL PROYECTO FIPA 2015-12".** Enviado mediante correo electrónico con fecha 26 de julio de 2016.
3. Documento técnico **"NUEVA PROPUESTA TÉCNICA OBJETIVO N°2".** Enviado mediante correo electrónico con fecha 25 de agosto de 2016.
4. Carta PUCV s/n con fecha 4 de noviembre de 2016, Carta conductora con documentos complementarios referidos a la modificación solicitada.
5. Carta FIP N° 950 con fecha 1 de diciembre de 2016, en respuesta a la solicitud de modificación.

Los documentos antes mencionados pueden se encuentran en el anexo 5 del presente informe.

Antecedentes Generales

La Subsecretaria de Pesca y Acuicultura, en lo sucesivo Subpesca, por medio del Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura y a través del portal www.mercadopublico.cl ha llamado a concurso público para contratar servicios para el proyecto FIP N° 2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMON Y PISCIRICKETTSIOSIS" a través de la licitación pública N° 4728-88-LP15.

El objetivo de la licitación previamente individualizada es contar con el proveedor que cumpla con los requisitos y exigencias establecidos en las bases técnicas de la licitación.

Antecedentes Específicos

Tanto la anemia infecciosa del salmón (ISAV) como la Piscirickettsiosis (*P. salmonis*), son enfermedades endémicas de alto impacto sanitario en la salmonicultura nacional, ambas patologías han producido importantes pérdidas económicas. Para el caso de ISAv, desde su primer diagnóstico en chile en el año 2007 se convirtió en una enfermedad de permanente vigilancia y control, debido a su alto impacto sobre el patrimonio sanitario nacional. *P. salmonis*, por su lado corresponde a una enfermedad de larga data en el territorio nacional y que tradicionalmente ha sido una de las enfermedades bacterianas que mayores pérdidas de biomasa ha registrado, además corresponde a la patología que induce de mayor consumo de antibióticos en la industria acuícola nacional.

El último brote en Chile de ISAv se registró en febrero de 2014 y hubo una detección durante el segundo semestre del mismo año en la región de Aysén de un caso "otros HPR" que no constituyo brote. Sin embargo, en el intertanto es cada vez más común comprobar la presencia de la variante HPR0 del virus, mediante la técnica qRT-PCR, pero aún no ha sido posible aislar la cepa en laboratorio. Asimismo, el laboratorio de referencia y proponente tiene evidencia en vía de publicación, de la recuperación de la variante HPR0 infectiva en condiciones "*in vitro*". (Marshall *et al.,* 2016. manuscrito en preparación). Los diagnósticos de esta cepa no se han asociado a signos clínicos ni a mortalidad, sin embargo, es necesario conocer aspectos específicos de esta variante, pues aún no está claro, desde el punto de vista epidemiológico, su correlación positiva o negativa con la presentación tradicional de la enfermedad. Este aspecto adquiere particular importancia si se considera que esta variante está presente en la mayoría de los centros productivos tanto nacionales como en los de otras latitudes, condición que amerita un análisis investigativo profundo.

A esto se suman los últimos avances realizados en torno a la biología del patógeno y sus eventuales vías de transmisión, los cuales describen que variantes diferentes del virus pueden co-existir dentro de un mismo pez, lo que significa que eventualmente se pueden producir procesos de recombinación genética que le permitiría al virus en un momento determinado y bajo ciertas condiciones pasar de una cepa no patógena a una que sí lo es. Asimismo, existe evidencia de que el virus infectivo puede encontrarse tanto dentro de las ovas de peces infectados y asintomáticos como en su fluido ovárico, lo que significa que existe una posibilidad de transmisión del virus en forma vertical verdadera como falsa. Por último, debemos mencionar que nuestro laboratorio ha detectado ISAv en el parásito *Caligus rogercresseyi* de peces infectados en repetidas oportunidades, identificando en la mayoría de las veces la misma variante del virus que afecta al pez parasitado, pero en unas pocas ocasiones se ha identificado otra variante, complicando así el verdadero rol que cumple el parásito en la eventual transmisión de la enfermedad.

Por su parte la Piscirickettsiosis corresponde a la enfermedad infecciosa de mayor impacto en la fase de agua de mar del ciclo de cultivo de salmones. El año 2012 fue la enfermedad responsable de más del 70% de la mortalidad producida por causa infecciosa en la industria del salmón, para la trucha arcoíris fue responsable de poco más del 90%. Diferentes estudios respecto del patógeno han señalado la existencia de diferentes variantes del mismo y sugieren diferencias en la presentación clínica de la enfermedad, lo cual aún carece de un sólido respaldo científico, sin embargo, es de sumo interés recabar mayor información, la cual puede ser útil para la vigilancia y el control de enfermedades.

Existen antecedentes que señalan el diagnóstico de ISAv en especies salmónidas ferales o eventualmente escapadas de centros de cultivos. En el caso de *P. salmonis* existe información de su diagnóstico desde especies nativas en el sur del país.

Actualmente ambos patógenos cuentan con Programas Sanitarios Específicos de Vigilancia y Control, dictados por el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura, de acuerdo al D.S. (MINECON) N° 319 de 2001 y sus modificaciones. Para ISAv se encuentra vigente el programa aprobado por la RES Ex N° 1577 de 2011 y para la Piscirickettsiosis el programa aprobado por la RES Ex N° 3174 de 2012.

Problema

Actualmente la Industria Salmonera nacional está en un franco y decidido proceso de recuperación de la devastadora crisis de mediados de 2007 generada por la epizootia del virus ISA, que afectó enormemente la capacidad productiva nacional. De hecho, en el último año el sector viene en forma sostenida aumentando sus niveles de producción y mejorando sus índices de productividad, lo que permite hacer una proyección optimista para los próximos años (Figura 1). Sin embargo, esta promisoria tendencia, se ve nuevamente amenazada por el notorio incremento de la infección de los peces en cultivo por el agente ectoparásito *Caligus rogercresseyi*, que, aunque no representa per se un peligro tan drástico como otros agentes patógenos, el daño más importante que genera es la inmunosupresión de los peces y como consecuencia, su mayor susceptibilidad a otros agentes oportunistas. Este incremento en la infección por Caligus puede tener múltiples explicaciones, pero sin lugar a dudas una de las más importantes la constituye la posibilidad de pérdida de efectividad de los antiparasitarios utilizados para su control, especialmente durante la etapa de engorda. De hecho, en los últimos años se ha demostrado una creciente pérdida de sensibilidad de los peces afectados al benzoato de emamectina que representa uno de los principales productos aplicados para su control, situación que innegablemente se asocia a una inducción de resistencia al agente en las poblaciones ectoparasitarias (Sevatdal & Horsberg, 2003). Esta preocupante situación, se correlaciona con un creciente resurgimiento de otras patologías, donde además de la Piscirickettsiosis se destacan los recientes brotes del virus ISA, con el inminente peligro que ello conlleva.

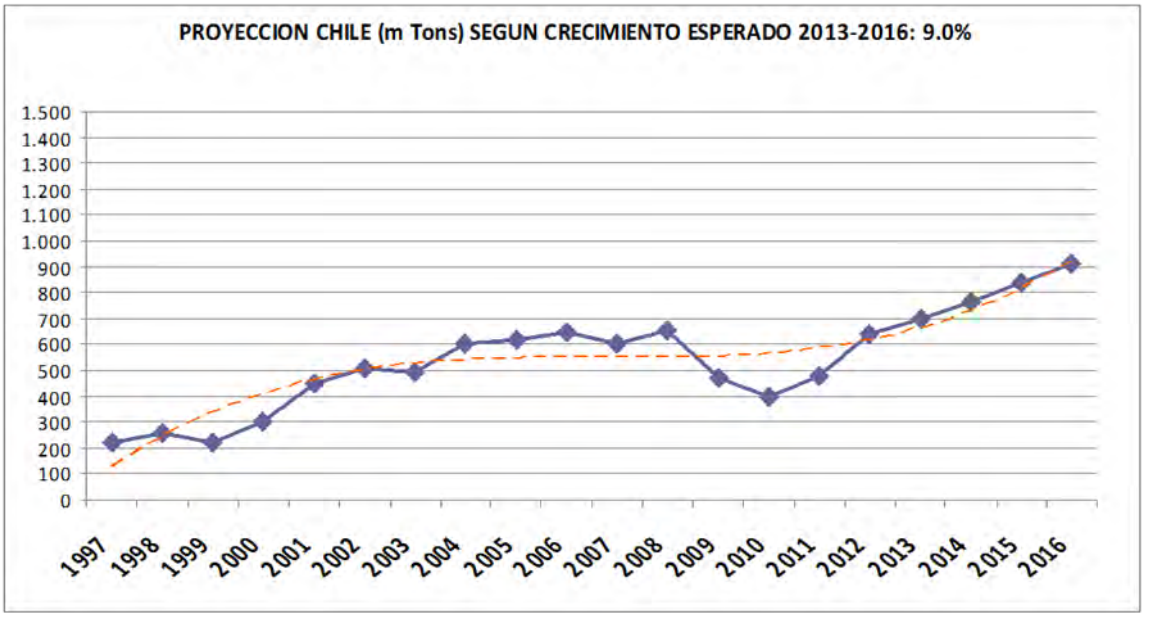


Figura Nº 1. Proyección de la capacidad productiva de salmones para Chile al 2016 (Sernapesca, 2012).

Por otra parte, el papel de los piojos marinos en la transmisión de enfermedades a peces salmonídeos en cultivo, así como su progresión ha sido y sigue siendo un tema muy discutido y por muchos puestos en tela de juicio. Sin embargo, es un hecho que en la industria acuícola chilena las infecciones con *Caligus rogercresseyi* es un problema omnipresente y las altas cargas del copépodo por pez hacen sospechar que su efecto, en combinación con otros existentes agentes patógenos bacterianos y virales, presentan un potencial peligro que necesita ser evaluado y cuantificado.

Teniendo esto en consideración, y pensando que la amenaza del virus ISA está aún latente en el sistema, nos proponemos evaluar la interacción huésped-patógeno en Salmo salar (salmón del Atlántico) entre *Caligus rogercresseyi* y su potencial de transmisión del virus ISA.

Objetivo Específico 1. Metodología.

Objetivo Especifico	Efectuar una revisión bibliográfica nacional e internacional respecto el estado del arte en relación al conocimiento de los patógenos PS e ISAv y las enfermedades que provocan.
Descripción:	Un aspecto fundamental para poder llevar a cabo un estudio como este es delimitar el punto de partida de cada tema y para ello es necesario revisar detalladamente la bibliografía científica disponible, los nuevos avances en la materia y hacer con esto un documento (ficha técnica) que permita sentar las bases sobre las cuales se trabajará durante el proyecto.

N°	Descripción de la actividad	Hitos de la Actividad	Estatus	Tablas	Anexos
1	Búsqueda de Documentos nacionales	Listado de documentos	Completa	N/A	N/A
2	Búsqueda de documentos internacionales	Listado de documentos	Completa	N/A	N/A
3	Búsqueda de actas de congresos	Listado de documentos	Completa	N/A	N/A
4	Revisión de Información	-	Completa	N/A	N/A
5	Desarrollo de Ficha técnica de cada enfermedad	Ficha técnica por enfermedad	Completa	N/A	N/A

Actividades 1, 2 y 3 objetivo especifico 1.

Se realizó una completa revisión documental de los temas solicitados, usando para ello SCOPUS, que es considerada la mayor base de datos a nivel mundial de resúmenes y citas de la literatura revisada por pares, incluyendo revistas científicas, libros y actas de congresos. Adicionalmente se revisaron protocolos de las técnicas de diagnóstico más utilizadas por las entidades de investigación y laboratorios de la red del Servicio, tanto para PS como para ISAv, las cuales se sometieron a una evaluación técnica teórica por parte del laboratorio con la finalidad de detectar las ventajas y desventajas de cada una de ellas y de esa manera se definió cuáles de estas técnicas cumplen, de mejor manera, los objetivos propuestos por los Programas Sanitarios Específicos de Vigilancia y Control correspondientes a cada enfermedad.

En forma paralela se hizo una revisión completa de las directrices diagnósticas del Instituto Noruego Veterinario como laboratorio de referencia mundial OIE para ISAv y las directrices de los laboratorios de diagnóstico e investigación con trayectoria reconocida en el caso de PS.

Actividades 4 y 5 objetivo específico 1.

Las revisiones realizadas en las actividades anteriores de la etapa permitieron generar material suficiente para el desarrollo de una ficha técnica de cada enfermedad, las cuales contienen los últimos avances en la materia (ISA y PS) tanto de la enfermedad como de sus agentes etiológicos y metodologías diagnósticas.

Resultados Objetivo 1 actividades 4 y 5.

Ficha Técnica Anemia Infecciosa del Salmón.
(*Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón*)

Ámbito de aplicación

A los efectos de esta ficha técnica, la infección por el virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) es una infección por un ISAV "otros HPR" (con deleción de la región altamente polimórfica HPR) o bien por un ISAV HPR0 (es decir, sin deleción de la HPR), perteneciente al género *Isavirus* de la familia *Orthomyxoviridae.*

La infección por el ISAV "otros HPR" podría causar anemia infecciosa del salmón (ISA) en salmón del Atlántico (*Salmo salar*), que es un trastorno generalizado y letal caracterizado por una anemia grave y grados variables de hemorragias y necrosis en varios órganos. El curso de la enfermedad se prolonga y la mortalidad diaria es baja (0,05-0,1%), habitualmente solo en unas pocas jaulas. La mortalidad acumulada puede llegar a ser muy alta durante un periodo de varios meses si no se actúa a tiempo para reducir la propagación de la enfermedad (Rimstad *et al.,* 2011).

La detección del ISAV HPR0 nunca se ha relacionado con la ISA en el salmón del Atlántico (Christiansen *et al.,* 2011). El genotipo de este virus se replica de forma transitoria y se ha localizado principalmente, pero no en forma exclusiva, en las branquias. Varios autores han propuesto una relación entre el ISAV HPR0 no patógeno y el ISAV "otros HPR" patógeno, y pueden producirse brotes como consecuencia del surgimiento de ISAV "otros HPR" a partir de ISAV HPR0 (Cunningham *et al*., 2002; Mjaaland, *et al*., 2002; Cárdenas *et al*., 2014).

1. Información sobre la enfermedad

1.1. Factores del agente

1.1.1. El agente patógeno, cepas del agente

El ISAV es un virus con envoltura, de tamaño variable entre 100-130 nm de diámetro, con un genoma formado por ocho segmentos de ARN monocatenario con polaridad negativa (Dannevig *et al.,* 1995). El virus tiene actividad hemoaglutinante, destructora de receptores y de fusión (Falk *et al*., 1997; Mjaaland *et al*., 1997; Rimstad *et al*., 2011).

Las propiedades morfológicas, fisicoquímicas y genéticas del ISAV coinciden con las de los *Orthomyxoviridae* y se ha clasificado al ISAV como la especie tipo del nuevo género *Isavirus* (Kawaoka *et al*., 2005) dentro de esta familia de virus. Se ha descrito la secuencia de nucleótidos de cada uno de los ocho segmentos genómicos, que codifican al menos diez proteínas (Clouthier *et al.,* 2002; Rimstad *et al*., 2011), incluidas las secuencias no codificantes 3' y 5' (Kulshreshtha*et al.,* 2010). Se han identificado cuatro proteínas estructurales principales, incluyendo una nucleoproteína de 68 kDa, una proteína de la matriz de 22 kDa, una

hemoaglutinina-esterasa (HE) de 42 kDa responsable de la unión a receptor y de la actividad destructora de receptor, y una glicoproteína de superficie de 50 kDa con capacidad potencial de adsorción (F), que están codificadas en los segmentos genómicos 3, 8, 6, y 5, respectivamente. Los segmentos 1, 2 y 4 codifican las polimerasas vírales PB2, PB1 y PA. Los dos segmentos genómicos más pequeños, el 7 y el 8, contienen cada uno dos marcos abiertos de lectura (ORF). El ORF1 del segmento 7 codifica una proteína con propiedades de antagonización del interferón tipo I, mientras que se ha sugerido que el ORF2 codifica una proteína nuclear de exportación (NEP). Todavía no está claro si el producto del gen del ORF1 es un componente no estructural o estructural del virión. El ORF1 más pequeño del segmento 8 codifica la proteína de la matriz, mientras que el ORF2 más grande codifica una proteína estructural de unión al ARN que también tiene propiedades de antagonización del interferón tipo I.

El análisis de la secuencia de distintos segmentos de genes ha puesto de manifiesto diferencias entre cepas tanto dentro como entre zonas geográficas definidas. En función de estas diferencias en la secuencia de la región 5' del gen HE, las cepas del ISAV se han clasificado en dos grupos principales, el europeo y el norteamericano. En el gen HE, se ha identificado una pequeña región altamente variable o HPR, por sus siglas en inglés, cerca del dominio transmembrana. Esta región se caracteriza por la presencia de deleciones más que por sustituciones de un solo nucleótido (Cunningham *et al*., 2002; Mjaaland *et al*., 2002). Estas deleciones dan origen a más de 35 variantes del virus que van desde el HPR0 que presenta la región completa hasta el HPR7b que presenta una deleción de 23 aminoácidos (Cardenas *et al.,* 2014). Se ha sugerido que un gen de longitud total (HPR0) constituye un precursor a partir del cual se originan todas las variantes patógenas del ISAV con HPR delecionadas. Se ha observado la presencia de genoma de ISAV HPR0 no patógeno tanto en salmón del Atlántico silvestre como en el de cultivo, ambos aparentemente sanos, pero no se ha detectado en peces con enfermedad clínica ni con signos anatomopatológicos compatibles con ISA (Christiansen *et al*., 2011; Cunningham *et al*., 2002; Lyngstad *et al*., 2012; Markussen *et al*., 2008; McBeath *et al*., 2009; Nylund *et al*., 2007). Se ha observado una infección mixta con variantes de "otros HPR" y de HRP0 (Kibenge *et al.,* 2009; Cárdenas *et al*., 2014). En estudios recientes se ha observado que las variantes de ISAV HPR0 son frecuentes en el salmón del Atlántico criado en el mar. La cepa de ISAV HPR0 parece tener un perfil más estacional y transitorio y presentar un tropismo tisular con alta prevalencia en las branquias (Christiansen *et al.*, 2011; Lyngstad *et al*., 2011). Hasta la fecha no se han publicado pruebas directas de relación entre la presencia del ISAV HPR0 y un posterior brote de ISA clínico. El riesgo de aparición de variantes patógenas del ISAV con HPR delecionada a partir de un reservorio de ISAV HPR0 se considera bajo, pero no insignificante (Christiansen *et al*., 2011; EFSA, 2012; Lyngstad *et al.,* 2012).

Además de las variaciones observadas en la HPR de gen HE, existe evidencia de que otro segmento génico

(el 5 que codifica para la proteína de fusión (F)), estaría relacionado con la virulencia por medio de dos eventos principales. El primero es una inserción cerca del sitio de segmentación de la proteína y el segundo es la sustitución de un aminoácido clave (Glutamina Q_{266}/Leucina L) (Kibenge *et al.,* 2007; Markussen *et al.,* 2008; Cárdenas *et al.*, 2014). Las variantes patogénicas presentan una de las cuatro diferentes inserciones (IN1-IN4) o la sustitución del aminoácido Q_{266} por L. La variante no patogénica (HPR0) se asocia a la ausencia de inserto y presencia de Q_{266} (Cárdenas *et al.*, 2014).

El ISAV, además de la inserción/sustitución, también usa la recombinación de segmentos génicos en su evolución, con posibles vínculos con la virulencia. (Devold *et al*., 2006; Markussen *et al*., 2008; Mjaaland *et al*., 2005).

2.1.2. Supervivencia fuera del hospedador

Se ha detectado ISAV mediante reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) en agua de mar muestreada en centros de cultivo con salmones del Atlántico positivos al ISAV (Kibenge et al., 2004). Es difícil realizar una estimación exacta del tiempo que el virus puede permanecer infeccioso en el medio natural, por varios motivos, como la presencia de partículas o sustancias que podrían ligar o inactivar el virus, sin embargo, estudios recientes demuestran que ha sido imposible detectar RNA viral más allá de 100 metros de un sitio infectado, y además, la supervivencia de la partícula en agua de mar no sobrepasaría las 3 horas (Vike *et al.*, 2014). La exposición de ISAV propagado en cultivo celular a 15°C durante 10 días o a 4°C durante 14 días no ejerció ningún efecto en la infectividad del virus (Falk *et al*., 1997).

2.1.3. Estabilidad del agente (métodos eficaces de inactivación)

El ISAV es sensible a la radiación UV (UVC) y al ozono. Se obtuvo una reducción de 3 niveles logarítmicos en la infectividad en agua dulce estéril y en agua de mar con una dosis de UVC de alrededor de 35 Jm^{-2} y 50 Jm^{-2}, respectivamente, mientras que el correspondiente valor para el ISAV en aguas residuales de una planta de procesado de peces fue de unos 72 Jm^{-2}. El agua de mar ozonizada (4 minutos con 8 mg/ml, 600-750 mV de potencial redox) podría inactivar el ISAV por completo. La incubación de homogenizado de tejido procedente de peces enfermos de ISA a pH 4 o pH 12 durante 24 horas inactivó la infectividad del ISAV. La incubación en presencia de cloro (100 mg/ml) durante 15 minutos también inactivó el virus (Rimstad *et al*., 2011). El ISAV aislado en cultivo celular puede sobrevivir durante semanas a bajas temperaturas, pero la infectividad del virus se pierde en 30 minutos de exposición a 56°C (Falk *et al*., 1997).

2.1.4. Ciclo de vida

Es probable que la principal vía de transmisión sean las branquias, tanto en el caso del ISAV HPR0 como en caso del ISAV "otros HPR", pero no puede excluirse la infección por el intestino o la piel. Se ha utilizado ISAV "otros HPR" en estudios donde las células endoteliales que revisten vasos sanguíneos parecen ser las principales células blanco del ISAV, como se ha comprobado mediante microscopía electrónica, inmunohistoquímica e hibridación *in-situ.* También se ha observado replicación del virus en leucocitos, y los macrófagos sinusoides del tejido renal presentan tinción positiva para el ISAV al utilizar inmunohistoquímica (IHC). Dado que las células endoteliales son las células blanco (véase el apartado 2.2.4), puede producirse replicación vírica en cualquier órgano (Aamelfot *et al.,* 2012; Rimstad *et al*., 2011).

La molécula del ISAV con actividad hemaglutinina-esterasa (HE), como la hemaglutinina (HA) de otros ortomixovirus (virus influenza A, B y C) es crucial para la unión del virus a restos de ácido siálico de la superficie celular. En el caso del ISAV, la partícula vírica se une a receptores de glicoproteína que contienen residuos de ácido siálico 4-O-acetilado, que también funciona como sustrato para la enzima destructora de receptores. La posterior captación y replicación parecen seguir la vía descrita para los virus de la influenza A, como lo indican una adsorción dependiente de un pH bajo, la inhibición de la replicación por la actinomicina D y la α-amanitina, la acumulación temprana de nucleoproteína seguida de la proteína de la matriz en el núcleo y la gemación de viriones progenie a través de la superficie celular (Cottet *et al*., 2011; Rimstad *et al.,* 2011).

La vía de excreción del ISAV de peces infectados puede ser por las excreciones/secreciones naturales.

No se ha aislado eficientemente la variante HPR0 en cultivo celular, lo cual obstaculiza los estudios *in vivo* e *in vitro* de las características y del ciclo de vida de esta variante del virus.

2.2. Factores del hospedador

2.2.1. Especies hospedadoras susceptibles

Solo se han registrado brotes naturales de ISA en salmón del Atlántico de cultivo, y en salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*) en Chile (Kibenge *et al*, 2001). Mediante RT-PCR se han identificado salmones del Atlántico y trucha café (*S. trutta*) infectados subclínicamente (Kibenge *et al*., 2004; Plarre *et al*., 2005). En peces de mar, la detección del ISAV mediante RT-PCR se ha notificado en tejidos de carbonero (*Pollachius virens*) y de bacalao (*Gadus morhua*), pero solo en peces obtenidos de jaulas con salmón del Atlántico que presentaran ISA (MacLean SA *et al*., 2003). Tras la infección experimental mediante inmersión en baño, se ha detectado el ISAV mediante RT-PCR en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) (Biacchesi *et al*., 2007) y en arenque del Atlántico (*Clupea harengus*), en el segundo caso en una posterior transmisión a salmón del Atlántico. Se han realizado intentos de inducir la infección o la enfermedad en carbonero, *Pollachius virens,*

pero con resultados negativos.

2.2.2. Fases susceptibles de la vida del hospedador

En el salmón del Atlántico, los brotes de enfermedad se observan principalmente en jaulas de agua de mar, en el estadio de agua dulce se han observado solo unos pocos casos, incluido un caso en alevines de saco vitelino (Rimstad *et al*., 2011). Se ha inducido experimentalmente ISA tanto en alevines como en juveniles de salmón del Atlántico mantenidos en agua dulce. La genética también puede, supuestamente, desempeñar un importante papel en la susceptibilidad y/o resistencia del salmón del Atlántico al ISA, ya que se han observado diferencias de susceptibilidad entre distintos grupos familiares (Kjøglum *et al.*, 2006; Hetland *et al.*, 2010).

2.2.3. Especies o subpoblaciones predilectas (probabilidad de detección)

La ISA es principalmente una enfermedad del salmón del Atlántico, no obstante el ISAV puede estar presente en peces marinos silvestres, sin embargo, no hay evidencia en términos de resultados que soporte esta hipótesis ya que reservorios marinos locales no explican los patrones de distribución de ISAV ni en Noruega ni en Chile ni en salmón cultivado en Europa (Nylund et al,. 2007; Vike et al,. 2009; Plarre et al., 2012)

Los reservorios más probables del ISAV son el Salmon del Atlántico en sí mismo (fecas) y el salmón silvestre, entre ellos sobretodo la trucha café (*salmo trutta*) y el mismo salmón del atlántico (*S. salar*). Reservorios de ictiofauna juegan un papel importante en los brotes de ISA (30% de los casos corresponden a casos de centros vecinos en donde el virus pudo propagarse en la columna de agua). El 70% restante de los casos podrían deberse a: (a) el movimiento de infraestructura (barcos), (b) los peces silvestres que portan variantes no virulentas (HPR0) y que al infectar a peces de cultivo se vuelve virulenta (no cuantificado) y (c) transmisión vertical que se expresa en fase marina (Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2007). Mayores detalles pueden consultarse en los puntos 2.2.1.; 2.2.5.; 2.2.6. y 2.2.7. de este mismo documento.

2.2.4. Órganos diana y tejidos infectados

En el caso de los peces que han desarrollado ISA todas las células endoteliales de todos los órganos (branquias, corazón, hígado, riñón, bazo y otros) resultan infectadas (Aamelfot *et al.,* 2012). Las variantes de ISAV con HPR0 parecen tener por blanco principalmente las branquias, pero esta variante también se ha detectado en el riñón y en el corazón (Christiansen *et al*., 2011; Lyngstad *et al.,* 2011).

2.2.5. Infección persistente con portadores de por vida

En salmón del Atlántico no se ha documentado infección persistente en portadores de por vida, pero a nivel de centros de cultivo la infección puede persistir en la población mediante la infección continua de nuevos peces que no desarrollan signos clínicos de la enfermedad. Esto puede incluir infección con las variantes HPR0, que parece ser de naturaleza meramente transitoria (Christiansen *et al*., 2011; Lyngstad *et al*., 2011). La infección experimental de la trucha arco iris y la trucha café con ISAV indica que en estas especies podría tener lugar una infección persistente (Rimstad *et al*, 2011).

2.2.6. Vectores

Aunque aún no se han identificado vectores naturales, existe un numero amplio de posibles vectores en ciertas condiciones definidas (revisado por Rimstad *et al.*, 2011). Un ejemplo de ello es que en condiciones experimentales se ha observado la transferencia pasiva del ISAV por los piojos del salmón (*Lepeophtheirus salmonis y Caligus rogercresseyi*). Asimismo recientes estudios han demostrado que *Caligus rogercresseyi* en estado adultos son un vector mecánico pero no biológico para el virus, mientras que el virus no es detectable en los estados larvarios ni juveniles del parasito, incluso cuando estos provienen de hembras infectadas, descartando de esta manera la transmisión vertical del virus desde parásitos adultos a su descendencia (Oelckers *et al,.* 2014).

2.2.7. Animales acuáticos silvestres portadores o sospechosos de serlo

Tanto el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) como la trucha marina (*S. trutta*) salvajes pueden ser portadores del ISAV (Rimstad *et al*., 2011). La importancia de los peces marinos (véase el apartado 2.2.1) como portadores del virus debe aclararse. Los resultados de un estudio de las Islas Faroe indica la posible presencia de un reservorio marino desconocido para este virus (Christiansen *et al*., 2011).

2.3. Patrón de la enfermedad

2.3.1. Mecanismos de transmisión

Según estudios de epidemias recurrentes de ISA en distintas zonas de producción de salmón se llega a la conclusión de que el virus se extiende localmente entre lugares contiguos. La proximidad a lugares con brotes de ISA conlleva un riesgo muy importante, y el riesgo de un centro de cultivo susceptible aumenta cuanto más cerca se encuentra de un centro de cultivo infectado. El análisis de la secuencia del ISAV de brotes de ISA de Noruega ha mostrado un alto grado de similitud entre virus aislados de lugares cercanos afectados

por ISA, lo cual respalda aún más la hipótesis de la transmisión del ISAV entre lugares cercanos. El riesgo de transmisión del ISAV depende del nivel de las medidas de bioseguridad de la zona. Las vías de transmisión del ISAV sugeridas son el agua de mar, el movimiento de peces vivos, la transmisión por piojos de mar, y por los salmónidos silvestres infectados (Aldrin *et al.*; 2011; Gustafson *et al*.; 2007; Lyngstad *et al*.; Mardones *et al.,* 2011; 2011; Rimstad *et al*., 2011; Oelckers *et al,.* 2014; Vike *et al.*, 2014).

Muchos brotes de ISA de Noruega parecen estar aislados en el espacio y en el tiempo de otros brotes con fuentes desconocidas de infección (Aldrin *et al*., 2011). Una de las hipótesis sugeridas es que podría haber una transición ocasional de ISAV de HPR0 a variantes de "otros HPR", que causara brotes aislados o epidemias locales mediante transmisión local (Lyngstad *et al* 2011). El riesgo de aparición de variantes del ISAV "otros HPR" a partir de un reservorio de ISAV HPR0 se considera bajo, pero no insignificante (EFSA, 2012). Todavía no se ha demostrado la existencia de una relación entre variantes del ISAV HPR0 y variantes "otros HPR".

Dado que el ISAV también se ha notificado en lugares de producción de smolt de salmón del Atlántico, no puede excluirse la transmisión del ISAV de progenitores a descendencia. Aunque no existen pruebas de una verdadera transmisión vertical, los huevos y los embriones podrían suponer un riesgo de transmisión si no se aplican suficientes medidas de bioseguridad (Mardones *et al.,* 2014; Rimstad *et al*., 2011). En un reciente estudio (Marshall et al., 2014) detecta virus infectivo tanto en fluido ovárico como en el interior de un grupo de ovas provenientes de un reproductor infectado sistémicamente con una variante delecionada de ISAV (HPR3) pero totalmente asintomático, aportando por un lado, la primera evidencia sólida que demuestra la transmisión vertical de virus infectivo de la madre a su descendencia y por otro lado la transmisión asintomática de una forma patogénica del virus en peces de agua dulce.

2.3.2. Prevalencia

En una jaula de red que contenga peces enfermos, la prevalencia de ISAV con "otros HPR" puede variar mucho, mientras que en jaulas adyacentes el ISAV puede ser difícil de detectar, incluso mediante los métodos más sensibles. Por tanto, en los estudios de diagnóstico es importante muestrear de compartimientos que contengan peces enfermos.

Cada vez hay más pruebas de que la prevalencia de la HPR0 podría ser alta en zonas de producción de salmón del Atlántico. El ISAV HPR0 en el salmón del Atlántico parece ser una infección estacional y transitoria (Christiansen *et al*., 2011). También se ha detectado ISAV HPR0 en salmónidos y en truchas arco iris silvestres (revisado por Rimstad *et al*., 2011).

2.3.3. Distribución geográfica

Notificado por primera vez en Noruega a mediados de los años 1980 (Thorud y Djupvik, 1988), la ISA se ha notificado desde entonces en salmón del Atlántico de Canadá (New Brunswick en 1996), el Reino Unido (Escocia en 1998), las islas Faroe (2000), EE.UU. (Maine en 2001) y en Chile (2007) (Cottet *et al*., 2010; Rimstad *et al*., 2011). En todos los países en que ha tenido lugar ISA se ha documentado la presencia de la variante HPR0.

2.3.4. Mortalidad y morbilidad

Durante los brotes de ISA, la morbilidad y la mortalidad pueden variar en gran medida en una misma jaula y entre distintas jaulas de centros de cultivo de agua salada, y entre distintos centros de cultivo. La morbilidad y la mortalidad en el interior de una jaula puede empezar en niveles muy bajos. Lo habitual es que la mortalidad diaria oscile entre el 0,5% y el 1% en las jaulas afectadas. Sin intervención, la mortalidad aumenta y parece alcanzar el pico a principios de verano y en invierno. El intervalo de mortalidades acumuladas durante un brote va de insignificante a moderada, pero en los casos graves puede tener lugar una mortalidad acumulada superior al 90% durante varios meses. Inicialmente, un brote de ISA puede limitarse a una o dos jaulas a lo largo de un periodo prolongado. En estos casos, si las jaulas con ISA clínico se sacrifican de inmediato, puede prevenirse la aparición de ISA clínico en otras jaulas de ese lugar. En los brotes en los que se han infectado smolt en barcos durante el transporte, pueden tener lugar a brotes simultáneos.

2.3.5. Factores ambientales

En general, los brotes de ISA tienden a ser estacionales, y la mayoría tiene lugar a finales de primavera y a finales de otoño; no obstante, pueden aparecer en cualquier momento del año. La manipulación de peces (como la clasificación o el tratamiento, los desdobles o el movimiento de jaulas) puede iniciar brotes de enfermedad en centros de cultivo infectados, sobre todo si con anterioridad han tenido lugar problemas crónicos no diagnosticados (Lyngstad *et al*., 2008).

2.4. Control y prevención

2.4.1. Vacunación

Dependiendo de la edad y tamaño de los peces las vacunas se administran por vía oral (mediante la mezcla con el alimento) o por inyección a través de la vía intraperitoneal (i.p.). (Magnadottir B., 2010). Sin embargo, analizado desde el punto de vista aplicado, a pesar de que hay algunas vacunas comerciales que protegen contra algunos virus, es muy necesario ampliar el conocimiento del sistema inmunitario de estos organismos, de tal manera que permita incrementar la productividad e inocuidad de esta práctica, mediante el desarrollo de nuevos métodos de estimulación inmunitaria y vacunación más eficaces (Rubio-Godoy M., 2010).

La vacunación contra la ISA se ha llevado a cabo en Norteamérica y en las islas Faroe durante los últimos 6 años. En Noruega la vacunación contra ISA se llevó a cabo por primera vez en 2009 en una zona con una alta frecuencia de brotes de ISA, y Chile empezó la vacunación contra la ISA en 2010. No obstante, las vacunas actuales no parecen ofrecer una protección completa en el salmón del Atlántico.

2.4.2. Tratamiento con sustancias químicas

Más recientemente, se ha comprobado que el fármaco antivírico de amplio espectro ribavirina (1-β-D-ribofuranosil-1,2,4-triazol-3-carboxamida) es eficaz para inhibir la replicación del ISAV tanto *in vitro* como *in vivo* (Rivas-Aravena *et al.,* 2011).

2.4.3. Inmunoestimulación

Como grupo, los peces representan una aparente encrucijada entre la respuesta inmunitaria innata y la aparición de una respuesta inmunitaria adaptativa. La mayoría de los órganos inmunitarios de los mamíferos tienen sus homólogos en los peces. Sin embargo, su menor complejidad estructural limita la capacidad para generar una respuesta inmunitaria completamente funcional frente a la invasión de patógenos. Esto hace

pensar que la capacidad de los peces para generar respuestas inmunitarias exitosas se basa principalmente en la robustez aparente de la respuesta innata de los peces, sobre la adaptativa (Tort *et al.,* 2003).

La acuicultura en la última década, ha crecido a nivel mundial aproximadamente en un 6%, lo que ha conllevado a un aumento de las densidades poblacionales de peces en sistemas confinados, y como consecuencia, altos niveles de estrés, que se traducen en una eficiencia reducida de su rudimentario sistema inmune, lo que a su vez hace que los peces sean más vulnerables a las infecciones por agentes patógenos. Para contrarrestar lo anterior es que se han desarrollado gran cantidad de probioticos, los cuales han demostrado ser, en algunos casos, eficientes. En términos concretos, estos son microorganismos vivos que por lo general cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio de salud en el huésped (Nayak S.K., 2010). Hoy en día, los probióticos también se están convirtiendo en una parte integral de las prácticas de acuicultura para obtener una alta producción. Entre los numerosos beneficios para la salud atribuidos a estos, la modulación del sistema inmune es uno de los beneficios más comúnmente pretendido de estos productos y su potencia para estimular la inmunidad sistémica y local *in vitro* y en condiciones *in vivo* es digno de mención (Nayak S.K., 2010; Sakai M., 1999), sin embargo, no se encontraron evidencias fácticas de su prueba, uso y/o eficiencia en el caso del ISA.

2.4.4. Selección genética a favor de la resistencia

Se han observado diferencias de susceptibilidad entre distintos grupos familiares de salmón del Atlántico en agua dulce en pruebas de desafío y en pruebas de campo, lo cual indica el potencial de la selección genética a favor de la resistencia (Gjøen et al., 1997; Kjøglum *et al.*, 2006; Hetland *et al.*, 2010).

2.4.5. Repoblación con especies resistentes

No es aplicable. Sin perjuicio de ello y tal como se mencionó en el punto anterior (2.4.4.) existe potencialidad de repoblación con familias más resistentes, sin embargo, este tema se considera aun en desarrollo.

2.4.6. Agentes bloqueantes

Al momento de finalizar la revisión no se encontró información validada y publicada al respecto, por lo que se considera “No aplicables”.

2.4.7. Desinfección de huevos y larvas

La desinfección de huevos según los procedimientos estándar se sugiere como importante medida de control. La práctica de desinfección de ovas de salmónidos en centros de cultivo resulta fundamental para garantizar que las enfermedades endémicas no se transfieran entre incubadoras ni entre instalaciones, y forma parte

integrante de los protocolos de higiene de rutina de éstos centros. El proceso de desinfección también es importante cuando se comercializan ovas de salmónidos entre zonas o países para prevenir la transferencia de algunos agentes patógenos. Si bien el uso de desinfectantes suele ser eficaz para la desinfección del corion de la ova y de los fluidos de reproducción, esto no previene la transmisión vertical.

Las ovas de salmónidos se pueden desinfectar utilizando algunos agentes químicos. El método comúnmente utilizado es la desinfección con povidona yodada, un producto a base de yodo.

Los iodóforos, comúnmente soluciones de povidona yodada, tienen la ventaja de suministrar un pH neutro, no ser irritantes y ser relativamente poco tóxicos. El pH neutro es importante para minimizar la toxicidad y lograr una mayor eficacia. Se recomienda seguir las instrucciones del fabricante con el fin de identificar las circunstancias en las que el pH sea motivo de preocupación. Si se utilizan otros iodóforos para la desinfección, es esencial que hayan sido adecuadamente tamponados.

2.4.7.1. Protocolo de desinfección para las ovas de salmónidos

Este protocolo de desinfección se puede aplicar a las ovas de salmónidos recientemente fertilizados o embrionadas. Sin embargo, las ovas recientemente fertilizadas deben haber iniciado su endurecimiento antes de someterse al protocolo de desinfección. Si bien existe un margen de seguridad considerable para las ovas endurecidas, el protocolo de desinfección no se recomienda para los óvulos no fertilizados o durante la fertilización. Es esencial que el pH de la solución yodada se mantenga entre 6 y 8.

Para desinfectar los huevos de salmónidos se deberá seguir el siguiente protocolo de desinfección: enjuague con una solución salina al 0,9% libre de agentes patógenos (30-60 segundos) para remover los restos de material orgánico; inmersión en una solución yodada de 100 ppm de yodo disponible durante un mínimo de 10 minutos. La solución yodada se debe utilizar sólo una vez. La proporción de huevos respecto a la solución yodada deberá ser como mínimo de 1:4; nuevo enjuague en una solución salina al 0,9% libre de agentes patógenos durante 30-60 segundos; mantenimiento en agua libre de agentes patógenos.

Todas las soluciones de enjuague y desinfección deberán prepararse usando agua libre de agentes patógenos. Las soluciones podrán tamponarse con bicarbonato de sodio ($NaHCO3$) si el pH es bajo.

2.4.8. Prácticas generales de manejo

La incidencia de la ISA puede reducirse mediante la implementación de medidas legislativas o prácticas de manejo relativas al desplazamiento de peces, controles sanitarios obligatorios y reglamentación sobre transporte y sacrificio. También pueden contribuir a reducir la incidencia de la enfermedad medidas

específicas que incluyan restricciones sobre centros de cultivo afectadas, sospechosas o próximas, el sacrificio sanitario obligatorio, la segregación generacional ("todo dentro/todo fuera"), así como la desinfección de los desechos y el agua residual de las pesquerías y las plantas de procesamiento de peces. La experiencia de las Islas Faroe, donde la prevalencia de la HPR0 es alta, pone de manifiesto que la combinación de una buena bioseguridad y unas buenas prácticas de manejo reduce considerablemente el riesgo de brotes de ISA.

3. Obtención de muestras

3.1. Elección de ejemplares

A continuación, se describe principalmente la verificación de casos que son sospechosos por los signos clínicos y las lesiones macroscópicas o por resultados positivos en la RT-PCR para ISAV "otros HPR".

Para la detección del ISAV HPR0, deben tomarse muestras de tejido de branquias en individuos escogidos aleatoriamente en distintos momentos del ciclo de producción. La detección de esta variante solo es posible mediante qRT-PCR.

3.2. Conservación de las muestras para su envío

- ✓ Hematología: Heparina o EDTA (ácido etilendiaminotetraacético)
- ✓ Cultivo celular: Medio de transporte para virus (L15 con antibióticos)
- ✓ Histología e inmunohistoquímica: Fijación en formalina neutra al 10% tamponada con fosfato
- ✓ Inmunofluorescencia (frotis): Se envían secados, o secados y fijados en acetona al 10%
- ✓ Biología molecular (qRT-PCR y secuenciación): Medio adecuado para la conservación del ARN (RNAlater u otros)

3.3. Combinación de varias muestras (conformación de pooles)

La combinación de varias muestras (conformación de pooles) es apropiado para el diagnóstico confirmatorio de ISAV patogénico de alta y baja prevalencia, sin embargo, debe tenerse en cuenta la influencia en la sensibilidad del ensayo cuando se habla de ISAV HPR0 de baja prevalencia (Hall *et al.*, 2014)

3.4. Órganos y tejidos de elección

3.4.1. Detección del ISAV "otros HPR"

La sangre es la muestra de elección para el muestreo no letal. En general, dado que la ISA es una infección generalizada, para las pruebas de diagnóstico deben utilizarse órganos internos no expuestos al medio.

- ✓ Examen virológico (cultivo celular y PCR): corazón (siempre se debe incluir) y riñón medio.
- ✓ Histología (priorizada): riñón medio, hígado, corazón, páncreas/intestino, bazo;
- ✓ Inmunofluorescencia (frotis): riñón medio;
- ✓ Inmunohistoquímica: riñón medio, corazón (incluyendo las válvulas y el bulbo arterioso).

3.4.2. Detección del ISAV HPR0

Deben analizarse branquias, corazón y riñón mediante qRT- PCR.

4. Métodos de diagnóstico

4.1. Métodos de diagnóstico de campo

4.1.1. Signos clínicos

Los signos más llamativos de la ISA son unas branquias pálidas (excepto en caso de estasis sanguínea en las branquias), exoftalmia, distensión abdominal, sangre en la cámara anterior del ojo y, a veces, hemorragias, sobre todo en el abdomen, así como edema en las escamas.

En general, el salmón del Atlántico infectado de forma natural por el ISAV con "otros HPR" está aletargado y puede estar cerca de la pared de la jaula (orillado).

Los peces afectados en general están en buen estado, pero los enfermos no tienen alimento en el tracto digestivo.

4.2. Evaluación anatomopatológica

4.2.1. Anatomopatología macroscópica

Los peces infectados por el ISAV con "otros HPR" pueden presentar gran variedad de alteraciones anatomopatológicas, según factores como la dosis infectiva, la cepa vírica, la temperatura, la edad y el estado inmunitario de los peces. Ninguna lesión es patognomónica del ISA, pero siempre hay anemia y perturbaciones circulatorias. Se ha descrito que los siguientes hallazgos son compatibles con la ISA, aunque casi nunca se observan todas las alteraciones a la vez en un solo pez.

- ✓ Líquido amarillento o sanguinolento en la cavidad peritoneal y pericárdica.
- ✓ Edema en la vejiga natatoria.
- ✓ Pequeñas hemorragias del peritoneo visceral y parietal.

- ✓ Hígado focal o difusamente rojo oscuro. En la superficie puede haber una fina capa de fibrina.
- ✓ Esplenomegalia y de color rojo oscuro con márgenes redondeados.
- ✓ Enrojecimiento oscuro de la mucosa de la pared intestinal en los sacos ciegos, intestino medio y posterior, sin sangre en el lumen intestinal de los ejemplares frescos.
- ✓ Renomegalia y de color rojo oscuro con sangre y líquido saliendo de las superficies de los cortes.
- ✓ Hemorragias puntuales (petequias) del músculo esquelético.

4.2.2. Bioquímica clínica

- ✓ Frotis de sangre con eritrocitos degenerados y vacuolizados y la presencia de eritroblastos con forma nuclear irregular. Los recuentos diferenciales presentan una reducción de la proporción de leucocitos respecto a los eritrocitos, en la cual la principal reducción es la de linfocitos y trombocitos.
- ✓ Hematocrito <10 en casos terminales (a menudo se observa 25–30 en casos menos avanzados). En los casos de salmón del Atlántico criado en agua de mar con un hematocrito <10 siempre deben realizarse pruebas para descartar la ISA.
- ✓ La hepatopatía conllevará un aumento de las concentraciones de enzimas hepáticas en la sangre.

4.2.3. Anatomía patológica microscópica

Las alteraciones histológicas en salmón del Atlántico clínicamente enfermo son variables, pero pueden consistir en las siguientes:

- ✓ Gran cantidad de eritrocitos en el seno venoso central y capilares de las laminillas, donde también se forman trombos de eritrocitos en las branquias.
- ✓ Hemorragias multifocales a confluentes y/o necrosis de hepatocitos a cierta distancia de vasos más grandes del hígado. Acumulaciones focales de eritrocitos en sinusoides hepáticos dilatados.
- ✓ Acumulación de eritrocitos en vasos sanguíneos de la lámina propia intestinal y finalmente hemorragia hacia el interior de la lámina propia.
- ✓ Estroma esplénico distendido por acumulación de eritrocitos.
- ✓ Ligera hemorragia intersticial difusa multifocal a extensa con necrosis tubular en las zonas hemorrágicas, acumulación de eritrocitos en los glomérulos renales.
- ✓ Eritrofagocitosis en el bazo y hemorragias secundarias en el hígado y el riñón.

4.2.4. Preparaciones húmedas

No son aplicables.

4.2.5. Frotis

Véase el apartado 4.3.1.1.2

4.2.6. Cortes fijados

Véase el apartado 4.3.1.1.3

4.2.7. Microscopía electrónica/citopatología

Se ha observado virus en tejidos de peces infectados, células endoteliales y leucocitos. Asimismo, en infecciones de líneas celulares susceptibles mediante microscopía electrónica utilizando incluso inmunomarcaje con oro coloidal, pero este método no se ha utilizado con fines de diagnóstico.

4.2.8. Diagnósticos diferenciales

Otros trastornos anémicos y hemorrágicos, como el síndrome de los cuerpos de inclusión eritrocitarios, la úlcera de invierno y septicemias causadas por infecciones por *Moritella viscosa.* Los casos de enfermedad en el salmón del Atlántico con hematocritos inferiores a 10 no son un hallazgo específico de la ISA, aunque en los casos de hematocrito tan bajo sin explicación evidente siempre deben comprobarse si presentan ISAV.

4.3. Métodos de detección e identificación del agente

4.3.1. Métodos directos de detección

A excepción de las técnicas moleculares (véase el apartado 4.3.1.2.3), estos métodos directos de detección solo se recomiendan para peces con signos clínicos de infección por ISAV con “otros HPR”.

4.3.1.1. Métodos microscópicos

4.3.1.1.1. Preparaciones húmedas

No son aplicables.

4.3.1.1.2. Frotis

####### 4.3.1.1.2.1. Prueba de inmunofluorescencia indirecta

Una prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) en la que se han utilizado anticuerpos monoclonales (MAbs) validados contra la hemaglutinina-esterasa (HE) del ISAV en frotis (por impronta) de riñón o en cortes de tejido congelado de riñón, corazón o hígado ha dado reacciones positivas en salmón del Atlántico infectado tanto experimentalmente como de forma natural. Los casos sospechosos (véase el apartado 7.1) se pueden confirmar con una IFAT positiva.

i) Preparaciones de frotis (por impronta) de tejidos

Se seca brevemente un trozo pequeño del riñón medio con papel absorbente para eliminar el exceso de líquido, y varias improntas en una zona del tamaño de la uña del dedo pulgar se fijan sobre portaobjetos recubiertos de poli-L-lisina. Las improntas se secan al aire, se fijan en acetona fría al 100% 10 minutos y se guardan a 4°C si son solos unos días o a -80°C hasta que se utilicen.

ii) Procedimiento de la tinción

Tras bloquear con leche desnatada en polvo al 5% con solución salina tamponada con fosfato (PBS) durante 30 minutos, las preparaciones se incuban 1 hora con una dilución adecuada de MAb anti-ISAV, y a continuación se lavan tres veces. Para la detección de anticuerpos unidos, las preparaciones se incuban con anticuerpos anti-Ig de ratón conjugados con isotiocianato de fluoresceína (ITCF) durante 1 hora. Para el lavado se utiliza PBS con Tween 20 al 0,1%. Todas las incubaciones se realizan a temperatura ambiente.

4.3.1.1.3. Cortes fijados

4.3.1.1.3.1. Inmunohistoquímica (IHQ)

Se utilizan anticuerpos policlonales contra el ISAV en cortes incluidos en parafina de tejido fijado en formalina. Esta tinción mediante IHQ ha dado reacciones positivas en salmón del Atlántico infectado tanto experimentalmente como de forma natural. Los órganos de elección son el riñón medio y el corazón (la zona de transición incluidas las tres cámaras y válvulas). Los casos sospechosos por signos anatomopatológicos se verifican con una IHQ positiva. Los cortes histológicos se preparan según los métodos estándar.

i) Preparación de cortes histológicos: Los tejidos se fijan en formalina neutra al 10% tamponada con fosfato durante al menos 1 día, se deshidratan en diluciones seriadas de etanol, se aclaran en xileno y se incluyen en parafina, según los protocolos estándar. Se calientan cortes de unos 5 µm de espesor (para la IHC se colocan sobre portas recubiertos de poli-L-lisina) a 56–58°C (máximo de 60°C) durante 20 minutos, se desparafinan en xileno, se rehidratan pasándolos por diluciones seriadas de etanol, y se tiñen con hematoxilina y eosina para la observar las lesiones anatomopatológicas y la IHC según se describe a continuación.

ii) Procedimiento de tinción para IHQ: Todas las incubaciones se llevan a cabo a temperatura ambiente sobre una plataforma oscilante, a no ser que se indique lo contrario:

a) La recuperación del antígeno se realiza hirviendo los cortes en tampón citrato 0,1 M pH 6,0 durante 2 x 6 minutos y bloqueándolos a continuación con una dilución de leche en polvo desnatada al 5% y un 2% de suero de cabra en TBS 50 mM (TBS; Tris/HCl 50 mM, NaCl 150

mM, pH 7,6) durante 20 minutos.

b) A continuación, se incuban los cortes toda la noche con anticuerpo primario (anticuerpo de conejo monoespecífico contra la nucleoproteína del ISAV) diluido con un 1% de leche en polvo desnatada, y después se lavan tres veces con TBS con Tween 20 al 0,1%.

c) Para la detección de anticuerpos unidos, los cortes se incuban con anticuerpos anti IgG de conejo conjugado con fosfatasa alcalina durante 60 minutos. Tras un lavado final, se añade Fast Red (1 mg/ml) y Naphtol AS-MX fosfato (0,2 mg/ml) con Levamisole 1 mM en TBS 0,1 M (pH 8,2) para el revelado durante 20 minutos. Después, los cortes se lavan en agua de grifo antes de aplicar la tinción de contraste con hematoxilina de Harris y se montan en medio de montaje acuoso. Se incluyen cortes de tejido positivos y negativos al ISAV como controles en cada realización.

iii) Interpretación: Los cortes de control negativos no deben presentar ninguna reacción de color importante. Los cortes de control positivos deben presentar una clara y visible tinción roja citoplasmática e intranuclear de las células endoteliales en los vasos sanguíneos o el endocardio del corazón. Un corte problema solo debe considerarse positivo si se observa una clara tinción roja intranuclear en las células endoteliales. La localización intranuclear es propia de la nucleoproteína del ortomixovirus durante una fase de la replicación del virus. A menudo domina una tinción citoplasmática simultánea. Las tinciones citoplasmáticas y otros patrones de tinción sin localización intranuclear deben considerarse inespecíficos o inconcluyentes.

Las reacciones de tinción positivas más fuertes se suelen obtener en células endoteliales del corazón y el riñón. Las reacciones de tinción endotelial en el interior de lesiones hemorrágicas muy extensas pueden ser ligeras o estar ausentes, posiblemente debido a una lisis de las células endoteliales infectadas.

4.3.1.2. Aislamiento e identificación del agente

4.3.1.2.1. Cultivo celular

Las células ASK (Devold *et al*., 2000) se recomiendan para el aislamiento primario, pero también pueden usarse otras líneas celulares susceptibles, como SHK-1 (Dannevig *et al*., 1995), aunque debe tenerse en cuenta la variabilidad de la cepa y la capacidad de replicación en distintas líneas celulares. Estas células parecen permitir el aislamiento y el crecimiento de las cepas víricas conocidas hasta ahora. En células ASK

puede aparecer un efecto citopático (ECP) más característico. Tanto la línea celular SHK-1 como la ASK parecen perder susceptibilidad al ISAV a medida que aumenta el número de pases.

Las células SHK-1 y ASK se cultivan a 20°C en medio de cultivo celular L15 de Leibovitz suplementado con suero fetal bovino (al 5% o 10%), L-glutamina (4 mM), gentamicina (50 µg ml–1) y 2-mercaptoetanol (40 µM) (este último se puede omitir).

Para el aislamiento del virus se pueden utilizar células cultivadas en botellas de cultivo de tejido de 25 cm^2 o en placas de cultivo celular multipocillo, que pueden sellarse con plástico autosellante o con un sellador de placas para estabilizar el pH del medio. Las células cultivadas en placas de 24 pocillos no crecen bien en monocapas, pero este rasgo puede variar entre laboratorios según el tipo de placas de cultivo celular utilizadas. Deben inocularse controles positivos con diluciones seriadas del ISAV al mismo tiempo que las muestras de tejido, como prueba de susceptibilidad de las células al ISAV (esto debe realizarse en un lugar distinto del que se utilice para las muestras problema).

i) Inoculación de monocapas celulares: Se prepara una suspensión al 2% de homogenizado de tejido utilizando medio L-15 sin suero u otro medio de probada idoneidad. Se retira el medio de crecimiento de las monocapas en crecimiento activo (cultivos de 1-3 días de edad o con un 70-80% de confluencia) cultivadas en frascos de cultivo de tejido de 25 cm^2 o en placas de cultivo celular multipocillo (véase arriba). Se inoculan las monocapas (frascos de cultivo tisular de 25 cm^2) con 1,5 ml del homogenizado de tejido. Se ajusta el volumen a la respectiva superficie utilizada. Se dejan incubar 3 a 4 horas a 15°C y después se retira el inóculo y se añade medio de crecimiento L-15 fresco suplementado con FCS al 2-5%. Como alternativa puede utilizarse una dilución a 1/1000 e inoculación directa sin sustitución del medio.

   Cuando las muestras de peces proceden de lugares de producción en los que el virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) se considera endémico, el sobrenadante del homogenizado tisular debe incubarse (durante un mínimo de 1 hora a 15°C) con un conjunto de antisueros contra los serotipos correspondientes del IPNV antes de la inoculación.

ii) Seguimiento de la incubación: A intervalos periódicos (al menos cada 7 días) se comprueba si los cultivos celulares inoculados (mantenidos a 15°C) presentan ECP. El ECP característico del ISAV es la presencia de células vacuolizadas que a continuación se redondean y se desprenden de la superficie del cultivo. Si aparece un ECP compatible con el descrito para el ISAV o el IPNV, debe recogerse una alícuota del medio para la identificación del virus, como se describe abajo. En el

caso de una infección por el IPNV, se re-inoculan células con sobrenadante de homogenizado tisular que haya sido incubado con una dilución menor de antisueros anti IPNV. Si no ha aparecido ECP pasados 14 días, se subcultiva en cultivos celulares frescos.

iii) Procedimiento del subcultivo: Se recogen alícuotas de medio (sobrenadante) de los cultivos primarios 14 días (o antes, si aparece ECP obvio) después de la inoculación. A efectos de vigilancia, se pueden combinar sobrenadantes de pocillos inoculados con distintas diluciones de muestras idénticas.

Se inoculan sobrenadantes en cultivos celulares frescos como se ha descrito para la inoculación primaria: se retira el medio de cultivo, se inoculan monocapas con un pequeño volumen de sobrenadante diluido (1/5 y diluciones más altas) durante 3-4 horas antes de añadir el medio fresco. Como alternativa, se pueden añadir sobrenadantes (diluciones finales de 1/10 o superiores) directamente a los cultivos celulares con medio de cultivo.

Los cultivos celulares inoculados se incuban durante al menos 14 días y se examinan a intervalos periódicos, como se ha descrito para la inoculación primaria. Al final del periodo de incubación, o antes si aparece ECP obvio, el medio se recoge para la identificación del virus, como se describe abajo. En los cultivos celulares sin ECP siempre debe comprobarse si hay ISAV mediante inmunofluorescencia (IFAT), hemadsorción o PCR, puesto que puede producirse replicación del virus sin que se observe ECP.

El procedimiento descrito ha resultado útil para el aislamiento del ISAV “otros HPR” a partir de peces con signos clínicos o de casos sospechosos, sin embargo, hasta ahora no se ha logrado el aislamiento de ISAV HPR0 eficientemente en cultivos celulares.

4.3.1.2.2. Métodos de detección del antígeno basados en anticuerpos

4.3.1.2.2.1. Identificación del virus mediante IFAT

Todas las incubaciones se llevan a cabo a temperatura ambiente a no ser que se indique lo contrario.

i) Se preparan monocapas de células en placas de cultivo tisular adecuadas (por ejemplo, placas de 96 o de 24 pocillos), en frascos portaobjetos o en cubreobjetos en función del tipo de microscopio del que se disponga (para las monocapas cultivadas sobre placas de cultivo tisular

es necesario un microscopio invertido equipado con luz UV). Las células SHK-1 crecen bastante peor sobre cubreobjetos de vidrio. Deben incluirse las monocapas necesarias como controles negativos y positivos.

ii) Se inoculan las monocapas con las suspensiones de virus a identificar en diluciones decimales, dos monocapas para cada dilución. Se añade un control de virus positivo en diluciones que se sepa que dan una buena reacción de tinción. Se incuban cultivos celulares inoculados a 15°C durante 7 días o, si aparece ECP, durante un periodo más corto.

iii) Se fijan en acetona al 80% durante 20 minutos tras retirar el medio de cultivo celular y lavarlos una vez con acetona al 80%. Se retira el fijador y se secan al aire durante 1 hora. Los cultivos celulares fijados pueden guardarse secos durante menos de 1 semana a 4°C o a -20°C durante periodos más largos.

iv) Se incuban las monocapas celulares con MAb anti ISAV en una dilución adecuada en PBS durante 1 hora, y se lavan dos veces con PBS/Tween 20 al 0,05%. Si se observa unión inespecífica, se incuban con PBS que contenga leche en polvo desnatada al 0,5%

v) Se incuban durante 1 hora con anticuerpos de cabra anti Ig de ratón y conjugados con ITCF, (o, en el caso de anticuerpos generados en conejos como anticuerpo primario, se utilizarán anticuerpos anti Ig de conejo conjugados con ITCF), según las instrucciones del proveedor. Para aumentar la sensibilidad, los anticuerpos de cabra anti Ig de ratón conjugado con ITCF pueden sustituirse por anticuerpos anti Ig de ratón marcado con biotina y estreptavidina marcada con ITCF con el lavado descrito antes del paso adicional. Se lava una vez con PBS/Tween20 al 0,05%, como se ha descrito anteriormente. Los núcleos se pueden teñir con yoduro de propidio a una concentración de 100 µg ml–1 en agua destilada estéril). Se añade PBS (sin Tween 20) y se examina con luz UV. Para evitar la decoloración, las placas teñidas deben guardarse en la oscuridad hasta que se examinen. Si es necesario guardarlas durante un largo periodo de tiempo (más de 2-3 semanas), puede añadirse una solución de 1,4-diazabiciclo octano (DABCO al 2,5% en PBS, pH 8,2) o un reactivo similar, como solución anti-decoloración.

4.3.1.2.3. Técnicas moleculares

4.3.1.2.3.1. Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR)

Los partidores descritos abajo para la RT-PCR y la PCR en tiempo real detectarán tanto el ISAV "otros HPR" europeo como el americano, así como el ISAV HPR0.

La RT-PCR se puede utilizar para la detección del ISAV a partir de ARN total (o ácido nucleico total) extraído

de los órganos/tejidos recomendados (véase el apartado 3.4). La RT-PCR en tiempo real para la detección del ISAV se recomienda porque aumenta la especificidad y, probablemente, también la sensibilidad de la prueba. Aunque se han notificado varios conjuntos de partidores para la RT-PCR en tiempo real de detección del ISAV, los conjuntos de partidores recomendados son los que se indican en la tabla. Los conjuntos de partidores derivados de los segmentos genómicos 8 y 7 se han utilizado en varios laboratorios y se ha observado que resultan útiles para la detección del ISAV durante brotes de la enfermedad y en peces portadores aparentemente sanos.

Con la aparición generalizada de variantes del ISAV HPR0, es fundamental realizar un seguimiento de los resultados positivos en la PCR basada en conjuntos de partidores del segmento 7 u 8 mediante secuenciación de la HPR del segmento 6 para determinar de qué variante del ISAV se trata en cada caso (“otros HPR“, HPR0 o ambas). En la siguiente tabla se indican los partidores adecuados, diseñados y validados por el Laboratorio de Referencia de la OIE. La validación del conjunto de partidores del HPR para las cepas aisladas en Norteamérica presenta la limitación de que en el Genbank se dispone de pocos datos relativos al extremo 3’ del segmento 6 del ISAV.

Los partidores de los segmentos 7 y 8, así como los partidores de secuenciación del segmento 6 HPR se indican a continuación y también pueden utilizarse para un RT-PCR convencional en caso necesario.

Tabla N°1. Partidores y Sondas para segmentos 7 y 8 según Snow et al., 2006 y para segmento 6 (HPR) según OIE Ref. Lab

RT-PCR en tiempo real: Secuencias de partidores y sondas	Denominación	Segmento genómico	Tamaño del producto	Referencia
5'-CAG-GGT-TGT-ATC-CAT-GGT-TGA-AAT-G-3'	Partidor For.	7	155 nt	Snow et al., 2006
5'-GTC-CAG-CCC-TAA-GCT-CAA-CTC-3'	Partidor Rev.			
5'-6FAM-CTC-TCT-CAT-TGT-GAT-CCC-MGBNFQ-3'	Sonda Taqman			
5'-CTA-CAC-AGC-AGG-ATG-CAG-ATG-T-3'	Partidor For.	8	104 nt	Snow et al., 2006
5'-CAG-GAT-GCC-GGA-AGT-CGA-T-3'	Partidor Rev.			
5'-6FAM-CAT-CGT-CGC-TGC-AGT-TC-MGBNFQ-3'	Sonda Taqman			
5'-GAC-CAG-ACA-AGC-TTA-GGT-AAC-ACA-GA-3'	Partidor For.	6 (HPR)	304 nt Si HPR0	Designed by OIE Ref. Lab.
5'-GAT-GGT-GGA-ATT-CTA-CCT-CTA-GAC-TTG-TA-3'	Partidor Rev.			

4.3.1.2.4. Purificación del agente

El ISAV propagado en cultivo celular puede purificarse mediante centrifugación con gradiente de sacarosa (Falk *et al*., 1997) o mediante purificación por afinidad utilizando perlas inmunomagnéticas recubiertas con MAb anti ISAV.

4.3.2. Métodos serológicos

Tanto el salmón del Atlántico como la trucha arco iris desarrollan una respuesta inmunitaria humoral a la infección con el ISAV. Se han creado ensayo inmunoenzimatico (ELISA) con virus purificado o lisados de cultivos celulares infectados con el ISAV para la detección de anticuerpos específicos del ISAV.

Los títulos de ELISA pueden ser muy altos y parecer bastante específicos de la nucleoproteína en inmunoelectrotransferencias (K. Falk, comunicación personal). La prueba no está estandarizada para la vigilancia ni el diagnóstico, pero puede utilizarse como complemento para la detección directa del virus y la enfermedad en casos ambiguos. Además, el nivel y la distribución de la seroconversión en una población infectada por el ISAV puede dar cierta información sobre la transmisión de la infección, sobre todo en casos en que no se vacuna, y en peces silvestres.

5. Idoneidad de las pruebas para cada uso previsto

Los métodos actualmente disponibles para la vigilancia dirigida de la infección por el ISAV "otros HPR" y para el diagnóstico de la ISA se detallan en la Tabla 5.1. Para la vigilancia de la infección por el ISAV de HPR0, la RT-PCR en tiempo real seguida de una secuenciación es el único método recomendado (no se incluye en la tabla). Las denominaciones utilizadas en la Tabla indican:

- a = el método es el recomendado por razones de disponibilidad, utilidad y especificidad y sensibilidad de diagnóstico;
- b = el método es estándar, con buena sensibilidad y especificidad de diagnóstico;
- c = el método tiene aplicación en algunas situaciones, pero el coste, la precisión u otros factores limitan seriamente su aplicación; y
- d = el método no se recomienda actualmente para este fin.

Esta clasificación es de alguna forma subjetiva ya que la idoneidad implica cuestiones de fiabilidad, sensibilidad, especificidad y utilidad. Aunque no todas las pruebas incluidas en las categorías a o b se han sometido a estandarización y validación formal, su naturaleza sistemática y el hecho de que se hayan usado generalmente sin resultados dudosos las hace aceptables.

Tabla N°2. Métodos de vigilancia dirigida y diagnóstico

Método	**Vigilancia dirigida de la infección por el ISAV "otros HPR"**				**Diagnóstico presuntivo de ISA**	**Diagnóstico confirmativo de ISA**
	Alevines	**Juveniles**	**Smolt**	**Adultos**		
Signos macroscópicos	d	d	d	d	c	b
Histopatología	d	d	d	b	b	b
IFAT en improntas de riñón	c	c	c	c	b	a
Inmunohistoquímica	c	c	c	c	b	a
Aislamiento en cultivo celular con identificación del virus	a	a	a	a	a	a
RT-PCR o RT-PCR en tiempo real seguida de secuenciación	a	a	a	a	b	a

*Dado que el diagnóstico de la ISA no se basa en los resultados de una sola prueba, la información de esta Tabla debe utilizarse con cautela. En el apartado 7 se indican los criterios de diagnóstico de la ISA

IFAT = prueba de inmunofluorescencia indirecta;

ME = microscopía electrónica;

RT-PCR = reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa.

6. Prueba(s) recomendada(s) para la vigilancia dirigida destinada a declarar la ausencia del virus de la anemia infecciosa del salmón

Cuando se observa una alta mortalidad asociada a uno de los signos clínicos dados y/o alteraciones anatomopatológicas compatibles con la ISA, las inspecciones sanitarias periódicas junto con pruebas de detección de la ISA son una forma eficiente de obtener datos sobre la aparición de la ISA en poblaciones de

centros de cultivos. Además de las inspecciones sanitarias periódicas, pueden llevarse a cabo pruebas de detección del ISAV "otros HPR", preferiblemente mediante metodología basada en la PCR, a determinados intervalos. Sin embargo, debido a la esperable baja prevalencia en poblaciones aparentemente sanas y a la propagación no uniforme de la infección dentro de un centro de cultivo determinado, deben analizarse muestras de un tamaño estadísticamente apropiado. No está clara la importancia de un hallazgo positivo de ISAV mediante una solo PCR en cuanto a riesgo de aparición de la ISA, y por tanto en todo hallazgo positivo deberá realizarse un seguimiento mediante otras pruebas y/o una vigilancia del lugar de producción.

Dado el perfil transitorio del ISAV HPR0, para poder documentar la ausencia de esta infección deben analizarse cantidades de muestras estadísticamente apropiadas en distintos momentos del ciclo de producción.

7. Criterios de diagnóstico confirmativo

A continuación, se indican motivos razonables de sospecha de que los peces estén infectados por el ISAV (con "otros HPR" o HPR0. Las autoridades competentes deben asegurarse de que, ante la sospecha de peces infectados por el ISAV en un centro de cultivo, debe llevarse a cabo una investigación oficial para confirmar o descartar la presencia de la enfermedad cuanto antes, aplicando inspección y exploración física, así como obteniendo y escogiendo muestras y aplicando los métodos de examen de laboratorio descritos en el apartado 4.

7.1. Definición de caso sospechoso ("otros HPR")

Se sospechará de ISA o de infección por el ISAV "otros HPR" si se cumple al menos uno de los siguientes criterios:

i) Signos clínicos compatibles con la ISA y/o alteraciones anatomopatológicas compatibles con la ISA (apartado 4.2) tanto si las alteraciones anatomopatológicas se asocian a signos clínicos de enfermedad como si no;

ii) Aislamiento e identificación del ISAV en un cultivo celular a partir de una sola muestra (buscada o aleatoria) de cualquier pez del centro de cultivo, como se describe en el apartado 4.3.1.2.1;

iii) Indicios de la presencia del ISAV en dos pruebas de laboratorio independientes, como la RT-PCR (apartado 4.3.1.2.3) y/o IFAT en improntas de tejido (apartado 4.3.1.1.2.1) o la IHQ (apartado 4.3.1. 1.3.1).

7.2. Definición de caso confirmado ("otros HPR")

7.2.1. Definición de ISA confirmada

Para confirmar un caso de ISA deben cumplirse los siguientes criterios: detección del ISAV en preparaciones de tejido mediante anticuerpos específicos contra el ISAV (IHQ en cortes fijados [apartado 4.3.1.1.3.1] o IFAT en improntas de tejido [apartado 4.3.1.1.2] o cortos fijados como se describe en el apartado 4.3.1.1.3) además de:

i) Aislamiento e identificación del ISAV en cultivo celular a partir de al menos una muestra de cualquier pez del centro de cultivo, como se describe en el apartado 4.3.1.2.1, o;

ii) detección del ISAV mediante RT-PCR por los métodos descritos en el apartado 4.3.1.2.3;

7.2.2. Definición de infección por el ISAV confirmada (“otros HPR”)

Para confirmar una infección por el ISAV “otros HPR” deben cumplirse los criterios de i) o ii).

i) Aislamiento e identificación del ISAV en cultivo celular de cualquier muestra de peces del centro de cultivo, como se describe en el apartado 4.3.1.2.1.

ii) Aislamiento e identificación del ISAV en cultivo celular de al menos una muestra de cualquier pez del centro de cultivo con indicios confirmativos del ISAV en preparaciones tisulares utilizando la RT-PCR (apartado 4.3.1.2.3) o IFAT/IHQ (apartados 4.3.1.1.2 y 4.3.1.1.3).

7.3. Definición de infección por el ISAV confirmada (HPR0)

Para confirmar la infección por el ISAV de HPR0 deben cumplirse los criterios del apartado i).

i) Detección del ISAV por RT-PCR seguida de una amplificación y secuenciación independientes de la región HPR del segmento 6 para confirmar la presencia de solo HPR0.

Ficha Técnica Piscirickettsiosis

(Piscirickettsia salmonis)

1. Información sobre la enfermedad

La piscirickettsiosis es una infección septicémica reportada en principio en salmónidos y posteriormente en otras especies de peces (Chen *et al.,* 2000b; Arkush *et al.,* 2005; Thomas & Faisal, 2009; Athanassopoulou *et al.*, 2004; McCarthy *et al.*, 2005; Contreras *et al.,* 2015). El agente causal de esta enfermedad es *Piscirickettsia salmonis*, y la cepa tipo es la LF-89 (ATCC VR-1361) (Fryer *et al*., 1992; Garces *et al*., 1991). La enfermedad se ha reportado en Chile (Bravo & Campos., 1989), Irlanda (Palmer *et al*. 1997; Rodger & Drinan., 1993), Noruega (Olsen *et al*., 1997) y tanto en la Costa Oeste como Este de Canadá (Jones *et al*., 1998), pero sin lugar a dudas en Chile es donde ha tenido el mayor impacto (Leal & Woywood, 2007)

1.1. Factores del agente

1.1.1. El agente patógeno, cepas del agente

El agente causal de la piscirickettsiosis es el microorganismo denominado actualmente como *Piscirickettsia salmonis*. Esta relación causal quedó demostrada en forma conclusiva mediante el aislamiento de esta bacteria como agente único desde peces que cursaban la enfermedad en forma natural y a través de ensayos posteriores en que se completaron los postulados clásicos de Koch, reproduciéndose la enfermedad y re-aislándose el agente en peces inoculados experimentalmente (Cvitanich *et al*., 1991; Fryer *et al*., 1990; Garcés *et al*., 1991).

El primer aislamiento de P. salmonis se realizó desde un salmón coho con signos clínicos de la enfermedad (Fryer *et al*., 1990) en cultivos celulares de la línea CHSE-214. Este microorganismo fue denominado con la sigla LF-89 y corresponde a la cepa tipo de P. salmonis (Fryer *et al*., 1992). Esta cepa es la que se encuentra mejor caracterizada (Mauel & Miller, 2002) y está depositada en la "American Type Culture Collection" como ATCC VR 1361 (Fryer *et al*., 1992; Lannan y Fryer, 1994).

El agente aislado fue clasificado inicialmente en el orden Rickettsiales y en la familia Rickettsiaceae (Fryer *et al*., 1990) y más tarde ubicado en un nuevo género, Piscirickettsia, proponiéndose el nombre de la especie como Piscirickettsia salmonis (Fryer *et al*., 1992). El análisis comparativo de las secuencias de los genes que codifican el ácido ribonucleico ribosómico (rRNA, por su sigla en inglés) de la subunidad 16S reveló que este microorganismo debía ser clasificado como miembro del subgrupo gamma de las Proteobacterias (Mauel *et al*., 1999). Se demostró además que P. salmonis estaba filogenéticamente relacionada, aunque distantemente, con los géneros Francisella (Mauel *et al*., 1999; Titball *et al*., 2003) y Coxiella (Mauel *et al*.,

1999). Subsecuentemente, el género Piscirickettsia fue ubicado en un nuevo orden, Thiotrichales, y en una nueva familia, Piscirickettsiaceae, claramente separado de las bacterias de la familia Rickettsiaceae (Fryer y Hedrick, 2003; Garrity *et al*., 2005).

Las bacterias de la familia Piscirickettsiaceae se caracterizan por ser gram negativas, aeróbicas, con forma cocoide, de bacilo o de espiral, ocasionalmente pleomórficas y por ser comúnmente aisladas desde ambientes acuáticos marinos. Esta familia está formada por seis géneros; Piscirickettsia, Cycloclasticus, Hydrogenovibrio, Methylophaga, Thioalkalimicrobium y Thiomicrospira, que están relacionados filogenéticamente, pero que poseen pocas características fenotípicas en común (Fryer y Hedrick, 2003; Fryer y Lannan, 2005).

P. salmonis es la única especie descrita en el género Piscirickettsia (Fryer y Hedrick, 2003) y corresponde a una bacteria inmóvil, no capsulada, pleomórfica, generalmente cocoide, pero que también se encuentra en pares o en forma de anillo (Fryer *et al*., 1990). Normalmente se divide por fisión binaria (Cvitanich *et al*., 1990; Fryer *et al*., 1990), pero en ocasiones puede replicar por gemación (McCarthy *et al*., 2008). La bacteria tiene un tamaño aproximado 0,5-1,5 µm de diámetro (Fryer y Hedrick, 2003), aunque se describe que puede generar variantes pequeñas con tamaños inferiores a 0,2 µm (Rojas *et al*., 2008).

Este patógeno se multiplica dentro de vacuolas intracitoplasmáticas de sus células hospedadoras y genera efecto citopático (ECP) en varias líneas celulares provenientes de peces (Fryer *et al*., 1990; Cvitanich *et al*., 1991; Fryer *et al*., 1992) y también en una línea originada desde una especie de ranas (Xenopus laevis) y en otra proveniente del insecto Spodoptera frugiperda (Birkbeck *et al*., 2004).

El rango de temperatura óptimo para el crecimiento de P. salmonis está entre los 15 y 18°C, disminuyendo significativamente su replicación bajo los 10 °C y sobre los 20 °C y no visualizándose sobre los 25 °C (Fryer *et al*., 1992). Los cultivos de células CHSE-214 que presentan efecto citopático (ECP) completo alcanzan títulos del orden de 106 a 107 dosis infectantes de cultivo de tejidos 50% por mL (DICT50/mL) (Fryer *et al*., 1990). Es interesante señalar que se consiguen títulos más elevados que en las células CHSE-214 cuando esta bacteria es multiplicada en una línea celular de insecto (Birkbeck *et al*., 2004). La multiplicación bacteriana en la línea CHSE-214 se evidencia por la presentación gradual de un ECP típico, que comienza entre los días 5 a 6 post-infección y que se caracteriza por la aparición de grupos de células globosas que aumentan en número, para posteriormente desprenderse progresivamente hasta que la monocapa celular es destruida completamente a los 14 días post-infección (Fryer *et al*., 1990; Garcés *et al*., 1991). Cabe indicar que si bien se estimaba tradicionalmente que P. salmonis era un patógeno intracelular estricto, informaciones más recientes sugieren que en realidad se trataría de un organismo intracelular facultativo (Gómez *et al*., 2009). La afirmación anterior es congruente con lo descrito en cuanto a que *P. salmonis* puede desarrollarse, aunque

en forma limitada, en medios de cultivo enriquecidos pero libres de células eucariotas (Mauel *et al*., 2008; Mikalsen *et al*., 2008; Yañez *et al*., 2012; Henriquez *et al*., 2013). Sin embargo, resulta probable que en la naturaleza esta bacteria sólo se multiplique intracelularmente debido a que en observaciones microscópicas de tejidos de peces infectados siempre se le ha encontrado dividiéndose dentro de vacuolas intracitoplasmáticas y no extracelularmente (Fryer *et al*., 1990; Cvitanich *et al*., 1990; Garcés *et al*., 1991; McCarthy *et al*., 2008). Esta situación podría ser análoga a lo observado con *F. tularensis*, en que luego de conocerse e interpretarse su genoma se concluyó que en la naturaleza actúa como un patógeno intracelular obligado a pesar de que puede ser cultivado en medios de cultivo bacteriológicos libres de células apropiados (Larsson *et al*., 2005; Birkbeck, 2011).

Respecto a las cepas podemos indicar que se han realizado numerosos estudios sobre *P. salmonis* y varios de ellos han permitido obtener importantes avances como, por ejemplo, obtener una clasificación taxonómica más precisa y recientemente conocer la secuencia del genoma de algunas cepas de esta especie bacteriana (Fryer *et al*., 1992; Marshall *et al*., 2007; Rozas y Enríquez, 2013; Yañez *et al*., 2014; Pulgar *et al*., 2015). Estos estudios basados en el análisis del rRNA del operon ribosomal de 5 aislados de *P. salmonis* de diversos orígenes geográficos y temporales (LF-89, ATL-4-91, NOR-92, SLGO-94 y EM-90) sugieren que los datos obtenidos de la secuenciación de tres regiones del genoma (16S, ITS y 23S) obtienen una información filogenética similar (>99,4% 16S rDNA, 99,1-99,7% ITS y 99,3-99,8% 23S rDNA) (Mauel *et al*., 1999). Los 5 aislados investigados estaban cercanamente relacionados, sin embargo, el aislado chileno EM-90 fue descrito como único, mostrando un menor porcentaje de identidad al comparar las secuencias (>98,5-98,9% 16S rDNA, 95,2-96,9% ITS y 97,6-98,5% 23S rDNA).

1.1.2. Supervivencia fuera del hospedador

La supervivencia de la bacteria en ambientes acuáticos es un requisito para que se produzca la transmisión directa, la cual es un factor importantísimo en la epizootiología de la piscirickettsiosis (Lannan c. & Fryer J., 1994). Estos mismos autores indican que en agua dulce sufre una rápida inactivación lo que limitaría la oportunidad de transmitirse directamente en esas condiciones.

Existe un solo antecedente debidamente validado sobre este tema, el cual indica que la bacteria pese a ser intracelular facultativa puede sobrevivir en ambientes marinos por un periodo de 50 días, sin embargo, debe considerarse que dicho trabajo fue realizado en base a la detección de ácidos nucleicos mediante PCR. Dado lo anterior no se puede afirmar que la bacteria se encuentre viable e infectiva durante ese periodo de tiempo (Olivares & Marshall, 2010).

1.1.3. Estabilidad del agente (métodos eficaces de inactivación)

No existe en relación a este punto información específica debidamente publicada y validada, sin embargo, existe un antecedente no disponible públicamente de un proyecto CORFO Bienes Públicos denominado "Evaluación y Caracterización de la Eficacia de Desinfectantes y Procedimientos de Limpieza y Desinfección para Mejorar la Bioseguridad" el cual dentro de sus objetivos abordo este tema.

Sin perjuicio de lo anterior, sabemos por las características del agente etiológico que es relativamente lábil, y por tanto la mayoría de los desinfectantes de uso común bien aplicados a superficies, equipos, instrumentos e infraestructuras debiesen ser suficientes para inactivar eficientemente a la bacteria, a menos que se encuentre conformando un biofilm (Marshall *et al*., 2012).

1.1.4. Ciclo de vida

Normalmente, en un lote de peces determinado, la enfermedad se comienza a manifestar una vez transcurridas seis a doce semanas después de la transferencia de los "smolts" al agua de mar (Alvarado *et al*., 1990; Fryer *et al*., 1990). Al respecto, se ha propuesto que el proceso de esmoltificación puede incrementar la susceptibilidad de los peces infectados (Graumann *et al*., 1997). Originalmente, las epizootias surgían en el otoño y la primavera de cada año (Lannan y Fryer, 1994), cuando las temperaturas del agua fluctuaban entre los 9 y los 16 °C (Cvitanich *et al*., 1991; Lannan y Fryer, 1994). Posteriormente su presentación cambió sin tener la marcada estacionalidad anteriormente señalada, puesto que esta enfermedad se comenzó a presentar en cualquier época del año (Monasterio, 2008). En los últimos años la piscirickettsiosis, si bien ocurre durante todo el año, tiene con una mayor severidad durante los meses de verano y en las fases finales del ciclo de engorde en el mar (SERNAPESCA, 2015b).

La piscirickettsiosis se considera básicamente una enfermedad marina. Esta aseveración se sustenta sobre la base de que la vasta mayoría de los brotes ocurre en peces criados en jaulas localizadas en el mar y en menor medida en aquellos ubicados en aguas estuarinas que tienen influencia marina. No obstante, lo anterior, excepcionalmente la enfermedad se ha reportado en agua dulce y la literatura describe dos hallazgos en este tipo de ambiente acuático, uno de ellos comunicado por Bravo (1994) y el otro por Gaggero *et al*. (1995).

Si bien esta enfermedad se describió originalmente sólo en el salmón coho (Bravo y Campos, 1989; Cubillos *et al*., 1990; Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991; Cvitanich *et al*., 1991), en los años que siguieron afectó a todas las especies de salmónidos producidas en Chile, describiéndose en salmón del Atlántico, salmón chinook, trucha arcoíris (Garcés *et al*., 1991; Fryer *et al*., 1992; Fryer y Mauel, 1997) y salmón cereza (O. masou) según lo descrito por Bravo (1994). El salmón coho resultó más susceptible que la trucha arcoíris en una infección experimental (Smith *et al*., 1996a). No obstante, lo anterior, un estudio epidemiológico de la

situación de campo reciente en Chile mostró que al comparar los brotes de piscirickettsiosis entre el salmón del Atlántico y la trucha arcoíris, en esta última especie se registraron las mayores mortalidades y además los brotes de esta enfermedad se iniciaban antes (Jakob *et al*., 2014).

1.2. Factores del hospedador

1.2.1. Especies hospedadoras susceptibles

Aunque los hospedadores principales de P. salmonis son peces de los géneros Oncorhynchus y Salmo de la subfamilia Salmoninae, existen reportes de la presencia de esta bacteria en otras especies de peces como D. labrax (McCarthy *et al*., 2005; Zrnčić *et al*., 2015) y A. nobilis (Arkush *et al*., 2006). Ambos brotes de piscirickettsiosis en D. labrax han ocurrido en peces cultivados en el mar Mediterráneo cursando con cuadros de encefalitis severa. El primero de ellos tuvo lugar en las costas de Grecia y en muestras de tejidos de estos peces se reconoció por criterios serológicos, histológicos y de análisis genómico la presencia de P. salmonis (McCarthy *et al*., 2005); el segundo caso es más reciente, ocurrió en la costa de Croacia y la bacteria fue detectada en tejidos de los peces mediante hibridación in situ y secuenciación del gen que codifica el rRNA 16S (Zrnčić *et al*., 2015). Por su parte, la identificación de P. salmonis en A. nobilis ocurrió desde peces juveniles, cultivados en estanques con agua de mar en California (EE.UU.), que cursaban con mortalidades y lesiones hepáticas similares a las que se presentan en peces salmonídeos con piscirickettsiosis. En este caso, la bacteria fue aislada y se demostró también su patogenicidad para salmón coho mediante inoculaciones experimentales (Chen *et al*., 2000). Finalmente, aun cuando no serían hospedadores naturales, se ha logrado generar mortalidades de un 10% en embriones de peces zebra (Danio rerio) inyectados con P salmonis, lo que serviría de modelo experimental para el estudio de esta enfermedad (Berger, 2014).

1.2.2. Fases susceptibles de la vida del hospedador

Experimentalmente los salmónidos son susceptibles en todas las fases de desarrollo y cultivo, sin embargo, en la práctica la enfermedad se ve frecuentemente en la fase marina y solo ocasionalmente en fases de agua dulce.

1.2.3. Especies o subpoblaciones predilectas (probabilidad de detección)

Aunque ya existía la descripción de algunos hallazgos microscópicos de organismos similares a P. salmonis, el descubrimiento de la piscirickettsiosis aumentó el interés de la comunidad científica para investigar la presencia de este tipo de agentes causales y su papel en enfermedades de otros animales acuáticos. Así, se han detectado bacterias denominadas como “organismos similares a rickettsias” (“Rickettsia like organisms” o “RLO”) y/o “organismos similares a Piscirickettsia” (“Piscirickettsia like organisms” o “PLO”) en una amplia variedad de especies acuáticas, incluidos moluscos, crustáceos y peces, y en algunos casos son agentes

causales de enfermedades de importancia por su alta prevalencia y/o tasa de mortalidad (Correal, 1995; Venegas, 1996; Mauel y Miller, 2002). Cabe señalar, sin embargo, que a pesar de la similitud fenotípica de los RLO y los PLO con P. salmonis, el conocimiento sobre las relaciones taxonómicas y filogenéticas entre estos microorganismos es aún incompleto.

1.2.4. Órganos diana y tejidos infectados

En el caso de los peces que han desarrollado Piscirickettsiosis, los tejidos de infectados apropiados para el examen en cultivos, la PCR, las improntas de los tejidos y la histología son: el riñón, el hígado, cerebro y la sangre, recogidos de los peces enfermos durante las infecciones bien sea clínicas o subclínicas (Lannan & Fryer., 1991). Asimismo, los peces infectados suelen presentar lesiones cutáneas que van desde pequeñas áreas de escamas elevadas hasta nódulos y úlceras hemorrágicas poco profundas. Internamente, las infecciones por *P. salmonis* se propagan sistémicamente, resultando en ascitis serosanguinolenta y riñones, hígados y bazos blandos. La mayoría de las lesiones diagnósticas ocurren en el hígado, observándose como focos subcapsulares en forma de anillo o áreas manchadas, que van desde grisáceas a amarillentas que tienen aproximadamente 1 mm de diámetro (Cvitanich et al. 1990, 1991, 1995; Fryer et al. 1990; Schafer et al. 1990; Branson & Nieto Díaz-Muñoz 1991). Se observa a menudo pseudomembrana de fibrina en el corazón y hemorragias petequiales en los órganos viscerales, la pared de la vejiga natatoria y el músculo esquelético. En general, el intestino presenta contenido de mucoso amarillento y el estómago tiene un contenido seromucoso transparente (Almendras et al., 1997). *P. salmonis* ha sido aislada desde cerebro de salmón coho y salmon atlántico y se propuso que un nado errático podría deberse a este tipo de infeccion (Skarmeta et al. 2000; Grant et al. 1996; Reid et al. 2004). Sin perjuicio de lo anterior, en los ultimos años se ha visto algunos cambios en la patología tanto en salmon del atlántico como en trucha arcoíris, presentando multiples y difusas ulceras en piel, incluso en opérculos y pedúnculos de aletas, ademas pueden observarse cavernas musculares las que pueden o no presentar exudados. Internamente los clásicos cambios patológicos como nódulos en hígado, renomegalia y esplenomegalis pueden no estar presentes. (Rozas & Enriquez, 2013).

1.2.5. Infección persistente con portadores de por vida

Aunque el estado de portador no ha sido demostrado en peces recuperados desde brotes naturales de piscirickettsiosis, se cree que la capacidad de la bacteria de sobrevivir intracelularmente le provee ciertas ventajas tales como la evasión del sistema inmune, y de las terapias antibióticas, particularmente cuando la bacteria se encuentra secuestrada dentro de las lesiones granulomatosas. La supervivencia intracelular es un paso clave en la persistencia de la bacteria y el mantenimiento de un estado de portador (Young & Chapman

1978, Bruno 1986, Gutenberger *et al*. 1997, Mauel & Miller 2002), incluso después de tratamientos con antibióticos (Fryer & Hedrick 2003).

En un estudio realizado en corvinas blancas (*Atractoscion nobilis*) se demostró que la persistencia de la bacteria en los tejidos de los peces infectados es superior a los 123 días post-inyección, sin embargo, los autores concluyen indicando que es necesaria la reactivación de Piscirickettsiosis desde peces sobrevivientes a la exposición inicial al P. salmonis para demostrar plenamente el estado de portador en corvinas blancas (Arkush *et al*., 2006).

1.2.6. Vectores

La fuente y el reservorio de *P. salmonis* en el medio natural y el modo de transmisión de la bacteria son aún desconocidos. Existen muchos crustáceos parásitos en el medio marino que podrían servir como vectores de *P. salmonis* (Fryer *et al*., 1990), aunque ningún vector/reservorio se ha identificado en forma fáctica (Olivares & Marshall 2010).

Para el caso de *P. salmonis*, a diferencia de otras bacterias similares, la célula bacteriana está protegida de la desecación por el ambiente acuático en que se encuentra y esto podría significar que no se requiere vector y la transmisión pueda ocurrir directamente de pez a pez (Fryer *et al*. 1990).

Piscirickettsia salmonis pueden replicar en las líneas de células de insectos y derivadas de rana, lo que sugiere que la bacteria tiene el potencial de persistir en invertebrados y poiquilotermos no peces (Birkbeck *et al*. 2004a). El parasito *Ceratothoa gaudichaudii* (Milne Edwards 1840), comúnmente asociado con el salmón de cultivo en Chile, fue identificado como un huésped para *P. salmonis* utilizando una prueba de inmunofluorescencia indirecta (Garcés *et al*., 1994). Asimismo, *Piscirickettsia salmonis* puede penetrar directamente la piel sin daño en ausencia de vectores, y la inoculación subcutánea es capaz de inducir una alta mortalidad (Smith *et al*. 2004), lo que sugiere que los ectoparásitos pueden realizar un papel importante en la transmisión, por ejemplo, *Caligus rogercresseyi* (Boxshall & Bravo, 2000).

1.2.7. Animales acuáticos silvestres portadores o sospechosos de serlo

Se sospecha que especies de peces marinos puedan ser reservorios de la infección, pero hasta ahora las pruebas de especies que no son salmónidos en Chile no han logrado demostrar reservorios de la infección en los peces no salmónidos (Garcés *et al* 1994; Olivares & Marshall 2010). Sin embargo, la presencia de *P. salmonis* se ha detectado por PCR en róbalo, *Eleginops maclovinus* (Cuvier 1830), en los centros de cultivo de salmón en los alrededores del Lago Huillinco, lo que probablemente se asocia con alta salinidad del lago (Rozas *et al*., 2009). Asimismo, un estudio logró amplificar genes de 16S rRNA e ITS-1 de P. salmonis en

muestras extraidoas de peces nativos del sur de Chile, tales como *Eleginops maclovinus*, *Odontesthes regia*, *Sebastes capensis*, and *Salilota australis* (Contreras-Lynch y Col., 2015). Estos hallazgos sugieren que pueda existir un reservorio, pero su papel en la epidemiología de la enfermedad no está claro. Además, las infecciones con *P. salmonis* no se restringen a los salmónidos, ya que la bacteria puede causar una enfermedad similar a Piscirickettsiosis en huéspedes no salmónidos (Arkush *et al* 2005; McCarthy *et al* 2005; Thomas & Faisal 2009).

1.3. Patrón de la enfermedad

1.3.1. Mecanismos de transmisión

En cuanto a la transmisión de P. salmonis en el ambiente acuático, en función de un estudio epidemiológico en Chile, se concluyó que este patógeno puede diseminarse a través del agua a distancias bastantes considerables (hasta 10 km) desde un centro de cultivo marino afectado a otro con peces sanos (Rees *et al*., 2014) lo cual sería uno de los factores que dificultaría el control de esta enfermedad. Estos mismos autores determinaron que otros factores de riesgo que condicionan el inicio y la severidad de los brotes de piscirickettsiosis, además de la distancia con un centro de cultivo afectado, son la cantidad de otros centros de cultivo de salmónidos vecinos y la temperatura del agua, en el sentido de que un aumento de ésta incrementa el riesgo (Rees *et al*., 2014).

1.3.2. Prevalencia

En Chile los últimos años se ha registrado la presencia de piscirickettsiosis entre las Regiones IX y la XIII pero con mayor incidencia y prevalencia en las Regiones X y XI que son las zonas de mayor concentración de centros marinos de cultivo de salmónidos (Mancilla y Bustos, 2015; SERNAPESCA, 2015b). Asimismo, los resultados del PSEVC señalan un comportamiento estacional de la enfermedad, siendo la trucha arcoíris la especie mayormente afectada en prevalencia y severidad de los cuadros clínicos (SERNAPESCA, 2015).

1.3.3. Distribución geográfica

Posteriormente al aislamiento de P. salmonis en Chile, esta bacteria se ha encontrado en salmónidos cultivados en diferentes zonas geográficas del mundo, registrándose casos de piscirickettsiosis en Canadá, en sus costas este (Cusack *et al*., 2002) y oeste (Brocklebank *et al*., 1992), Irlanda (Palmer *et al*., 1997), Escocia (Birrell *et al*., 2003), y Noruega (Olsen *et al*., 1997). En el hemisferio sur, la identificación específica e inequívoca de la presencia de P. salmonis sólo ha ocurrido en Chile, aun cuando una bacteria con

características fenotípicas similares fue aislada desde salmones del Atlántico cultivados en la isla de Tasmania en el sur de Australia (Corbeil *et al*., 2005).

1.3.4. Mortalidad y morbilidad

Históricamente en Chile se describió una mortalidad en las jaulas en mar de entre un 30% y un 90% en los salmones plateados cultivados (Bravo & Campos., 1989) y posteriormente las tasas de mortalidad han variado entre 20-30% en promedio en jaulas afectadas, pero puede ser tan alta como 90% (Branson & Diaz-Munoz 1991). Los países del hemisferio norte han reportado tasas de mortalidad más bajas, por ejemplo: 0,06% en Canadá y Noruega (Brocklebank *et al* 1992; Olsen *et al*., 1997).

Actualmente según cifras aportadas por Sernapesca para el año 2015, la Piscirickettsiosis produjo en el caso del salmón del atlántico un 78,9% de las mortalidades producidas por causas infecciosas, 82,9% para la trucha arcoíris y un 59,3% para el salmón coho (SERNAPESCA, 2015).

1.3.5. Factores ambientales

Tanto la temperatura como la salinidad afectan a la supervivencia de P. salmonis fuera del huésped. Puede sobrevivir durante largos periodos de tiempo en el agua de mar, pero se inactiva rápidamente en agua dulce (Lannan y Fryer 1994). El período de supervivencia extracelular es mayor a temperaturas más frías (5°C) y disminuye a medida que aumenta la temperatura. En un estudio, en condiciones experimentales, P. salmonis sobrevivido en el agua de mar durante al menos 21 días a 5-10°C, 14 días a 15°C y 7 días a 20°C. El patógeno no persistió a temperaturas superiores a 25°C (Lannan y Fryer 1994).

La mayor incidencia de brotes se observa en el otoño y primavera, probablemente debido a la temperatura del agua, 9 y 16°C, respectivamente (Bravo y Campos 1989; Cvitanich *et al*., 1990). En general, los brotes aparecen después de un período de alta variación en las condiciones ambientales del agua, tales como las fluctuaciones de temperatura o un aumento en la concentración de algas no tóxicas (Branson y Nieto Díaz-Muñoz 1991). Además, se ha sugerido que la alimentación a saciedad, nutrición inadecuada y estrés podrían ser factores predisponentes (Garcías, Mendoza y Carvajal 2005). Piscirickettsiosis menudo se ha descrito en el agua de mar y estuarios, pero ocasionalmente se ha reportado en trucha arco iris cultivada en el Lago Llanquihue, que se originó a partir de huevos importados de los EE.UU., que siempre se mantuvieron en agua dulce (Bravo 1994), y en la trucha arco iris cultivada en agua dulce en la Isla de Chiloé (Gaggero *et al*., 1995). En el segundo estudio, la patología de la enfermedad fue similar a la descrita previamente en los brotes en agua de mar y las características del crecimiento del patógeno *in vitro* corresponde a las características de P. salmonis (Gaggero *et al*. 1995). Sin embargo, la reducida aparición natural de piscirickettsiosis en agua dulce

sugiere que la fuente más probable podría ser el mar (Lannan y Fryer 1994). La rareza de los brotes en agua dulce puede ser consecuencia de la inestabilidad de la bacteria en este entorno (Lannan y Fryer 1994).

1.4. Control y prevención

El control y/o tratamiento eficaz para la piscirickettsiosis han sido difíciles de conseguir porque no existen vacunas comerciales eficientes (Leal & Woywood 2007; Marshall *et al*., 2007; Tobar *et al*., 2011). Por su parte los antibióticos (Cabello, 2006) tienen un efecto limitado sobre la enfermedad. Por lo tanto, el control profiláctico de infecciones depende en gran medida de las buenas prácticas de gestión. Los periodos de descanso sanitario han sido un enfoque para limitar la propagación del patógeno (Olivares & Marshall 2010).

1.4.1. Vacunación

Como sucede en el caso de varias enfermedades de peces, la vacunación ha demostrado ser una herramienta eficiente para ayudar a prevenir la presentación de brotes infecciosos en estos animales acuáticos (Bravo y Midtlyng, 2007; Gjedrem y Baranski, 2009), siendo además considerada por algunos autores como la principal causa de la notoria reducción en el uso de antimicrobianos que ha experimentado la salmonicultura en algunos países (Bravo y Midtlyng, 2007). Sin embargo, aún existe una falta de información de campo con respecto a la respuesta inmunitaria y la protección generada por las vacunas disponibles en Chile, pero hay varios resultados derivados de los ensayos clínicos experimentales que utilizaron bacterinas producidas con la bacteria completa mostraron resultados variables e inconsistentes (Smith *et al*., 1995; Smith *et al*., 1997; Fryer y Hedrick, 2003). Posteriormente, en un ensayo efectuado en salmones coho, se incrementó el porcentaje de supervivencia relativa de éstos al ser inyectados con bacterinas acompañadas con adyuvantes acuosos u oleosos (Kuzyk *et al*., 2001a). Por otro lado, se han realizado varios estudios de la caracterización antigénica de P. salmonis (Kuzyk *et al*., 1996; Barnes *et al*., 1998; House y Fryer, 2002; Henríquez *et al*., 2003; Yuksel *et al*., 2006b). En este mismo ámbito, también se ha experimentado con vacunas de ADN (Miquel *et al*., 2003) y de proteínas recombinantes (Kuzyk *et al*., 2001a; Kuzyk *et al*., 2001b; Sommerset *et al*., 2005; Wilhelm *et al*., 2006). También se ha descrito que una vacuna desarrollada para prevenir la enfermedad bacteriana del riñón, compuesta por células vivas de una bacteria ambiental no patógena para peces, llamada *Arthrobacter davidanieli*, es efectiva para reducir la mortalidad en salmones coho infectados con *P. salmonis*, tanto en condiciones de laboratorio como de campo (Salonius *et al*., 2005). Esta vacuna ha sido autorizada para su uso en salmónidos cultivados en Canadá (Salonius *et al*., 2005) y en Chile (Sommerset *et al*., 2005), si bien ha tenido una aceptación limitada en el mercado chileno (Bravo y Midtlyng, 2007). La primera vacuna comercial contra P. salmonis fue lanzada al mercado chileno en 1999 y desde entonces han ido apareciendo

nuevos productos de este tipo pero, a diferencia de los resultados logrados en otras enfermedades bacterianas, la vacunación contra este agente patógeno no ha reducido significativamente la necesidad de continuar tratando los cuadros de piscirickettsiosis con antibióticos, y el uso de éstos, en términos cuantitativos, se mantiene a niveles similares (Bravo y Midtlyng, 2007). Actualmente, hay ocho laboratorios comerciales que tienen vacunas registradas en Chile contra P. salmonis. Algunas de éstas están dirigidas sólo contra P. salmonis y otras son multivalentes, en diferentes combinaciones con otros antígenos bacterianos y/o virales, con un repertorio de 37 preparados antigénicos. Una de estas vacunas se aplica por inmersión, dos de ellas por vía oral y los 34 restantes se administran por inyección intraperitoneal (SAG, 2015). Es interesante señalar que un estudio de carácter epidemiológico en Chile concluyó que no hay diferencias en los niveles de mortalidad acumulada atribuidas a *P. salmonis* entre peces inmunizados con vacunas comerciales contra piscirickettsiosis y aquellos no vacunados (Flores, 2012). En igual sentido, y más recientemente, describen que estas vacunas no reducen la mortalidad acumulada ocasionada por la piscirickettsiosis y sólo retardarían la aparición de los brotes (Jakob *et al*. 2014). Los antecedentes anteriores y la experiencia histórica de campo en general sugieren que estos productos son poco efectivos (Mancilla y Bustos, 2015).

1.4.2. Tratamiento con sustancias químicas

Una vez que la enfermedad se ha desencadenado, una de las principales medidas de control que se emplea es el tratamiento de los peces mediante el uso de distintos antimicrobianos administrados vía oral o por inyección intraperitoneal (Almendras & Fuentealba, 1997; Groff & LaPatra, 2000; Larenas *et al*., 2000). Si bien inicialmente la aplicación de estos productos tenía un resultado positivo en cuanto a la reducción de las mortalidades, con el pasar de los años la efectividad ha ido disminuyendo y, en definitiva, la terapia con estas drogas ha tenido un éxito sólo parcial en el control de la enfermedad (Smith *et al*., 1995; OIE, 2006; Mancilla & Bustos, 2015). Se ha sugerido que la localización intracelular de esta bacteria puede hacer posible que un número considerable de microorganismos esté fuera del alcance de las concentraciones bactericidas y, de esta manera, la infección puede persistir (Lannan & Fryer, 1993). Más aún, las pérdidas debido a este agente patógeno se han incrementado progresivamente debido, aparentemente, a la resistencia de las cepas actuantes a los antibióticos (Smith *et al*., 1996b).

Antimicrobianos como oxitetraciclina, ácido oxolínico y flumequina, han sido utilizados ampliamente por varios años en Chile para el tratamiento de piscirickettsiosis y, por lo tanto, una selección genética de cepas resistentes puede ser la razón de la pérdida de la sensibilidad de *P. salmonis* a estas drogas. Por otro lado, debido a las marcadas variaciones en los patrones de sensibilidad de los diferentes aislados de *P. salmonis*

estudiados, no se recomienda el uso de un régimen universal para el tratamiento de todos los brotes (Smith *et al*., 1996b).

Históricamente se han usado varios antimicrobianos para el tratamiento de esta enfermedad tales como oxitetraciclina, ácido oxolínico, flumequina, enrofloxacina, sarafloxacina y florfenicol (Bravo *et al*., 2005), en los últimos años estas terapias se encuentran restringidas casi exclusivamente al uso de florfenicol y de oxitetraciclina (SERNAPESCA, 2015c).

1.4.3. Inmunoestimulación

Para contrarrestar lo anterior es que se han desarrollado gran cantidad de probioticos, los cuales han demostrado ser, en algunos casos, eficientes. En términos concretos, los probióticos son microorganismos vivos que por lo general cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio de salud en el huésped (Nayak S.K., 2010). Hoy en día, los probióticos también se están convirtiendo en una parte integral de las prácticas de acuicultura para obtener una alta producción. Entre los numerosos beneficios para la salud atribuidos a los probióticos, la modulación del sistema inmune es uno de los beneficios más comúnmente pretendido de los probióticos y su potencia para estimular la inmunidad sistémica y local *in vitro* y en condiciones *in vivo* es digno de mención (Nayak S.K., 2010; Sakai M., 1999).

Un reciente estudio tuvo como objetivo evaluar los efectos de una preparación comercial (Futerpenol®) fitosanitaria de origen herbal y macroalgas sobre el crecimiento y la respuesta inmune de la trucha arco iris en agua de mar y sus efectos sobre la infección por *Piscirickettsia salmonis*. Los ensayos preliminares *in vitro*, evaluaron los efectos en los niveles de expresión de genes inmuno-reguladores seleccionados y su efecto protector en un desafío contra Piscirickettsia salmonis (LF-89). Luego se realizaron ensayos de alimentación *in vivo* para corroborar la protección de los peces contra *Piscirickettsia salmonis*. Los resultados obtenidos muestran que la administración de Futerpenol® en forma previa al desafío por cohabitación dio protección significativa contra P. salmonis según lo sugerido por los valores de RPS obtenidos (62,3 y 57,1% a los 60 y 80 días post-infección respectivamente). Estos resultados sugieren que la suplementación dietética con Futerpenol® a 1 kg/tonelada no afectan el crecimiento y refuerza la inmunidad de *Oncorhynchus mykiss* contra *P. salmonis* en las condiciones experimentales aplicadas durante el estudio.

Dado lo anterior el uso de alimentos suplementados con este tipo de preparados fitofarmacéuticos en previsión a posibles infecciones o etapas vulnerables de la producción podría ser útil como un método alternativo de prevención y limitar así los brotes de piscirickettsiosis.

1.4.4. Selección genética a favor de la resistencia

A pesar de las grandes pérdidas económicas causadas por este patógeno en la industria, se sabe muy poco

acerca de los mecanismos de resistencia del huésped a este patógeno. Sin embargo, un reciente estudio nos demuestra por primera vez que entre la mortalidad se aprecian cargas bacterianas diferentes por familia tanto en el riñón cefálico como en el musculo. Además, con el fin de evaluar los patrones de expresión génica de genes relacionados con la inmunidad en familias susceptibles y resistentes, se evaluaron un conjunto de genes candidatos usando secuenciación de última generación del transcriptoma. Los resultados mostraron que la carga bacteriana fue significativamente menor en los peces resistentes, en comparación con los individuos susceptibles. Por lo tanto, se infiere que los huéspedes resistentes activan la regulación de genes específicos (como por ejemplo la LysC), lo que puede explicar una disminución de la carga bacteriana en el riñón, mientras que el pez susceptible presenta una exacerbada respuesta innata, que es incapaz de ejercer una respuesta eficaz contra las bacterias. Además, los resultados muestran que los peces resistentes no podría ser un reservorio probable de las bacterias (Dettleff *et al*., 2015).

En este mismo ámbito varias empresas privadas han realizado valiosos avances, sin embargo, estos resultados no se encuentran disponibles.

1.4.5. Repoblación con especies resistentes

No es aplicable.

1.4.6. Agentes bloqueantes

Al momento de finalizar la revisión no se encontró información validada y publicada al respecto, por lo que se considera “No aplicables”.

1.4.7. Desinfección de huevos y larvas

La desinfección de huevos según los procedimientos estándar se sugiere como importante medida de control (Fryer y Hedrick, 2003).

La práctica de desinfección de ovas de salmónidos en centros de cultivo resulta fundamental para garantizar que las enfermedades endémicas no se transfieran entre incubadoras ni entre instalaciones, y forma parte integrante de los protocolos de higiene de rutina de éstos centros. El proceso de desinfección también es importante cuando se comercializan ovas de salmónidos entre zonas o países para prevenir la transferencia de algunos agentes patógenos. Si bien el uso de desinfectantes suele ser eficaz para la desinfección del corion de la ova y de los fluidos de reproducción, esto no previene la transmisión vertical.

Las ovas de salmónidos se pueden desinfectar utilizando algunos agentes químicos. El método comúnmente utilizado es la desinfección con povidona yodada, un producto a base de yodo.

Los iodóforos, comúnmente soluciones de povidona yodada, tienen la ventaja de suministrar un pH neutro, no ser irritantes y ser relativamente poco tóxicos. El pH neutro es importante para minimizar la toxicidad y lograr una mayor eficacia. Se recomienda seguir las instrucciones del fabricante con el fin de identificar las circunstancias en las que el pH sea motivo de preocupación. Si se utilizan otros iodóforos para la desinfección, es esencial que hayan sido adecuadamente tamponados.

1.4.7.1. Protocolo de desinfección para las ovas de salmónidos

Este protocolo de desinfección se puede aplicar a las ovas de salmónidos recientemente fertilizados o embrionadas. Sin embargo, las ovas recientemente fertilizadas deben haber iniciado su endurecimiento antes de someterse al protocolo de desinfección. Si bien existe un margen de seguridad considerable para las ovas endurecidas, el protocolo de desinfección no se recomienda para los óvulos no fertilizados o durante la fertilización. Es esencial que el pH de la solución yodada se mantenga entre 6 y 8.

Para desinfectar los huevos de salmónidos se deberá seguir el siguiente protocolo de desinfección: enjuague con una solución salina al 0,9% libre de agentes patógenos (30-60 segundos) para remover los restos de material orgánico; inmersión en una solución yodada de 100 ppm de yodo disponible durante un mínimo de 10 minutos. La solución yodada se debe utilizar sólo una vez. La proporción de huevos respecto a la solución yodada deberá ser como mínimo de 1:4; nuevo enjuague en una solución salina al 0,9% libre de agentes patógenos durante 30-60 segundos; mantenimiento en agua libre de agentes patógenos.

Todas las soluciones de enjuague y desinfección deberán prepararse usando agua libre de agentes patógenos. Las soluciones podrán tamponarse con bicarbonato de sodio (NaHCO3) si el pH es bajo.

1.4.8. Prácticas generales de manejo

Como sucede en la mayoría de las enfermedades infectocontagiosas que afectan a peces de cultivo, existe un conjunto de medidas de manejo que se recomienda poner en práctica, tanto para la prevención como para el control de la piscirickettsiosis (OIE, 2006; Yuksel *et al*., 2006a; Olson y Criddle, 2008). En este sentido, se preconiza la formulación y aplicación de programas sanitarios, así como la adopción de procedimientos generales de bioseguridad (Groff y LaPatra 2000; Fryer y Hedrick, 2003; OIE, 2006). Entre las medidas operacionales que se han recomendado para disminuir la incidencia de la piscirickettsiosis se encuentran: desinfectar la superficie de las ovas con yodóforos (Fryer y Hedrick, 2003), seleccionar “stocks” o familias de peces que hayan demostrado mayor resistencia a brotes y menor mortalidad (Cassigoli, 1994), disminuir las manipulaciones de los peces (vacunaciones, cambios de redes, tratamientos inyectables, etc.) para así aminorar el estrés (Bravo y Campos, 1989; Bravo y Gutiérrez, 1991; Larenas *et al*., 2000; Leal y Woywood,

2007), evitar altas densidades de biomasa por jaula, centro y por área geográfica (Cassigoli, 1994; Olson y Criddle, 2008), ingresar los peces a los centros marinos a número final, es decir mantener el número de individuos que se destina a una jaula hasta la cosecha (Leal y Woywood, 2007), trasladar los "smolts" directamente desde agua dulce a salada, sin pasar por estuarios (Leal y Woywood, 2007), extraer rápidamente los peces enfermos y muertos desde las balsas-jaulas (Cassigoli, 1994; Almendras y Fuentealba, 1997; Larenas, 1999), realizar pruebas diagnósticas para detectar la presencia temprana de la bacteria (Marshall *et al*., 1998), evitar que la materia orgánica derivada de las cosechas llegue al mar (Cassigoli, 1994), fomentar el descanso sanitario de los centros previo al ingreso de nuevos peces (Cassigoli, 1994; Fryer y Hedrick, 2003), evitar la presentación de factores primarios que produzcan lesiones de la piel (erosiones y úlceras), ya sea de origen traumático (Larenas *et al*., 2000) o por ectoparásitos (Smith *et al*., 1999; Larenas *et al*., 2000; Fryer y Hedrick, 2003) y mantener limpias las redes de las balsas-jaulas (Olson y Criddle, 2008).

A pesar de que la erradicación de P. salmonis del ambiente acuático es virtualmente imposible, ya que se ha detectado que poblaciones de salmónidos asilvestrados son portadores de esta bacteria (Pérez *et al*., 1998), por diferentes razones debiera ser prioritario continuar los esfuerzos para disminuir la incidencia de piscirickettsiosis en los cultivos marinos. Además del daño evidente derivado de la mortalidad de peces que ocasiona la enfermedad, otro efecto indeseable es el uso de altos niveles de antimicrobianos para su tratamiento. Por otra parte, un factor que normalmente no se considera, pero que es de importancia desde la óptica veterinaria, es que los salmones enfermos padecen de distintos grados de sufrimiento y que un nivel de morbilidad tan alta implica un problema de bienestar animal que se debe intentar disminuir al máximo posible. Los crecientes avances en la generación de conocimientos científicos, tanto básicos como aplicados, deberían contribuir a entregar mejores herramientas específicas para el control de esta enfermedad. Es un hecho constatable que con las actuales medidas de tratamiento, control y prevención no se ha logrado mitigar el enorme daño que causa la piscirickettsiosis en Chile. Por lo anterior, es evidente que falta mayor investigación que provea las bases para elaborar productos biológicos que permitan una terapéutica y prevención eficaz de esta bacteria intracelular.

2. Obtención de muestras

Los cambios globales y microscópicos derivados de la piscirickettsiosis no son lo bastante importantes para permitir un diagnóstico definitivo de la enfermedad. Por tanto, el análisis para el diagnóstico de la piscirickettsiosis se basa en la detección del agente causal.

Se puede obtener un diagnóstico presuntivo mediante las signología clínica y el análisis anatomopatológico, sin embargo, solo se obtiene un diagnóstico confirmativo mediante el aislamiento de *Piscirickettsia salmonis* en cultivo celular o en medios bacteriológicos y/o por PCR o qPCR.

2.1. Elección de ejemplares

Previo a la selección de los ejemplares de la muestra, se deberá recopilar antecedentes productivos y sanitarios necesarios para la planificación del muestreo y la elección de las jaulas o unidades epidemiológicas.

Se deben tomar en cuenta, entre otros, el tipo de centro (engorda o reproductores), las especies cultivadas en él, los porcentajes de mortalidad por unidad epidemiológica o jaula de cultivo en las últimas semanas.

Se deben seleccionar un mínimo de 3 pooles por centro, entre los cuales se privilegiará la extracción de peces orillados, moribundos, desorientados o mortalidad fresca del día (de menos de 12 horas), considerando para este aspecto la turgencia muscular, palidez branquial, deshidratación de globo ocular, entre otras, dicha mortalidad solo califica en el caso que no haya sido tratada con desinfectante o inactivador. Si el número requerido de ejemplares no se completa con peces en tales condiciones, se deberá completar la muestra con peces elegidos al azar.

Los peces extraídos deben ser dispuestos en bolsas plásticas debidamente cerradas y rotuladas, con la respectiva identificación de jaula o unidad epidemiológica en forma clara y permanente, asegurando la trazabilidad de las muestras hasta el momento de la extracción de órganos.

2.2. Conservación de las muestras para su envío

- ✓ Hematología: Heparina o EDTA (ácido etilendiaminotetraacético)
- ✓ Cultivo celular: Medio de transporte
- ✓ Histología e inmunohistoquímica: Formalina tamponada al 3%
- ✓ Inmunofluorescencia (frotis): Metanol o productos comerciales en spray
- ✓ Biología molecular (qRT-PCR y secuenciación): Etanol o preservantes de material genético comerciales, tales como RNAlater.
- ✓

2.3. Combinación de varias muestras (conformación de pooles)

La combinación de varias muestras (conformación de pooles) es apropiado para el diagnóstico confirmatorio de piscirickettsiosis, sin embargo, debe tenerse en cuenta la diversidad de variantes cuando el diagnóstico tiene un fin derivado de la investigación.

2.4. Órganos y tejidos de elección

Los tejidos de peces infectados por *Piscirickettsia salmonis* apropiados para el examen en cultivos, la PCR, las

improntas de los tejidos y la histología son: el riñón, el hígado, cerebro y la sangre, recogidos de los peces enfermos durante las infecciones bien sea clínicas o subclínicas (Lannan & Fryer., 1991).

3. Métodos de diagnóstico

El diagnóstico presuntivo se realiza sobre la base de los antecedentes epidemiológicos, la signología clínica y los hallazgos anatomopatológicos macroscópicos de acuerdo a lo descrito anteriormente (Fryer *et al*., 1990; Fryer y Hedrick, 2003; Monasterio, 2008). Este diagnóstico presuntivo se puede acompañar de tinciones de frotis de tejidos como Gram, Giemsa y azul de toluidina para observar la morfología bacteriana, y de análisis histológicos para corroborar las lesiones microscópicas consistentes con lo descrito para esta enfermedad (Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991; Cvitanich *et al*., 1991; Larenas *et al*., 1995). La identificación definitiva de la presencia de *P. salmonis* en los peces afectados se hace a través de técnicas inmunológicas como inmunofluoresencia (Lannan *et al*., 1991) e inmunohistoquímica (Alday *et al*., 1994) o de reacción en cadena de la polimerasa (Mauel *et al*., 1996; Marshall *et al*., 1998). No obstante, sus dificultades técnicas, mayor tiempo y coste del procedimiento, el aislamiento y posterior identificación de la bacteria es el Gold estándar para el diagnóstico de la presencia de *P. salmonis* viable en peces sospechosos de estar cursando un cuadro de piscirickettsiosis (OIE, 2006).

3.1. Métodos de diagnóstico de campo

3.1.1. Signos clínicos

Los peces enfermos exhiben signos clínicos inespecíficos tales como un desplazamiento cerca de la superficie, errático, incoordinado, lento, y a veces en tirabuzón, lo que refleja alteraciones del sistema nervioso en estos individuos (Cvitanich *et al*., 1991; Larenas *et al*., 1995; Larenas *et al*., 2000). Además, se ha descrito letargia, anorexia, choque contra las mallas de las balsas-jaulas y orillamiento (Olsen *et al*., 1997; Larenas *et al*., 2000).

3.2. Evaluación anatomopatológica

3.2.1. Anatomopatología macroscópica

Las alteraciones macroscópicas externas más relevantes incluyen oscurecimiento y descamación de la piel (Cvitanich *et al*., 1991; Larenas *et al*., 1995; Monasterio, 2008), además de lesiones en este tejido que comprenden desde pequeñas áreas de solevantamiento hasta úlceras hemorrágicas de hasta 2 cm de diámetro (Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991). También se describe la presencia de hemorragias petequiales y equimóticas en la piel de la base de las aletas, del vientre y de la zona perianal y en algunos casos, hemorragias perioculares, que generalmente son bilaterales (Alvarado *et al*., 1990; Cubillos *et al*., 1990). Otro

hallazgo importante es la aparición de palidez branquial, lo que refleja una anemia severa, corroborada por bajos niveles de hematocrito (Olsen *et al*., 1997).

La mayoría de los peces afectados presenta diferentes grados de ascitis y de peritonitis (Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991). En relación al primer hallazgo, Larenas *et al*. (1995) señalan que la ascitis sólo se observa en peces moribundos y, por lo tanto, sugieren que podría considerarse más bien como una alteración de tipo terminal. Por otra parte, se aprecian frecuentemente hemorragias petequiales en estómago, intestino, ciegos pilóricos, vejiga natatoria, grasa visceral (Cvitanich *et al*., 1991), musculatura abdominal (Larenas *et al*., 1995) y peritoneo (Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991). En cuanto al hígado, éste exhibe un aumento de volumen (Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991); y además puede mostrar un aspecto "moteado", debido a la presencia de pequeños nódulos subcapsulares blanquecinos a amarillentos distribuidos difusamente en toda su superficie (Larenas *et al*., 1995; Olsen *et al*., 1997). Al respecto, se señala que la presencia de estos nódulos puede ser señal de un grado más avanzado de cronicidad del cuadro clínico (Almendras *et al*., 2000). Ocasionalmente, este órgano se ve pálido y hemorrágico (Cvitanich *et al*., 1991). La vesícula biliar está generalmente pletórica (Alvarado *et al*., 1990; Cubillos *et al*., 1990), evidenciando que los peces no han comido por un tiempo prolongado (Alvarado *et al*., 1990). En tanto, el riñón exhibe pérdida de su apariencia brillante, tornándose marrón- grisáceo opaco (Alvarado *et al*., 1990) y con aumento de su tamaño (Fryer *et al*., 1990; Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991). A nivel del bazo, se presenta esplenomegalia en diferentes grados, observándose en reiteradas ocasiones las mismas lesiones blanquecinas descritas en el hígado (Alvarado *et al*., 1990; Cubillos *et al*., 1990; Fryer *et al*., 1990). En el estómago, se encuentra un líquido transparente seromucoso (Alvarado *et al*., 1990; Schäfer *et al*., 1990), lo cual confiere la impresión de que el pez ha tragado agua (Alvarado *et al*., 1990). El intestino generalmente no posee alimento (Alvarado *et al*., 1990; Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991), evidenciándose enteritis en el tercio distal (Alvarado *et al*., 1990); adicionalmente, el lumen de esta víscera puede contener un gran volumen de mucus amarillento (Schäfer *et al*., 1990). El corazón, en ocasiones, también presenta focos necróticos y hemorragias petequiales de tipo difuso (Cubillos *et al*., 1990) y en un 2% de los peces moribundos se observa la presencia de una pseudomembrana que lo cubre, sugiriendo la presencia de pericarditis (Cvitanich *et al*., 1991). Además, se aprecia un aumento en el volumen del líquido cefalorraquídeo, acompañado en muchos casos de congestión de las meninges (Larenas *et al*., 1995). Por la gran variedad de órganos que presentan lesiones, se puede desprender que esta enfermedad tiene una naturaleza sistémica (Fryer y Hedrick, 2003) y, aunque ciertos tejidos tienen un daño más severo, como el inmunopoyético renal (Venegas *et al*., 2004) y el cardíaco (Monasterio, 2008), la bacteria se multiplica en una variedad muy amplia de células, mostrando una escasa especificidad en este sentido.

3.2.2. Bioquímica clínica

El rango de hematocrito normal es de 40 a 50% para el salmón del Atlántico (Cameron 1991) y 32-45% para la trucha arco iris (Lane, 1997; Miller *et al*., 1983). Niveles de hematocrito de 18,5% son comunes en los peces crónicamente enfermos, pero en algunos casos pueden ser tan baja como 2% (Fryer y Hedrick 2003).

Se ha observado neutrofilia, con niveles 10 a 20 veces más altos que los rangos normales (Branson y Nieto Díaz-Muñoz, 1991).

3.2.3. Anatomía patológica microscópica

El hallazgo histológico más significativo en los casos de piscirickettsiosis es la presencia de pequeñas (0,5 a 1,5 micras de diámetro) Rickettsia-like organismos (RLOS) polimórficos, generalmente dentro de las vacuolas citoplasmáticas de las células huésped, aunque también se pueden observar en el tejido libre (Turnbull, 1993). RLOS son basófilos y aparecen como esferas anfofílicos en los tejidos teñidos con hematoxilina y eosina.

Cambios histopatológicos resultantes de piscirickettsiosis son considerados como vasculitis con áreas focales de inflamación y necrosis (Almendras *et al*. 2000). Los cambios se observan a lo largo de los órganos internos, con la patología más prominente encontrada en el hígado, el riñón, el bazo y el intestino. Lesiones del hígado son a menudo graves, y RLOS se pueden observar en el citoplasma de los hepatocitos en degeneración (Lannan *et al*. 1999). Infiltración de células mononucleares acompañan focos necróticos de los hepatocitos. En los casos más crónicos, el tejido necrótico se puede observar por debajo de los focos granulomatosos pálidos.

3.2.4. Preparaciones húmedas

No son aplicables

3.2.5. Frotis

Frotis de tejidos o improntas de órganos infectados teñidos con Giemsa presentan P. salmonis pleomórficas de un color oscuro, comúnmente en forma de anillo o cocoides, dentro de vacuolas citoplasmáticas rodeadas por una membrana. Las bacterias se aparecen ya sea individualmente o en grupos, dando a la vacuola de la apariencia de una mórula (Fryer *et al*. 1992).

3.2.6. Microscopía electrónica/citopatología

Cuando P. salmonis es examinado por microscopía electrónica, la bacteria muestra la estructura protoplasmática típico de un procariota y la pared celular de una bacteria gram-negativa (Cvitanich *et al*. 1990; Fryer *et al*. 1990; Schäfer *et al*., 1990).

3.2.7. Diagnósticos diferenciales

Se debe diferenciar de otros bacilos Gram positivos especialmente *Carnobacterium piscicola*, *Lactococcus piscium* y *Vagococcus salmoninarum*. Estas tres especies tienen gran similitud entre sus patrones bioquímicos, originalmente se les clasificó como lactobacilos y se les asoció como agentes causales de la «pseudoenfermedad del riñón». Son básicamente bacterias oportunistas y tienen una baja virulencia.

En relación a las lesiones nodulares granulomatosas, se debe tener en cuenta que este tipo de alteraciones pueden ser generadas por otros microorganismos, ya sean bacterianos (*Mycobacterium spp*, *Nocardia spp*), micóticos (*Ichthyophonus hoferi*, *Exophiala salmonis*) o parasitarios (Enfermedad Proliferativa del Riñón, *Ceratomyxa shasta*, metazoos enquistados) e incluso como reacción a materiales extraños particulados (Ej. componentes oleosos de los adyuvantes de las vacunas) en salmones.

Por otra parte, en peces expuestos a niveles elevados de dióxido de carbono en el agua, se produce una deposición de sales cálcicas en los uréteres, lo que origina nefrocalcinosis o urolitiasis, donde se producen lesiones renales, que a nivel macroscópico podrían confundirse también con BKD.

Piscirickettsiosis siempre debe ser considerado como un diagnóstico diferencial en los casos de las enfermedades infecciosas en los salmónidos con niveles de hematocrito inferior al 25%.

3.3. Métodos de detección e identificación del agente

3.3.1. Métodos directos de detección

3.3.1.1. Métodos microscópicos

3.3.1.1.1. Preparaciones húmedas

No son aplicables

3.3.1.1.2. Frotis

Frotis o impresiones de riñones, hígado, bazo o desde los cultivos celulares infectados pueden hacerse sobre

sustratos de vidrio o plástico para ser fijados y teñidos con Gram, Giemsa, naranja de acridina o azul de metileno para la observación directa de *P. salmonis* dentro de las células huésped (Fryer *et al*. 1990; Lannan & Fryer 1991). En las secciones teñidas con Giemsa, las bacterias intracelulares aparecerán como organismos pleomórficos teñidos oscuramente, en forma cocoides o anillo, a menudo dentro de vacuolas citoplasmáticas al interior la célula huésped y frecuentemente en pares, con un diámetro de 0,5 a 1,5 µm.

3.3.1.1.2.1. Tinción de Giemsa

i) Las preparaciones del sobrenadante de cultivo de tejido, de los frotis o improntas del riñón, del hígado y del bazo deben realizarse secándolas al aire y fijándolas durante 5 minutos en metanol absoluto.

ii) Los portas se sumergen en una solución de trabajo de tinción de Giemsa durante 30 minutos.

Solución stock: solución de metanol tamponado pH 6,9 (disponible comercialmente) en 0,4 (w/v).

Solución de trabajo: se diluye 1/10 en tampón fosfatado pH 6,0 (0,074 M de NaH_2PO_4, 0,009 M de Na_2HPO_4).

iii) Se destiñe con agua corriente.

iii) Se observan los portaobjetos bajo inmersión en aceite. Los frotis de tejido de órganos infectados muestran organismos pleomórficos teñidos de color oscuro que se presentan en forma cocoide o de anillo, frecuentemente en pares y con un diámetro de 0.5–1.5 µm.

3.3.1.1.2.2. Prueba de inmunofluorescencia indirecta (IFI)

El IFAT proporciona un método simple, rápido, sensible para la detección del agente y el diagnóstico de la enfermedad, se ha usado con eficacia en los frotis de sangre, cortes de tejido, y frotis (Lannan & Fryer, 1991).

i) Los frotis o improntas de riñón, hígado y bazo deben prepararse secándolas al aire y fijándolas durante 5 minutos en metanol absoluto.

ii) Los frotis de tejido que se van a examinar por IFI deben estar recién preparados o almacenados a –20°C.

iii) La muestra se incuba primero con un anticuerpo monoclonal o policlonal anti-*P. salmonis*, luego se lava y se incuba con un anticuerpo secundario conjugado con isotiocianato de fluoresceína.

iv) Después del lavado, se aplica medio montado en glicerol como base y un cubreobjetos, luego se examina con un microscopio de fluorescencia.

3.3.1.1.2.3. Cortes fijados

3.3.1.1.2.4. Inmunohistoquímica (IHQ)

Piscirickettsia salmonis puede ser detectada por inmunohistoquimica en muestras de tejido fijadas en formalina, sin embargo, no deben descartarse las reacciones cruzadas entre los antisueros de P. *salmonis* con otras especies de rickettsias y esto debe ser objeto de más investigaciones.

El uso de la inmunohistoquímica para la confirmación de *Piscirickettsia* tiene algunas ventajas sobre otros métodos existentes, incluyendo la facilidad de uso de muestras fijadas con formalina o parafina, evaluación concomitante de las lesiones histopatológicas y no hay necesidades de equipamiento especial (Alday-Sanz *et al*., 1994).

i) Los cortes (5 µm) de tejidos fijados con formalina, incluidos en parafina y tratados para eliminar la actividad de la peroxidasa endógena.

ii) El tejido se incuba primero con un anticuerpo monoclonal o policlonal anti-*P. salmonis*, a continuación, se lava y se incuba con un anticuerpo secundario conjugado con peroxidasa de rábano.

iii) Después del lavado, el tejido se expone a un cromógeno, se contrasta con hematoxilina se deshidrata y se prepara para examen en un microscopio de luz.

3.3.1.2. Aislamiento e identificación del agente

3.3.1.2.1. Cultivo microbiológico

Tradicionalmente P. salmonis era considerado un patógeno intracelular estricto, sin embargo, informaciones más recientes sugieren que en realidad se trataría de un organismo intracelular facultativo (Gómez *et al*., 2009). Esta afirmación es congruente con lo descrito en cuanto a que P. salmonis puede desarrollarse, aunque en forma limitada, en medios de cultivo enriquecidos pero libres de células eucariotas (Mauel *et al*., 2008; Mikalsen *et al*., 2008; Yañez *et al*., 2012; Henriquez *et al*., 2013).

3.3.1.2.2. Cultivo celular

Este patógeno genera efecto citopático (ECP) en varias líneas celulares provenientes de peces (Fryer *et al*., 1990; Cvitanich *et al*., 1991; Fryer *et al*., 1992) y también en una línea originada desde una especie de ranas (Xenopus laevis) y en otra proveniente del insecto Spodoptera frugiperda (Birkbeck *et al*., 2004).

El primer aislamiento de P. salmonis se realizó desde un salmón coho con signos clínicos de la enfermedad en cultivos celulares de la línea CHSE-214 (Fryer *et al*., 1990).

El rango de temperatura óptimo para el crecimiento de P. salmonis está entre los 15 y 18°C, disminuyendo significativamente su replicación bajo los 10°C y sobre los 20°C y no visualizándose sobre los 25°C (Fryer *et al*., 1992). Los cultivos de células CHSE-214 que presentan ECP completo alcanzan títulos del orden de 106 a 107 dosis infectantes de cultivo de tejidos 50% por mL (DICT50/mL) (Fryer *et al*., 1990). Es interesante señalar

que se consiguen títulos más elevados que en las células CHSE-214 cuando esta bacteria es multiplicada en una línea celular de insecto (Birkbeck *et al.*, 2004). La multiplicación bacteriana en la línea CHSE-214 se evidencia por la presentación gradual de un ECP típico, que comienza entre los días 5 a 6 post-infección y que se caracteriza por la aparición de grupos de células globosas que aumentan en número, para posteriormente desprenderse progresivamente hasta que la monocapa celular es destruida completamente a los 14 días post-infección (Fryer *et al*., 1990; Garcés *et al*., 1991).

Cvitanich *et al.* (1991) originalmente describe en detalle el cultivo de *P. salmonis* en células de peces. El Manual de las pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos de la OIE (2009) para *P. salmonis* (Corbeil & Crane 2009) describe el procedimiento de diagnóstico para cultivar utilizando células CHSE-214. Cabe mencionar que actualmente la OIE elimino de la lista de enfermedades de peces esta enfermedad por lo que no se actualizo más la información.

Línea celular a usar: CHSE-214 o EPC (sin antibióticos añadidos)

a) *Preparación del tejido*

i) Se debe extraer el riñón asépticamente y depositarlo en un contenedor esterilizado. No se deben utilizar antibióticos en ninguna etapa del procedimiento de aislamiento. Los tejidos deben conservarse a 4ºC o en hielo mientras se procesan y no deben congelarse.

ii) El tejido de riñón debe homogeneizarse a 1/20 en solución salina equilibrada (BSS) y libre de antibiótico, y luego, sin centrifugarlo, se diluye en 1/5 y 1/50 BSS libre de antibiótico para inoculación en cultivos celulares. Las diluciones finales a usar son 10^{-2} y 10^{-3}.

b) *Inoculación de las monocapas celulares*

i) Una dilución 10^{-2} y una 10^{-3} del órgano homogeneizado debe inocularse en monocapas celulares y mantenerse en medio libre de antibióticos.

ii) El homogeneizado diluido puede inocularse directamente (0,1 ml/cultivo) en el medio de cultivo libre de antibiótico recubriendo las células.

iii) Los cultivos celulares deben incubarse a 15–18°C durante 28 días y observarse para la aparición del efecto citopático (ECP). El ECP de *P. salmonis* consiste en una formación como de placas o de células redondeadas. Con el tiempo, el ECP avanza hasta destruir por completo las células.

iv) Si el ECP no ocurre (excepto en controles positivos), los cultivos deben incubarse a 15– 18°C durante un período adicional de 14 días.

La inoculación en líneas celulares se consideraba anteriormente esenciales para el cultivo de Rickettsia-like oranisms. Sin embargo, agar para apoyar el crecimiento de *P. salmonis* ha sido desarrollado. Agar sangre de carnero suplementado con 0,1% de L-cisteína y 1% de glucosa (Mauel *et al*. 2008), y agar corazón cisteína suplementado con 0,1% de L-cisteína, 1% de glucosa y 5% de sangre de oveja (Mikalsen *et al*., 2008) ambos proporcionar los nutrientes esenciales y compuestos de crecimiento para *P. salmonis*.

Aunque no se describe en el Manual de las pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos (OIE 2009), cultivo de agar es un método alternativo de diagnóstico cuando hay co-infección con otro agente patógeno (M Crane, CSIRO Laboratorio Australiano de Sanidad Animal, com. pers., 2010).

Actualmente la recomendación en cuanto a las líneas celulares a utilizar para el cultivo de *P. salmonis* indican las líneas RTS-11 y SHK-1 (Ramirez *et al.,* 2015; Labra *et al.,* 2016)

3.3.1.2.3. Métodos de detección del antígeno basados en anticuerpos

3.3.1.2.3.1. ELISA

Existe un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para la detección de *Piscirickettsia salmonis* en muestras de tejido de peces. La prueba utiliza una combinación de diferentes anticuerpos monoclonales específicos frente a *P. salmonis* en la etapa de captura del ensayo. Los que se unen al soporte sólido con una proteína adhesiva purificada a partir de un molusco bivalvo, dando como resultado un alto rendimiento de adsorción y la estabilidad de unión. El anticuerpo monoclonal 7G4, usado como segundo anticuerpo, se conjuga con peroxidasa de rábano picante. El resultado es una prueba ELISA capaz de detectar 7 cepas diferentes de *P. salmonis* y no reacciona de forma cruzada con varios otros patógenos de peces, revelando una alta especificidad y sensibilidad. La prueba también detecta *P. salmonis* en tejido renal de salmón coho infectado con un 98% de correlación con el ensayo de inmunofluorescencia (Aguayo *et al.,* 2002).

3.3.1.2.4. Técnicas moleculares

3.3.1.2.4.1. Hibridación de DNA

Ensayos de hibridación dot-blot e in situ para detectar P. salmonis (Venegas *et al*. 2004) utilizan los cebadores de PCR diseñados por Mauel *et al*. (1996).

3.3.1.2.4.2. Reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR)

La técnica de diagnóstico molecular basado en PCR para el diagnóstico de piscirickettsiosis fue desarrollado por Mauel y colaboradores en el año 1996. Esta presenta una sensibilidad adecuada y se trata de un PCR anidado, el cual amplifica en primera instancia y con partidores inespecíficos el rDNA del 16S y en segunda instancia con partidores específicos para el 16S de *P. salmonis*. Esta primera aproximación a las técnicas de

PCR logró detectar menos de una dosis infecciosa ($TCID_{50}$) en cultivo de tejidos, por lo que fue adoptada por la OIE como técnica oficial para el diagnóstico de P. salmonis (Mauel *et al*., 1996).

Años más tarde en un intento por mejorar esta aproximación el grupo de Doctor Marshall y colaboradores desarrollaron un segundo método basado en PCR, esta vez dirigido a la región del espaciador transcripcional interno (ITS) y flanqueando el rRNA del gen del 23S del operon ribosomal. Este ensayo ha sido por años uno de los más aceptados por la industria para llevar a cabo el diagnostico de P. salmonis (Marshall *et al*. 1998).

Adicionalmente está disponible un tercer ensayo para este fin, el cual esta vez se hizo en base al PCR de tiempo real utilizando la química TaqMan. Este ensayo además de tener las ventajas inherentes a la técnica, como lo son el menor tiempo ofrece una sensibiliad comparable con la técnica recomendada por la OIE (Corbeil & Crane 2009).

Para consultar los detalles técnicos de cada una de estas técnicas favor referirse a las publicaciones respectivas.

3.3.1.2.5. Purificación del agente

Piscirickettsia salmonis propagada en cultivo celular o en medios de cultivo libres de células puede ser depurada utilizando una centrifugación diferencial y se purificada en una gradiente de Percol 30%.

3.3.2. Métodos serológicos

No hay antecedentes.

4. Idoneidad de las pruebas para cada uso previsto

Cabe mencionar que actualmente la OIE eliminó de la lista de enfermedades de peces esta enfermedad dado que no es un problema en otras latitudes a excepción de Chile, debido a esto no se han actualizado en los últimos 10 años la información mundial oficial sobre esta patología. Sin perjuicio de lo anterior, el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura mediante la Resolución Exenta Numero 3174 de 2012 estableció el "Programa Sanitario Especifico de Vigilancia y Control de Piscirickettsiosis", el cual, entre otras cosas, define que la técnica oficial en el país será el PCR en cualquiera de las posibilidades entes mencionadas, las cuales deberán estar debidamente validadas según la LABD-NT/3 y asimismo deberán mostrar idoneidad en las rondas de comparación interlaboratorios organizadas por el laboratorio de referencia nacional.

La prueba anterior deberá ser confirmada en ciertos casos específicos con el IFAT.

Objetivo Específico 2. Metodologia y resultados por etapa.

Objetivo Especifico		**Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por *P. salmonis*.**			
Descripción:		Se realizará una comparación de métodos de extracción y evaluará su eficiencia de recuperación de RNA total a partir de Caligus. Posteriormente al RNA recuperado se someterá a diferentes métodos diagnósticos para estos patógenos para verificar su correcto funcionamiento en muestras del parásito, evaluando posibles variaciones necesarias dependiendo de los estados de desarrollo del parasito.			
		Se realizarán muestreos de parasitos en 2 centros de cultivo, 1 positivo y uno negativo a *P. salmonis*. Luego se clasificarán por estadios y se evaluará la presencia de la bacteria en ellos.			
		Se infestarán peces suceptibles con parasitos infectados, luegose evaluará si los peces fueron infectados por los parasitos.			
Duración:		6 meses			
N°	**Etapa**	**Actividad**	**Hitos de Actividad**	**Estatus**	**Tablas y/o Anexos**
1	Diseño y validación de alternativas de diagnóstico de ISAV y P. salmonis desde Caligus rogercresseyi.	1.1.- Evaluar alternativas de extracción de material genético desde Caligus	Informe de evaluación	Completa	
		1.2.- Evaluar alternativas de diagnóstico a partir del material genético recuperado para PS	Informe de evaluación	Completa	
		1.3.- Evaluar variaciones necesarias por estados de desarrollo	Informe de evaluación	Completa	
		1.4.- Validación de técnicas	Informe de validación	Completa	
2	Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con P. salmonis.	2.1.- Muestreo	Informe de muestreo	Completa	
		2.2.- Clasificación y confirmacion de diagnostico	Informes de resultados por estadio	Completa	
3	Infección de peces susceptibles con parásitos infectados in vitro con P. salmonis y verificación de la capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos.	3.1. Producción de Caligus infectados con P. salmonis.	Informe de ensayo	Completa	
		3.2. Infestación de peces con los Caligus experimentalmente infectados.			
		3.3. Confirmación del diagnóstico.	Informes de resultados	Completa	

Etapa 1. Diseño y validación de alternativas de diagnóstico de ISAV y P. salmonis desde Caligus rogercresseyi.

Actividad 1.1. Evaluar alternativas de extracción de material genético desde Caligus

Se diseñó una serie de experimentos que permitirán concluir la metodología de homogenización y extracción de RNA total a partir de muestras de Caligus en diferentes estados de desarrollo es más eficiente. El detalle del diseño de los experimentos trata en breve de comparar diferentes sistemas de homogenización y kits comerciales de extracción de RNA, evaluando mediante la amplificación especifica de un gen constitutivo del parasito o "Housekeeping Gene", usando para esta tarea el factor de elongación 1 alfa (Gallardo-Escárate *et al.,* 2014).

Actividad 1.2. Evaluar alternativas de diagnóstico a partir del material genético recuperado para *P. salmonis*

Esta actividad fue desarrollada aprovechando las muestras recibidas por la autoridad y utilizadas en la actividad 1 de esta misma etapa, es decir, una vez que el material genético fue extraido y amplificado su factor de elongación demostrando su idoneidad se les aplicó material genético de muestras de referencia y luego se realizó el protocolo de análisis publicado por Marshal y col, 1998 para la amplificación especifica del ITS de *P. salmonis.*

Actividad 1.3. Evaluar variaciones necesarias por estados de desarrollo

Esta actividad fue realizada indirectamente ya que no se recibieron por parte de Sernapesca las muestras necesarias para ello, sin emabrgo y en favor de cumplir con el objetivo se tomaron muestras de los parasitos adultos utilizados en las etapas siguientes de este mismo objetivo y directamente de las hembras ovijeras se obtuvieron larvas de parasitos.

Actividad 1.4. Validación de técnicas

Se realizó una validación abreviada de la técnica seleccionada siguiendo las directrices de la Norma Técnica número 3 del Sernapesca (LABD/NT3), la cual establece los Procedimientos para la validación y control de calidad de los métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) utilizados para el diagnóstico de

enfermedades infecciosas en animales acuáticos. Sin embargo, es necesario aclarar que los números de muestras son inferiores a los solicitados por dicha norma.

Resultados etapa 1.

Actividad 1.1. Protocolo Experimental para la Evaluación de la Homogenización y Extracción RNA total desde *Caligus rogercresseyi*

Objetivo General

Evaluación y comparación de la eficiencia de diferentes metodologías de homogenización y kits comerciales de extracción de ARN total en el desempeño de la técnica de qRT-PCR para ELF-1α en muestras de los distintos estadios de desarrollo del parásito *Caligus rogercreseeyi*.

Metodología

Muestras:

Las muestras corresponderán a diferentes estadios del parasito preservadas en RNA Later (Ambion®), los cuales se dividirán en tres:

1. Planctónico (Pl)
2. Parasitario Fijo (PF)
3. Parasitario Móvil (PM)

Cada muestra será pesada formando pooles de 30 mg (peso mínimo recomendado por los kits de extracción) por estadio. Es importante considerar que dado los diferentes pesos de los estadios del parasito, la cantidad de animales que formarán un pool pueden ser diferentes.

Homogenización:

De cada estadio, se harán 2 tipos de homogenización por separado, una homogenización manual con martillo de goma y una homogenización automática utilizando un equipo automático (MagnaLyzer). En ambos tipos de homogenizaciones se considera hacerlo de dos formas, la primera con los tampones de lisis de cada kit y la segunda hacerlo en presencia de Trizol LS (Ambion®).

Extracción:

Cada homogenizado será extraído mediante dos kits comerciales a evaluar (Omega E.Z.N.A. y Axygen), que coinciden con los más usados comercialmente. Las muestras homogenizadas con los tampones de lisis se

harán siguiendo los pasos indicados por el fabricante de cada kit mientras que a las muestras homogenizadas con Trizol LS se les aplicará una modificación en el protocolo que permitirá la combinación del uso del Trizol-Cloroformo con el uso de columnas de extracción (extracción modificada con Trizol).

El material genético extraído será eluído en un volumen final de 60µL y será congelado a -80°C para su posterior evaluación.

Evaluación del RNA total Extraído.

La evaluación se realizará mediante la amplificación especifica de un gen constitutivo del parasito o "Housekeeping Gene", usando para esta tarea el factor de elongación 1 alfa (ELF-1α) según (Sepulveda *et al.,* 2013).

Este análisis se hará mediante qRT-PCR usando el kit SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System, Invitrogen™ o alguna alternativa similar y el termociclador StepOne Plus, Applied Biosystems®, haciendo uso de controles positivos y controles negativos y corriendo esta prueba en duplicados para obtención de mayor confianza de los resultados.

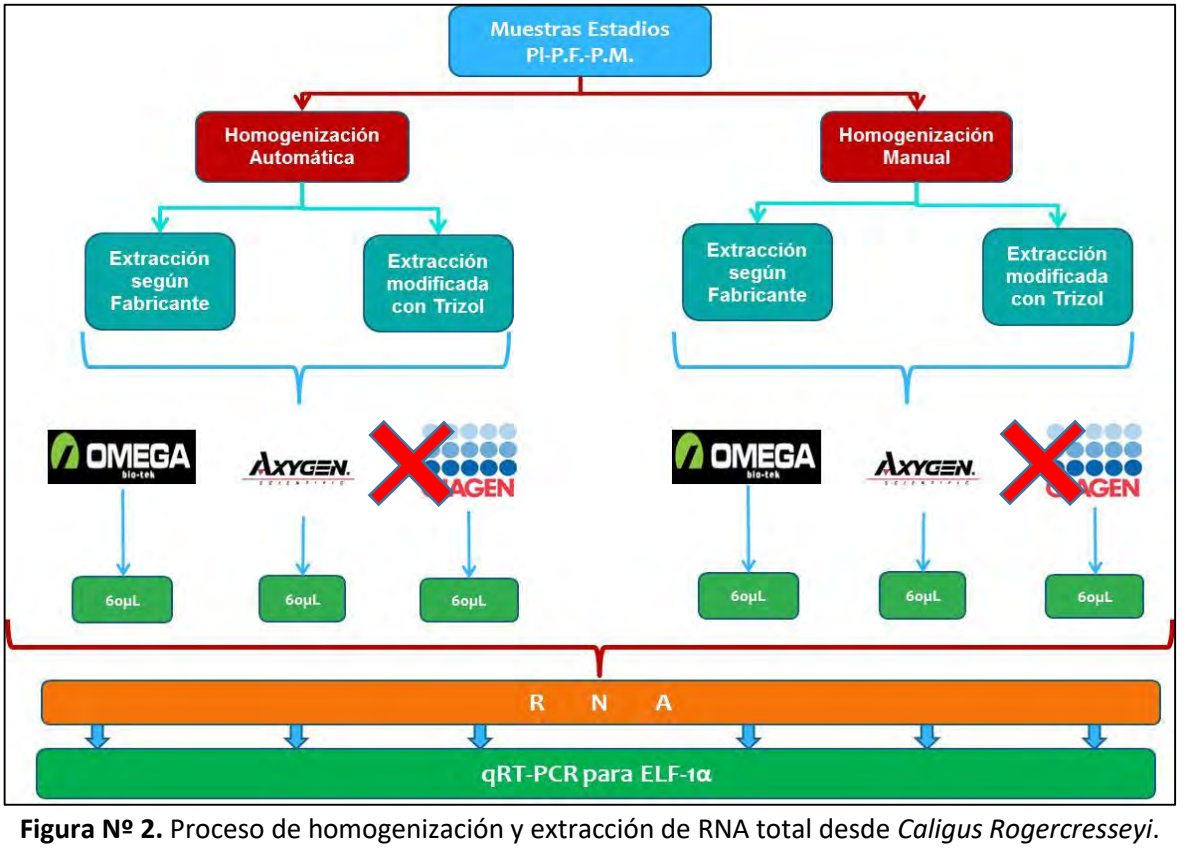


Figura Nº 2. Proceso de homogenización y extracción de RNA total desde *Caligus Rogercresseyi*.

Tabla Nº 3**.** Kit de extraccion utilizados.

	Kit de Extracción Utilizado		
	Marca	**Nombre**	**Origen**
1	Omega Bio-tek	E.Z.N.A. Total RNA Kit I	Georgia, EE.UU.
2	AxyGen	AxyPrep Multisource Total RNA Miniprep.	Nueva York, EE.UU.

Resultados.

Los resultados obtenidos en esta etapa carecen de la información correspondiente a los diferentes estados de desarrollo del parasito debido a que en el periodo no se recibieron muestras con estadios de desarrollo diferenciados, sin emabrgo producto de los experimentos realizados en otras etapas de este mismo proyecto se analizaron muestras de otros estadios de desarrollo del parásito obteniendo resultdos adecuados cuando se aplicó la misma metodología de extracion de ARN total (resultados etapa 2 actividad 2.2). Asimismo, indicar que, si bien el número de muestras fue reducido, para contrarestar el efecto se decidio eliminar uno de los kits de extracción de RNA total y utilizar solamente los dos mas utilizados en el medio.

Los resultados obtenidos en esta evaluación se aprecian en la siguiente tabla y gráfico.

Tabla Nº 4. Valores de Ct obtenidos en la amplificación del Factor de elongación 1 alfa (ELF-1α) luego de que las muestras fueran homogenizadas y extraido su RNA total mediante las distintas opciones a evaluar.

Metodo de homogenización	Kit de Extracción	Método	Muestra	Valores de CT		Media duplicados	SD duplicados	Media 4 Muestras	SD 4 Muestras
				1	2				
Manual	Ezna	Fabricante	1	21,43	21,50	21,47	0,05	22,03	0,42
			2	22,57	22,54	22,55	0,03		
			3	22,00	22,16	22,08	0,11		
			4	21,97	22,06	22,01	0,06		
		Trizol	1	16,41	16,75	16,58	0,24	16,59	0,74
			2	17,54	17,84	17,69	0,21		
			3	15,89	16,34	16,11	0,32		
			4	15,84	16,12	15,98	0,19		
	Axygen	Fabricante	1	21,51	21,76	21,64	0,18	21,84	0,51
			2	21,21	21,47	21,34	0,18		
			3	22,48	22,72	22,60	0,17		
			4	21,77	21,83	21,80	0,05		
		Trizol	1	21,71	21,82	21,77	0,08	19,63	1,39
			2	18,32	18,23	18,27	0,06		
			3	19,25	19,25	19,25	0,00		
			4	19,15	19,32	19,24	0,12		
Automático	Ezna	Fabricante	1	15,96	15,95	15,95	0,01	16,35	0,31
			2	16,32	16,35	16,34	0,02		
			3	16,70	16,81	16,75	0,08		
			4	16,39	16,31	16,35	0,06		
		Trizol	1	17,09	17,06	17,08	0,02	15,92	1,00
			2	15,54	15,06	15,30	0,34		
			3	14,97	14,57	14,77	0,28		
			4	16,52	16,57	16,55	0,03		
	Axygen	Fabricante	1	18,25	18,46	18,36	0,15	16,99	0,86
			2	16,86	16,66	16,76	0,14		
			3	16,39	16,38	16,38	0,01		
			4	16,49	16,43	16,46	0,04		
		Trizol	1	15,63	15,33	15,48	0,21	16,36	0,84
			2	16,84	16,59	16,72	0,18		
			3	17,33	17,55	17,44	0,15		
			4	15,71	15,87	15,79	0,11		

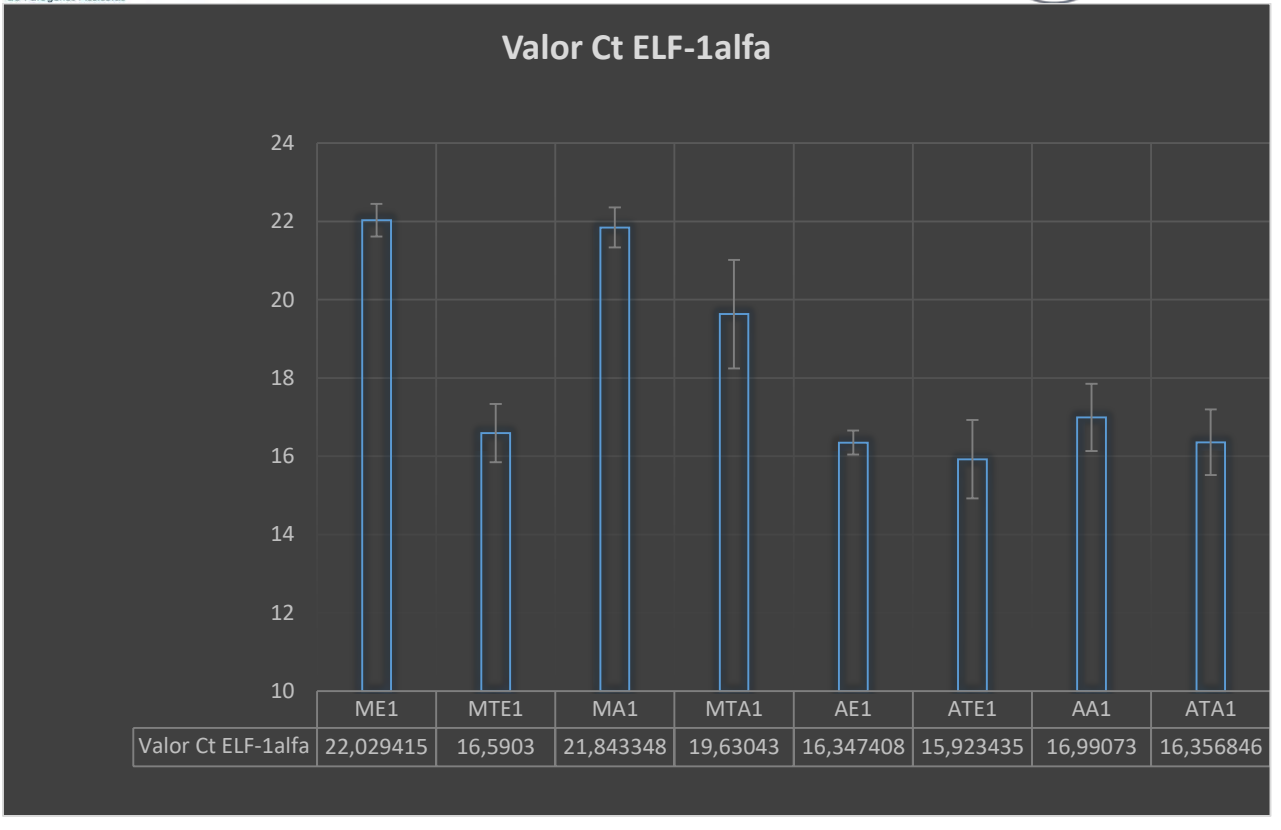


Figura Nº 3. Valores medios de Ct obtenidos en la amplificación del Factor de elongación 1 alfa (ELF-1α) luego de que las muestras fueran homogenizadas y extraidas mediante las distintas opciones evaluadas.

Conclusion.

Si bien el numero de muestras analizadas es reducido, en el grafico se aprecia una clara tendencia de tanto de la metodología de homogenización como del kit utilizado para la extraccion de RNA total que obtiene mejores valores, siendo la homogenización automática mejor que la manual y además la adicion de Trizol LS™ en el proceso de homogenización aumenta la eficiencia de la extracción de RNA total.

Actividad 1.2. Resultados obtenidos de la evaluación de alternativas diagnósticas a partir del material genético recuperado para *P. salmonis.*

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los resultados obtenidos en las muestras utilizadas y en ellos se puede observar claramente que el método de diagnóstico propuesto por Marshall y col. 1998 es absolutamnte idóneo para reconocer una muestra positiva y una negativa, siempre y cuando se utilice para la amplificación un material genético recuperado de buena maera y en buenas condiciones, en concordancia con los resultados de la actividad anterior.

Tabla Nº 5. Resumen de resultados obtenidos de la evaluación de la metodología diagnóstica para *P. salmonis* aplicada a material genético recuperado desde *C. rogercresseyi*.

Organismo	Tipo Muestra	Valor CT	Interpretación
Muestra de referencia positiva *P. salmonis* LF89	ADN	21,134	Positivo
Muestra de referencia positiva *P. salmonis* EM90	ADN	20,323	Positivo
Muestra de referencia positiva *P. salmonis* T-GIM011	ADN	18,894	Positivo
Muestra de referencia positiva *P. salmonis* S-GIM012	ADN	19,152	Positivo
Muestra de referencia negativa *A. Hydrophila*	ADN	39,104*	Negativo
Muestra de referencia negativa *V. Cholerae*	ADN	38,614*	Negativo
Muestra de referencia negativa *V. Anguillarum*	ADN	38,536*	Negativo
Muestra de referencia negativa *F. Psycrophillum*	ADN	38,039*	Negativo
Muestra de referencia negativa *P. antarctica* 12.B.3	ADN	38,626*	Negativo
Muestra de referencia negativa *P. antarctica* 12.B.14	ADN	No Ct	Negativo
Muestra de referencia negativa *P. antarctica* 12.B.6	ADN	No Ct	Negativo
Muestra de referencia negativa *P. antarctica* S6.3	ADN	37,526*	Negativo
Muestra de referencia negativa ISAv	ARN	No Ct	Negativo
Muestra de referencia negativa ISAv	ARN	37,106*	Negativo
Muestra de referencia negativa ISAv	ARN	37,467*	Negativo

Actividad 1.3. Variaciones del metódo de análisis según estadio del parásito

Los resultados obtenidos para estos análisis, pese a todas las limitaciones para conseguir muestras adecuadas se muestran en la tabla N°17. De estos se desprende que no es necesario aplicar ningún tipo de variación a los métodos de diagnóstico cuando se analizan muestras de larvas de *Caligus rogercresseyi* y de esto podría deducirse que otros estadios intermedios entre las larvas y los adultos tampoco requieran variación de las técnicas.

Actividad 1.4. Validación, Según LABD/NT 3, de la Técnica de RT-PCR en Tiempo Real Para el Diagnóstico de Piscirickettsia salmonis Basado en la Publicación de Marshall *et al.,* 1998.

I Introducción

La validación de métodos cualitativos consiste en un conjunto de estudios técnicos que permite conocer el grado en el cual los datos producidos por un proceso de medición permiten tomar una decisión técnica correcta para un determinado propósito, o bien, confirmar por análisis y evidencias objetivas, que un conjunto de requerimientos específicos es cumplido.

Una prueba validada produce, de manera constante, resultados que identifican a los animales como positivos o negativos para un analito o proceso determinado que, por inferencia, indican con exactitud el estado de infección del animal con un grado predeterminado de certeza estadística.

II Objetivo

Este informe indica los resultados obtenidos en el proceso de validación, estableciendo así los parámetros óptimos para el ensayo de RT-PCR en tiempo real para el diagnóstico de *P. salmonis*, con la finalidad de proporcionar en forma consistente resultados positivos o negativos, prediciendo con exactitud el estado de infección de los parásitos *Caligus rogercresseyi* con un grado de certeza estadística.

III Responsables

1. El Director del laboratorio: deberá velar por el cumplimiento de todos los procedimientos incluidos en la LABD/NT 3 y será responsable de la toma de decisiones que corresponda.
2. El coordinador del laboratorio: supervisa de manera directa la ejecución de los procedimientos.
3. Las analistas: responsables de la ejecución de los procedimientos.

IV Etapas de la Validación

Estudios de Viabilidad

Esta etapa constituye un paso preliminar en la validación de un nuevo ensayo. Su objetivo es determinar si en un ensayo se puede detectar una gama de concentraciones de analito o agente, sin actividad de fondo.

Dado que los métodos de diagnóstico para estas patologías ya fueron testeados en las etapas anteriores de este proyecto, esta etapa no fue realizada.

Desarrollo y Estandarización del Ensayo

En esta etapa se establecieron los volúmenes y concentraciones óptimas de los componentes químicos y biológicos, los parámetros físicos, así como las condiciones de almacenamiento y preparación de los reactivos y sus concentraciones, según referencias del protocolo, los equipos y aparatos dentro de un grupo de opciones disponibles, necesarias para realizar el ensayo.

Con la finalidad de realizar el diagnóstico de *P. salmonis* en nuestro laboratorio se cuenta con un equipo Applied Biosystem modelo StepOnePlus, el cual fue previamente evaluado frente a otros equipos demostrando un mejor desempeño.

Dado que el kit para RT-PCR en tiempo real utilizado en nuestro laboratorio es un kit comercial certificado, adquirido en un formato de características "One-step" el cual según fabricante está previamente premezclado y optimizado, solo se consideraron los siguientes parámetros a evaluar.

1. Temperatura de hibridación (53°C - 55°C - 58°C)
2. Volumen de partidores (0,2µl – 0,4µl – 0,6µl)
3. Volumen de sonda (0,1µl – 0,2µl – 0,3µl)

Para ejecutar estas comparaciones los análisis se realizaron bajo las siguientes condiciones:

1. Extracción de RNA
    a. Equipos: Magnalyser
    b. Reactivos: E.Z.N.A. Total RNA Kit I (Omega Bio-Tek)
2. Mezcla de reacción
    a. Equipos: Microcentrifuga N° 24, Micropipetas N° 46, 47 y 48
    b. Reactivos: Indicados en la tabla N° 1, pertenecientes al Kit SuperScript III One-Step QRT-PCR (Invitrogen)
    c. Procedimiento: Descrito en IS12 "Transcripción Reversa PCR en Tiempo Real"
3. RT-PCR en tiempo real
    a. Equipo: Applied Biosystem modelo StepOnePlus
    b. Software: StepOne™ v2.3
    c. Interpretación de resultados: En base al valor del Ct y a la curva de amplificación

Se utilizaron 10 muestras negativas y 10 diluciones en base 10 de una muestra de positiva a *P. salmonis* obtenida desde un pool de Caligus.

Tabla Nº 6. Volúmenes y concentraciones recomendados por el fabricante.

Tabla N° 6	
Reactivo	**Recomendado por el fabricante (µl)**
Primer Forward 20 uM	1
Primer Reverse 20 uM	1
SSIII RT/platinium Taq Mix	0,4
Mix 2x	10
ROX	0,4
Sonda 20 uM	0,3
Templado	6,9
Volumen total	**20**

Tabla Nº 7. Los resultados obtenidos de los ensayos de comparación de tres diferentes temperaturas de hibridación (58°C - 60°C - 62°C)

Tabla N° 7																		
Muestras	53ºC						55ºC						58ºC					
	1 lectura		2 lectura		Promedio		1 lectura		2 lectura		Promedio		1 lectura		2 lectura		Promedio	
	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF
STOCK	21,794	8,124	21,523	8,066	21,658	8,095	21,642	7,735	21,482	7,815	21,562	7,775	21,359	8,625	21,697	8,276	21,528	8,450
MP-1	25,983	7,458	26,199	6,632	26,091	7,045	25,820	7,220	26,291	7,050	26,056	7,135	25,962	7,476	25,837	8,191	25,900	7,834
MP-2	29,491	5,712	29,917	5,690	29,704	5,701	30,005	5,682	29,657	6,069	29,831	5,876	29,848	6,433	29,779	6,338	29,813	6,386
MP-3	32,769	4,070	33,464	3,943	33,117	4,007	33,484	5,200	33,262	4,146	33,373	4,673	32,775	5,368	33,456	4,390	33,115	4,879
MP-4	36,245	2,551	36,465	1,557	36,355	2,054	36,718	2,396	36,224	2,556	36,471	2,476	-	-	38,619	2,144	38,619	2,144
MP-5	-	-	-	-	-	-	42,805	0,399	41,079	0,140	41,942	0,269	-	-	-	-	-	-
MP-6	-	-	-	-	-	-			-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-7	-	-	-	-	-	-	38,155	0,127	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-8	37,950	0,685	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-9	38,119	0,122	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-2	-	-	38,892	0,188	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37,376	0,883	-	-
MN-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37,581	1,328	-	-
MN-7	-	-	-	-	-	-	40,117	0,162	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	40,925	0,162	37,035	1,473	-	-
MN-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37,360	0,985	-	-
C Pos	26,775	5,070	26,744	5,307	26,759	5,189	26,840	6,231	26,615	5,147	26,728	5,689	26,610	6,593	26,993	6,633	26,801	6,613
Blanco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Artefacto de Técnica (curva sin forma)						MP: Muestra Positiva / MN: Muestra Negativa						C Pos: Control Positivo					

De los datos de la tabla N° 7 se desprende que los mejores resultados se obtienen utilizando una temperatura de hibridación de 55°C, ya que a esta temperatura se logra una mayor sensibilidad detectando una dilución más que en las otras temperaturas probadas, así mismo se logra una intensidad de fluorescencia adecuada.

Tabla Nº 8a. Resultados obtenidos de los ensayos de comparación de tres diferentes volúmenes de partidores (0,2µl – 0,4µl – 0,6µl)

Tabla N° 8																		
Muestras	0,9						1						1,1					
	1 lectura		2 lectura		Promedio		1 lectura		2 lectura		Promedio		1 lectura		2 lectura		Promedio	
	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF
STOCK	21,65	8,324	22,061	6,857	21,8555	7,5905	21,827	6,683	21,947	6,969	21,887	6,826	21,34	7,947	21,535	7,813	21,4375	7,88
MP-1	26,098	8,089	25,644	6,855	25,871	7,472	26,2	6,678	26,122	7,191	26,161	6,9345	25,993	7,34	25,987	7,707	25,99	7,5235
MP-2	30,763	6,014	30,832	6,282	30,7975	6,148	30,776	4,696	30,295	6,273	30,5355	5,4845	30,63	5,663	30,53	6,217	30,58	5,94
MP-3	34,109	4,179	33,71	5,327	33,9095	4,753	34,577	3,865	34,452	3,848	34,5145	3,8565	33,568	5,023	33,286	3,83	33,427	4,4265
MP-4	37,372	1,105	-	-	37,372	1,105	-	-	36,368	4,182	36,368	4,182	40,167	0,874	37,791	3,258	38,979	2,066
MP-5	38,293	1,744	-	-	38,293	1,744	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	38,882	0,339	-	-	-	-
MP-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-8	37,647	1,28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-9	36,212	3,18	-	-	-	-	37,494	1,356	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-2	37,841	0,719	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	34,336	1,438	34,336	1,438
MN-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37,687	0,47	-	-
MN-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CP	19,262	6,059	-	-	19,262	6,059	32,385	2,378	-	-	32,385	2,378	18,12	5,629	-	-	18,12	5,629
Blanco	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Artefacto de Técnica (curva sin forma)						MP: Muestra Positiva / MN: Muestra Negativa						C Pos: Control Positivo					

De los datos de la tabla N° 8 se desprende que los mejores resultados se obtienen utilizando un volumen de partidores de 0,4µl, ya que con este volumen se logra resultados más repetibles, tanto en valor de Ct como en intensidad de fluorescencia, además se obtienen menos artefactos de técnica.

Tabla Nº 8b. Resultados obtenidos de los ensayos de comparación de tres diferentes volúmenes de sonda (0,2µl – 0,3µl – 0,4µl)

Tabla N° 4																		
Muestras	0,27						0,3						0,33					
	1 lectura		2 lectura		Promedio		1 lectura		2 lectura		Promedio		1 lectura		2 lectura		Promedio	
	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF
STOCK	23,243	5,215	22,227	5,884	22,735	5,55	21,789	6,081	22,46	6,482	22,1245	6,282	21,83	5,955	21,6	6,498	21,715	6,227
MP-1	26,867	4,357	26,238	5,828	26,5525	5,093	26,448	5,534	26,4	5,78	26,424	5,657	25,816	6,011	26,144	6,143	25,98	6,077
MP-2	30,726	4,853	30,472	4,91	30,599	4,882	30,416	4,912	30,697	4,67	30,5565	4,791	30,543	4,498	30,345	4,79	30,444	4,644
MP-3	34,248	3,363	34,353	3,246	34,3005	3,305	34,726	2,771	34,178	2,777	34,452	2,774	34,399	2,628	33,937	3,119	34,168	2,874
MP-4	37,409	1,037	37,226	1,641	37,3175	1,339	37,029	1,991	36,967	2,197	36,998	2,094	37,694	0,772	37,905	1,495	37,7995	1,134
MP-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MP-8	-	-	-	-	-	-	38,073	0,377	-	-	-	-	38,318	0,277	37,007	1,342	-	-
MP-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-1	-	-	-	-	-	-	37,626	0,872	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
MN-10	38,854	0,361	-	-	-	-	-	-	37,047	1,027	-	-	-	-	-	-	-	-
CP	26,39	5,248	26,405	5,485	26,3975	5,367	26,226	6,095	26,398	5,644	26,312	5,87	26,431	6,488	26,933	6,009	26,682	6,249
Blanco	38,778	0,688	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Artefacto de Técnica (curva sin forma)						MP: Muestra Positiva / MN: Muestra Negativa						C Pos: Control Positivo / IF: Intensidad de Fluorescencia					

De los datos de la tabla N° 8.1 se desprende que los mejores resultados se obtienen utilizando un volumen de sonda de 0,3µl, ya que con este volumen se logra resultados más repetibles, tanto en valor de Ct como en intensidad de fluorescencia. Sin perjuicio de lo anterior se observa que con este volumen de sonda se obtiene un mayor número de artefactos de técnica, sin embargo y a diferencia de los obtenidos con los otros volúmenes, estos son fácilmente reconocibles.

Repetibilidad Analítica, Estimaciones Preliminares

En esta etapa se debe determinar el grado de repetibilidad analítica de la técnica a validar, entendiendo por repetibilidad analítica la capacidad del ensayo de obtener el mismo resultado a partir de la misma muestra de referencia, realizado en diferentes momentos por el mismo operario.

Para llevar a cabo esta etapa se seleccionó una muestra de referencia positiva al agente objetivo previamente cuantificada, a esta se le realizaron 3 diluciones (MP-1, MP-3 y MP-4), además se adicionó una muestra negativa (MN) y posteriormente cada muestra de este conjunto se dividió en 12 alícuotas. Estas se analizaron en 6 ciclos distintos por cada analista del laboratorio en diferentes días, adicionando en cada reacción un blanco.

En la tabla número 9 se muestran los resultados obtenidos en esta etapa, con los cuales se calcularon los parámetros estadísticos media, desviación estándar y porcentaje de coeficiente de variación (tabla numero 10).

Tabla Nº 9. Resultados obtenidos en esta etapa

TABLA N° 9											
ANALISTA	CICLO	MP-1		MP-3		MP-4		MN		BLANCO	
		CT	IF	CT	IF	CT	IF	CT	IF	CT	IF
1	1	20,038	13,343	28,381	9,330	34,884	5,547	-	-	-	-
		19,715	11,870	28,016	9,061	34,962	6,270	39,383	1,107	-	-
	2	20,623	6,097	29,219	4,310	35,612	2,135	-	-	-	-
		20,742	6,069	29,353	4,495	35,211	2,315	-	-	-	-
	3	20,716	5,662	29,095	4,272	34,364	2,482	-	-	-	-
		20,637	5,836	29,141	4,098	34,812	2,388	-	-	-	-
	4	20,395	6,092	29,273	4,530	35,292	2,232	-	-	-	-
		20,487	6,266	29,308	4,785	35,150	2,122	-	-	-	-
	5	20,862	6,654	29,527	4,827	36,334	2,137	-	-	-	-
		20,672	6,849	29,949	4,734	35,369	2,684	-	-	-	-
	6	21,215	6,874	29,291	4,949	35,296	1,859	-	-	-	-
		20,885	6,352	29,736	4,769	33,931	2,685	-	-	-	-
Artefacto de Técnica (curva sin forma)						MP: Muestra Positiva / MN: Muestra Negativa					

Tabla Nº 10. Porcentaje de coeficiente de variación

TABLA N° 10				
ANALISTA	PARÁMETROS DE COMPARACIÓN ESTADÍSTICOS	MP-1	MP-3	MP-4
		CT	CT	CT
1	MEDIA	20,582	29,191	35,101
	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	0,395	0,530	0,603
	COEFICIENTE DE VARIACIÓN (%)	1,921%	1,816%	1,719%

De esta etapa finalmente se puede concluir que la repetibilidad analítica de la técnica considerando a ambas analistas se encuentra dentro de los parámetros aceptables con un promedio entre los porcentajes de coeficiente de variación menor al 2%. Así mismo, como es de esperar esta variación aumenta (desviación estándar) a medida que aumenta el valor de CT, dado que la técnica está sometida a una mayor exigencia.

Determinación de los parámetros esenciales de control

El objetivo de esta etapa es determinar la robustez de la técnica, es decir, qué tan estable es frente a pequeñas modificaciones en los parámetros principales tales como tiempos, temperaturas, cantidad y concentración de reactivos, etc.
Para determinar los parámetros esenciales de control de la técnica se definieron 5 puntos críticos y a cada uno de ellos se le definió un rango de variación (tabla N° 11). Posteriormente se seleccionó una muestra positiva al agente objetivo y se dividió en 15 alicuotas, las cuales se analizaron en triplicado usando todas las condiciones mencionadas en la tabla N° 11.

Tabla Nº 11. Parámetros esenciales de control de la técnica se definieron 5 puntos críticos

Tabla N° 11					
Parámetro Testeado	**Temperatura de annealing (°C)**	**Cantidad de Partidores (µl)**	**Cantidad de Sonda (µl)**	**Cantidad de enzima (µl)**	**Volumen final de Mix (µl)**
Temperatura de annealing	53 - 55 - 58	0,4	0,3	0,4	20
Cantidad de Partidores	55	0,2 – 0,4 – 0,6	0,3	0,4	20
Cantidad de Sonda	55	0,4	0,2 - 0,3 - 0,4	0,4	20
Cantidad de enzima	55	0,4	0,3	0,3 - 0,4 - 0,5	20
Volumen final de Mix	55	0,4	0,3	0,4	18 - 20 - 22

Un resumen de los resultados obtenidos se observa en la tabla N° 12a, en la cual se muestran los promedios de los CT y los valores de intensidad de fluorescencia obtenidos además de los valores de desviación estándar de cada una de las pruebas realizadas.

Tabla Nº 12a. Promedios de los CT y los valores de intensidad de fluorescencia

Tabla N° 12a								
Parámetro Testeado	**CT**	**IF**	**CT**	**IF**	**CT**	**IF**	**DS CT**	**DS IF**
Temperatura de annealing	26,09	7,05	26,06	7,14	25,9	7,83	0,102	0,432
Cantidad de Partidores	25,87	7,47	26,16	6,94	25,99	7,52	0,146	0,326
Cantidad de Sonda	26,55	5,09	26,42	5,66	25,98	6,08	0,301	0,494
Cantidad de enzima	26,29	7,16	26,25	7,22	26,18	7,21	0,055	0,029
Volumen final de Mix	26,54	6,94	26,56	6,81	26,65	6,86	0,061	0,063

En conclusión, de la etapa se puede indicar que la técnica, al nivel de detección testeada, es lo suficientemente robusta como para permitir pequeñas variaciones en sus parámetros críticos o esenciales sin alterar en gran medida sus resultados, otorgando de esta manera resultados altamente confiables.

Sensibilidad y especificidad analítica

La sensibilidad analítica del método se define como la cantidad más pequeña de copias de genoma del agente objetivo que puede detectarse y distinguirse a partir de un resultado cero.
En esta etapa se determina el límite de detección del ensayo o la concentración más baja en la cual se obtiene un resultado positivo con un alto grado de confianza.
Para llevar a cabo esta etapa se seleccionó una muestra positiva al agente. Luego se realizaron 8 diluciones seriadas en base 10 de esta muestra, las que se analizaron en 10 repeticiones registrando los resultados en la tabla N° 12b.

Tabla Nº 12b. Sensibilidad y especificidad analítica

TABLA N° 12																
LECTURAS	MP-1		MP-2		MP-3		MP-4		MP-5		MP-6		MP-7		MP-8	
	CT	IF	CT	IF	CT	IF	CT	IF	CT	IF	CT	IF	CT	IF	CT	IF
1	21,830	6,744	25,336	6,888	30,280	4,983	33,738	3,538	34,762	2,182	-	-	-	-	-	-
2	21,841	7,238	25,334	7,509	30,245	5,586	34,385	3,509	35,795	2,650	37,967	0,890	37,578	1,073	-	-
3	21,754	7,163	25,313	7,210	30,108	5,276	34,285	3,072	36,103	1,788	-	-	-	-	-	-
4	21,770	7,257	25,467	6,801	30,345	5,562	33,734	3,788	36,860	0,976	-	-	-	-	37,831	1,374
5	21,912	6,593	25,191	6,377	30,349	5,207	33,774	2,749	34,453	2,789	36,614	1,356	36,082	1,610	-	-
6	21,935	6,840	25,237	6,439	30,175	5,457	33,341	3,840	36,187	1,827	37,828	0,768	39,358	0,332	-	-
7	21,765	6,902	25,395	6,769	30,135	5,790	33,800	3,542	37,652	1,551	37,616	1,694	-	-	-	-
8	21,830	6,924	25,353	6,637	30,320	5,352	33,901	2,902	37,684	1,160	-	-	-	-	-	-
9	21,793	6,716	25,294	6,584	30,435	5,243	33,797	2,921	-	-	-	-	36,546	1,349	-	-
10	21,856	6,777	25,207	7,364	30,078	5,352	34,316	1,818	36,306	1,860	-	-	35,615	0,704	37,520	1,018
MEDIA	**21,829**	**6,915**	**25,313**	**6,858**	**30,247**	**5,381**	**33,907**	**3,168**	**36,200**	**1,865**	**37,506**	**1,177**	**37,036**	**1,014**	**37,676**	**1,196**
% DETECCIÓN	**100%**		**100%**		**100%**		**100%**		**90%**		**40%**		**50%**		**20%**	

Con estos resultados se aprecia que hasta la cuarta dilución de la muestra se obtienen resultados positivos en el 100% de las repeticiones con un valor de CT promedio de 33,907, lo que se pierde en la dilución siguiente donde se obtiene un valor de CT de 36,200. Dado que el valor de CT es muy diferente entre la dilución 4 y 5 se decidió realizar nuevas diluciones a la MP-4, esta vez en base 5 de manera de tener una determinación más fina del CT de corte. Los resultados de estos análisis se observan en la Tabla Nº 13

Tabla Nº 13. Los resultados de análisis.

TABLA N° 13								
LECTURAS	MP-4		MP-4 (D5-1)		MP-4 (D5-2)		MP-4 (D5-3)	
	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF	Ct	IF
1	33,184	5,223	34,342	3,963	34,810	3,160	-	-
2	32,700	5,601	33,983	4,668	34,898	3,706	-	-
3	32,231	5,282	34,868	4,946	35,637	3,020	-	-
4	33,434	3,954	35,733	2,687	35,421	4,162	35,260	4,360
5	33,219	3,805	36,134	2,391	36,447	3,229	36,379	2,431
6	32,860	4,515	35,084	3,217	-	-	-	-
7	32,932	5,083	35,007	3,179	34,576	3,281	-	-
8	32,489	4,929	34,984	2,609	32,364	4,030	36,591	2,325
9	32,527	4,767	34,143	4,480	-	-	37,317	2,206
10	33,589	3,553	34,767	4,340	36,924	2,056	-	-
MEDIA	**32,917**	**4,671**	**34,905**	**3,648**	**35,135**	**3,331**	**36,387**	**2,831**
% DETECCIÓN	**100%**		**100%**		**80%**		**40%**	

En la tabla N° 13 se observa que la dilución MP-4$^{(D5-1)}$, con un valor de CT promedio de 34,905 es la última dilución en la cual se detecta el 100% de las réplicas, por lo que se establece el CT de corte en un valor de 35.

1.1.1. Especificidad Analítica

Se define como la capacidad de un ensayo para distinguir entre el agente objetivo y otros agentes.
El objetivo de este paso es determinar las posibles reacciones cruzadas que podría presentar la técnica con agentes diferentes al agente objetivo, la capacidad del ensayo de detectar distintas variantes de este y las capacidades de la técnica en diferentes matrices.
Para determinar la especificidad del método, se deberá analizar un mínimo de 2 réplicas de muestras con los principales agentes patógenos de salmones, en particular aquellos estrechamente relacionados con el agente objetivo. Estos análisis se deberán repetir para las distintas matrices a partir de las cuales se realice la determinación, considerando en cada caso la incorporación de un control negativo y uno positivo. Los resultados obtenidos deben ser registrados y analizados para la obtención de la especificidad analítica.
En el particular de esta medición no se realizará debido a que la especificidad de los partidores y sondas diseñado para P. salmonis ya ha sido probada en estudios anteriores y esta validación obedece solo al hecho de utilizar matriz Caligus, la cual ya se analizó en las etapas anteriores.

Etapa 2. Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con P. salmonis.

Actividad 2.1. Muestreo.

Dada la logística necesaria para esta actividad, esta fue realizada contando con la valiosa ayuda de la Dra. Sandra Bravo y su equipo de trabajo, en dependencias del Instituto de Acuicultura de la Universidad Austral de Chile (UACh) ubicado en Puerto Montt.

Actividad 2.2. Clasificación y confirmacion de diagnostico

La clasificación de los parásitos según estadios de desarrollo fue amablemente realizada por el equipo de la Dra. Sandra Bravo e informado en la actividad anterior.

Una vez en el GIM-PUCV las muestras fueron analizadas mediante tres ensayos: cultivos celulares, cultivos microbiológicos y RT-qPCR.

Metodología utilizada en Cultivos celulares y microbiológicos.

El tejido y los Caligus se homgenizaron en proporción 1/20 en solución salina equilibrada (PBS) y libre de antibiótico, y luego, sin centrifugarlo, se tomó con el asa de cultivo una alícuota y se sembró en placas de medios sólidos (agar Austral-He) y líquidos (Austral-SRS). Para el caso de los cultivos celulares se diluyó 1/5 y 1/50 y luego se inoculó el cultivo de células SHK-1 con una dilución 10^{-2} y una 10^{-3}.

En el caso de los medios libres de células, las placas se icubaron a 18°C durante 72 horas y se observó la aparición de colonias que cumplan con tipología de *P. salmonis* (pequeñas, blancas grisáceas con aspecto mucoide). Para el caso de los medios líquidos se incubaron durante 72 horas en agitación constante a 100 rpm manteniendo una temperatura de 18°C, luego de ello se verificó por espectrofotometría el aumento en la D.O. En ambos casos el diagnostico fue validado por medio de métodos de detección (qPCR o IFAT).

Los cultivos celulares se incubaron a 18°C durante 10 días y se observo a diario la aparición del efecto citopático (ECP). El ECP de *P. salmonis* consiste en una formación de placas o células redondeadas. Con el tiempo, el ECP avanza hasta destruir por completo las células.

Si el ECP no ocurrió (excepto en controles positivos) a los 28 días, los cultivos se incubaron a 18°C durante un período adicional de 14 días.

Metodología utilizada en RT-qPCR.

Las muestras se homogenizaron automáticamente con el equipo MagnaLizer de Roche y luego se procedió a la extracción de RNA utilizando el kit E.Z.N.A. Total RNA Kit I (Omega Bio-Tek), pero incluyendo una modificacón: Las muestras recibidas se retiraron del RNAlater o agua esteril en la que venían y se agregaron a un nuevo tubo de homogenización con perlas de material no adherente que contenia 750µL de TRIzol LS (ambion), luego se hizo la homogenización automatica en el MagnaLizer y se agregaron 200µL de cloroformo, una vez agitado en vortex por 1 min se centrifugó a 4°C durante 15 minutos a 14.000xg. Posteriormente se extrajo la fase acuosa teniendo máxima precausion de no tomar la fase proteica y se deposito en un nuevo tubo ependorf en el cual se mezcló en proporción 1:1 con etanol puro para luego ser traspasado a la columna de extracción EZNA y continuar con el protocolo de lavados normal.

Una vez obtenido el RNA se dispuso en una gradilla los reactivos incluidos en el kit "Super Script III PlatinumOne-StepQuantitativeRT-PCRSystem Kit" a excepción de la Enzima (SSIII-RTPlatinumTaq mix) que se agrega al final de la mezcla (tabla 2).

Cabe destacar que en el caso de las reacciones para la determinación de la región del ITS, el volumen final de reacción utilizado fue de 20µl, a diferencia de la determinación del Factor de Elongación uno alfa, en la que se utilizó un volumen final de 10µl.

Tabla Nº 14**.** Reactivos y volúmenes para la preparación de la mezcla de RT-PCR.

Reactivos	Volumen en µl / reacción vol final 10 µl	Volumen en µl / reacción vol final 20 µl
SSIII-RT Platinum Taq mix	0.2	0.4
Mix de reacción 2X	5	10
Partidor For 10 uM	0.2	0.4

Partidor Rev 10 uM	0.2	0.4
Sonda 10 uM	0.1	0.2
Referencia pasiva Rox	0.2	0.4
Agua libre de nucleasas	2.1	4.2
muestra	2.0	4.0
Volumen final	**10**	**20**

Carga de muestras y controles

1. Una vez terminada la preparación de la o las mezclas, homogenizar con micropipeta y centrifugar.
2. Disponer en los tubos- tiras de PCR y agregar el volumen determinado para la reacción.
3. Agregar las muestras (2 o 4 µl según volumen final), incluyendo los controles de extracción.
   a. Control de extracción (tejido de salmonido), este control debe tener resultados negativos para *P. salmonis* y positivos para ELF1-α.
   b. Control negativo de extracción o blanco de extracción (agua)
4. Agregar controles de amplificación:
   a. Control positivo de amplificación (DNA positivo a SRS con una carga conocida)
   b. Control negativo de amplificación o blanco de amplificación (agua)
5. Cerrar los tubos y cargarlos en el termociclador.

Tabla Nº 15. Sondas y partidores usados.

Nombre	Partidor For.	Sondas	Partidor Rev.
ITS	AGA TTC CTT GAT TAA TTT AGG GTT ATT	FAM-ACC GGT GTT GAG ATA TAG-TAMRA	ACC CCC AAA AAG TCT TAT ATC AAT AAA

Tabla Nº 16. Programa Real Time.

Proceso	Tiempo	Temperatura	Ciclos
Transcripción Reversa	15 min.	50°C	1
Denaturación	2 min.	95°C	
Denaturación	15 seg.	95°C	40
Alineamiento	15seg.	55°C	
Extensión	30 seg.	60°C	

Interpretación de resultados

Con esta técnica y el Software de lectura de resultados se considerará una muestra como positiva cuando la curva de amplificación presente una forma sigmoidea clara (figura 3) y cruce el umbral de fluorescencia basal en un ciclo previo al ciclo de corte (ThresholdCycle o Ct) definido por el equipo o por el laboratorio.

Además, se deben considerar los resultados obtenidos en los controles positivos, negativos y los controles de extracción respectivos.

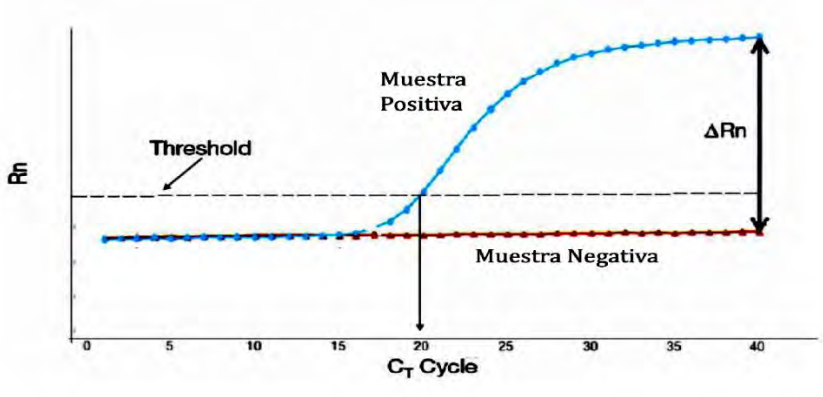


Figura Nº 4. Gráfico de la diferencia de intensidad de fluorescencia versus los ciclos de amplificación en una muestra positiva (azul) y una negativa (roja).

Resultados Etapa 2.

Actividad 2.1. Informe de Muestreo.

OBJETIVO

Validar la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con *Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*).

METODOLOGÍA

Para cumplir con este objetivo se realizaron dos fases de investigación.

FASE 1

Colecta de Caligus en un centro negativo a Piscirickettsia salmonis.

Con fecha 13 de enero, se colectaron 200 Caligus adultos (machos y hembras), extraídos de ejemplares de salmón del Atlántico que no presentaban signos ni síntomas clínicos de la enfermedad, asimismo sus registros productivos indicaban un centro sin enfermedad, es por esta razón que para el presente estudio se consideró un centro negativo a Piscirickettsiosis, lo que fue confirmado posteriormente con alnalisis de laboratorio. Luego de su extracción los parasitos se trasladaron al centro experimental de la empresa Cermaq ubicado en Colaco.

Además, fueron extraídos ejemplares de chalimus adheridos a los peces muestreados, los cuales fueron depositados en contenedores separados y debidamente identificados.

Los parásitos fueron depositados en contenedores plásticos, con agua de mar filtrada, surtidos con aireación suplementaria y almacenados en un cooler a baja temperatura, para posteriormente ser trasladados al laboratorio de patología de peces en la Sede Puerto Montt de la Universidad Austral de Chile.

De los peces muestreadores se seleccionaron 5 ejemplares a los cuales se les extrajo un trozo de riñón y de hígado, los cuales fueron depositados en tubos Eppendorf con RNAlater.

En el laboratorio, los Caligus adultos fueron traspasados a contenedores con agua de mar filtrada y esterilizada. Los chalimus colectados fueron extraídos de las escamas en las cuales se encontraban fijados

y se almacenaron en un tubo Eppendorf con agua destilada estéril, y se congelaron inmediatamente a -20ºC.

Considerando que no se lograron buenos resultados en la captura de copepoditos con red de fitoplancton, se recolectaron los sacos ovígeros sueltos y fueron traspasados a jarras con agua de mar filtrada y esterilizada e incubados a 12ºC.

De acuerdo a la metodología proporcionada, a las 6 horas post colecta se extrajeron 5 hembras y 5 machos y se almacenaron en RNAlater; el mismo procedimiento se realizó a las 12, 24, 48, 72 y 120 horas. Los sacos sueltos fueron colectados e incubados en agua de mar filtrada y esterilizada. Al final de las 120 horas, fueron colectados los ejemplares nauplius y copepoditos que emergieron de los sacos ovígeros incubados, se depositaron en un tubo Eppendorf con agua de mar filtrada y esterilizada, y se congelaron a -20ºC.

Las muestras procesadas y colectadas fueron enviadas al GIM-PUCV.

FASE 2

Colecta de Caligus en un centro positivo a Piscirickettsia salmonis.

Al igual que en el caso anterior, con fecha 2 de marzo se colectaron 200 Caligus adultos (machos y hembras), extraídos de ejemplares de salmón del Atlántico que presentaban signos y síntomas clínicos de la enfermedad, asimismo sus registros productivos indicaban un centro en brote de la patología, es por esta razón que para el presente estudio se consideró un centro positivo a Piscirickettsiosis, lo que fue confirmado posteriormente con alnalisis de laboratorio. Este centro de cultivo se encuentra emplazado en la zona de Calbuco y pertenece a la empresa salmonera Cermaq.

Asimismo, fueron extraídos ejemplares de chalimus, los cuales fueron depositados en contenedores separados y debidamente rotulados.

De los peces muestreadores se seleccionaron 7 ejemplares a los cuales se les extrajo un trozo de riñón y de hígado, los cuales fueron depositados en tubos Eppendorf con RNAlater.

Se siguió la misma metodología aplicada a la colecta de Caligus de peces sin piscirickettsiosis, a las 6 horas post colecta se extrajeron 5 hembras y 5 machos y se almacenaron en un tubo Eppendorf , esta vez sin RNAlater y se congelaron inmediatamente a -20ºC. El mismo procedimiento se realizó a las 12, 24, 48, 72 y 120 horas.

Los sacos ovígeros fueron colectados e incubados en agua de mar filtrada y esterilizada. Al final de las 120 horas, fueron colectados los ejemplares nauplius y copepoditos que emergieron de los sacos ovígeros

incubados, se depositaron en un tubo Eppendorf con agua de mar filtrada y esterilizada y se congelaron a -20ºC.

Los chalimus fueron depositados en un tubo Eppendorf con agua de mar filtrada y congelada inmediatamente.

Las muestras rotuladas fueron transportadas personalmente a Valparaíso, y entregadas el 15 de marzo al GIM-PUCV.

Actividad 2.2. Clasificación y confirmacion de diagnostico

El numero de muestras obtenidas por centro clasificadas por estadio del parasito y por técnica de análisis se muestra en la siguiente tabla.

Tabla Nº 17**.** Resumen de resultados obtenidos por tipo de muestra, horas de muestreoy técnica de diagnóstico utilizada.

Tipo de muestra	Centro Negativo			Centro Positivo		
	RT-PCR	Cult cel	Cult Mic	RT-PCR	Cult cel	Cult Mic
Organos de peces	5	-	-	7	-	-
Nauplius y copepoditos	3	3	3	2	1	1
Chalimus	2	2	2	2	1	1
Adultos 6 horas	1	1	1	1	1	1
Adultos 12 horas	1	1	1	1	1	1
Adultos 24 horas	1	1	1	1	1	1
Adultos 48 horas	1	1	1	1	1	1
Adultos 72 horas	1	1	1	1	1	1
Adultos 120 horas	1	1	1	1	1	1
Total	**16**	**11**	**11**	**17**	**8**	**8**

Nota: Cada muestra a su vez estaba conformada por un pool de parasitos y el número de parasitos que conformaban cada pool fue dependiente del tamaño y peso de estos ya que cada pool debía pesar al menos 30 mg.

Como era de esperarse todas las muestras obtenidas del centro de cultivo negativo a Piscirickettsiosis resultaron negativas a las pruebas de confirmación, sin embargo, tanto el cultivo celular como el microbiológico presentaron problemas de contaminación debido probablemente a las bacterias presentes en el tracto digestivo del Caligus.

En el caso del centro positivo de las 7 muestras de los órganos de peces 3 resultaron positivas, 3 resultaron débiles positivas y 1 negativa al RT-PCR. En cuanto a los parasitos todas las muestras obtuvieron resultados negativos y los cultivos tanto microbiológicos como celulares presentaron contaminación, la que como se explico en el caso anterior probableente se deba a la presencia de bacterias del tracto gastrointestinal del parasito que en condiciones de cultivo crecen mejor que *Piscirrickettsia salmonis*.

Etapa 3. Infección de peces susceptibles con parásitos infectados *in vitro* con *P. salmonis* y verificación de la capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos.

Actividad 3.1. Producción de Caligus infectados con *P. salmonis*.

Se trasladaron 60 ejemplares de salmón del Atlántico con pesos promedio de 90 gramos desde la piscicultura Trafun (Cermaq) a la estación experimental de la Universidad Austral de Chile, Sede Puerto Montt. Estos peces carecían de vacunas especificas contra *P. salmonis* y fueron certificados libres de ISAV mediante la técnica oficial y en un laboratorio registrado por Sernapesca en forma previa a su traslado, de acuerdo a los requerimientos del Servicio.

El traslado se realizó en dos estanques de 200 litros cada uno, los que contenían un tercio de agua de mar y dos tercios de agua dulce de la piscicultura, para aclimatar a los peces al agua de mar durante el trayecto. Los peces fueron trasladados con adición de oxígeno durante todo el trayecto.

A su llegada los peces fueron dispuestos en cuatro estanques de 0,5m^3 (15 peces por estanque), con agua de mar filtrada, agua circulante y aireación permanente. La temperatura del agua fue de 11,5ºC y la salinidad de 32 ppt. Los peces fueron alimentados con alimento EWOS proporcionado por la piscicultura de origen.

En forma paralela al traslado de los peces en el GIM-PUCV se produjo in inoculo de una cepa conocida de *Piscirickettsia salmonis* con la finalidad de producir el material necesario para el desafio posterior. En breve, se recuperó un aislado de *Piscirickettsia salmonis* criopreservada directamente a medio de cultivo líquido, descongelando el criovial en hielo para un descongelamiento controlado, lo que ocurrio en un par de minutos. Luego en condiciones de esterilidad dentro de una cabina de flujo laminar se traspasó todo el

contenido (+/- 1mL) a un tubo falcon con 10mL del medio libre de células (Austral-SRS), y se incubó a 18°C con agitación constante a 100 rpm, durante 10 días. Luego se tomó ese inóculo y se escaló hasta obtener el volumen deseado (50 mL).

La preparación final del inóculo fue preparada según el siguiente protocolo:

- Los tubos enviados fueron gentilmente homogenizados y luego se tomó una alícuota suficiente para cargar la cámara de Neubauer.
- Las bacterias fueron observadas en un microscopio invertdio y el cálculo del número de bacterias por mL de cultivo fue realizado siguiendo las instrucciones del link https://www.youtube.com/watch?v=JCpCOhm8a50.
- Para lograr $1,5x10^6$ células en 0,5 mL, se diluyó con medio L-15 proporcionado por la PUCV.
- La solución se homogenizó suavemente, y se extrajo alícuotas de 0,5 mL las que fueron inyectadas por vía intraperitoneal a cada pez (0,5 mL por pez), previamente anestesiados con benzocaina. Se inyectaron 15 ejemplares.

12 de los 15 peces infectados previamente con *P. salmonis* fueron infestados con 900 ejemplares de *Caligus rogercresseyi* adultos (machos y hembras), los cuales fueron adquiridos del laboratorio Marine Harvest, otros 300 ejemplares fueron agregados a un estanque con peces control, sin infectar. Para ambos casos, se cortó el flujo de agua durante 3 horas y se bajó el volumen de agua para asegurar una efectiva infestación. La temperatura del agua se mantuvo en 11,5ºC y la concentración de oxigeno en 9,7 mg/L.

Siete dias mas tarde, se colectaron los Caligus de 10 peces infectados. En total se recuperaron 450 Caligus de los 900 parásitos agregados. Para esto, se sacrificó previamente cada pez con un golpe en la cabeza, antes de la extracción de los piojos. Una vez extraídos los piojos, se tomo muestra de hígado y riñón por pez, almacenando el tejido en un tubo Eppendorf con RNAlater, etiquetado con su respectivo código. Los parásitos fueron almacenados en contenedores con agua de mar filtrada y aireación suplementaria (150 piojos en cada contenedor), previo a la infestación.

Actividad 3.2. Infestación de peces con los Caligus experimentalmente infectados.

Un nuevo grupo de peces dividido en tres estanques se infestó con 150 piojos cada uno, siguiendo las directrices previamente establecidas, es decir, los peces del primer estanque fueron infestadas inmediatamente (0 horas); los del segundo estanque a las 12 horas y los del tercer estanque a las 48 horas.

Es importante mencionar que los caligus extraidos desde los peces infectados no fueron sometidos a análisis específicos para confirmar su estatus respecto a la infección con *P. salmonis*, si no que, considerando los antecedentes bibliográficos, esta condición de "infectados" se asumió, además el numero de caligus recuperados desde los peces infestados fue relativamente bajo y si consideramos que cada análisis requiere de 10 a 15 caligus para obtener los 30 mg necesarios para realizar una extracción de RNA el numero seria aún menor para poder infestar los peces sanos, por tanto, se decidió hacer de esta manera.

Para los tres casos, se cortó el flujo de agua por 1 hora previo a la infestación y se bajó el nivel del agua y posterior a la infestación con los 150 parásitos se mantuvo el flujo cortado por alrededor de 4 horas más y luego se activó. Los peces estuvieron con aireación suplementaria permanente.

Una semana mas tarde se recuperaron los parásitos de los peces del estanque infectado con Caligus a las 0h. A las 12 h se procedió con el segundo estanque y a las 48 h con el tercer estanque y los peces del estanque control. Para esto, se sacrificaron los peces por noqueo con un golpe en la cabeza, se realizó la extracción de los parásitos y posteriormente la de riñón e hígado.

- estanque 0 h: se recuperó un total de 35 parásitos de 5 peces sobrevivientes
- estanque 12 h: se recuperó un total de 46 parásitos de 4 peces sobrevivientes
- estanque de 48 h: se recuperó un total de 47 parásitos de 5 peces sobrevivientes
- estanque grupo control: se recuperaron 33 parásitos de 6 peces sobrevivientes

Los parásitos fueron almacenados en RNAlater con el código del pez y los órganos (riñón e hígado) almacenados en tubo Eppendorf con el código del respectivo pez.

Cabe mencionar que la diferencia en el número de peces final por estanque se debió a la mortalidad ocurrida en el período de estudio. La causa de la mortalidad de algunos peces del ensayo fue una falla en el proceso de adaptación desde el agua dulce (piscicultura) al agua de mar (32 ppt). Lo anterior considerando que, naturalmente este es un proceso fisiológico que toma meses en completarse y que, para efectos prácticos, en este tipo de ensayos se realiza forzadamente en un plazo relativamente corto, lo que trae como consecuencia que algunos de los peces que no pueden adaptarse mueran.

Actividad 3.3. Confirmación del diagnóstico.

Para realizar la confirmacion del diagnóstico se realizo en el GIM-PUCV RT-qPCR siguiendo la metodología descrita en la etapa anterior y los resultados positivos fueron confirmados por medio de la secuenciación del ITS y 16S.

Resultados Etapa 3.

De los resultados obtenidos de los análisis realizados a las muestras extraídas en esta actividad (50 muestras en total) podemos plantear las siguientes aseveraciones:

1. La infección de los peces con una variante conocida de *P. salmonis* fue realizada con éxito ya que 7 de las 10 muestras obtenidas muestran resultados positivos (muestras 1 a 10 tabla 17-1).
2. Todas las muestras obtenidas del estanque control (caligus y peces) obtienen resultados consistentemente negativos, lo que indica que no hubo contaminación en el proceso y que los peces se mantuvieron en buenas condiciones durante el proceso (muestras 11 a 22 tabla 17-1).
3. Tanto peces como caligus obtenidos desde el estanque de peces infestados a las 0 horas resultaron negativos (muestras 23 a 32 tabla 17-1).
4. Tanto peces como caligus obtenidos desde el estanque de peces infestados a las 12 horas resultaron negativos (muestras 33 a 40 tabla 17-1).
5. Tanto peces como caligus obtenidos desde el estanque de peces infestados a las 48 horas resultaron negativos (muestras 41 a 50 tabla 17-1).

6. La secuenciación de ITS y 16S realizada a 2 de las muestras positivas fue positiva y luego del análisis bioinformático demostraron ser la misma secuencia nucleotidica y aminoacidica deducida que la variante utilizada para la preparación del inóculo del desafío.

Tabla N°17-1. Resultados obtenidos del análisis de muestras de peces y caligus derivados de la etapa 3.

Numero de Muestra	Codificación	Resultado
1	ORGANO-P1	Negativo
2	ORGANO-P2	Negativo
3	ORGANO-P3	Positivo
4	ORGANO-P4	Positivo
5	ORGANO-P5	Positivo
6	ORGANO-P6	Positivo
7	ORGANO-P7	Negativo
8	ORGANO-P8	Positivo
9	ORGANO-P9	Positivo
10	ORGANO-P10	Positivo
11	ORGANO CONTROL-P1	Negativo
12	ORGANO CONTROL-P2	Negativo
13	ORGANO CONTROL-P3	Negativo
14	ORGANO CONTROL-P4	Negativo
15	ORGANO CONTROL-P5	Negativo
16	ORGANO CONTROL-P6	Negativo
17	CALIGUS CONTROL-P1	Negativo
18	CALIGUS CONTROL-P2	Negativo
19	CALIGUS CONTROL-P3	Negativo
20	CALIGUS CONTROL-P4	Negativo
21	CALIGUS CONTROL-P5	Negativo
22	CALIGUS CONTROL-P6	Negativo
23	ORGANOS 0H P1	Negativo
24	ORGANOS 0H P2	Negativo
25	ORGANOS 0H P3	Negativo

Numero de Muestra	Codificación	Resultado
26	ORGANOS 0H P4	Negativo
27	ORGANOS 0H P5	Negativo
28	CALIGUS 0H P1	Negativo
29	CALIGUS 0H P2	Negativo
30	CALIGUS 0H P3	Negativo
31	CALIGUS 0H P4	Negativo
32	CALIGUS 0H P5	Negativo
33	ORGANOS 12H P1	Negativo
34	ORGANOS 12H P2	Negativo
35	ORGANOS 12H P3	Negativo
36	ORGANOS 12H P4	Negativo
37	CALIGUS 12H P1	Negativo
38	CALIGUS 12H P2	Negativo
39	CALIGUS 12H P3	Negativo
40	CALIGUS 12H P4	Negativo
41	ORGANOS 48H P1	Negativo
42	ORGANOS 48H P2	Negativo
43	ORGANOS 48H P3	Negativo
44	ORGANOS 48H P4	Negativo
45	ORGANOS 48H P5	Negativo
46	CALIGUS 48H P1	Negativo
47	CALIGUS 48H P2	Negativo
48	CALIGUS 48H P3	Negativo
49	CALIGUS 48H P4	Negativo
50	CALIGUS 48H P5	Negativo

Con los resultados obtenidos en esta etapa podemos concluir que para este ensayo el parásito *Caligus rogercresseyi* no fue capaz de transmitir horizontalmente la enfermedad desde peces enfermos a peces sanos, independientemente que material genético de la bacteria pueda encontrarse en el parásito.

Objetivo Específico 3. Metodología.

Objetivo Especifico	Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por virus ISA
Descripción:	Completa revisión bibliográfica de tema en cuestión tomando como base la publicación de Oelckers, K., Vike, S., Duesund, H., Gonzalez, J., Wadsworth, S., & Nylund, A. (2014). Caligus rogercresseyi as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. Aquaculture, 420-421, 126–132. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.10.016"
Duración:	3 meses

N°	Actividad	Hitos de Actividad	Estatus	Tablas y/o Anexos
1	Revisión bibliográfica	Informe Revisión	Completa	N/A

Resultados

Revisión del Artículo. Oelckers, K., Vike, S., Duesund, H., Gonzalez, J., Wadsworth, S., & Nylund, A. (2014). *Caligus rogercresseyi* as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. Aquaculture, 420-421, 126–132. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.10.016.

El artículo in extenso se incluyó para su revisión en la minuta de reunión número 1 presentada en el anexo 3 de este mismo informe, pero haciendo una revisión de los puntos más importantes podemos mencionar un resumen en el siguiente cuadro:

Titulo	Caligus rogercresseyi como vector potencial para la transmisión del virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISA) en Chile.
Hipótesis	El ectoparásito *Caligus Rogercresseyi* puede tener un papel importante como vector en la transmisión de ISAV dentro de un centro y entre diferentes centros de cultivo de Salmones del Atlántico en Chile.
Experimentos	1. Muestreo. 1.1. Se colectaron 45 peces de un centro ISA negativo y 126 peces de un centro ISA positivo. De cada pez se extrajo en forma individual y aséptica el corazón del pez y sus Caligus, separando estos últimos a su vez en dos grupos (Chalimus y adultos). 2. Confirmación de estatus (positivo y/o negativo). 2.1. Todos los corazones fueron analizados mediante qRT-PCR en búsqueda de ISAV (Snow *et al.,* 2006). 3. Chalimus. 3.1. 20 Chalimus provenientes del centro positivo fueron depositados en RNAlater.

	3.2. 40 Chalimus provenientes del centro positivo fueron lavados con agua de mar estéril y preservados en Fixative. 3.3. 24 Chalimus provenientes del centro negativo fueron lavados en agua de mar estéril y preservados en RNAlater 3.4. Todos los Chalimus fueron analizados mediante qRT-PCR en búsqueda de ISAV (Snow *et al.,* 2006). 4. Larvas, Nauplius y Copepoditos. 4.1. Desde los adultos se obtuvieron 200 y 100 larvas o Nauplius del centro positivo y negativo respectivamente, en ambos casos mediante la compresión de los sacos ovigeros. 4.2. 200 y 400 Nauplius y Copepoditos fueron colectados directamente desde dentro y fuera de las jaulas de los dos centros de cultivo (positivos y negativo respectivamente) mediante el uso de redes para zooplancton. 4.3. Todos los Nauplius y Copepoditos fueron analizados mediante qRT-PCR en búsqueda de ISAV (Snow *et al.,* 2006). 5. Adultos. 5.1. Todos los Caligus adultos fueron mantenidos con vida en vasos precipitados dentro de cámaras de cultivo con temperatura constante e incubados por 0, 6, 12, 18, 24, 48, 72 y 120 horas en agua de mar estéril que se cambió cada día. 5.2. Una submuestra de Caligus adultos (cortados por la mitad con bisturí) provenientes de centros positivos y negativos fue colectada de los vasos precipitados a los diferentes tiempos de incubación. 5.3. Una submuestra fue conservada en RNAlater para la detección de ISAV mediante qRT-PCR. 5.4. La otra submuestra fue conservada en medio Lebovitz (L-15) para verificar la infectividad del virus en cultivo celular y además en un desafío de salmones susceptibles. 6. Prueba de infectividad en cultivos celulares. 6.1. Se hicieron un total de 7 pooles de 5 individuos de las muestras de cada tiempo de incubación y se homogenizaron, filtraron usando filtros estériles para producir los inóculos. 6.2. Cada homogenizado se analizó mediante qRT-PCR antes de realizar la infección. 6.3. Se infectaron cultivos de células ASK-1 usando como control positivo tejido de corazón de peces recolectados en el centro positivo. 6.4. Los cultivos fueron incubados con 0,2 mL de homogenizados en placas de 96 pocillos a 15°C, de acuerdo con lo publicado por Devold et al,.2000. Las células ASK se cultivaron en L-15 con 5% de suero fetal bovino a 15°C. por 7 – 8 días o hasta que el ECP se manifestara. Una vez que aparecía ECP se colectaba el sobrenadante y se analizaba por qRT-PCR. 7. Prueba de infectividad en Peces.

	7.1. Se hicieron un total de 7 pooles de 5 individuos de las muestras de cada tiempo de incubación y se homogenizaron, filtraron usando filtros estériles para producir los inóculos. 7.2. Cada homogenizado se analizó mediante qRT-PCR antes de realizar la infección. 7.3. Se infectaron salmones del Atlántico de 101 gramos promedio, mantenidos en 2 estanques a 12°C y alimentados de acuerdo al apetito durante el experimento, usando como control positivo tejido de corazón de peces recolectados en el centro positivo. 7.4. Los peces se anestesiaron con metacaina y se inyectó intraperitonealmente 0,2 mL de inoculo. Los peces fueron marcados con un recorte de aleta. 7.5. Los peces del estanque 1 fueron muestreados a 2 diferentes tiempos: a) tres peces a los 4 días post infección y b) dos peces a los 7 días post infección. 7.6. Los peces del estanque 2 y del estanque control fueron muestreados el día 7. 7.7. A los peces sacrificados se les realizó la necropsia y además se les extrajo muestras de branquias, corazón y riñón en duplicado, una para qRT-PCR y otra para re-aislar el virus. 8. Infestación de peces sanos con Caligus ISAV positivos 8.1. Se produjeron experimentalmente Caligus ISAV positivos en salmones del atlántico infectados con ISA para determinar si estos pueden transmitir el virus a salmones del atlántico sanos. 8.2. Se infestaron con Caligus positivos a ISA 6 de 7 estanques con 30 peces cada uno, todos negativos a ISAV y el séptimo se infesto con Caligus negativos a ISA. 8.3. Para realizar la infestación de los peces el volumen de agua de los estanques fue reducido y el flujo de agua de mar se detuvo durante 8 horas y en estas se agregaron un total de 450 Caligus a cada estanque. Luego lentamente se restableció el flujo de agua. Durante la infestación la saturación de oxigeno fue monitoreada para que no disminuyera de un 85% y la temperatura fue mantenida a 15°C. 8.4. Los Caligus fueron gentilmente lavados con agua estéril antes de ser agregados a los estanques. 8.5. Caligus inmediatamente después de ser removidos de salmones positivos a ISA fueron agregados a los estanques 1 y 2. 8.6. Caligus mantenidos 12 horas en agua de mar estéril después de ser removidos de salmones positivos a ISA fueron agregados a los estanques 3 y 4. 8.7. Caligus mantenidos 48 horas en agua de mar estéril después de ser removidos de salmones positivos a ISA fueron agregados a los estanques 5 y 6. 8.8. Dos días después del primer desafío el procedimiento fue repetido para todos los estanques. 8.9. Branquias y corazón de los peces desafiados fueron colectadas para ser analizadas por qRT-PCR.
Resultados	Muestreo. • Se obtuvieron 45 peces del centro negativo y 126 peces del centro positivo a ISAV. • Se obtuvieron 171 corazones de peces en total.

	• Se obtuvieron 60 Chalimus del centro positivo y 24 del centro negativo a ISAV. • Se obtuvieron 321 Caligus adultos del centro positivo y 159 del centro negativo a ISAV • Se obtuvieron > 100 larvas desde los adultos del centro negativo y > 200 del Positivo a ISAV. • Se obtuvieron 200 Nauplius y Copepoditos desde dentro y fuera de las jaulas del centro negativo y 400 desde el positivo a ISAV. Confirmación de estatus (positivo y/o negativo). • Todos los corazones obtenidos desde el centro negativo resultaron negativos y todos los colectados del centro positivo fueron positivos al qRT-PCR para ISAV según (Snow *et al.,* 2006). Chalimus. • Los 20 Chalimus presevados en RNAlater del centro positivo fueron positivos. • Los 40 Chalimus lavados y preservados en Fixative del centro positivo fueron positivos con valores de CT levemente mayores que los sin lavar. • Los 24 Chalimus lavados y preservados en RNAlater del centro negativo fueron negativos a ISAV. Larvas, Nauplius y Copepoditos. • Las 200 larvas obtenidas desde los adultos del centro positivo y las 100 obtenidas del centro negativo fueron negativas a ISAV. • Los 200 y 400 Nauplius y Copepoditos colectados directamente desde dentro y fuera de las jaulas de los dos centros de cultivo fueron negativos a ISAV. Adultos. • Los adultos hasta las 48 horas resultan consistentemente positivos a ISAV. • Los adultos después de las 48 horas comienzan a disminuir la prevalencia de positivos. • Todas las muestras infectadas en cultivos celulares presentaron ECP y se confirmó la presencia de ISAV mediante qRT-PCR y secuenciación, presentando secuencias idénticas con el virus inicial. • Todas las muestras infectadas en peces fueron positivas por qRT-PCR hasta las 48 horas e incluso algunos con posterioridad a ese tiempo, sin embargo, ninguno de los peces presentó signología de la enfermedad. La secuenciación del virus obtenido de los peces mostro nuevamente una secuencia idéntica a la del virus del inicio. Prueba de infectividad en cultivos celulares. • Los 7 pooles de corazón fueron positivos al cultivo evidenciando ECP y confirmado por qRT-PCR del sobrenadante del cultivo. • Los 7 pooles de Caligus fueron positivos al cultivo evidenciando ECP y confirmado por qRT-PCR del sobrenadante del cultivo. Prueba de infectividad en Peces. • Los peces controles de ambos estanques permanecieron negativos. • 3 de 5 peces inyectados con homogenizados de Caligus colectados a las 48 horas después de haber sido removidos del huésped resultaron positivos.

	• Ninguno de los peces positivos al qRT-PCR evidenció signos clínicos en el periodo de 7 días del experimento. • La secuenciación del segmento 6 del virus obtenido de los peces fue idéntico al virus del inicio de la infección. Infestación de peces sanos con Caligus ISAV positivos • Los peces de todos los estanques infectados comenzaron a morir el día 7. • Los peces del estanque control infestados con Caligus negativos comenzaron a morir el día 16. • Ningún pez evidenció signos clínicos de ISA y la razón de muerte no pudo ser determinada. • Los peces en todos los estanques mostraron un comportamiento anormal, inquieto, saltando, lo que podría ser causados por el alto nivel de C. rogercresseyi en los estanques. • La secuenciación del segmento 6 del virus obtenido de los peces fue idéntico al virus del inicio de la infección.
Conclusiones	• *C. rogercresseyi* es capaz de ser un vector mecánico del virus ISA. • *C. rogercresseyi* aun estando 48 horas lejos de un huésped positivo a ISAV todavía puede transmitir el virus a salmones sanos, lo que fue demostrado tanto por la inyección intraperitoneal de homogenizados de Caligus como en el modelo de infección natural y además confirmado mediante la secuenciación del virus. • La infectividad también fue demostrada en cultivo celular. • Tanto la cantidad como la prevalencia del material genético del virus (RNA) fue decreciendo en el Caligus a medida que pasaba el tiempo lejos del huésped positivo, lo que indica que el virus no replica en el Caligus y por lo tanto no es un vector biológico. • No fue posible detectar ISAV en ninguna muestra de larvas de Caligus (Nauplius y/o Copepoditos), ya sea dentro o fuera de las jaulas positivas a ISA. • Tampoco fue posible detectar ISAV en larvas de Caligus (Nauplius y/o Copepoditos) aunque estos fueran recolectados directamente desde Caligus adultos positivos a ISAV, lo que indica que el virus ISA no se transmite verticalmente desde el Caligus adulto a su descendencia. • Basado en los puntos anteriores es muy probable que las larvas de Caligus (Nauplius y/o Copepoditos) no puedan ser vectores del ISAV. • Es probable que el Caligus se infecte cuando se alimenta del mucus de peces infectados, sin embargo, los lavados realizados a los ejemplares indican que, si bien los valores de Ct aumentan, estos no desaparecen por lo que de alguna manera el ISAV se mantiene al interior del Caligus. • Basados en las idénticas secuencias obtenidas en el experimento de infestación de peces sanos con Caligus positivos a ISA, puede concluirse que *Caligus rogercresseyi* transmitió el virus ISA a Salmones del Atlántico sanos. • ISAV sobrevive y se mantiene infectivo en el Caligus al menos por 48 horas, lo que indica que el parasito puede diseminar el virus entre centros de cultivo que se

	encuentren en la misma área. Se estima que en 48 horas el Caligus podría moverse unos 18 kilómetros. • Para la industria del salmón esta información indica que las co-infecciones de ISAV y Caligus aumentan el riesgo de transmisión a los centros vecinos, además debe considerarse que los peces infestados pueden ser más susceptibles al Virus dada la inmunosupresión que produce el parásito.

Objetivo Específico 4. Metodología.

Objetivo Especifico	Evaluar métodos de diagnóstico para los patógenos ISAV y *P. salmonis* utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico del Servicio y por entidades de investigación en caso de ser requerido, en especial para la cepa HPR-0.
Descripción:	Se evaluara mediante pruebas de comparación interlaboratorio los métodos de diagnóstico para ISAV y *P. salmonis* usados por la red de laboratorios del Servicio y por entidades de investigación, poniendo especial énfasis en la variante HPR0.
Duración:	7 meses

N°	Descripción de la actividad	Hitos de la Actividad	Estatus	Tablas	Anexos
1	Definición de objetivos	Objetivos de los ensayos	ISAV Completo ISAV HPR0 Completo *P. salmonis* Completo		
2	Diseño del ensayo	Diseño del ensayo	ISAV Completo ISAV HPR0 Completo *P. salmonis* Completo		
3	Preparación y evaluación preliminar de muestras	Resultados de la evaluación preliminar	ISAV Completo ISAV HPR0 Completo *P. salmonis* Completo		
4	Preparación y evaluación definitivas de muestras	Resultados de la evaluación definitiva	ISAV Completo ISAV HPR0 Completo *P. salmonis* Completo		
5	Diseño de instrucciones de análisis y Envío de muestras	Instructivo de análisis y carta de recepción de muestras	ISAV Completo ISAV HPR0 Completo (*M) *P. salmonis* Completo		
6	Recepción y análisis de resultados	Resultados de análisis	ISAV Completo ISAV HPR0 Completo (*M) *P. salmonis* Completo		
7	Informe de resultados	Informe de resultados	ISAV Pendiente ISAV HPR0 Completo (*M) *P. salmonis* Completo		

*M: Levemente modificado de la propuesta original

Se definió en conjunto con las contrapartes técnicas que este objetivo seria abordado mediante la modalidad de pruebas de comparación interlaboratorio o ring test y los objetivos de cada uno serán establecidos y consensuados en base a las necesdaes del momento.

Para efectos practicos y mantener un orden en la presentación de actividades y resultados de este objetivo se abordará cada uno de los ensayos como una etapa, comenzando con el ensayo de ISAV como etapa 1, siguiendo con el del ISA HPR0 como etapa 2 y finalizando con el de *P. salmonis* como etapa 3.

Etapa 1. Ring Test para la detección de ISAV

Actividades 1 y 2 Propuesta Ring Test para la detección de ISAV

1. **Objetivo**

Determinar la capacidad de los laboratorios de diagnóstico registrados por Sernapesca para detectar en forma específica la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmon (ISAV) en muestras de tejidos de *Salmo salar* con diferentes cargas de infección, mediante el uso de la metodología de diagnóstico oficial.

2. **Requisitos**

Administrativos

a) Estar registrados o en vías de registro por Sernapesca para el diagnóstico de ISAV en el marco del Programa Sanitario Especifico de Vigilancia y Control de ISA (PSEVC-ISA).
b) Haber enviado firmada la ficha de participación en el ring test dentro de los plazos establecidos.
c) Haber subido al sistema la orden de compra por el servicio requerido.
d) Estar al día con los pagos de servicios previos con la entidad organizadora.

Técnicos

a) Completar ficha de información necesaria para realizar las evaluaciones (equipos, kits, etc)
b) Analizar las muestras bajo el procedimiento estándar del establecido por cada laboratorio para el diagnóstico de ISAV.
c) Cumplir con los plazos establecidos por la entidad organizadora tanto para el caso del envío de información como para el análisis de las muestras.

Propuesta

Para la realización de este ring test se considera el uso de un panel de 10 muestras que se desglosaran de la siguiente manera:

- 5 muestras de tejido (pool de órganos) positivas a ISAV HPR7b con diferentes cargas virales.
- 2 muestras de tejido (pool de órganos) negativas a ISAV y positivas a *P. salmonis*.
- 2 muestras de cultivo celular preservados en Trizol LS® positivas a ISAV HPR3.
- 1 muestras de cultivo celular preservados en Trizol LS® negativa a ISAV y positiva a IPNV.

Todas las muestras de ISAV serán debidamente cuantificadas en forma relativa y cada laboratorio deberá realizar el procedimiento de extracción de RNA y análisis según su protocolo establecido.

Lo propuesto nos permitirá, en un tiempo y costo acotado, determinar y comparar la capacidad diagnostica de cada laboratorio.

3. Actividades

a. Preparación del material

Muestras de tejido.

En dependencias del Centro de Investigación en Acuicultura Curauma se infectarán 10 peces *Salmo salar* de aproximadamente 60 gramos con una cepa de ISAV HPR7b, y se mantendrá un acuario con peces sin infectar. Se registrará diariamente la mortalidad hasta que esta llegue al 100% o hasta los 30 días, momento en el cual se sacrificarán por sobredosis anestésica todos los peces y se colectarán todos los órganos internos y se preservarán a -80°C hasta su uso.

Se harán pooles de órganos internos y pooles de peces para lograr el volumen de tejidos positivos requeridos (15 laboratorios y 21 muestras cada uno de aproximadamente 100 mg). Una vez bien mezclados los tejidos se evaluará el Ct y se procederá a diluir con mezcla de tejidos de peces sin infectar hasta lograr los valores requeridos para cada punto de evaluación.

Posteriormente se fraccionarán de a 100 mg en tubos eppendorf con RNAlater como preservante, estos se rotularán claramente y se dispondrán en cajas para cada laboratorio.

Sobrenadante de Cultivo.

Para las muestras positivas se infectarán tres botellas de cultivo celular ASK-1 o SHK-1 de 25mL con ISAV HPR3 y se incubarán durante 10 a 15 días, posteriormente se recuperará mediante Trizol LS y mezclará el contenido de las tres botellas para fraccionarlo en viales de 300µL los que serán congelados a -80°C hasta su envío. Dos de estos viales serán analizados en el GIM-PUCV para verificar la eficiencia de la infección y hacer una cuantificación relativa de la carga viral.

Para la muestra negativa se repetirá el proceso anterior, pero esta vez se infectará con IPNV.

b. Preservación y transporte de muestras

Para la preservación de las muestras de tejido se utilizará RNAlater® de Ambion™. Para el caso de los cultivos celulares, estos serán recuperados de las botellas de cultivo mediante la adición de TRIzol LS® de Ambion™ y luego alicuotados de 300µL y congelados a -80°C hasta su envío.

Las modalidades de preservación de muestras, además de evitar la degradación de material genético, permiten su transporte a temperatura ambiente durante un periodo aproximado de 1 semana. Sin perjuicio de lo anterior, estas serán enviadas en cajas individualizadas y debidamente rotuladas, las cuales serán dispuestas en cajas de polietileno con material refrigerante (gelpack) en su interior.

Las muestras serán enviadas por medio de una empresa de transporte (Chilexpress), utilizando un servicio overnight que garantiza que las muestras sean recibidas dentro del día siguiente al enviado

c. Recolección y análisis de resultados

Los resultados deberán ser enviados en el formato establecido para ello y en el plazo establecido mediante correo electrónico a diagnostico@pucv.cl con copia a alvaro.labra@pucv.cl desde el cual se confirmará su recepción.

d. Desarrollo y emisión del informe de resultados

El laboratorio de referencia analizará la información y en un plazo de 30 días emitirá un informe al Servicio, en el cual se plasmará la evaluación de los antecedentes recopilados y las recomendaciones de mejora.

Cabe señalar que dicho informe solo se entregará a cada participante una vez pagada la tarifa correspondiente y enviado el comprobante de dicho pago.

Costos

Los costos totales derivados del Ring test serán divido entre los laboratorios participantes y se estima que serán aproximadamente de $700.000.- (Setecientos mil pesos).

Actividad 3. Preparación y evaluación preliminar de muestras

Para generar la cantidad de tejido infectado requerido para realizar el ensayo fue necesario infectar peces con una cepa de ISAV conocida obtenida de la colección de virus propia del GIM-PUCV. Para lo anterior se realizo el siguiente procedimiento.

Se adquirieron 50 peces de la especie Salmo salar de 40 gramos en promedio y se trasladaron al Centro de Investigacion en Acuicultura Curauma, en el cual se aclimataron durante 10 dias.

Durante todo el periodo en que fueron mantenidos los peces se monitorearon diariamente los siguientes parámetros:

1.- Número de peces por estanque
2.- Mortalidad diaria por unidad y por estanque tanto AM como PM
3.- Biomasa en gr.
4.- Alimento entregado en gr.
5.- Porcentaje de peso cuerpo.
6.- Amonio (mg/l)
7.- Nitritos (mg/l)
8.- Nitrato (mg/l)
9.- pH
10.- Temperatura de agua (°C)
11.- Oxigeno (mg/l)

12.- CO2 (mg/l)

13.- Bicarbonato (ml)

14.- Consumo agua (lt)

A su vez se tomaron alícuotas de ISAv HPR7b del cepario propio, los cuales se testearon mediante qRT-PCR según (Snow, 2006). De los resultados obtenidos se eligió una cepa en particular que presentó al análisis el más bajo valor de Ct.

Una vez finalizado el periodo de aclimatación se procedió a trasladar 20 peces a cada uno de los estanques 1 y 2 (original y duplicado) del sistema de infección 1, de los cuales 10 peces de cada estanque fueron infectados con 0,5 mL de la cepa viral antes mencionada y debidamente identificados (troyanos). Cabe mencionar que la cepa luego de la infección fue nuevamente testeada mediante RT-PCR en tiempo real obteniendo un valor de Ct de 18, muy similar al valor anteriormente obtenido.

Durante los primeros 5 días post inoculación no se registraron mortalidades, lo que indica que el procedimiento de inoculación fue realizado correctamente. Posteriormente, entre los días 6 al 11 no se registraron mortalidades, sin embargo, se evidenció un cambio de comportamiento en los peces, ubicándose al fondo del estanque y disminuyendo paulatinamente el consumo de alimento. Desde el día 12 hasta el 18 de la experiencia se registró mortalidad de todos los peces troyanos y a partir del dia 20 hasta el dia 25 se produjo un 100% de mortalidad de los cohabitantes. En la medida que se produjo mortalidad se realizó necropsia, se extrajeron los órganos blancos (riñón, corazón y branquias) y se almacenaron a -80°C.

Es importante mencionar que dos de las muestras de tejido que componían el panel del ring test eran negativas al agente objetivo (ISAV), pero una de ellas era positiva a P. salmonis. Dado lo anterior hubo que tener especial precausion y trabajar en días distintos con estas muestras para evitar contaminación cruzada.

Los órganos ya descongelados fueron porcionados en trozos de 0,5 x 0,5 cm y sumergidos en RNAlater durante 48 horas para su preservación. Luego de ello se procedio a eliminar el preservante mezclando y moliendo los tejidos. El procesamiento de los tejidos se realizó utilizando un equipo especialmente diseñado para este propósito, el procesador de tejido mecánico (modelo OMNI TH, marca MUNDO LAB). Una vez procesadas todas las muestras, hasta que formaron una pasta viscosa y homogénea, se tomaron

muestras de diferentes porciones y se analizaron para evaluar si los valores de Ct obtenidos eran homogéneos.

Para realizar la evaluación se homogenizaron las muestras con el equipo MagnaLizer de Roche y luego se procedió a la extracción de RNA utilizando el kit EZNA y siguiendo las indicaciones del fabricante. Finalmente, el RNA se eluye en 60 µL de agua libre de nucleasas y se conserva para su posterior análisis. Los análisis se realizaron por duplicado y segu nlo publicado por Snow et al. 2006, utilizando el equipo StepOne Plus de Applied Biosystem.

Los resultados del análisis anterior dieron valores de Ct de 14, por lo cual se diluyo el tejido con mas macerado de tejido negativo y se repitió el análisis hasta que se obtuvieron valores cercanos al 18, el que se estableció el primer punto de uso o la muestra 1 de nuestro ring test.

Al tener el primer punto se mezcla una porción de muestra positiva a ISAV con 6 porciones de muestra negativa (tejido de *Salmo salar* sin infectar) en un tubo falcón de 50mL y se agregan 5mL de agua libre de nucleasas para facilitar la manipulación. Una vez mezclado se toman alícuotas y se distribuyen en porciones de 130 ± 10 mg en tubos eppendorff para ser extraído. Posteriormente cada una de estas porciones fue analizada mediante qRT-PCR.

Al conocer el valor de Ct que arroja cada una de las porciones analizadas, se agregó más muestra positiva o muestra negativa según el valor de Ct que se quiera obtener. Una vez obtenidos todos los puntos deseados, se procedio a pesar y distribuir 130 ± 10 mg en un tubo eppendorf para 3 días de análisis por cada uno de los laboratorios que participen del ensayo.

Actividad 4. Preparación y evaluación definitivas de muestras

Una vez obtenidos todos los tubos eppendorff con el gramaje esperado, se rotularon con el numero 1 todos los puntos que tuviesen el menor Ct (18), 2 al punto 2 y así sucesivamente, para que todas las tandas tuviesen una nomenclatura única y posteriormente fueron almacenados a -80°C

Los cultivos celulares fueron testeados mediante RT-PCR en tiempo real y luego de tener el Ct deseado fueron distribuidos en tubos ependorff con 300µL en cada tubo y rotulados cada conjunto de tubos con la misma nomenclatura.

El recuento total de muestras fue:

- 5 diluciones de muestras de tejidos macerados positivos al virus ISAV
- 1 muestra de tejido macerado negativo al virus ISA
- 1 muestra de P. Salmonis negativa al virus ISA
- 2 muestras de cultivo celular positivas al virus ISA
- 1 muestra de cultivo celular de IPNV negativa al virus ISA

Las muestras permanecieron almacenadas a -80°C hasta el día que fueron despachadas a cada laboratorio, donde fueron ubicadas en tandas de a 3 por cada muestra en su caja respectivas.

Al tener las 30 muestras en su caja, cada tubo fue codificado con una nomenclatura única por laboratorio y posteriormente puesto en un contenedor de aislapol con material refrigerante y su carta correspondiente.

Una vez realizado el proceso anterior se dejo alazar una de las cajas a temperatura ambiente por 24 horas simulando el transporte y luego se procedio a analizar siguiendo las instrucciones de ring test como si el GIM-PUCV fuese un laboratorio participante mas del ensayo.

Tabla Nº 18**.** Muestras del Ring Test

Muestra	Detalle	Definitivo								
		ISAV Snow			ISAV GIM			ELF-1α		
		Media	SD	CV%	Media	SD	CV%	Media	SD	CV%
Tejido pos 1	HPR7b (-1)	20,15	0,46	2,27%	18,59	0,27	1,43%	23,34	0,60	2,59%
Tejido Pos 2	HPR7b (-1)	24,46	1,16	4,73%	22,87	0,96	4,19%	21,97	0,28	1,30%
Tejido pos 3	HPR7b (-1)	28,81	1,19	4,11%	27,23	0,83	3,05%	22,84	0,87	3,80%

Tejido pos 4	HPR7b (-1)	31,88	1,22	3,81%	30,05	0,99	3,28%	23,04	0,76	3,30%
Tejido pos 5	HPR7b (-1)	33,06	0,96	2,91%	33,30	1,41	4,23%	20,19	1,31	6,47%
Tejido Neg 1	CN	37,23	N/A	N/A	No Ct	N/A	N/A	19,15	0,53	2,75%
Tejido Neg 2	P. salmonis	No Ct	N/A	N/A	No Ct	N/A	N/A	20,97	1,78	8,48%
Cultivo pos 1	HPR3 (-1)	31,16	1,23	3,95%	29,26	1,48	5,04%	24,65	0,40	1,62%
Cultivo Pos 2	HPR3 (-1)	31,37	1,39	4,42%	29,40	1,53	5,22%	24,65	0,36	1,46%
Cultivo Neg	IPN (-1)	No Ct	N/A	N/A	No Ct	N/A	N/A	26,50	0,32	1,21%

Actividad 5. Instructivo de procesamiento de muestras para el "Ensayo de Comparación Inter-laboratorios para la Evaluación de la Técnica de Detección de ISAV mediante qRT-PCR"

Objetivo

El presente instructivo tiene por objeto instruir a los laboratorios participantes en la evaluación de la técnica de detección de ISAV mediante qRT-PCR, de los pasos a seguir y tiempos a cumplir en dicho proceso de evaluación.

Información general.

Este ensayo fue diseñado para Determinar la capacidad de los laboratorios de diagnóstico registrados por Sernapesca para detectar en forma específica la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmon (ISAV) en muestras de tejidos de Salmo salar con diferentes cargas de infección y en sobrenadante de cultivo celular, mediante el uso de la metodología de diagnóstico oficial.

La información del este ensayo será codificada para cada laboratorio participante y los resultados no podrán ser utilizados, por estos o por terceros, para efectos de ranking u otra medición, tendiente a destacar unos laboratorios respecto de otros.

Proceso administrativo y finanzas.

Cada participante deberá enviar una orden de compra exenta por un monto de $638.000.- (seiscientos treinta y ocho mil pesos) considerando los siguientes datos:

- Nombre: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
- RUT: 81.669.200-8

- Dirección: Av. Brasil 2950
- Ciudad: Valparaíso
- Fono: (56-32) 2274828
- e-mail: diagnostico@pucv.cl
- Glosa: Servicio de ensayo de comparación interlaboratorio (ring test) para ISAV.

* Considerar plazo máximo para el envío de la orden de compra el día sábado 10 de septiembre.

Descripción del Ensayo

La evaluación considera un total de 30 muestras ciegas divididas en 3 lotes, los cuales deberán ser analizados en días o corridas diferentes. De estas 30 muestras, algunas corresponden a tejidos de órganos de peces (*Salmo salar*) infectados y no infectados con ISAV y preservadas en RNAlater® y otras corresponden a sobrenadante de cultivos celulares infectados y no infectados con ISAV y preservadas en Trisol LS®. Para las muestras infectadas se esperan resultados positivos y para las no infectadas se esperan resultados negativos.

Todas las muestras de ISAV serán cuantificadas en forma relativa y cada laboratorio deberá realizar el procedimiento de extracción de RNA y análisis según su propio protocolo establecido.

Este ensayo tiene un tiempo definido que es considerado en el análisis de los resultados, por lo tanto, deberá ser ejecutado considerando una de las siguientes opciones:

1. Mínimo 2 días, donde uno de los días se analizan 2 lotes y al otro día el lote restante.
2. Máximo 3 días, donde se analiza un lote por día.

Procedimiento

El set de muestras problemas serán despachadas mediante Chilexpress en tubos eppendorf de 1,5 ml los que en el caso de los tejidos contendrán en su interior 130±10mg de muestra cada uno y en el caso de los sobrenadantes de cultivo celular 250µL. Estos tubos estarán contenidos y ordenados en un rack de cartón, el cual as u vez estará contenido en una caja de polietileno con material refrigerante.

Cada tubo estará rotulado con un código de compuesto por una letra mayúscula que describirá el lote al cual corresponde (A, B o C) y 2 números, los que serán usados para la trazabilidad de la muestra y el resultado, es importante que estos dos números sean escritos en el formulario de resultados.

Cabe mencionar que las muestras serán acompañadas de una carta conductora, la que al ser recibida deberá ser completada con los datos solicitados firmada y enviada al GIM-PUCV (mediante correo electrónico diagnostico@pucv.cl y alvaro.labra@pucv.cl).

Una vez recibidas las muestras deberán programarse las tres rondas de análisis en forma consecutiva según lote. Dichas amplificaciones deberán ser realizadas en duplicado para cada muestra y deberán incluir también por duplicado la amplificación del factor de elongación 1 alfa (ELF-1α). Todo lo anterior deberá ser hecho de la misma manera que se realiza el análisis rutinariamente a muestras de campo, utilizando para cada participante los kits, equipos, tiempos, temperaturas, partidores y sondas descritas en su propio informe de validación entregado el Sernapesca.

Envío de resultados e información general del procedimiento

Una vez obtenidos los resultados, estos deberán ser registrados en el formulario de resultados, el cual deberá ser completado y enviado a los correos electrónicos diagnostico@pucv.cl y alvaro.labra@pucv.cl. Cabe mencionar que, si para explicar la interpretación de algún resultado se considera necesario enviar información adicional a la solicitada como por ejemplo los gráficos de las curvas obtenidos, puede hacerse por esta misma vía, ya sea como archivo adjunto o a continuación del formulario de resultados.

Asimismo, la información general del procedimiento deberá ser enviada por la misma vía. Una vez recibidos estos documentos se confirmará su recepción.

Análisis de resultados

Los resultados serán analizados en relación a la sensibilidad y especificidad obtenida para cada laboratorio en base a lo expresado en el Manual Acuático de la OIE (2016), Capítulo 1.1.2. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas. La sensibilidad y especificidad se calcularon de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$Sensibilidad = \frac{VP}{VP + FN} * 100$$

$$Especificidad = \frac{VN}{VN + FP} * 100$$

Dónde:
VP: verdadero positivo
FN: falso negativo
VN: verdadero negativo
FP: falso positivo

Definiéndose la sensibilidad como la fracción de muestras positivas a ISAV y que efectivamente resultan positivas por las técnicas ensayadas y la especificidad como la fracción de las muestras que son negativas a ISAV y que dan un resultado negativo. Los datos utilizados para realizar estos cálculos corresponden a los promedios entregados por cada laboratorio para cada muestra, por día.

La repetibilidad se evaluará para la técnica de qRT-PCR, en relación a la dispersión que caracterize a los resultados en base a los Ct para las muestras positivas. Se tomará la distribución de los datos en torno a la media, utilizando los estadísticos, desviación estándar, coeficiente de variación.

Información General del Procedimiento.

1- Kit utilizado en el qRT-PCR (indicar Nombre/Marca):
2- Termociclador en tiempo real utilizado (indicar Modelo/Marca):
3- Alternativa de PCR utilizada (convencional, SybrGreen, Taqman u otra):

4- La secuencia de partidores y sondas (indicar bibliografía):
5- Número de ciclos en la corrida:
6- Valor de Ct de corte para el ensayo:
   - Snow, 2006:
   - ELF-1α:
7- En el caso de utilizar química Taqman la sonda utilizada posee MGB, LNA, otras o ninguna:
8- Marca de los partidores:
9- Marca de las sondas:
10- Volumen final de reacción (en µL)
11- Volumen de muestra usado en la reacción (en µL)

Tabla Nº 19. Formulario de resultados

Nombre del Laboratorio:						
Nombre y correo de contacto:						
Fecha de recepción de muestras:						
Fecha y hora de análisis:						
Código de Muestra	ISAV			ELF-1α		
	CT 1	CT 2	Int.	CT 1	CT 2	Int.
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
A – B - C						
Control Pos						
Control Neg						

Encuesta de Procedimiento

Esta encuesta tiene una modalidad de respuestas cerradas (únicamente Si y No) a excepción de la pregunta 5 que es abierta y cuando la respuesta sea No debe complementarse con los comentarios que respalden dicha respuesta.
1- El embalaje de las muestras, llegó con la caja completa, sellada.
2- Los tubos llegaron en la caja de microtubos cerrada y sellada, la cual disponía los tubos ordenados y números en los espacios correspondientes.
3- El instructivo de manipulación de las muestras fue claro y no se requiere de consultas al organizador del ensayo.
4- Formulario de Resultados e Información General del Procedimiento fue fácil de completar y no requiere de consultas al organizador del ensayo.
5- Entregar comentarios de todo el proceso de evaluación:

Actividad 6. Recepción y análisis de resultados

La recepción de los resultados de los análisis de los diferentes laboratorios se realizo sin contratiempos, sin embargo, se detectó una oportunidad de mejora para una próxima oportunidad dado que el formulario para el registro y envío de los resultados se envió en formato PDF, lo que hizo que el traspasar los resultados a una tabla para su análisis tuviese que ser un proceso manual, el cual consumió bastantes horas hombre y que queda sujeto a la posibilidad de errores de digitación. En una próxima oportunidad se enviará en formato Excel para que los valores puedan ser traspasados automáticamente.

Resultados Etapa 1. Informe de Resultados Ring Test ISAV

Introducción

El Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura designó al Laboratorio de Patógenos Acuícolas, perteneciente al Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (GIM-PUCV) como Laboratorio de referencia para el virus ISA (RES.EX. Nº1448 de 06.06.2011). Asimismo, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) confirmó este nombramiento y reconoció dicho laboratorio como Referencia Mundial OIE para el ISAV.

Entre las funciones delegadas a éste en el marco de la referencia se encuentra la evaluación técnica continua de la red de laboratorios de diagnóstico registrada por Sernapesca mediante rondas de comparación interlaboratorio y procesos de auditoría técnica.

Dado lo anterior y tomando en cuenta la importancia que tiene para la acuicultura nacional y el Programa Sanitario Especifico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmón (PSEVC-ISA) el actual sistema de diagnóstico utilizado para el ISAV basado en un PCR de tiempo real según lo publicado por Snow *et al*., en el año 2006, es que se diseñó y desarrolló este ensayo, el cual consta de tres ejes fundamentales:

1.1. Evaluación de tres fases dentro del procedimiento de diagnóstico: extracción de ARN, amplificación por PCR e interpretación de los resultados. El procedimiento incluye muestras de tejido y de sobrenadantes de cultivo celular positivo y cuantificado.
1.2. Comparación contra dos variantes virales aisladas en Chile en diferentes años y en diferentes áreas geográficas, tales como ISAV HPR3 e ISAV HPR7b.
1.3. Determinación tanto sensibilidad como de especificidad al incluir en la reacción muestras positivas a patógenos vigentes y de alta prevalencia tales como *Piscirickettsia salmonis* y el Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV)

Sin duda, el tener un sistema nacional de intercomparación permitirá una aplicación periódica, como también constituye un primer paso en la posibilidad de evaluar ensayos de RT-PCR en tiempo real orientados a la detección de otros patógenos que afectan la acuicultura nacional.

Objetivo

Determinar la capacidad de los laboratorios de diagnóstico registrados por Sernapesca para detectar, mediante el uso de la metodología de diagnóstico oficial la presencia específica del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV) en muestras de tejidos de Salmónidos con diferente carga viral.

Materiales y Métodos

Descripción del Ensayo

La evaluación consideró un total de 30 muestras ciegas divididas en 3 lotes (A, B y C) compuestos por 10 muestras cada uno que se desglosan de la siguiente manera:

- 5 muestras de tejido (pool de órganos) positivas a ISAV HPR7b con diferentes cargas virales.
- 2 muestras de tejido (pool de órganos) negativas a ISAV y una de ellas positivas a *P. salmonis*.
- 2 muestras de cultivo celular preservados en Trizol LS® positivas a ISAV HPR3.
- 1 muestra de cultivo celular preservada en Trizol LS® negativa a ISAV y positiva a IPNV.

Cabe mencionar que todas las muestras de ISAV fueron cuantificadas en forma relativa y cada laboratorio debió realizar el procedimiento de extracción de RNA y análisis por lotes en días o corridas diferentes utilizando para ello su protocolo previamente establecido.

Este ensayo tuvo un tiempo definido que es considerado en el análisis de los resultados, por lo tanto, debió ser ejecutado considerando una de las siguientes opciones:

3. Mínimo 2 días, donde uno de los días se analizan 2 lotes y al otro día el lote restante.
4. Máximo 3 días, donde se analiza un lote por día.

Preparación de Muestras

Muestras de tejido infectado con ISAV HPR7b.

Para generar la cantidad necesaria de tejido infectado fue necesario realizar, en dependencias del Centro de Investigación en Acuicultura Curauma, una infección productiva en condiciones controladas de 40 peces de la especie *Salmo salar.* Dicha infección fue realizada con una cepa de ISAV HPR7b conocida obtenida de la colección de virus propia del GIM-PUCV. Una vez que los peces murieron debido a la infección por el virus, comprobada por evidencia visual en la necropsia, así como por qRT-PCR, los órganos blancos (branquias, corazón y riñón) fueron colectados asépticamente y porcionados en trozos de 0,5 cm^3 y

sumergidos en RNAlater durante 48 horas para su preservación. Transcurrido el tiempo se eliminó el preservante y se procedió a macerar el tejido de los diferentes órganos hasta formar una pasta homogénea, de la cual se generaron muestras de diferentes porciones y se analizaron mediante qRT-PCR según protocolo establecido donde se evidenció que los valores de Ct eran homogéneos en todas las porciones evaluadas.

Una vez obtenida la muestra positiva 1 se separó una porción del tejido para alicuotarla en tubos ependorff de 1,5 mL y el resto del tejido fue mezclado con una proporción adecuada de un macerado de tejidos de peces negativos a ISAV, de manera tal que la proporción del tejido positivo se diluyera hasta llegar al valor del Ct deseado. Este procedimiento se repitió para las 5 diluciones de la muestra positiva, obteniendo finalmente 5 muestras de tejido positivas a ISAV en diferentes proporciones y con valores de Ct aproximados de 20, 24, 28, 31 y 33 respectivamente.

Muestras de tejido no infectado con ISAV.

Para generar este material se utilizaron 10 peces de la especie *Salmo salar*, los cuales fueron separados en dos grupos de 5 peces cada uno. El primer grupo se dejó sin infectar y el segundo grupo fue infectado con una cepa tipo de la bacteria *Piscirickettsia salmonis*. Al cabo de 10 días los peces infectados murieron presentando a la necropsia claros signos de Piscirickettsiosis, los que fueron confirmados mediante qPCR, mientras que los peces no infectados fueron sacrificados por sobredosis anestésica y no presentaron signos de enfermedad a la necropsia respondiendo también negativamente al análisis por qPCR para ISAV y *P. salmonis*. Posteriormente los órganos blancos (branquias, corazón y riñón) fueron colectados asépticamente y porcionados en trozos de 0,5 cm^3 y sumergidos en RNAlater durante 48 horas para su preservación. Transcurrido el tiempo, se eliminó el preservante y se procedió de la misma manera que en el caso anterior, y las correspondientes porciones analizadas por qRT-PCR según protocolo establecido comprobando que los valores de Ct para el factor de elongación 1 alfa que se usa como gen de referencia de integridad del material genético a analizar eran homogéneos en todas las porciones evaluadas y al mismo tiempo negativas para ISAV. Las muestras fueron guardadas en tubos ependorff de 1,5 mL debidamente rotulados.

Muestras de cultivo celular.

Para generar las muestras de cultivo celular infectado con ISAV HPR3 se procesaron 2 botellas de cultivo de 25mL con células ASK-1 incubadas a 18°C por 10 días post infección, posteriormente se recuperó el material mediante la adición de Trizol LS y se mezcló el contenido de las dos botellas. Luego de ello se tomaron tres alícuotas y se analizaron según protocolo establecido, obteniendo valores de Ct de cercano a 31. Posteriormente se alicuotó en viales de 300µL debidamente rotulados suficientes para formar dos muestras del panel final de muestras, los que fueron congelados a -80°C hasta su envío. Dos de estos viales fueron analizados en el GIM-PUCV para verificar la eficiencia de la preservación haciendo una cuantificación relativa de la carga viral como indicador de la reproducibilidad esperada de las muestras a analizar por los laboratorios de la red. Para el caso la muestra negativa a ISAV se repitió el proceso anterior infectando una botella con virus de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV).

Evaluación Inicial de las muestras

Las muestras se homogenizaron automáticamente con el equipo MagnaLizer de Roche y luego se procedió a la extracción de RNA utilizando el kit EZNA y siguiendo las indicaciones del fabricante. En el caso de las muestras de cultivo se realizó la separación del material con cloroformo recuperando la fase acuosa, la que procesada de acuerdo al procedimiento del kit eluyendo el RNA en 60 µL de agua libre de nucleasas y mantenido a -80°C. Los análisis por qRT-PCR se realizaron por duplicado y en paralelo con los sets de partidores y sondas de Snow *et al*. 2006, GIM y ELF-1α, utilizando el equipo StepOne Plus de Applied Biosystem.

Evaluación definitiva de las muestras

Las muestras permanecieron almacenadas a -80°C hasta el día que fueron despachadas a cada laboratorio, donde fueron ubicadas en lotes de a 3 por cada muestra en su caja respectiva. Al tener las 30 muestras en su caja, cada tubo fue codificado con una nomenclatura única por laboratorio y posteriormente puesto en un contenedor de polietileno con material refrigerante y su carta correspondiente. Una de las cajas elegida al azar, fue mantenida sin refrigerar durante 24 horas simulando las condiciones de transporte y cumplido

el tiempo analizadas en nuestro laboratorio siguiendo las instrucciones de ring test como si el GIM-PUCV fuese un laboratorio participante más del ensayo.

Envío de muestras

Las modalidades de preservación de muestras (RNAlater y TRIzol LS), además de evitar la degradación de material genético, permiten su transporte a temperatura ambiente durante un periodo aproximado de 1 semana. Sin perjuicio de lo anterior, las muestras fueron enviadas en cajas de cartón individualizadas y debidamente rotuladas, en cajas de polietileno con material refrigerante (gelpack) en su interior. Las muestras fueron enviadas a la dirección física de cada laboratorio por medio de una empresa de transporte (Chilexpress), utilizando un servicio overnight con confirmación de recepción y hora, para garantizar su recepción dentro del día hábil siguiente al enviado.

Resultados y Discusión

Información general

Dado que los resultados generados por este ensayo son de carácter confidencial entre la autoridad sectorial, el laboratorio de referencia y cada laboratorio participante, la información fue codificada, entregando a cada laboratorio un número (tabla 1).

Tabla Nº 20. Código numeral asignado a cada laboratorio para este ensayo, el cual será usado para presentar los resultados a lo largo del informe.

N°	Laboratorio
0	PUCV Snow
00	PUCV GIM
1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	
12	

En las siguientes tablas se indica información general relacionada con los protocolos utilizados por cada laboratorio, (kits de amplificación, equipos de PCR en tiempo real, valores de Ct de cortes para la detección del virus ISA y para el gen referencial ELF-1α, número de ciclos de amplificación, marcas de los partidores y sondas y sus secuencias según referencias (Tablas 2 y 3).

Tabla Nº 21**.** Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección de ISAv y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan® para el segmento 8 (Snow *et al*., 2006).

Laboratorio	Kit Extracción	Kit Amplificación	Equipo	N° Ciclos	Ct Corte ISAV/ ELF-1α
PUCV Snow	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	StepOne Plus Applied Biosystem	45	ISAV: ≤36 ELF-1α: ≤25
PUCV GIM	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	StepOne Plus Applied Biosystem	45	ISAV: ≤36 ELF-1α: ≤25
1	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	LightCycler 480 RNA Master Hydrolisis Probes / ROCHE	LightCycler 480 II / ROCHE	45	ISAV: 35,31 ELF-1α: ≤ 22
2	High Pure RNA Tissue Kit/ Roche	LightCycler 480 RNA Master Hydrolisis Probes / ROCHE	LightCycler 480 II / ROCHE	45	ISAV: ≤ 35,6 ELF-1α: ≤ 22
3	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	BRILLIANT II QRT-PCR MASTER MIX One Step/ AGILENT TECHNOLOGIES	Mx 3000P /Stratagene	**45**	ISAV: ≤ 37 ELF-1α: ≤ 28
4	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	Mx 3000P /Stratagene	**45**	ISAV: 37,5 ELF-1α: ≤25
5	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	Mx 3000P /Stratagene	45	ISAV: ≤36,02 ELF-1α:≤25
6	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	Mx 3000P /Stratagene	45	ISAV: ≤37,12 ELF-1α:≤25
7	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	Mx 3000P /Stratagene LightCycler 480 II / ROCHE	45	ISAV: 35 ELF-1α:30
8	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	LightCycler 480 II / ROCHE	45	ISAV: 35 ELF-1α:30
9	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScrip III Platinum One Step Quantitative RT-PCR System	Mx 3000P /Stratagene	45	ISAV: ≤35 ELF-1α:≤30
10	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	Brillant III Ultra Fast QRT-PCR MASTER MIX / Agilent Technologies	Mx 3000P /Stratagene	45	ISAV: 36,59 ELF-1α:34

11	MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit/ Roche	TaqMan® Fast Virus 1-Step Master Mix /Applied Biosystem	StepOne Plus Applied Biosystem	45	ISAV: 36,5 ELF-1α:31
12	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	EXPRESS SuperScript /EXPRESS Qpcr Super Mix	StepOne Plus Applied Biosystem	45	ISAV: 38,01 ELF-1α: N/A
13	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	Brilliant II qRT-PCR Master Mix, 1 Step / Agilent Technologies	Mx 3000P /Stratagene	43	ISAV: 34,96 ELF-1α: 33,45

Tabla Nº 22**.** Sondas, partidores, respectivas marcas y volúmenes utilizados por cada laboratorio para la amplificación del segmento 8 del ISAV y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan®.

Laboratorio	Secuencia Ref. Partidores / Sonda	Marca Partidores / Sonda	Tipo de Sonda	Volumen Final de Reacción (µL)	Volumen de Muestra (µL)
PUCV Snow	Snow et al., 2006 / Sepúlveda et al., 2013	IDT/ABI	MGB	20	4
PUCV GIM	Snow et al., 2006 / Sepúlveda et al., 2013			20	4
1	Snow et al., 2006	IDT/ROCHE	BHQ	10	1
2	Snow et al., 2006	IDT/IDT	MGB	10	1
3	Snow et al., 2006	IDT/ABI	MGB	20	2
4	Snow et al., 2006	IDT/ABI	MGB	12	3
5	Snow et al., 2006	IDT/ABI	MGB	12	3
6	Snow et al., 2006	IDT/ABI	MGB	12	3
7	Snow et al., 2006 / Sepúlveda et al., 2013	IDT/IDT	LNA	10	3
8	Snow et al., 2006 / Sepúlveda et al., 2013	IDT/IDT	LNA	15	5
9	Snow et al., 2006	IDT/IDT	LNA	7	2,2
10	Snow et al., 2006	IDT/IDT	MBG	12,5	2
11	Snow et al., 2006 Moore et al., 2005	IDT/ABI	MGB	13	3
12	Snow et al., 2006	IDT/IDT	FAM-ZEN-3IABkFQ	12,5	1
13	Snow et al., 2006	ABI/ABI	MGB	20	1,5

ABI: Applied Biosystem (Life Technology); IDT: Integrated DNA technologies
MGB: Minor Groove Binder; LNA: Locked Nucleic Acids;

La tabla Nº 21 indica que el kit de extracción más utilizado es el E.Z.N.A.® Total RNA Kit I de Omega Biotek, que según datos obtenidos por nuestro laboratorio, es uno de los kit más eficientes en términos de calidad y precio. Hubo solo dos excepciones: el laboratorio 2 que usó el kit High Pure RNA Tissue Kit de Roche y el laboratorio 11 que utilizó el MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit de Roche.

Respecto al kit de amplificación participaron 6 kit diferentes, predominando el kit SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System de Invitrogen. En términos de equipos utilizados hay solo tres, con una mayor representación del Mx 3000P de Stratagene.

La tabla Nº 22 indica que todos los laboratorios utilizan la técnica oficial para la detección de ISAV según lo publicado por Snow *et al.,* (2006). En cambio, para la detección del factor de elongación 1 alfa solo dos laboratorios además del laboratorio de referencia utilizan la metodología publicada por Sepúlveda *et al.,* (2013) que amplía el rango de especies en las que puede ser utilizado el ensayo. Respecto a los volúmenes de muestras y volúmenes finales de reacción existe una marcada variación entre los laboratorios y, si bien cada uno de ellos cuenta con una validación de su método en el caso de volúmenes muy pequeños, ello podría constituir un factor de error por las limitantes es esas condiciones de las micropipetas utilizadas para generar el mix y agregar la muestra.

Validación de Muestras y Resultados.

Los siguientes dos gráficos (1 y 2) muestran un resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras (1 tejidos y 2 cultivos celulares) y concluye que la teoría de las diluciones se cumple, al obtener, todos los laboratorios, valores de Ct promedio más bajos en las muestras más concentradas, los que aumentan en la medida que la concentración de ISAV disminuye. Lo mismo ocurre en el caso de los cultivos celulares donde las dos muestras que son espejo obtienen en promedio los mismos resultados. Para el caso de las muestras negativas observamos que los resultados obtenidos en todos los casos son los esperados a excepción del laboratorio 2 en el lote 3 que por duplicado obtiene resultados positivos. Cabe mencionar que las diluciones de tejido positivo no detectadas por algunos laboratorios (1, 2, 3, 4 y 10) siguen la misma lógica anterior, ya que el laboratorio al dejar de detectar una dilución determinada, no detecta ninguna de las diluciones posteriores.

Gráfico Nº 1**.** Resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras de tejido. En el eje Y se indican los valores de Ct y en el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

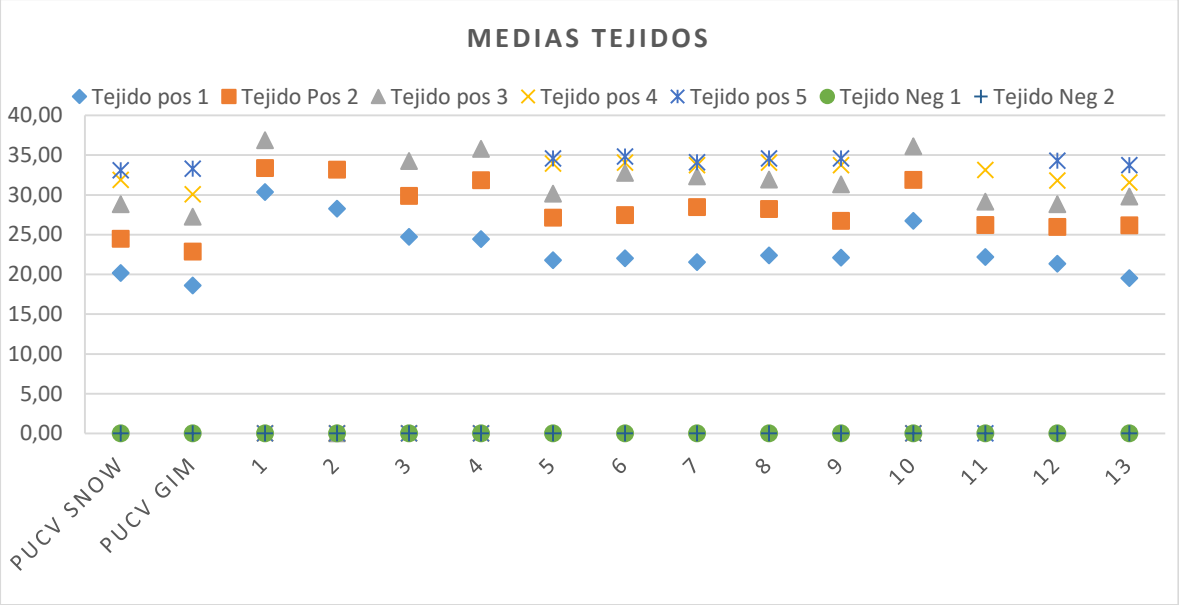
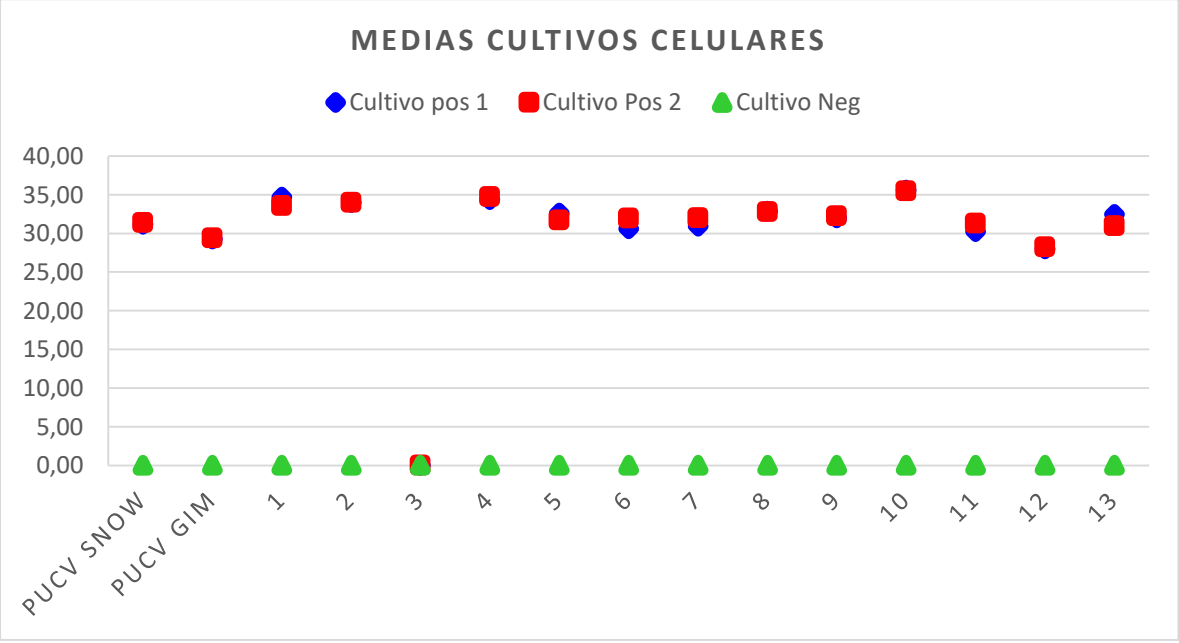


Gráfico Nº 2**.** Resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras de cultivo celular. En el eje Y se indican los valores de Ct y en el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.



De los gráficos se concluye que, en términos generales estuvo bien logrado, es decir: la preparación y evaluación de las muestras, el transporte y las condiciones de preservación, extracción y recuperación de ARN total, así como de la amplificación, interpretación, envío y análisis de resultados cumplieron su objetivo.

Los resultados reportados por cada laboratorio fueron promediados entre duplicados y tabulados para su análisis cualitativo y cuantitativo y se presentan en la Tabla 4 para el caso de las muestras de tejido y en la tabla Nº 22 para las muestras de cultivo celular.

Tabla Nº 23**.** Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante del ensayo según muestra de tejido y lote de amplificación.

Laboratorio	Tejido pos 1			Tejido Pos 2			Tejido pos 3			Tejido pos 4			Tejido pos 5			Tejido Neg 1			Tejido Neg 2		
Lote	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
PUCV Snow	20,07	19,70	20,68	25,92	23,52	23,93	30,33	28,20	27,91	32,79	32,51	30,33	34,24	32,53	32,43	–	–	–	–	–	–
PUCV GIM	18,57	18,32	18,88	24,11	22,24	22,28	28,24	27,03	26,42	30,48	30,86	28,81	35,02	32,68	32,21	–	–	–	–	–	–
1	30,41	29,72	30,95	32,92	33,37	33,75	36,52	37,23	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2	29,75	31,15	23,90	34,35	34,80	30,30	–	–	33,05	–	–	30,05	–	–	–	–	–	34,40	–	–	–
3	23,72	25,06	25,33	28,93	30,44	30,28	34,18	33,69	34,91	36,32	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4	24,97	24,00	24,38	31,48	31,76	32,33	35,71	35,24	36,40	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
5	21,21	21,98	22,16	26,91	27,03	27,48	30,19	30,29	30,00	34,14	34,16	33,44	34,09	35,07	34,61	–	–	–	–	–	–
6	21,95	21,88	22,22	27,41	26,82	28,17	32,49	32,85	32,90	36,23	31,46	34,50	34,62	33,78	36,09	–	–	–	–	–	–
7	20,67	22,23	21,76	27,72	28,68	28,99	33,68	30,89	32,44	33,76	33,86	33,61	34,68	33,37	34,20	–	–	–	–	–	–
8	21,97	22,33	22,80	27,78	27,97	28,88	33,05	32,75	29,91	33,76	34,29	34,05	34,80	33,27	35,60	–	–	–	–	–	–
9	21,88	21,85	22,52	26,66	26,89	26,57	30,67	31,89	31,32	33,01	33,85	34,34	34,64	34,36	34,68	–	–	–	–	–	–
10	29,51	25,84	24,83	32,15	31,94	31,58	35,65	36,39	36,29	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
11	22,80	21,99	21,69	26,54	26,13	25,95	29,93	28,91	28,58	33,16	33,44	32,73	–	–	–	–	–	–	–	–	–
12	21,24	21,50	21,25	25,51	26,08	26,25	28,09	28,58	29,83	31,68	31,48	32,22	34,57	32,49	35,84	–	–	–	–	–	–
13	20,65	18,88	19,05	27,66	25,05	25,73	40,09	29,77	29,79	32,04	30,97	31,62	34,02	33,44	33,68	–	–	–	–	–	–

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas.

Tabla Nº 24**.** Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante del ensayo según muestra de cultivo celular y lote de amplificación.

Laboratorio	Cultivo pos 1			Cultivo Pos 2			Cultivo Neg		
Lote	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**	**1**	**2**	**3**
PUCV Snow	29,69	32,38	31,41	29,69	32,67	31,75	–	–	–
PUCV GIM	27,45	30,65	29,68	27,45	30,62	30,14	–	–	–
1	38,90	32,29	32,82	–	33,97	33,17	–	–	–
2	34,35	34,05	33,50	34,55	34,05	33,30	–	–	–
3	35,67	–	–	–	–	36,35	–	–	–
4	34,70	32,87	35,50	33,89	33,92	36,35	–	–	–
5	35,32	31,86	30,72	31,73	32,34	31,08	–	–	–
6	30,15	30,11	31,54	30,56	31,02	34,30	–	–	–
7	29,39	32,99	30,35	29,45	33,75	32,83	–	–	–
8	32,74	31,51	34,29	32,81	31,47	34,09	–	–	–
9	30,64	33,19	32,17	31,87	32,55	32,32	–	–	–
10	35,22	36,04	35,56	35,44	36,12	34,86	–	–	–
11	29,30	30,37	31,02	31,49	31,25	31,20	–	–	–
12	27,98	27,69	28,27	28,21	26,84	29,60	–	–	–
13	32,11	32,65	32,63	32,88	28,35	31,71	–	–	–

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas

Evaluación Cualitativa. Sensibilidad y Especificidad

Los resultados fueron analizados en relación a la sensibilidad y especificidad obtenida para cada laboratorio en base a lo expresado en el Manual Acuático de la OIE (2016), Capítulo 1.1.2. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas. La sensibilidad y especificidad se calcularon de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$Sensibilidad = \frac{VP}{VP + FN} * 100$$

$$Especificidad = \frac{VN}{VN + FP} * 100$$

Dónde:
VP: verdadero positivo
FN: falso negativo
VN: verdadero negativo
FP: falso positivo

Definiéndose la sensibilidad como la fracción de muestras positivas a ISAV y que efectivamente resultan positivas por las técnicas ensayadas y la especificidad como la fracción de las muestras que son negativas a ISAV y que dan un resultado negativo.

Los datos utilizados para realizar el cálculo de sensibilidad corresponden a las interpretaciones reportadas por cada laboratorio para cada muestra, por lote de análisis, sin tomar en cuenta el valor numérico del Ct.

En la Tabla Nº 25 se presentan los datos ordenados por laboratorio y por lote de análisis y se destacan en amarillo las muestras que fueron interpretadas de manera diferente al resultado esperado. Respecto a ello vale mencionar que estos resultados tienen gran consistencia dentro de cada laboratorio repitiéndose en su mayoría entre los diferentes lotes de análisis. La excepción de

lo anterior es la muestra 3 del lote 1 del laboratorio 13 que dado los resultados entregados podría deberse a una falla de manejo de la muestra en particular.

Si se consideran los resultados esperados versus los obtenidos, la muestra de tejido positivo 5 es la única en la que podría darse una diferencia en interpretación aceptable, dado que es una muestra que se encuentra con una carga viral muy pequeña y podría, dependiendo del Ct de corte de cada laboratorio, ser interpretada como negativa. Si consideramos lo anterior se podríamos indicar que en términos de sensibilidad para este ensayo el valor mínimo esperado es de 86% y en términos de especificidad debe ser el 100%.

Tabla Nº 25**.** Interpretación de resultados de cada laboratorio por muestra y segmentado por lote de análisis. Calculo de sensibilidad y especificidad por laboratorio. Destacado en amarillo los resultados obtenidos que son diferentes a los resultados esperados

.Laboratorio			PUCV		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Lote	Muestra	Result. Esp.	Snow Int.	GIM Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.
1	Tej Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 2	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 3	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	**Neg**
	Tej Pos 4	Pos	Pos	Pos	**Neg**	**Neg**	Pos	**Neg**	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	**Neg**	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 5	Pos*	Pos	Pos	**Neg**	**Neg**	**Neg**	**Neg**	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	**Neg**	**Neg**	Pos	Pos
	Tej Neg 1	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Tej Neg 2	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Cult Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Cult Pos 2	Pos	Pos	Pos	**Neg**	Pos	**Neg**	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Cult Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
2	Tej Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 2	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 3	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 4	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 5	Pos*	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos
	Tej Neg 1	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Tej Neg 2	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Cult Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Cult Pos 2	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Cult Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
3	Tej Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 2	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 3	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 4	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 5	Pos*	Pos	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Neg	Pos	Pos
	Tej Neg 1	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Tej Neg 2	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Cult Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Cult Pos 2	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Cult Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
VP		21	21	21	13	14	12	15	21	21	21	21	21	15	18	21	20
FP		0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN		9	9	9	9	8	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
FN		0	0	0	8	7	9	6	0	0	0	0	0	6	3	0	1
Sensibilidad (%)		100	100	100	62	67	57	71	100	100	100	100	100	71	86	100	95
Especificidad (%)		100	100	100	100	89	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

***** Muestra con una carga viral muy pequeña y puede, dependiendo del Ct de corte del laboratorio, ser interpretada como negativa

Tabla Nº 26**.** Cálculo de sensibilidad y especificidad de la técnica para el ensayo.

Laboratorio	Sensibilidad %	Especificidad %
PUCV Snow	100%	100%
PUCV GIM	100%	100%
1	62%	100%
2	67%	89%
3	57%	100%
4	71%	100%
5	100%	100%
6	100%	100%
7	100%	100%
8	100%	100%
9	100%	100%
10	71%	100%
11	86%	100%
12	100%	100%
13	95%	100%
Total	87%	99%

En la Tabla Nº 26 se muestra un resumen de la sensibilidad y especificidad de la técnica obtenida por cada laboratorio en el ensayo, y se calcula el promedio de dichos parámetros.

Evaluación Cuantitativa. Repetibilidad

Para el análisis cuantitativo del método se consideraron los valores de Ct reportados por los laboratorios para cada muestra y se calculó la media, desviación estándar y coeficiente de variación de los valores obtenidos considerando cada una de las diferentes diluciones de las distintas muestras de ISAV para cada laboratorio, lo que puede apreciarse en la tabla 8 para el caso de las muestras de tejido y en la tabla 9 para el caso de los cultivos celulares.

Tabla Nº 27**.** Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante en el ensayo, según muestra de tejido.

Laboratorio	Tejido pos 1			Tejido Pos 2			Tejido pos 3			Tejido pos 4			Tejido pos 5			Tejido Neg 1			Tejido Neg 2		
	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)
PUCV Snow	20,15	0,46	2,3%	24,46	1,16	4,7%	28,81	1,19	4,1%	31,88	1,22	3,8%	33,06	0,96	2,9%	-	-	-	-	-	-
PUCV GIM	18,59	0,27	1,4%	22,87	0,96	4,2%	27,23	0,83	3,1%	30,05	0,99	3,3%	33,30	1,41	4,2%	-	-	-	-	-	-
1	30,36	0,79	2,6%	33,35	0,53	1,6%	36,87	1,49	4,0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	28,33	**3,36**	**11,8%**	33,22	2,15	6,5%	33,05	0,49	1,5%	30,05	0,49	1,6%	-	-	-	34,40	1,41	4,1%	-	-	-
3	24,70	0,79	3,2%	29,88	0,78	2,6%	34,26	0,65	1,9%	38,46	1,75	4,6%	40,33	1,48	3,7%	-	-	-	-	-	-
4	24,45	0,45	1,8%	31,85	0,40	1,3%	35,78	1,15	3,2%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	21,78	0,45	2,1%	27,14	0,29	1,1%	30,16	0,18	0,6%	33,91	0,43	1,3%	34,59	0,63	1,8%	-	-	-	-	-	-
6	22,02	0,22	1,0%	27,46	0,70	2,5%	32,75	0,34	1,1%	34,06	2,24	6,6%	34,83	1,16	3,3%	-	-	-	-	-	-
7	21,55	1,19	5,5%	28,46	0,91	3,2%	32,34	1,77	5,5%	33,74	0,40	1,2%	34,08	0,71	2,1%	-	-	-	-	-	-
8	22,37	0,47	2,1%	28,21	0,57	2,0%	31,90	1,92	6,0%	34,03	0,54	1,6%	34,55	1,28	3,7%	-	-	-	-	-	-
9	22,08	0,40	1,8%	26,71	0,19	0,7%	31,29	0,69	2,2%	33,73	0,93	2,8%	34,56	0,40	1,2%	-	-	-	-	-	-
10	26,73	**2,78**	**10,4%**	31,89	0,48	1,5%	36,11	0,42	1,2%	39,31	2,16	5,5%	40,62	1,39	3,4%	-	-	-	-	-	-
11	22,16	0,52	2,3%	26,21	0,29	1,1%	29,14	0,63	2,2%	33,11	0,43	1,3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12	21,33	0,26	1,2%	25,95	0,37	1,4%	28,83	0,88	3,0%	31,79	0,54	1,7%	34,30	1,67	4,9%	-	-	-	-	-	-
13	19,52	0,87	4,5%	26,14	1,23	4,7%	29,78	0,11	0,4%	31,54	0,67	2,1%	33,71	0,61	1,8%	-	-	-	-	-	-

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas.

Tabla Nº 28. Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante en el ensayo, según muestra de cultivo celular.

Laboratorio	Cultivo pos 1			Cultivo Pos 2			Cultivo Neg		
	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)	Media	SD	CV(%)
PUCV Snow	31,16	1,23	3,9%	31,37	1,39	4,4%	-	-	-
PUCV GIM	29,26	1,48	5,0%	29,40	1,53	5,2%	-	-	-
1	34,67	3,31	9,5%	33,57	0,78	2,3%	-	-	-
2	34,23	0,89	2,6%	34,03	0,54	1,6%	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	34,36	1,23	3,6%	34,72	1,28	3,7%	-	-	-
5	32,63	2,15	6,6%	31,72	0,72	2,3%	-	-	-
6	30,60	0,79	2,6%	31,96	1,88	5,9%	-	-	-
7	30,91	1,69	5,5%	32,01	2,21	6,9%	-	-	-
8	32,85	1,36	4,1%	32,79	1,25	3,8%	-	-	-
9	32,00	1,21	3,8%	32,25	0,56	1,7%	-	-	-
10	35,61	0,47	1,3%	35,47	0,60	1,7%	-	-	-
11	30,23	0,79	2,6%	31,31	0,17	0,5%	-	-	-
12	27,98	0,33	1,2%	28,22	1,24	4,4%	-	-	-
13	32,46	0,54	1,7%	30,98	2,10	6,8%	-	-	-

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas

De las tablas anteriores (27 y 28) se infiere que los duplicados de cada muestra presentan un comportamiento esperado en términos de valores de Ct, a excepción de los laboratorios 1, 2, 3 y 10. Estos laboratorios presentan variaciones (desviación estándar, SD) mayores a lo esperado si se toma en cuenta lo descrito en literatura para esta técnica "Entre réplicas de una misma muestra que presenta altas cargas del gen blanco los valores de desviación estándar aceptables son cercanos a 0,3 y estos aumentan en la medida que se acercan al límite de detección, lo que es inherente a la química TaqMan®"(Introducción a PCR en tiempo real, Llanos, 2006).

Las diferencias de valores de Ct obtenidos entre cada lote perteneciente a un mismo laboratorio se encuentran dentro de rangos aceptables (menos de un 10%) a excepción de los laboratorios 2 y 10 para el caso de la muestra de tejido positivo 1 y para el caso del laboratorio 1 en la muestra de cultivo positivo 1. Lo anterior se puede apreciar mediante los valores de desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación (Tablas 27 y 28).

Finalmente, en una evaluación subjetiva, dado que no existen antecedentes bibliográficos disponibles, las diferencias de Ct observadas entre los diferentes laboratorios para la misma muestra se encuentran en

rangos aceptables (banda de 5 Ct) para los laboratorios PUCV (en sus dos metodologías), 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12 y 13, si se considera que entre laboratorios se utilizan diferentes equipos, reactivos, volúmenes de reacción, etc.

Gráficos

En los gráficos siguientes (3 al 22) se puede apreciar claramente y por muestra lo indicado en el párrafo anterior, en donde se muestra en formato de líneas el valor promedio de Ct con su respectiva desviación estándar y en formato histograma los valores por cada lote y para cada laboratorio. Asimismo en los gráficos (3 al 22) puede observarse en formato de líneas el valor promedio de Ct con su respectiva desviación estándar obtenido por cada laboratorio para cada una de las muestras en el análisis del factor de elongación 1 alfa (ELF-1α), que si bien no está directamente relacionado con la capacidad de detectar ISAV, es un indicador que evalúa por un lado la eficiencia de recuperación de RNA total de una muestra y por otro el estado de degradación de RNA de una muestra, ya sea por el manejo pre o post- extracción.

En este caso además de lo anterior, tenemos que considerar que en la preparación de las muestras se utilizó una mezcla de tejidos de diferentes órganos de salmónidos, entre los cuales había un gran porcentaje de branquias que sabemos es un tejido cartilaginoso de difícil homogenización y bajo rendimiento en cuanto a ELF-1α. Asimismo no todo el tejido usado pertenecía a *Salmo salar*, lo que puede tener directa influencia en los resultados obtenidos en esta determinación ya que el ensayo que utiliza la mayoría de los laboratorios está dirigido solo a esta especie. Por otro lado, y confirmando esta hipótesis vemos que los laboratorios que utilizan el ensayo de Sepúlveda *et al.,* 2012, que amplía la detección de ELF para las tres especies de salmónidos cultivados en Chile, obtienen en promedio mejores resultados que el resto de laboratorios.

Gráfico Nº 3**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados.

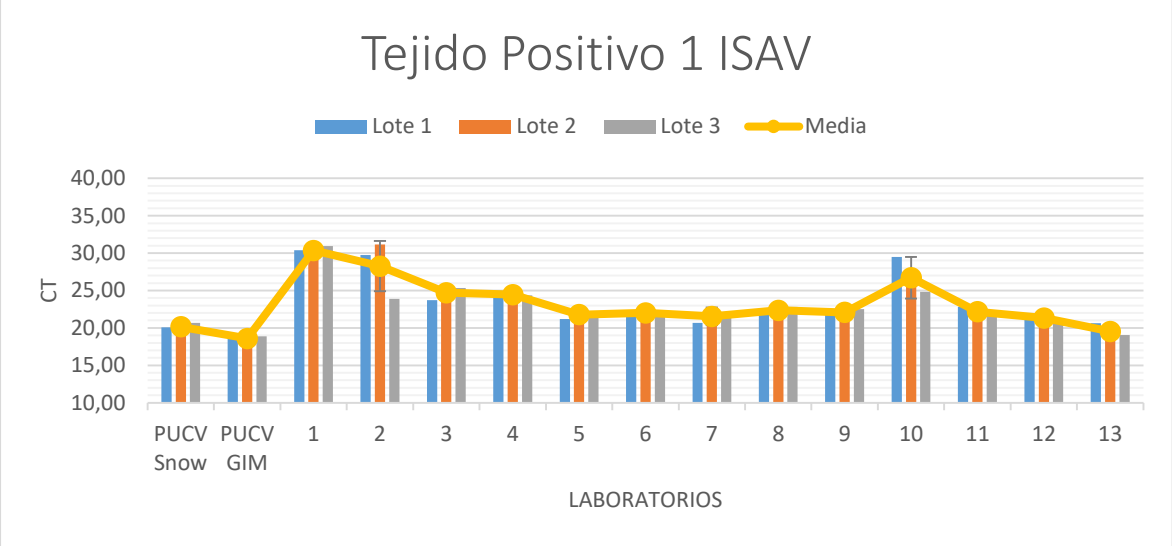


Gráfico Nº 4**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

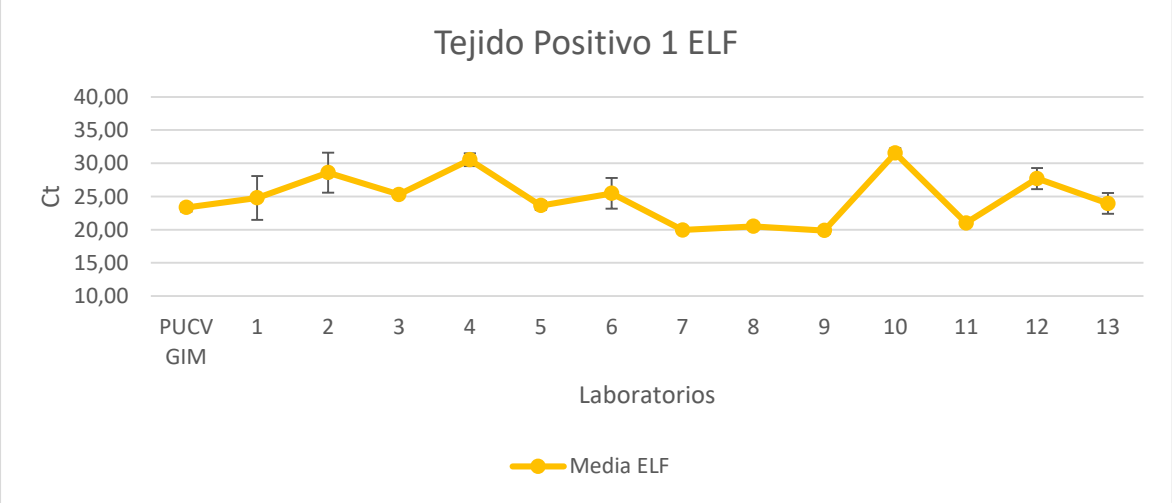


Gráfico Nº 5**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

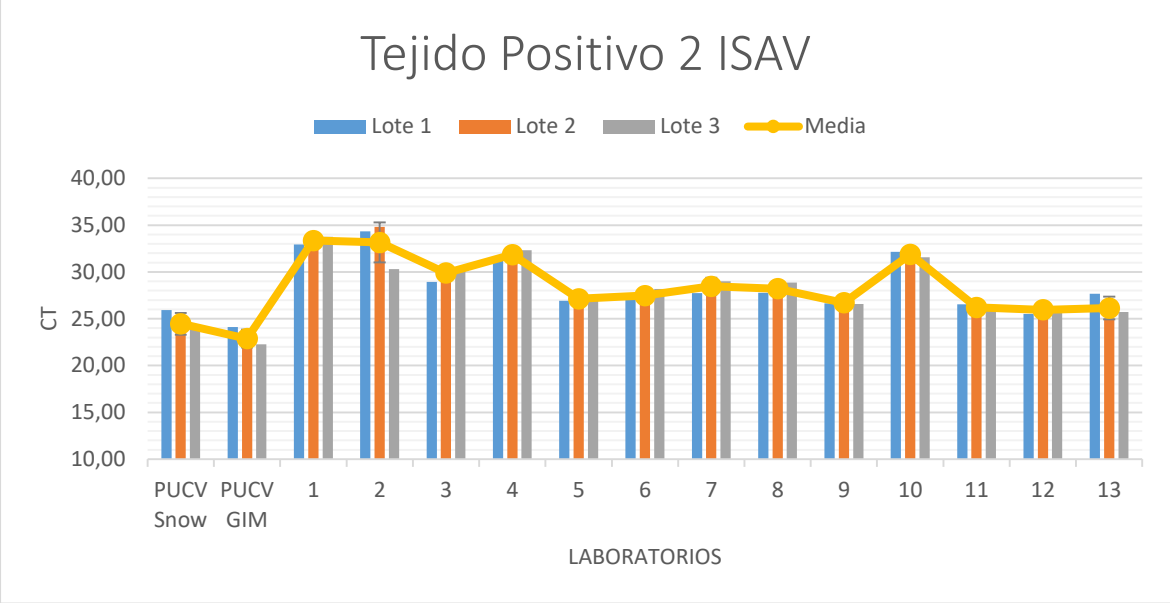


Gráfico Nº 6**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

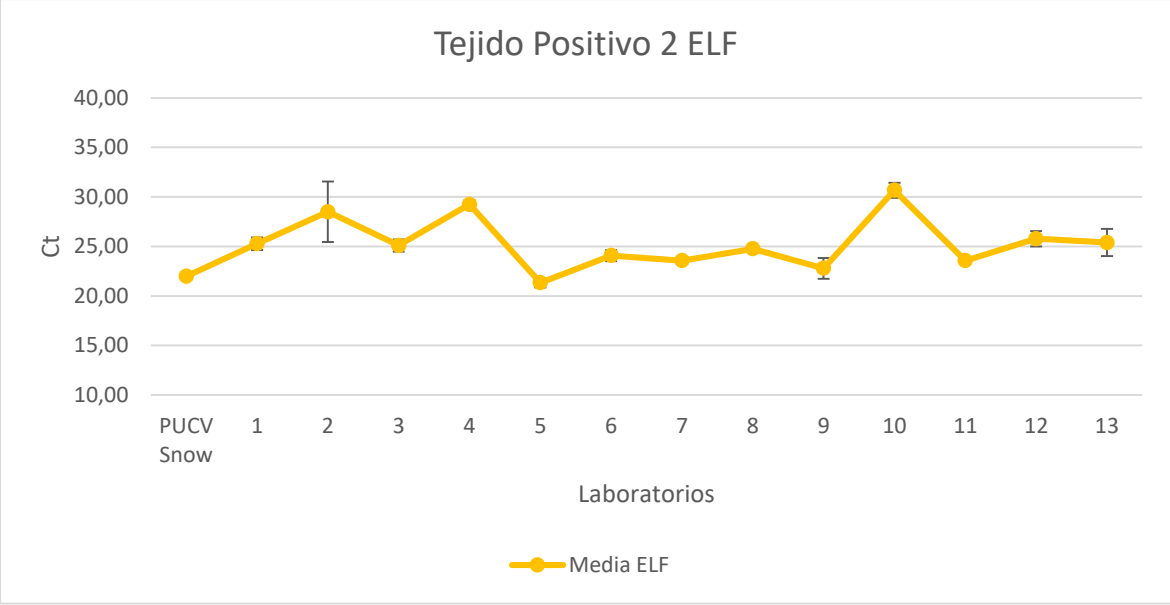


Gráfico Nº 7**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

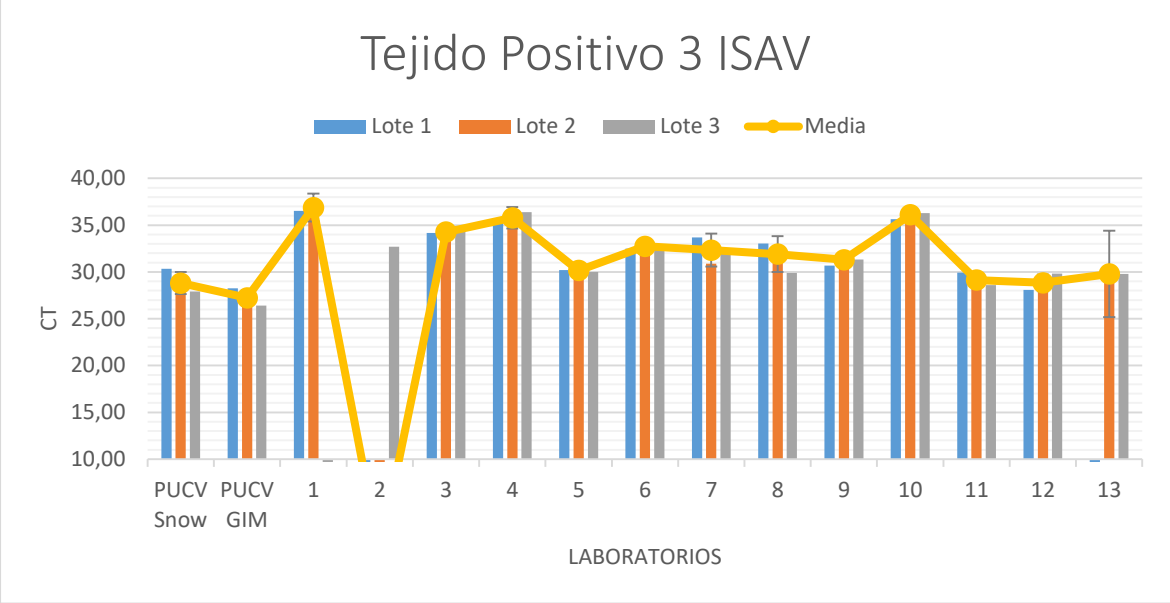


Gráfico Nº 8**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados codificados según tabla 20.

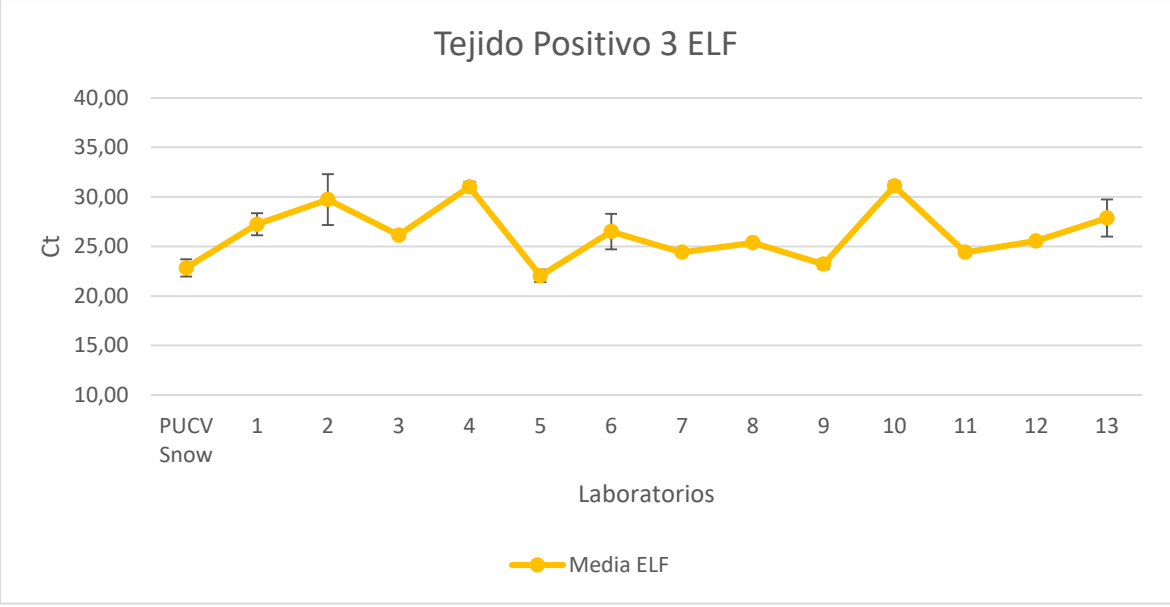


Gráfico Nº 9**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

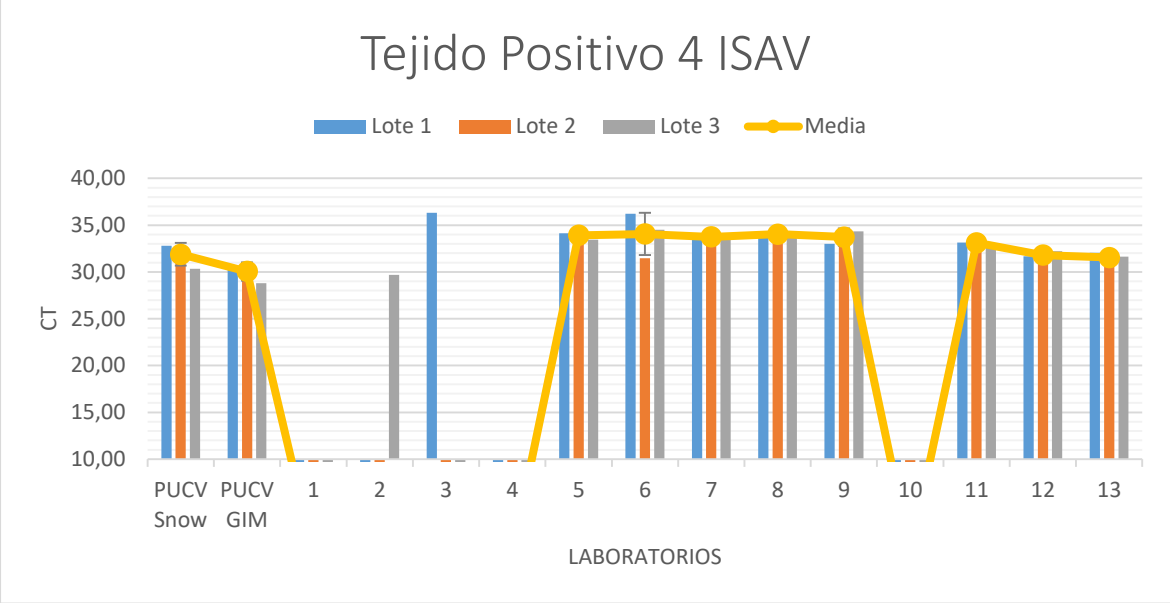


Gráfico Nº 10**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

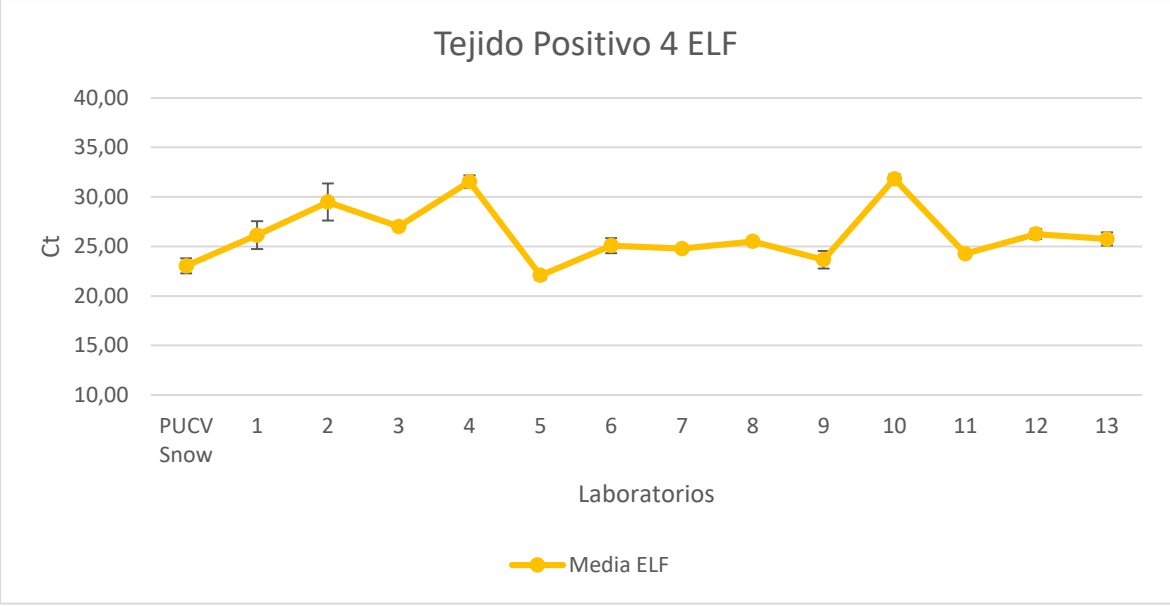


Gráfico Nº 11**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

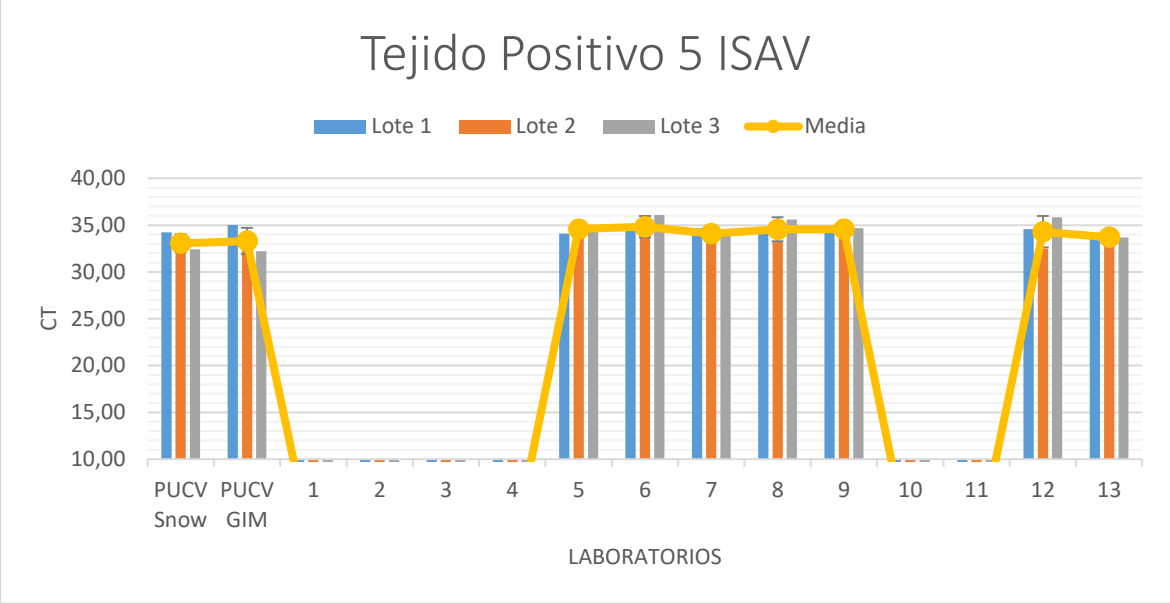


Gráfico Nº 12**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

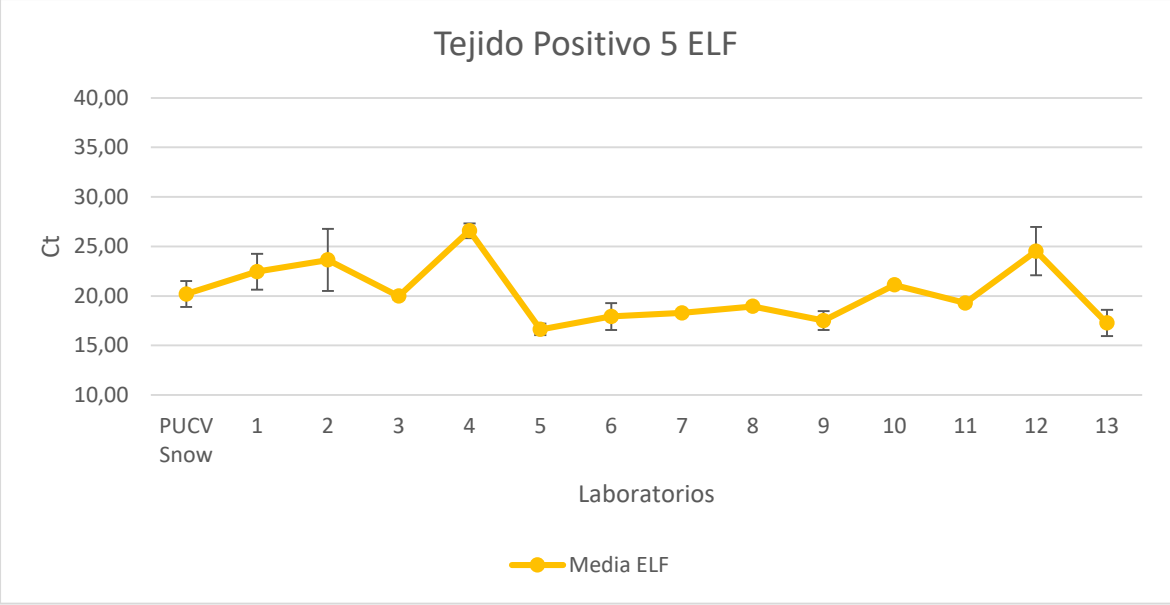


Gráfico Nº 13**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 1. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

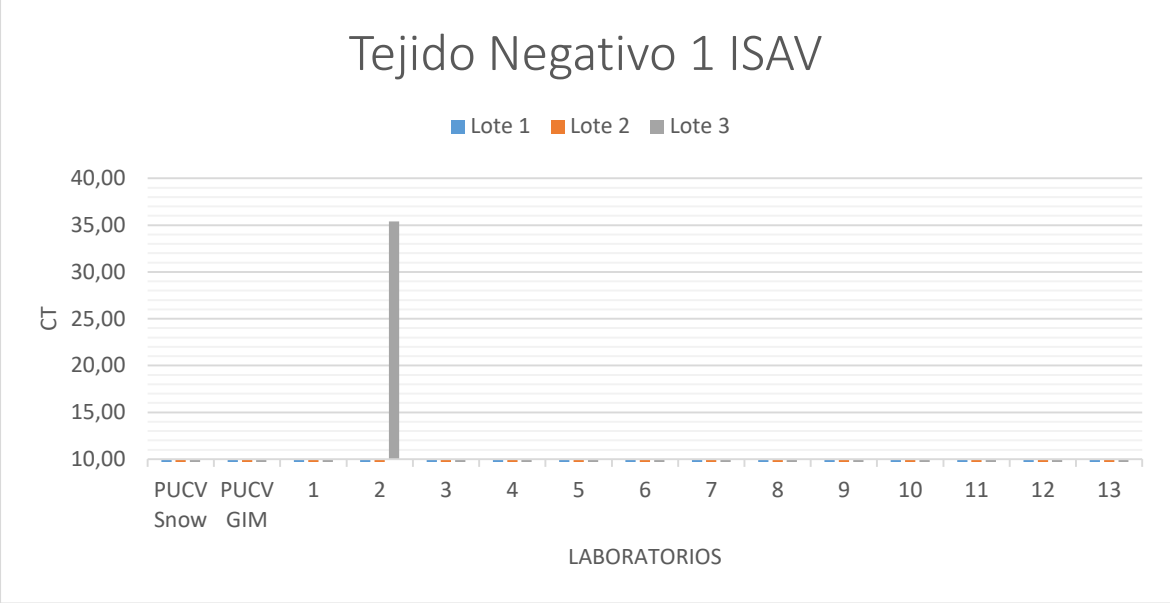


Gráfico Nº 14**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 1. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

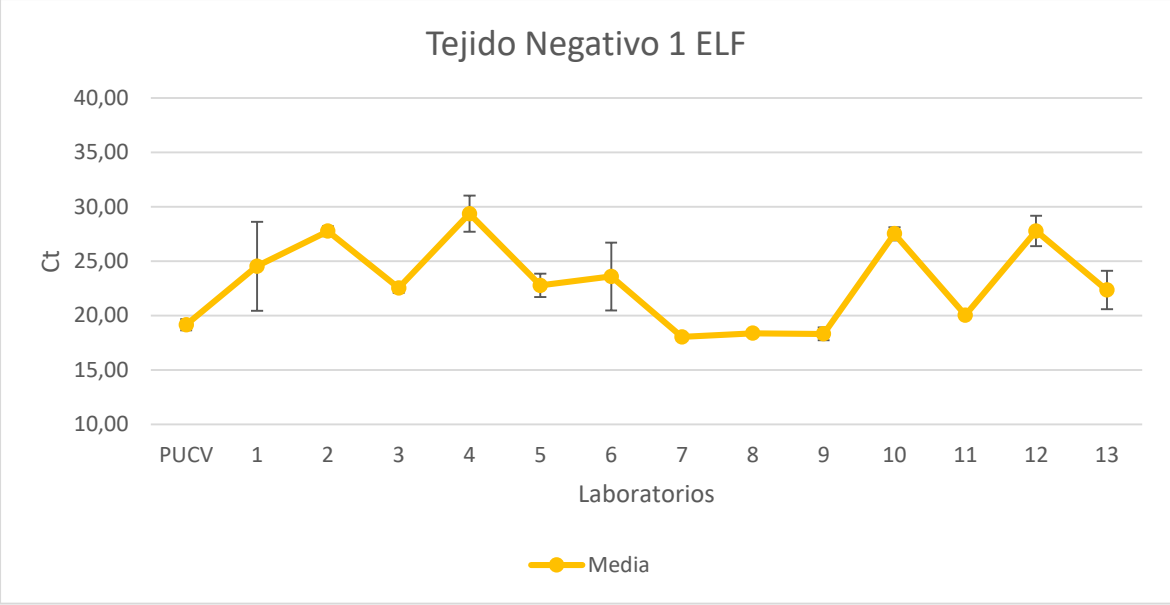


Gráfico Nº 15**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a *P. salmonis)*. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

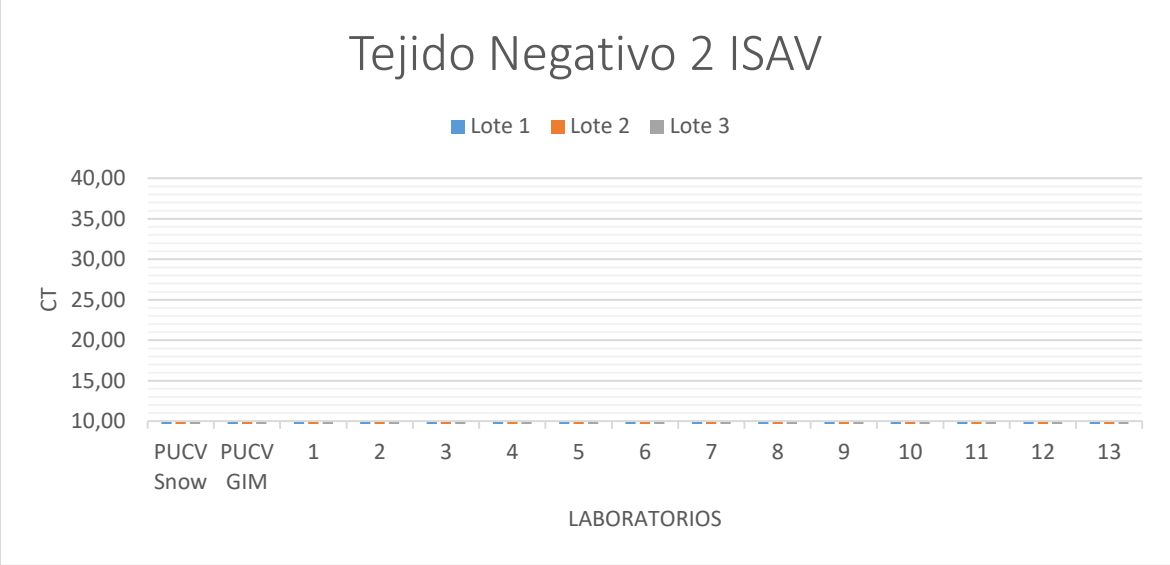


Gráfico Nº 16**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a *P. salmonis)*. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

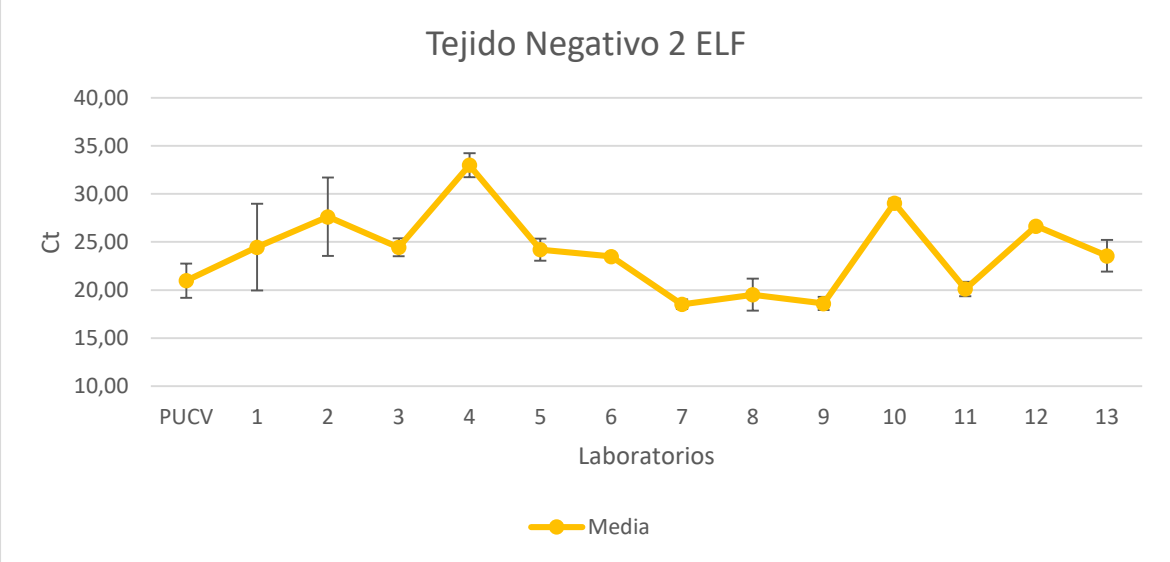


Gráfico Nº 17**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 1. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

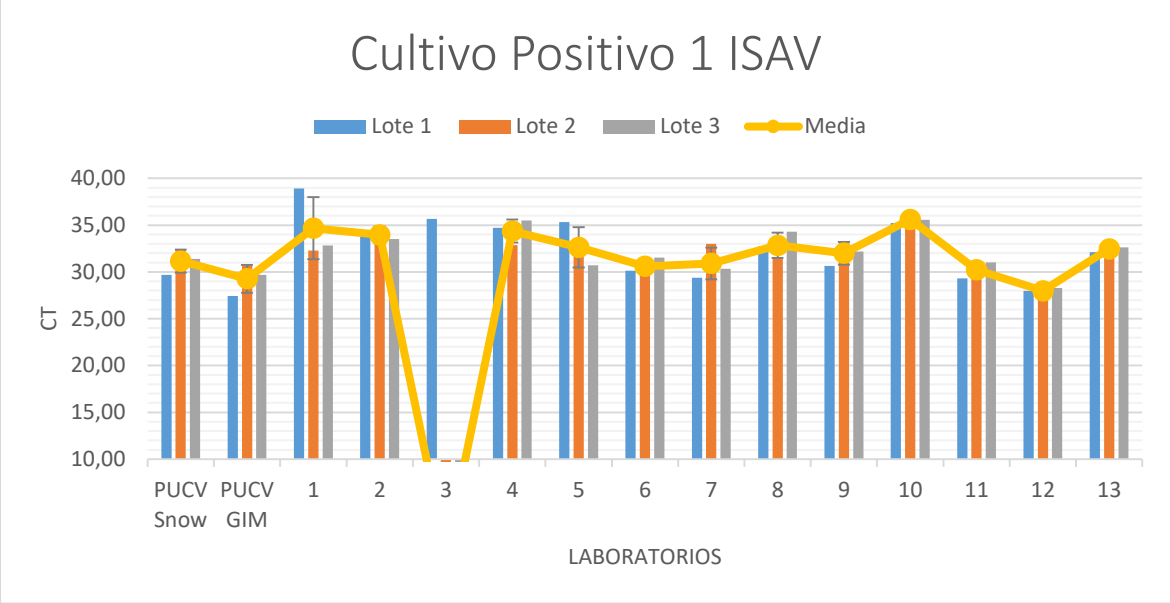


Gráfico Nº 18**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 1. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

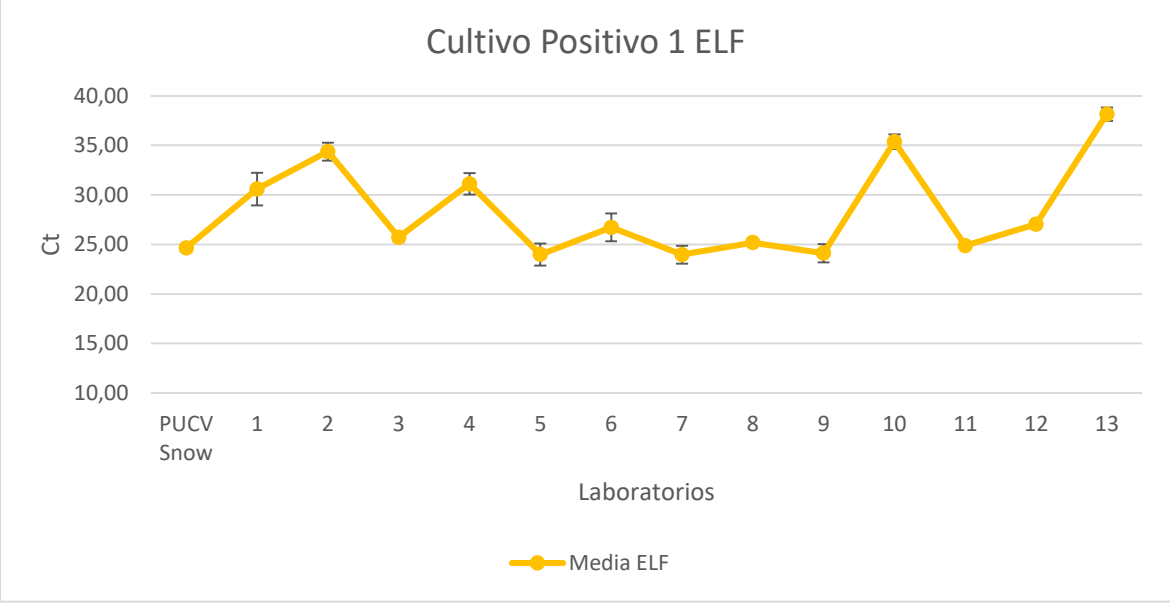


Gráfico Nº 19**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 2. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

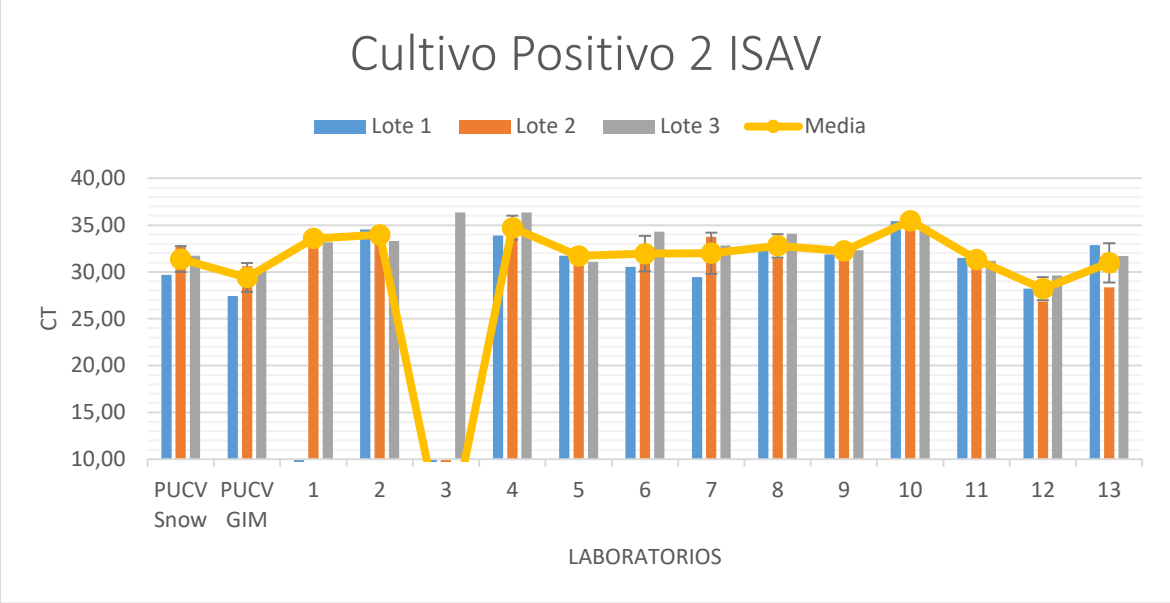


Gráfico Nº 20**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al cultivo celular positivo 2. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

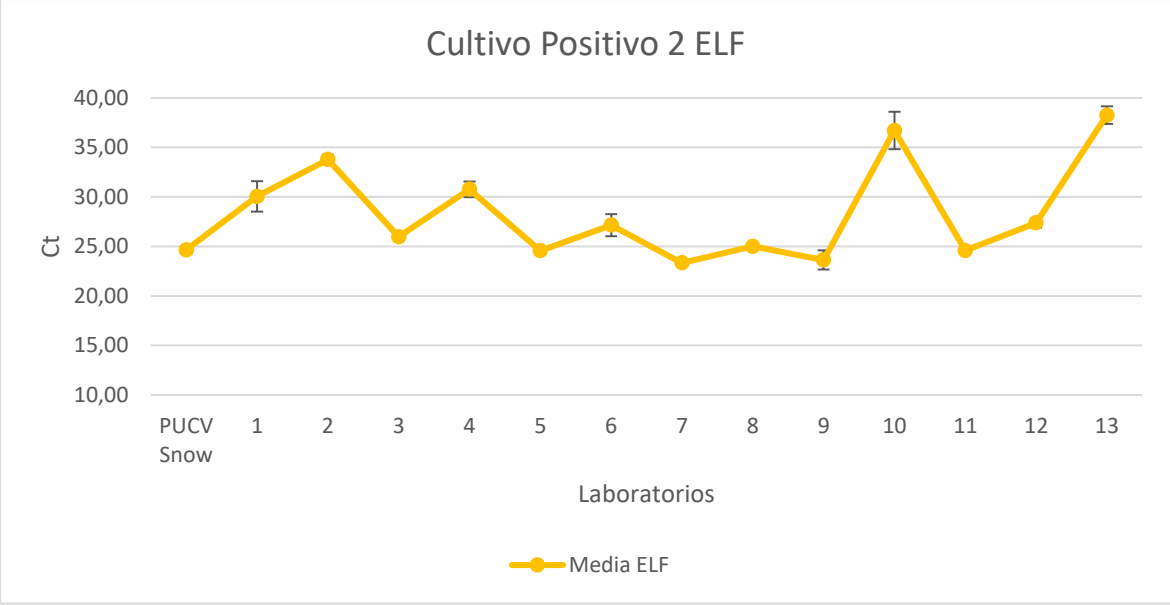


Gráfico Nº 21**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al cultivo celular negativo. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.

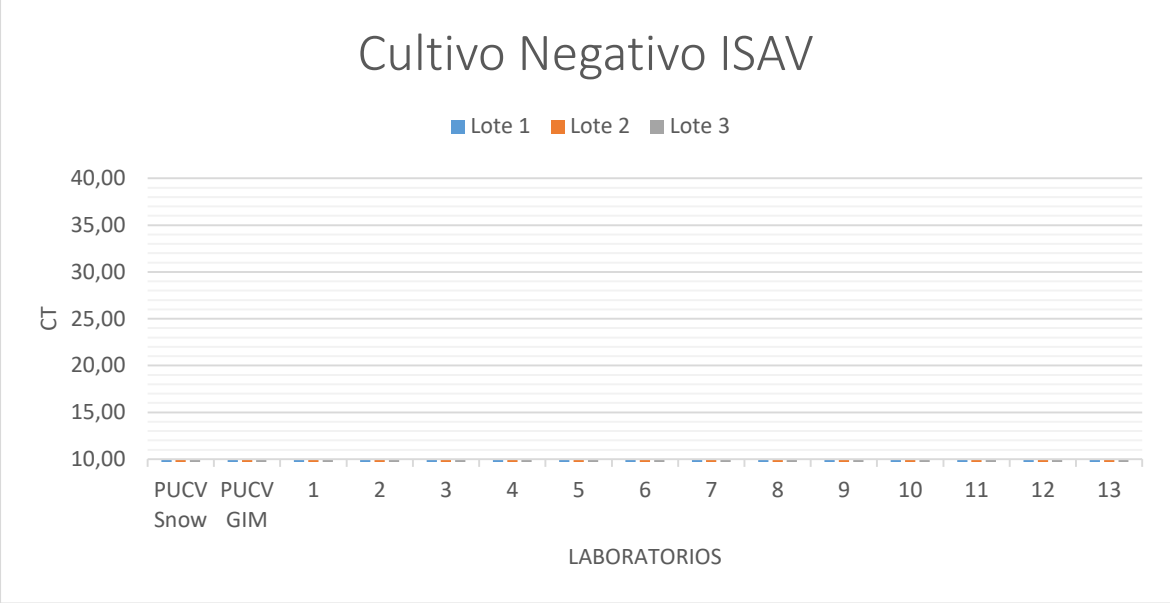
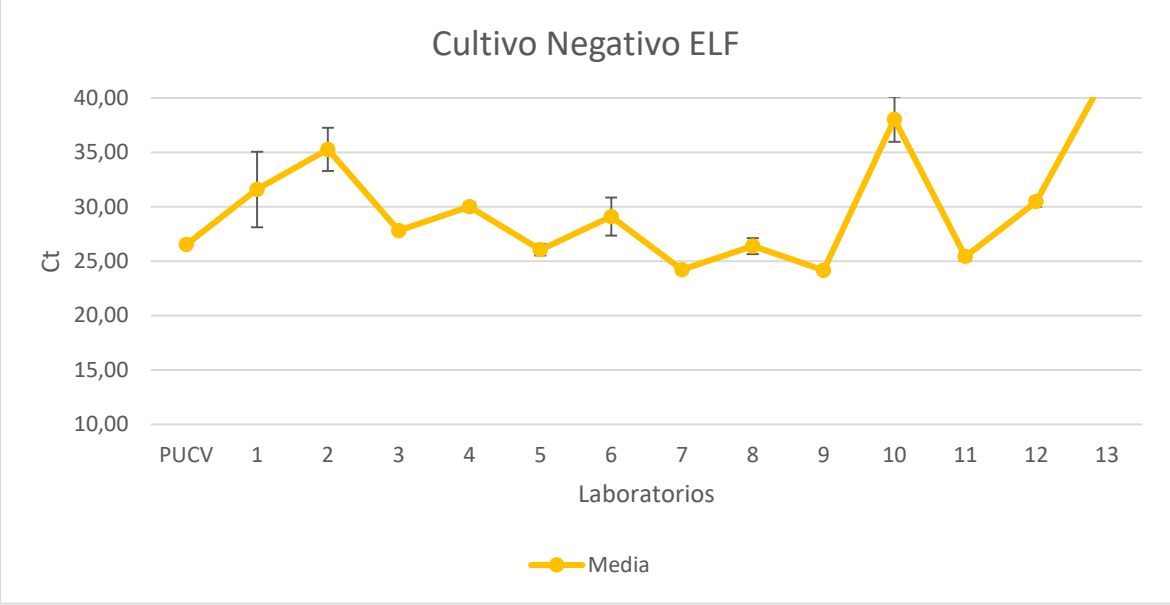


Gráfico Nº 22**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al cultivo celular negativo. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 20.



Encuesta

Asociado al ensayo se realizó una encuesta que constaba de 5 preguntas para evaluar el procedimiento en términos generales y entregar comentarios sobre el proceso. En ella hubo una serie de observaciones que sin duda son un gran aporte y serán consideradas por nuestro laboratorio como una oportunidad de mejora para el futuro, de tal manera de ir haciendo un sistema cada vez más confiable y trasparente de comparación interlaboratorio.

Conclusiones

La información de este ensayo fue codificada para cada laboratorio participante y los resultados no podrán ser utilizados, por estos o por terceros, para efectos de ranking u otra medición, tendiente a destacar unos laboratorios respecto de otros.

En general el ensayo se realizó sin mayores contratiempos a excepción de la falla en el cierre hermético en algunos de los tubos utilizados, lo que nos obligó a realizar un catastro telefónico y una encuesta del estado de recepción de las muestras. De acuerdo a los resultados de estas dos acciones se enviaron nuevos sets de muestras a 4 laboratorios y adicionalmente las muestras de cultivo celular a un quinto laboratorio.

En general todos los laboratorios participantes tienen la capacidad de detectar ISAV en muestras de salmónidos, sin embargo, existen diferencias en términos de sensibilidad, especificidad y repetibilidad en dicha detección que hace que algunos de los participantes cumplan de buena manera los parámetros impuestos por el ensayo y otros no (tabla 10).

Dado lo anterior los laboratorios 5, 6, 7, 8, 9, 11, 12 y 13 aprueban el ensayo demostrando su capacidad para detectar en forma sensible, específica y repetible la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmon (ISAV) en muestras de tejidos de Salmónidos con diferentes cargas de infección, mediante el uso de la metodología de diagnóstico oficial.

En cuanto a los laboratorios 1, 2, 3, 4 y 10 deberán revisar sus procedimientos y hacer los ajustes necesarios para mejorar la capacidad para detectar ISAV en las condiciones antes mencionadas.

Cabe mencionar que el laboratorio 11 si bien cumple con los parámetros del ensayo se recomienda someter el método a revisión, con el objetivo de mejorar la sensibilidad obtenida en este ensayo.

Respecto a los resultados obtenidos en la detección del ELF-1α, que no tienen relación directa con la capacidad diagnóstica de los laboratorios, podemos concluir que los laboratorios 7, 8, 9, 10, 11, 12 y 13 debiesen acotar el rango de aceptación de ELF para que este cumpla con el objetivo de evaluar la degradación del RNA en las muestras. Asimismo, se recomienda utilizar el ensayo de Sepúlveda *et al.,* 2012 ya que amplía el número de especies a las que puede ser aplicado.

Tabla Nº 23**.** Resumen de cumplimiento, por parte de cada participante, de parámetros impuestos por el ensayo.

N°	Sensibilidad	Especificidad	Repetibilidad		ELF-1α		Ensayo
			Dentro de Lotes	Entre Lotes	Tejido	Cultivo	
PUCV Snow	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
PUCV GIM	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1	X	✓	✓X	X	✓	X	X
2	X	X	✓X	X	X	X	X
3	X	✓	✓X	✓	✓	✓	X
4	X	✓	✓X	✓	X	X	X
5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
7	✓	✓	✓X	✓	✓	✓	✓
8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
10	X	✓	✓X	X*	X	X	X
11	✓X	✓	✓	✓	✓	✓	✓
12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
13	✓	✓	✓	✓	✓	X	✓

Dado los resultados obtenidos el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca) debió suspender la autorización para analizar muestras de ISAV en el marco del Programa Sanitario Especifico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmon (PSEVC-ISA) a 5 de los 13 laboratorios de la red, razón por la cual este grupo de laboratorios una vez que superaron las dificultades en sus técnicas solicitaron repetir el ensayo. A continuación, se presenta el informe de resultados para el ring test de repetición.

Resultados Repetición Etapa 1. Informe de Resultados Ring Test ISAV

Introducción

El Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura designó al Laboratorio de Patógenos Acuícolas, perteneciente al Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (GIM-PUCV) como Laboratorio de referencia para el virus ISA (RES.EX. Nº1448 de 06.06.2011). Asimismo, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) confirmó este nombramiento y reconoció dicho laboratorio como Referencia Mundial OIE para el ISAV.

Entre las funciones delegadas a éste en el marco de la referencia se encuentra la evaluación técnica continua de la red de laboratorios de diagnóstico registrada por Sernapesca mediante rondas de comparación interlaboratorio y procesos de auditoría técnica.

Dado lo anterior y tomando en cuenta la importancia que tiene para la acuicultura nacional y el Programa Sanitario Especifico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmón (PSEVC-ISA) el actual sistema de diagnóstico utilizado para el ISAV basado en un PCR de tiempo real según lo publicado por Snow *et al*., en el año 2006, es que se diseñó y desarrolló un primer ensayo de intercomparación que constó de tres ejes fundamentales:

1.4. Evaluación de tres fases dentro del procedimiento de diagnóstico: extracción de ARN, amplificación por PCR e interpretación de los resultados. El procedimiento incluyó muestras de tejido y de sobrenadantes de cultivo celular positivo y cuantificado.
1.5. Comparación contra dos variantes virales aisladas en Chile en diferentes años y en diferentes áreas geográficas, tales como ISAV HPR3 e ISAV HPR7b.
1.6. Determinación tanto sensibilidad como de especificidad al incluir en la reacción muestras positivas a patógenos vigentes y de alta prevalencia tales como *Piscirickettsia salmonis* y el Virus de la Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV)

Los resultados de este ensayo mostraron que 5 de los 15 laboratorios participantes no tuvieron el desempeño esperado, por lo que el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca) procedio a

suspenderlos de sus funciones oficiales en el marco del PSEVC-ISA hasta que aplicaran las acciones correctivas correspondientes y demostraran su idoneidad en otro ensayo de comparación interlaboratorio desarrollado por el laboratorio de referencia.

Objetivo

Determinar la capacidad de los algunos laboratorios de diagnóstico registrados por Sernapesca para detectar, mediante el uso de la metodología de diagnóstico oficial la presencia específica del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV) en muestras de tejidos de Salmónidos con diferente carga viral.

Materiales y Métodos

Descripción del Ensayo

La evaluación consideró un total de 14 muestras ciegas divididas en 2 lotes (A y B) compuestos por 7 muestras cada uno que se desglosan de la siguiente manera:

- 5 muestras de tejido (pool de órganos) positivas a ISAV HPR7b con diferentes cargas virales.
- 2 muestras de tejido (pool de órganos) negativas a ISAV y una de ellas positivas a *P. salmonis*.

Cabe mencionar que todas las muestras de ISAV fueron cuantificadas en forma relativa y cada laboratorio debió realizar el procedimiento de extracción de RNA y análisis por lotes en días o corridas diferentes utilizando para ello su protocolo previamente establecido.

Este ensayo tuvo un tiempo definido que es considerado en el análisis de los resultados, por lo tanto, debió ser ejecutado considerando una de las siguientes opciones:

5. Mínimo 1 día, donde uno de los días se analizan los 2 lotes.
6. Máximo 2 días, donde se analiza un lote por día.

Preparación de Muestras

a) Muestras de tejido infectado con ISAV HPR7b.

Para generar la cantidad necesaria de tejido infectado fue necesario realizar, en dependencias del Centro de Investigación en Acuicultura Curauma, una infección productiva en condiciones controladas de 40 peces de la especie *Salmo salar.* Dicha infección fue realizada con una cepa de ISAV HPR7b conocida obtenida de la colección de virus propia del GIM-PUCV. Una vez que los peces murieron debido a la infección por el virus, comprobada por evidencia visual en la necropsia, así como por qRT-PCR, los órganos blancos (branquias, corazón y riñón) fueron colectados asépticamente y porcionados en trozos de 0,5 cm^3 y sumergidos en RNAlater durante 48 horas para su preservación. Transcurrido el tiempo se eliminó el preservante y se procedió a macerar el tejido de los diferentes órganos hasta formar una pasta homogénea, de la cual se generaron muestras de diferentes porciones y se analizaron mediante qRT-PCR según protocolo establecido donde se evidenció que los valores de Ct eran homogéneos en todas las porciones evaluadas.

Una vez obtenida la muestra positiva 1 se separó una porción del tejido para alicuotarla en tubos ependorff de 1,5 mL y el resto del tejido fue mezclado con una proporción adecuada de un macerado de tejidos de peces negativos a ISAV, de manera tal que la proporción del tejido positivo se diluyera hasta llegar al valor del Ct deseado. Este procedimiento se repitió para las 5 diluciones de la muestra positiva, obteniendo finalmente 5 muestras de tejido positivas a ISAV en diferentes proporciones y con valores de Ct aproximados de 20, 24, 28, 31 y 33 respectivamente.

b) Muestras de tejido no infectado con ISAV.

Para generar este material se utilizaron 10 peces de la especie *Salmo salar*, los cuales fueron separados en dos grupos de 5 peces cada uno. El primer grupo se dejó sin infectar y el segundo grupo fue infectado con una cepa tipo de la bacteria *Piscirickettsia salmonis*. Al cabo de 10 días los peces infectados murieron presentando a la necropsia claros signos de Piscirickettsiosis, los que fueron confirmados mediante qPCR, mientras que los peces no infectados fueron sacrificados por sobredosis anestésica y no presentaron signos de enfermedad a la necropsia respondiendo también negativamente al análisis por qPCR para ISAV

y *P. salmonis*. Posteriormente los órganos blancos (branquias, corazón y riñón) fueron colectados asépticamente y porcionados en trozos de 0,5 cm^3 y sumergidos en RNAlater durante 48 horas para su preservación. Transcurrido el tiempo, se eliminó el preservante y se procedió de la misma manera que en el caso anterior, y las correspondientes porciones analizadas por qRT-PCR según protocolo establecido comprobando que los valores de Ct para el factor de elongación 1 alfa que se usa como gen de referencia de integridad del material genético a analizar eran homogéneos en todas las porciones evaluadas y al mismo tiempo negativas para ISAV. Las muestras fueron guardadas en tubos ependorff de 1,5 mL debidamente rotulados.

Evaluación Inicial de las muestras

Las muestras se homogenizaron automáticamente con el equipo MagnaLizer de Roche y luego se procedió a la extracción de RNA utilizando el kit EZNA y siguiendo las indicaciones del fabricante. Los análisis por qRT-PCR se realizaron por duplicado y en paralelo con los sets de partidores y sondas de Snow *et al*. 2006, GIM y ELF-1α, utilizando el equipo StepOne Plus de Applied Biosystem.

Evaluación definitiva de las muestras

Las muestras permanecieron almacenadas a -80°C hasta el día que fueron despachadas a cada laboratorio, donde fueron ubicadas en lotes de a 2 por cada muestra en su caja respectiva. Al tener las 14 muestras en su caja, cada tubo fue codificado con una nomenclatura única por laboratorio y posteriormente puesto en un contenedor de polietileno con material refrigerante y su carta correspondiente. Una de las cajas elegida al azar, fue mantenida sin refrigerar durante 24 horas simulando las condiciones de transporte y cumplido el tiempo analizadas en nuestro laboratorio siguiendo las instrucciones de ring test como si el GIM-PUCV fuese un laboratorio participante más del ensayo.

Envío de muestras

La modalidad de preservación de muestras (RNAlater), además de evitar la degradación de material genético, permiten su transporte a temperatura ambiente durante un periodo aproximado de 1 semana. Sin perjuicio de lo anterior, las muestras fueron enviadas en cajas de cartón individualizadas y

debidamente rotuladas, en cajas de polietileno con material refrigerante (gelpack) en su interior. Las muestras fueron enviadas a la dirección física de cada laboratorio por medio de una empresa de transporte (Chilexpress), utilizando un servicio overnight con confirmación de recepción y hora, para garantizar su recepción dentro del día hábil siguiente al enviado.

Resultados y Discusión

Información general

Dado que los resultados generados por este ensayo son de carácter confidencial entre la autoridad sectorial, el laboratorio de referencia y cada laboratorio participante, la información fue codificada, entregando a cada laboratorio un número.

Tabla Nº 24. Código numeral asignado a cada laboratorio para este ensayo, el cual será usado para presentar los resultados a lo largo del informe.

Numero	Laboratorio
PUCV	PUCV
1	
2	
3	
4	
5	

En las siguientes tablas se indica información general relacionada con los protocolos utilizados por cada laboratorio, kits de amplificación, equipos de PCR en tiempo real, valores de Ct de cortes para la detección del virus ISA y para el gen referencial ELF-1α, número de ciclos de amplificación, marcas de los partidores y sondas y sus secuencias según referencias.

Tabla Nº 25. Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección de ISAv y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan® para el segmento 8 (Snow *et al*., 2006).

Laboratorio	Kit Extracción	Kit Amplificación	Equipo	N° Ciclos	Ct Corte ISAV/ ELF-1α
PUCV	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	StepOne Plus Applied Biosystem	45	ISAV: ≤36 ELF-1α: ≤25
1	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	Brillant III Ultra Fast QRT-PCR MASTER MIX / Agilent Technologies	Mx 3000P /Stratagene	45	ISAV: 36,59 ELF-1α:34
2	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	BRILLIANT II QRT-PCR MASTER MIX One Step/ AGILENT TECHNOLOGIES	Mx 3000P /Stratagene	**45**	ISAV: ≤ 37 ELF-1α: ≤ 28
3	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	LightCycler 480 RNA Master Hydrolisis Probes / ROCHE	LightCycler 480 II / ROCHE	45	ISAV: ≤ 35,6 ELF-1α: ≤ 22
4	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	LightCycler 480 RNA Master Hydrolisis Probes / ROCHE	LightCycler 480 II / ROCHE	45	ISAV: 35,31 ELF-1α: ≤ 22
5	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I/ Omega Biotek	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	Mx 3000P /Stratagene	**45**	ISAV: 37,5 ELF-1α: ≤25

Tabla Nº 26. Sondas, partidores, respectivas marcas y volúmenes utilizados por cada laboratorio para la amplificación del segmento 8 del ISAV y ELF-1α mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan®.

Laboratorio	Secuencia Ref. Partidores / Sonda	Marca Partidores / Sonda	Tipo de Sonda	Volumen Final de Reacción (µL)	Volumen de Muestra (µL)
PUCV	Snow et al., 2006 / Sepúlveda et al., 2013	IDT/ABI	MGB	20	4
1	Snow et al., 2006	IDT/IDT	MBG	12,5	2
2	Snow et al., 2006	IDT/ABI	MGB	20	2
3	Snow et al., 2006	IDT/ABI	MGB	10	1
4	Snow et al., 2006	IDT/ROCHE	BHQ	10	1
5	Snow et al., 2006	IDT/ABI	MGB	12	3

ABI: Applied Biosystem (Life Technology); IDT: Integrated DNA technologies
MGB: Minor Groove Binder; LNA: Locked Nucleic Acids;

La tabla 25 indica que el kit de extracción más utilizado es el E.Z.N.A.® Total RNA Kit I de Omega Biotek, que, según datos obtenidos por nuestro laboratorio, es uno de los kits más eficientes en términos de calidad y precio.

Respecto a los kit de amplificación participaron 4 kit diferentes, predominando el kit SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System de Invitrogen junto al LightCycler 480 RNA Master Hydrolisis Probes

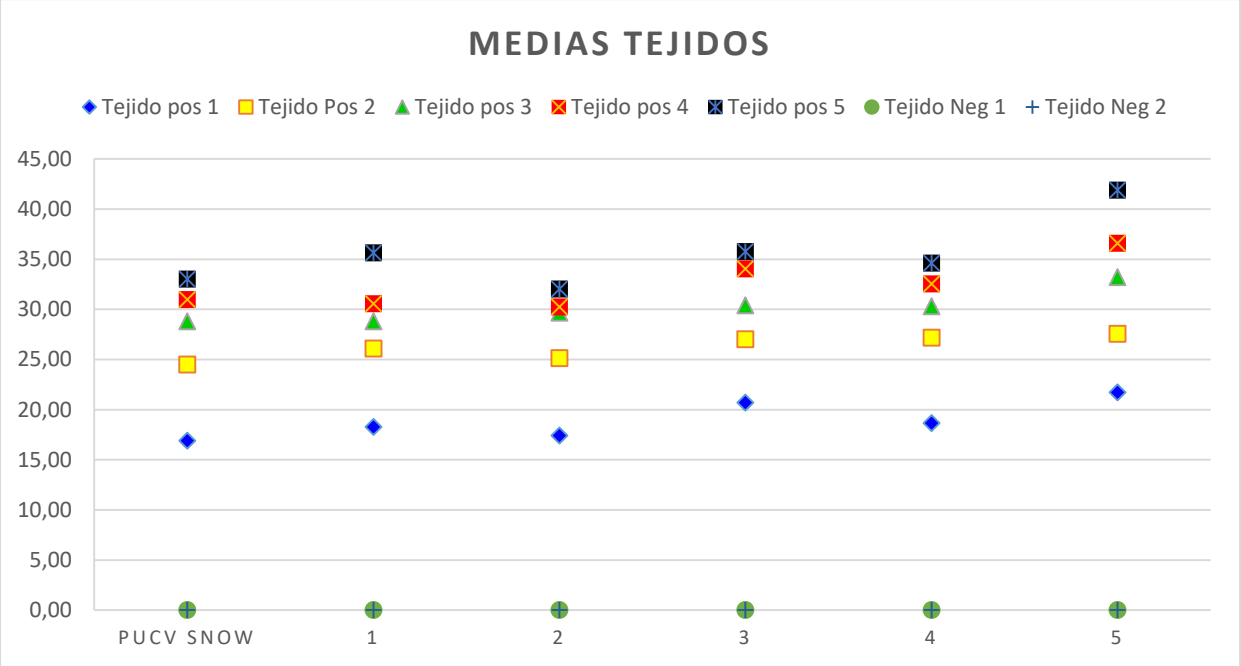
de ROCHE. En términos de equipos utilizados hay solo tres, con una mayor representación del Mx 3000P de Stratagene.

La tabla 26 indica que todos los laboratorios utilizan la técnica oficial para la detección de ISAV según lo publicado por Snow *et al.,* (2006). En cambio, para la detección del factor de elongación 1 alfa ningún laboratorio además del laboratorio de referencia utiliza la metodología publicada por Sepúlveda *et al.,* (2013) que amplía el rango de especies en las que puede ser utilizado el ensayo. Respecto a los volúmenes de muestras y volúmenes finales de reacción existe una marcada variación entre los laboratorios y, si bien cada uno de ellos cuenta con una validación de su método en el caso de volúmenes muy pequeños, ello podría constituir un factor de error por las limitantes es esas condiciones de las micropipetas utilizadas para generar el mix y agregar la muestra.

Validación de Muestras y Resultados.

El siguiente gráfico (23) muestran un resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras y concluye que la teoría de las diluciones se cumple, al obtener, todos los laboratorios, valores de Ct promedio más bajos en las muestras más concentradas, los que aumentan en la medida que la concentración de ISAV disminuye. Para el caso de las muestras negativas observamos que los resultados obtenidos en todos los casos son los esperados.

Gráfico Nº 23**.** Resumen de las medias de los resultados obtenidos por cada laboratorio para cada dilución de muestras de tejido. En el eje Y se indican los valores de Ct y en el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.



Del gráfico anterior se concluye que, en términos generales la producción de las muestras estuvo bien lograda, es decir: la preparación y evaluación de las muestras, el transporte y las condiciones de preservación, extracción y recuperación de ARN total, así como de la amplificación, interpretación, envío y análisis de resultados cumplieron su objetivo.

Los resultados reportados por cada laboratorio fueron promediados entre duplicados y tabulados para su análisis cualitativo y cuantitativo y se presentan en la Tabla 24.

Tabla Nº 26**.** Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante del ensayo según muestra de tejido y lote de amplificación.

Laboratorio	Tejido pos 1		Tejido Pos 2		Tejido pos 3		Tejido pos 4		Tejido pos 5		Tejido Neg 1		Tejido Neg 2	
Lote	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
PUCV Snow	16,93	16,86	24,37	24,63	27,98	29,59	30,34	31,58	32,22	33,79	-	-	-	-
1	18,17	18,37	26,94	25,22	29,45	28,17	31,24	29,86	36,09	35,15	-	-	-	-
2	17,46	17,35	25,19	25,06	29,18	30,12	29,96	30,53	32,20	31,85	-	-	-	-
3	20,92	20,45	27,64	26,41	31,16	29,63	34,36	33,74	35,86	35,67	-	-	-	-
4	18,53	18,75	27,89	26,46	30,78	29,81	32,35	32,74	34,59	34,62	-	-	-	-
5	20,48	22,98	26,92	28,18	32,03	34,36	36,41	36,79	-	-	-	-	-	-

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas.

Evaluación Cualitativa. Sensibilidad y Especificidad

Los resultados fueron analizados en relación a la sensibilidad y especificidad obtenida para cada laboratorio en base a lo expresado en el Manual Acuático de la OIE (2016), Capítulo 1.1.2. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas. La sensibilidad y especificidad se calcularon de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$Sensibilidad = \frac{VP}{VP + FN} * 100$$

$$Especificidad = \frac{VN}{VN + FP} * 100$$

Dónde:
VP: verdadero positivo
FN: falso negativo
VN: verdadero negativo
FP: falso positivo

Definiéndose la sensibilidad como la fracción de muestras positivas a ISAV y que efectivamente resultan positivas por las técnicas ensayadas y la especificidad como la fracción de las muestras que son negativas a ISAV y que dan un resultado negativo.

Los datos utilizados para realizar el cálculo de sensibilidad corresponden a las interpretaciones reportadas por cada laboratorio para cada muestra, por lote de análisis, sin tomar en cuenta el valor numérico del Ct.

En la Tabla 27 se presentan los datos ordenados por laboratorio y por lote de análisis y se destacan en amarillo las muestras que fueron interpretadas de manera diferente al resultado esperado. Respecto a ello vale mencionar que estos resultados tienen gran consistencia dentro de cada laboratorio repitiéndose en su mayoría entre los diferentes lotes de análisis.

Si se consideran los resultados esperados versus los obtenidos, la muestra de tejido positivo 5 es la única en la que podría darse una diferencia en interpretación aceptable, dado que es una muestra que se

encuentra con una carga viral muy pequeña y podría, dependiendo del Ct de corte de cada laboratorio, ser interpretada como negativa. Si consideramos lo anterior se podríamos indicar que en términos de sensibilidad para este ensayo el valor mínimo esperado es de 80% y en términos de especificidad debe ser el 100%.

Tabla Nº 27**.** Interpretación de resultados de cada laboratorio por muestra y segmentado por lote de análisis. Calculo de sensibilidad y especificidad por laboratorio. Destacado en amarillo los resultados obtenidos que son diferentes a los resultados esperados.

Laboratorio			PUCV	1	2	3	4	5
Lote	Muestra	Result. Esp.	Snow Int.	Int.	Int.	Int.	Int.	Int.
1	Tej Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 2	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 3	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 4	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 5	Pos*	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg
	Tej Neg 1	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Tej Neg 2	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
2	Tej Pos 1	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 2	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 3	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 4	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Tej Pos 5	Pos*	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Neg
	Tej Neg 1	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Tej Neg 2	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
VP		10	10	10	10	10	10	8
FP		0	0	0	0	0	0	0
VN		4	4	4	4	4	4	4
FN		0	0	0	0	0	0	2
Sensibilidad (%)		100%	100%	100%	100%	100%	100%	80%
Especificidad (%)		100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

***** Muestra con una carga viral baja y puede, dependiendo del Ct de corte del laboratorio, ser interpretada como negativa.

Tabla Nº 28. Cálculo de sensibilidad y especificidad de la técnica para el ensayo.

Laboratorio	Sensibilidad %	Especificidad %
PUCV Snow	100%	100%
1	100%	100%
2	100%	100%
3	100%	100%
4	100%	100%
5	80%	100%
Total	96,6%	100%

En la tabla 28 se muestra un resumen de la sensibilidad y especificidad de la técnica obtenida por cada laboratorio en el ensayo, y se calcula el promedio de dichos parámetros.

Evaluación Cuantitativa. Repetibilidad

Para el análisis cuantitativo del método se consideraron los valores de Ct reportados por los laboratorios para cada muestra y se calculó la media, desviación estándar y coeficiente de variación de los valores obtenidos considerando cada una de las diferentes diluciones de las distintas muestras de ISAV para cada laboratorio, lo que puede apreciarse en la tabla 29.

Tabla Nº 29**.** Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de ISAV mediante qRT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante en el ensayo, según muestra de tejido.

Laboratorio	Tejido pos 1			Tejido Pos 2			Tejido pos 3			Tejido pos 4			Tejido pos 5			Tejido Neg 1			Tejido Neg 2		
	X	SD	CV%	X	SD	CV%	X	SD	CV%	X	SD	CV%	X	SD	CV%	X	SD	CV%	X	SD	CV%
PUCV Snow	16,89	0,16	0,93%	24,50	0,20	0,84%	28,79	0,94	3,27%	30,96	0,78	2,51%	33,00	0,96	2,91%	-	-	-	-	-	-
1	18,27	0,31	1,71%	26,08	1,00	3,85%	28,81	0,82	2,86%	30,55	0,81	2,64%	35,62	0,70	1,97%	-	-	-	-	-	-
2	17,41	0,27	1,54%	25,13	0,12	0,47%	29,65	0,61	2,05%	30,25	0,48	1,57%	32,02	0,37	1,16%	-	-	-	-	-	-
3	20,68	0,34	1,62%	27,02	0,82	3,02%	30,39	0,89	2,94%	34,05	0,50	1,48%	35,76	0,69	1,94%	-	-	-	-	-	-
4	18,64	0,26	1,41%	27,17	1,14	4,20%	30,30	0,56	1,85%	32,55	0,25	0,77%	34,60	0,38	1,10%	-	-	-	-	-	-
5	21,73	1,47	6,78%	27,55	0,75	2,73%	33,19	1,49	4,49%	36,60	0,23	0,62%	41,88	0,53	1,27%	-	-	-	-	-	-

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas.

De la tabla anterior se infiere que los duplicados de cada muestra presentan un comportamiento esperado en términos de valores de Ct, si se toma en cuenta lo descrito en literatura para esta técnica “Entre réplicas de una misma muestra que presenta altas cargas del gen blanco los valores de desviación estándar aceptables son cercanos a 0,3 y estos aumentan en la medida que se acercan al límite de detección, lo que es inherente a la química TaqMan®“(Introducción a PCR en tiempo real, Llanos, 2006).

Las diferencias de valores de Ct obtenidos entre cada lote perteneciente a un mismo laboratorio se encuentran dentro de rangos aceptables (menos de un 10%). Lo anterior se puede apreciar mediante los valores de desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación (Tabla 29).

Finalmente, en una evaluación subjetiva, dado que no existen antecedentes bibliográficos disponibles, las diferencias de Ct observadas entre los diferentes laboratorios para la misma muestra se encuentran en rangos aceptables (banda de 5 Ct) para todos los laboratorios, si se considera que entre laboratorios se utilizan diferentes equipos, reactivos, volúmenes de reacción, etc.

Gráficos

En los gráficos siguientes (24 al 37) se puede apreciar claramente y por muestra lo indicado en el párrafo anterior, en donde se muestra en formato de líneas el valor promedio de Ct con su respectiva desviación estándar y en formato histograma los valores por cada lote y para cada laboratorio. Asimismo en los gráficos (24 al 37) puede observarse en formato de líneas el valor promedio de Ct con su respectiva desviación estándar obtenido por cada laboratorio para cada una de las muestras en el análisis del factor de elongación 1 alfa (ELF-1α), que si bien no está directamente relacionado con la capacidad de detectar ISAV, es un indicador que evalúa por un lado la eficiencia de recuperación de RNA total de una muestra y por otro el estado de degradación de RNA de una muestra, ya sea por el manejo pre o post- extracción.

En este caso además de lo anterior, tenemos que considerar que en la preparación de las muestras se utilizó una mezcla de tejidos de diferentes órganos de salmónidos, entre los cuales había un gran porcentaje de branquias que sabemos es un tejido cartilaginoso de difícil homogenización y bajo rendimiento en cuanto a ELF-1α. Asimismo no todo el tejido usado pertenecía a *Salmo salar*, lo que puede tener directa influencia en los resultados obtenidos en esta determinación ya que el ensayo que utiliza la mayoría de los laboratorios está dirigido solo a esta especie.

Gráfico Nº 24**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

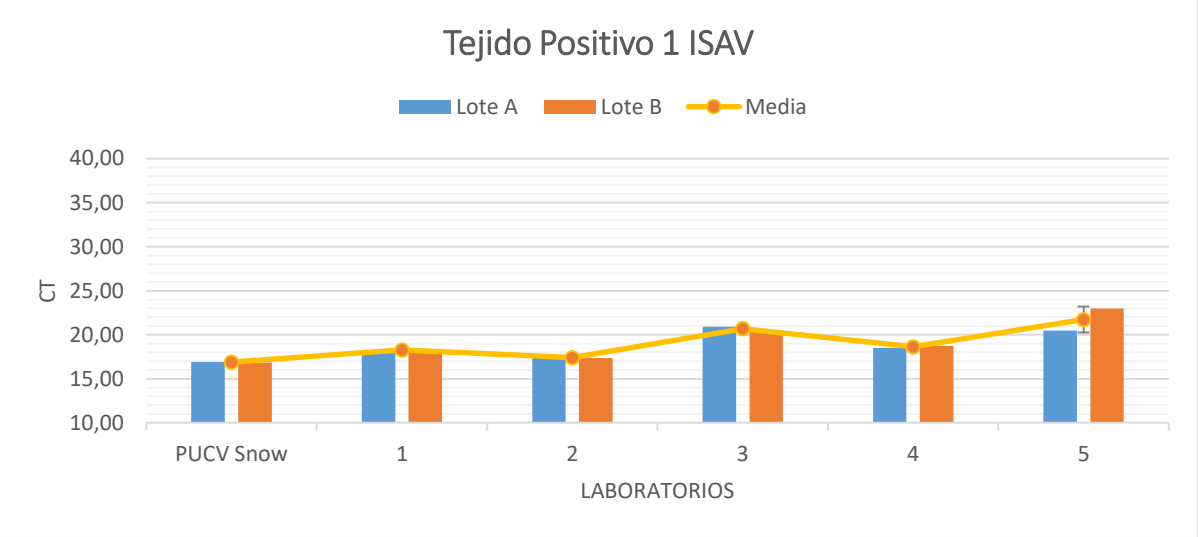


Gráfico Nº 25**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -1. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

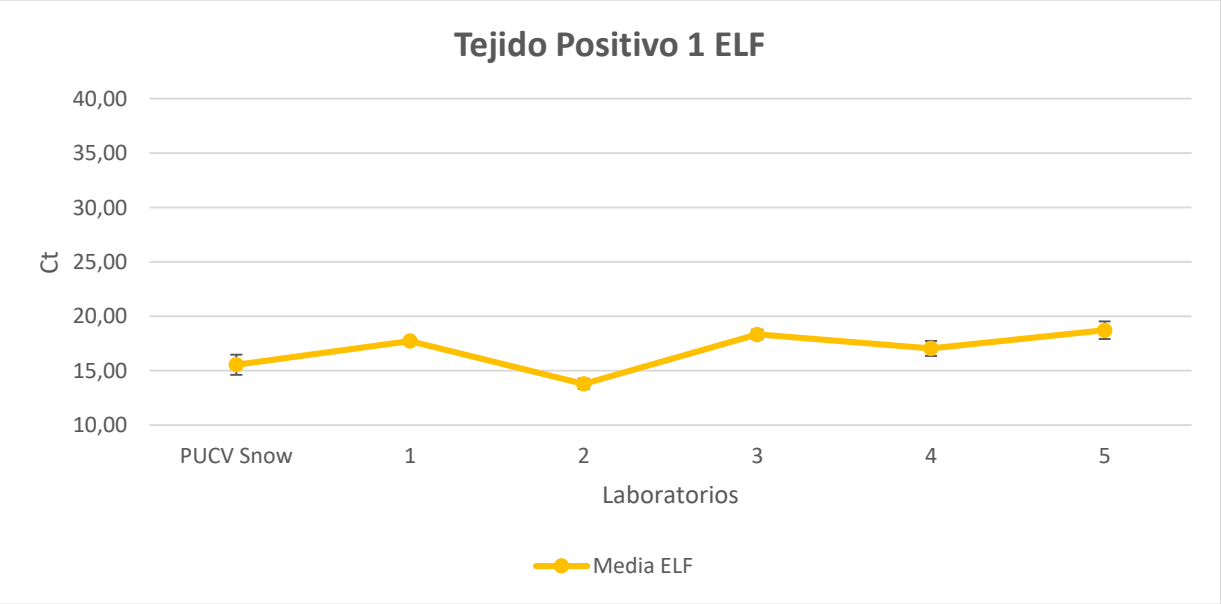


Gráfico Nº 26**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

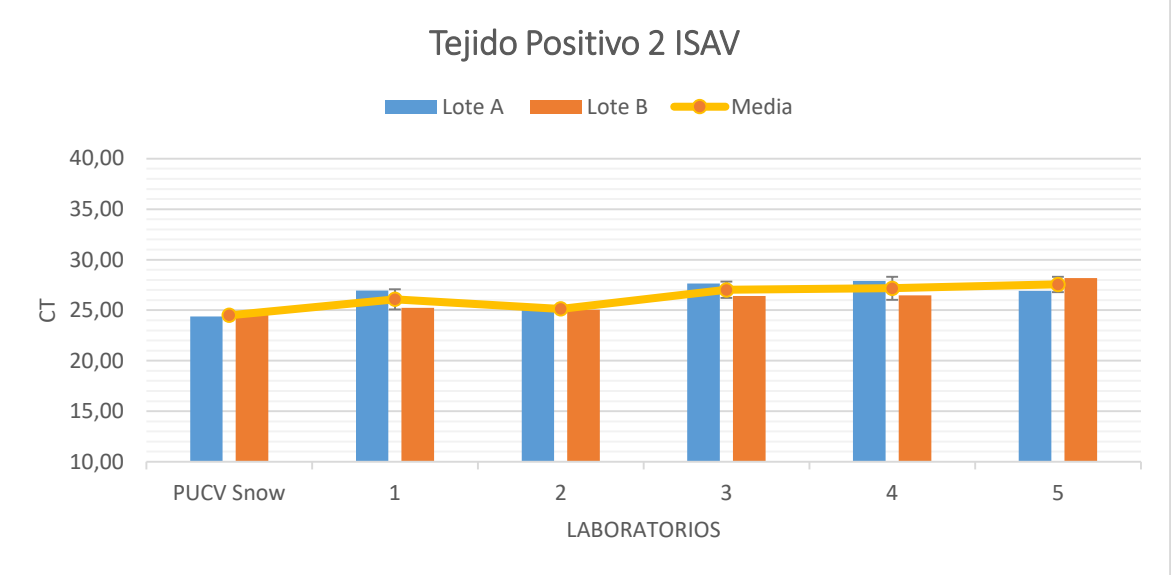


Gráfico Nº27**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -2. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

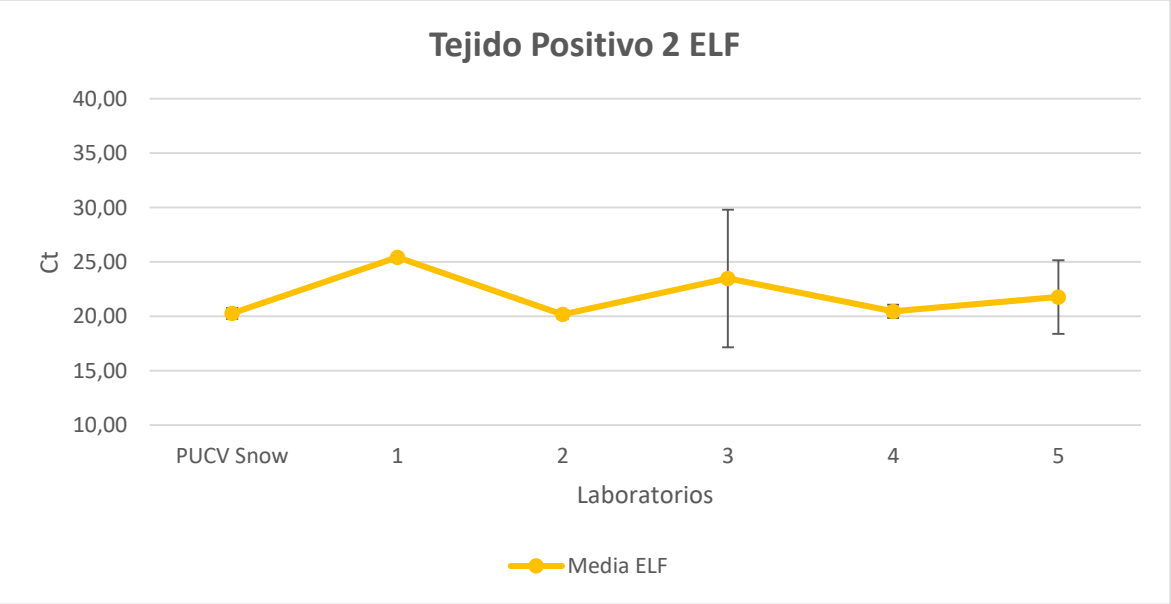


Gráfico Nº28**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

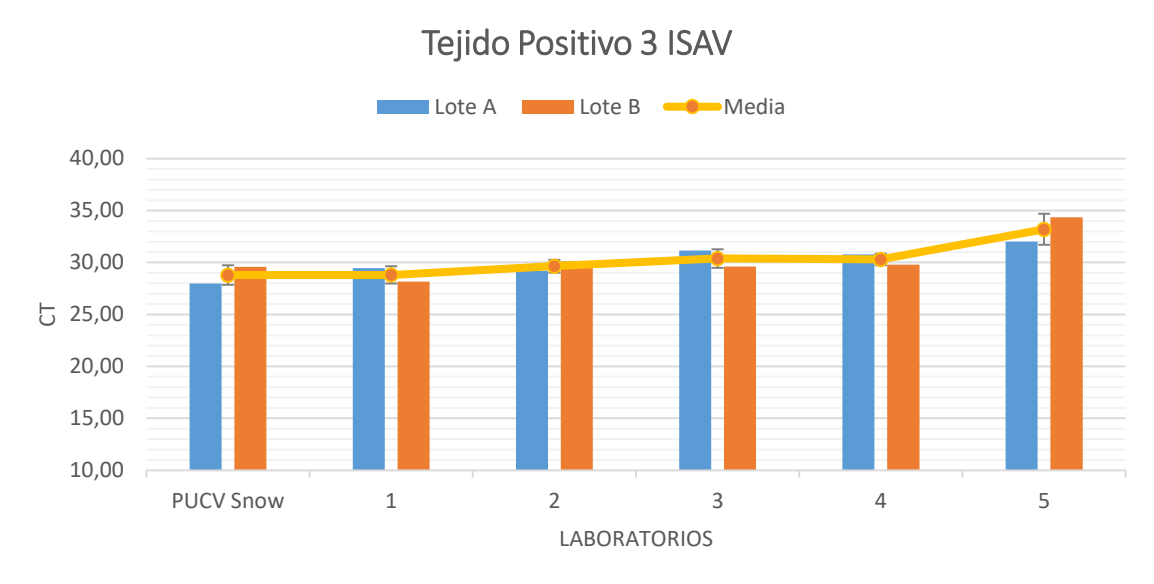


Gráfico Nº29**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -3. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

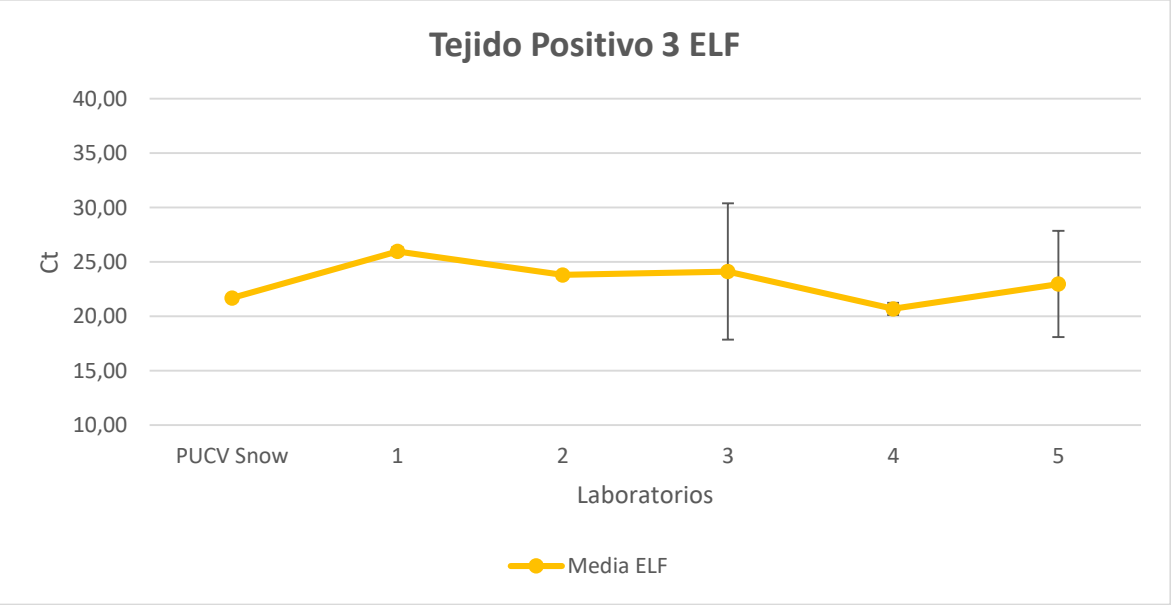


Gráfico Nº30**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla24.

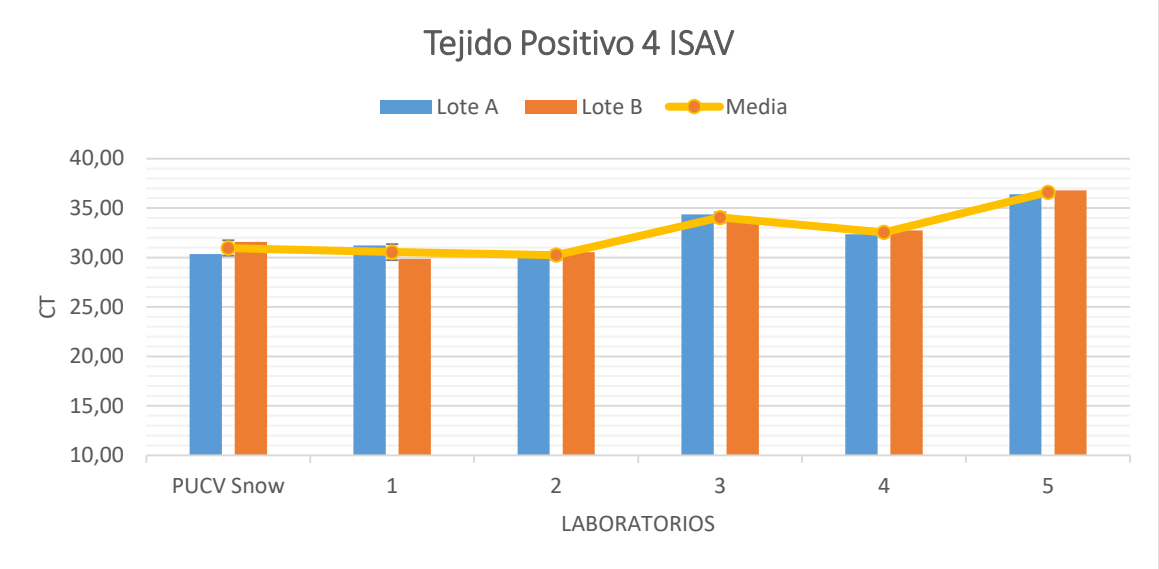


Gráfico Nº 31**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -4. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

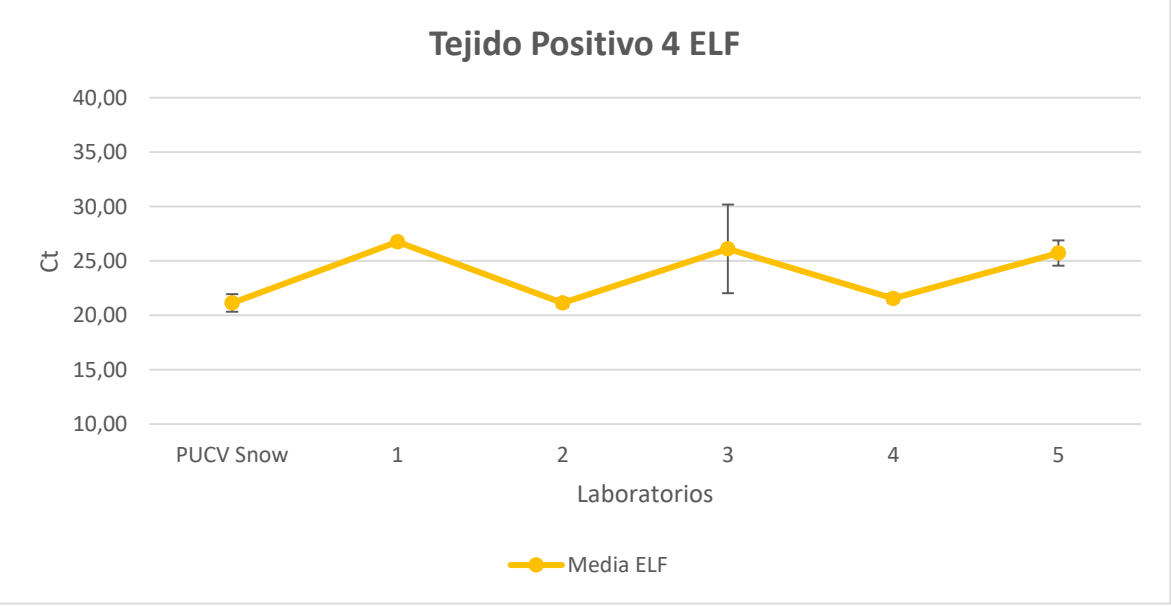


Gráfico Nº 32**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

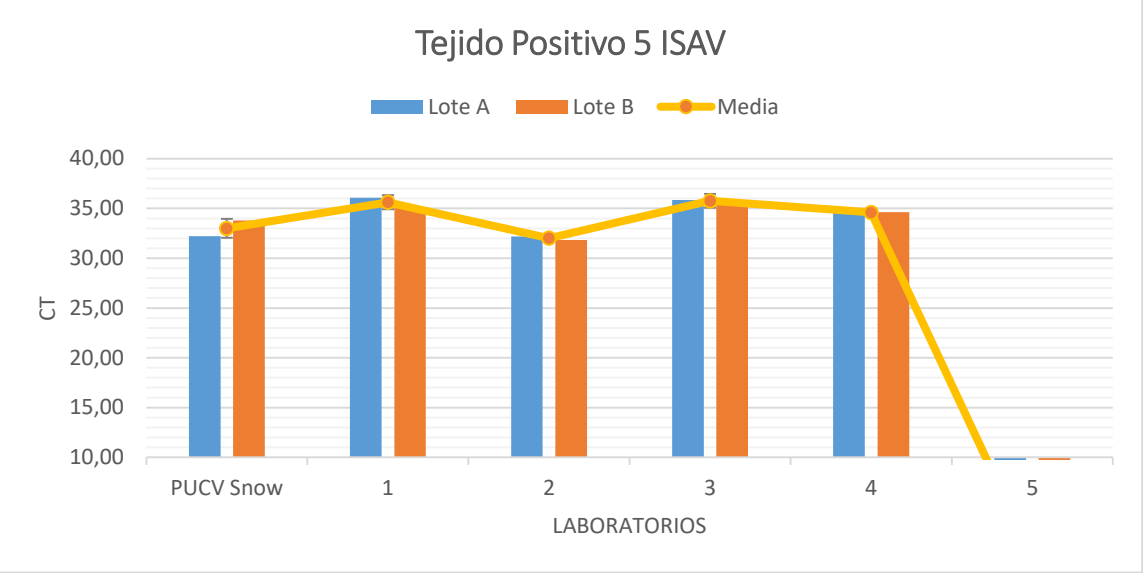


Gráfico Nº 33**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido positivo en su dilución -5. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

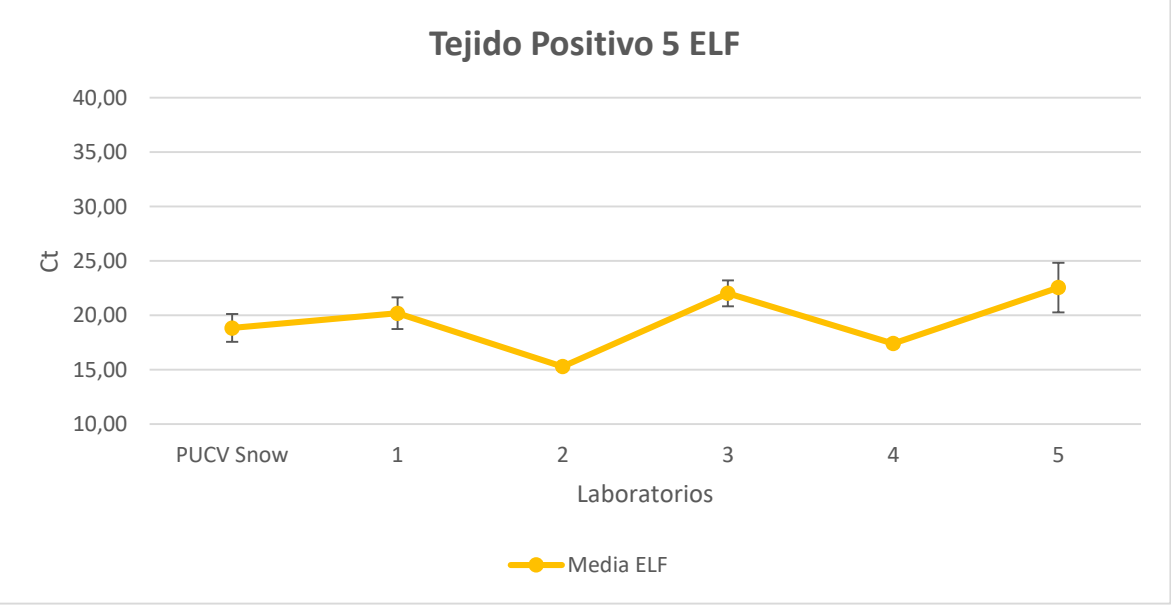


Gráfico Nº 34**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 1. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

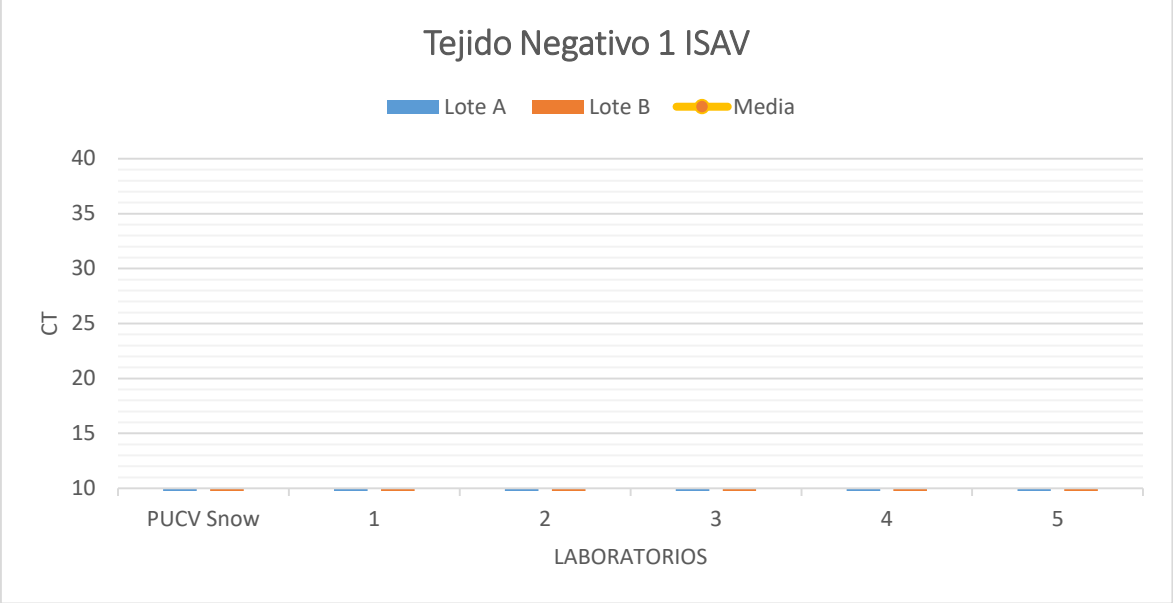


Gráfico Nº 35**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 1. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

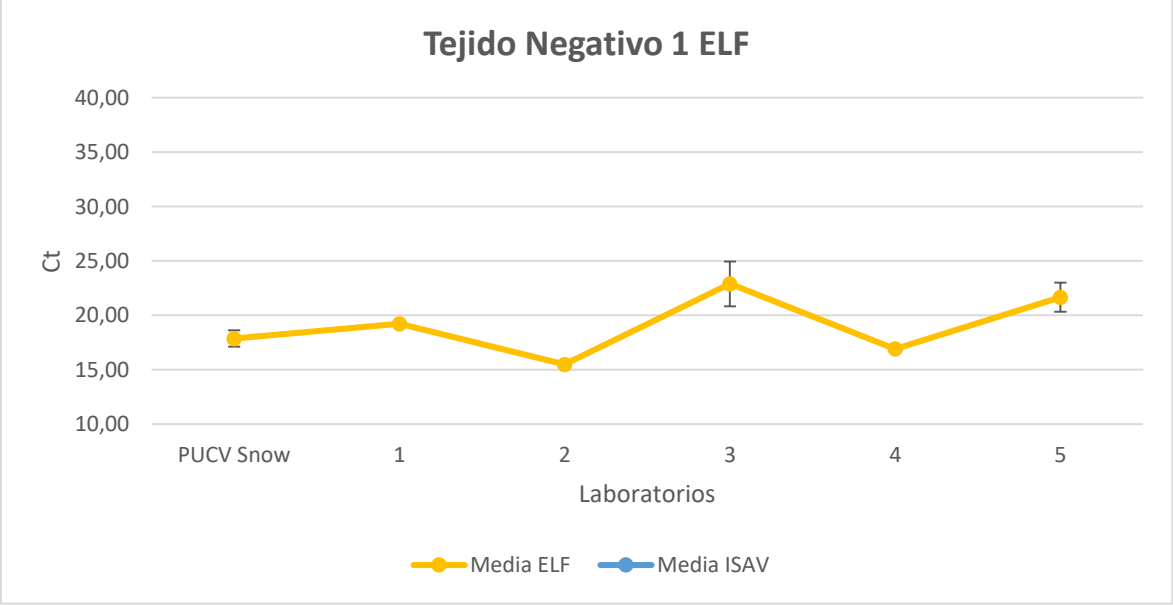


Gráfico Nº 36**.** Análisis de ISAV en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a *P. salmonis)*. En el eje Y mediante columnas se indican los valores de Ct por cada lote y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.

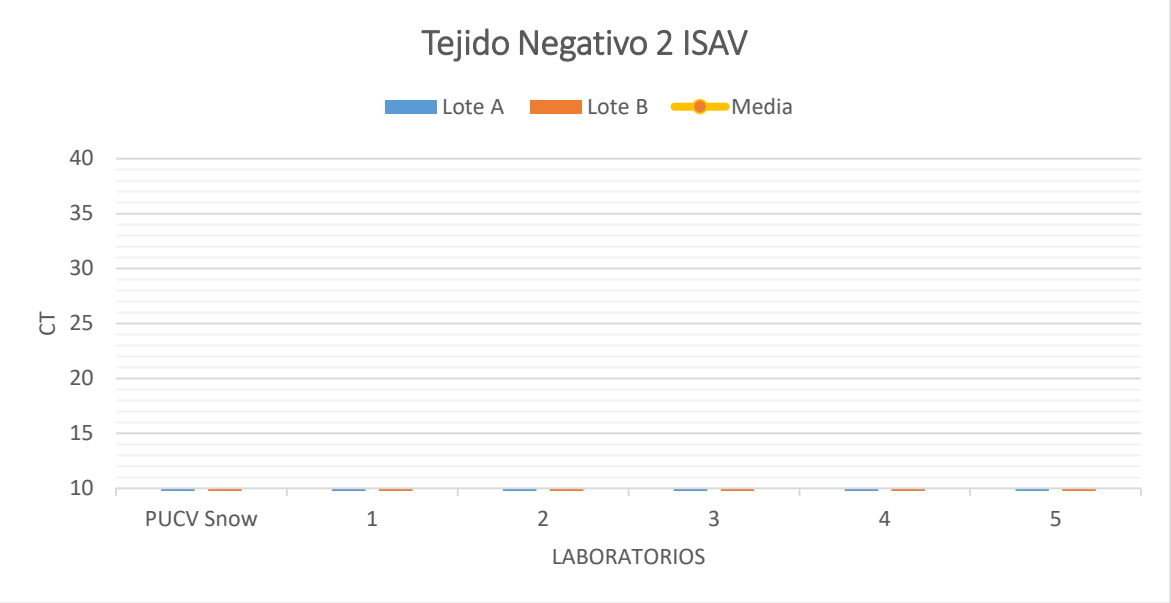
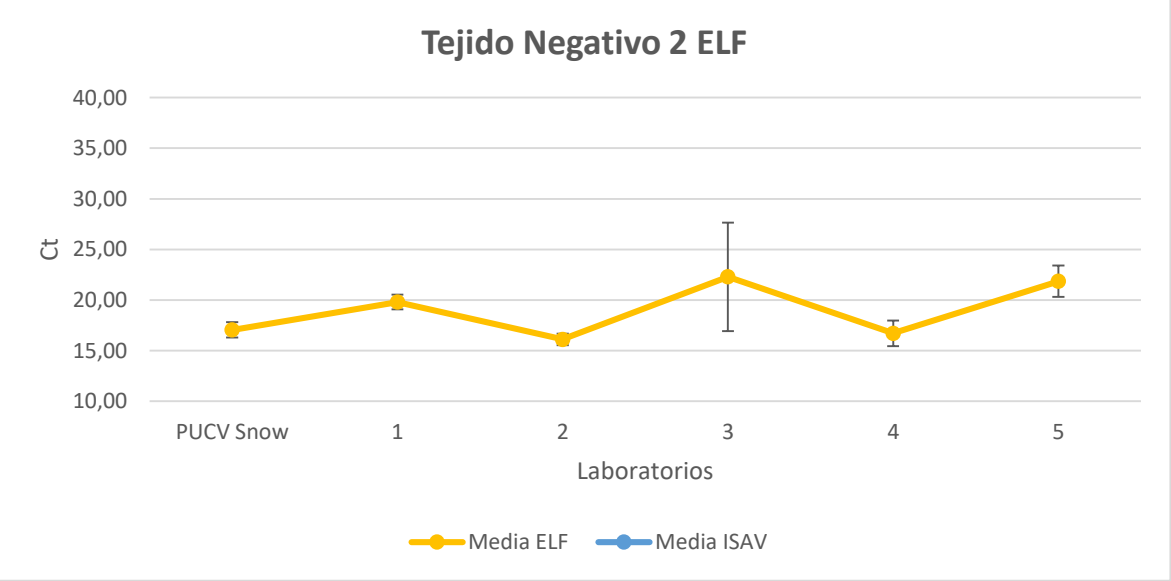


Gráfico Nº 37**.** Análisis de ELF-1α en la muestra correspondiente al tejido negativo 2 (negativo a ISAV y positivo a *P. salmonis)*. En el eje Y mediante una línea con marcadores el valor promedio de Ct para la muestra con su respectiva desviación estándar. En el eje X los laboratorios participantes codificados según tabla 24.



Conclusiones

La información de este ensayo fue codificada para cada laboratorio participante y los resultados no podrán ser utilizados, por estos o por terceros, para efectos de ranking u otra medición, tendiente a destacar unos laboratorios respecto de otros.

En general todos los laboratorios participantes tienen la capacidad de detectar ISAV en muestras de salmónidos, sin embargo, existen diferencias en términos de sensibilidad y repetibilidad en dicha detección que hace que algunos de los participantes cumplan de mejor manera que otros los parámetros impuestos por el ensayo.

Dado lo anterior, todos los laboratorios participantes aprueban el ensayo demostrando su capacidad para detectar en forma sensible, específica y repetible la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmon (ISAV) en muestras de tejidos de Salmónidos con diferentes cargas de infección, mediante el uso de la metodología de diagnóstico oficial.

Cabe mencionar que el laboratorio 5, si bien cumple con los parámetros del ensayo, se recomienda someter el método a revisión, con el objetivo de mejorar la sensibilidad obtenida en este ensayo.

Respecto a los resultados obtenidos en la detección del ELF-1α, que no tienen relación directa con la capacidad diagnóstica de los laboratorios, podemos concluir que se recomienda utilizar el ensayo de Sepúlveda *et al.,* 2012 ya que amplía el número de especies a las que puede ser aplicado.

Tabla Nº 30**.** Resumen de cumplimiento, por parte de cada participante, de parámetros impuestos por el ensayo.

N°	Sensibilidad	Especificidad	Repetibilidad		ELF-1α	Ensayo
			Dentro de Lotes	Entre Lotes	Tejido	
PUCV Snow	✓	✓	✓	✓	✓	✓
1	✓	✓	✓	✓	✓	✓
2	✓	✓	✓	✓	✓	✓
3	✓	✓	✓	✓	✓	✓
4	✓	✓	✓	✓	✓	✓
5	✓X	✓	✓	✓X	✓	✓

Etapa 2. Ring Test para la detección de ISAV HPR0

Actividades 1 y 2. Propuesta de Validación y Comparación Inter-laboratorio (Ring Test) del qRT-PCR Específico para la Variante HPR0 del ISAV

Objetivo.

Validar el o los ensayos de RT-PCR y qRT-PCR para la detección especifica de la variante HPR0 del virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISA), de manera que éstos proporcionen en forma consistente resultados positivos o negativos, prediciendo con exactitud la presencia o ausencia de la variante en cuestión del ISAV con un grado de certeza estadística.

Antecedentes.

Una prueba validada produce, de manera constante, resultados que identifican a las muestras como positivas o negativas para un analito determinado que, por inferencia, indican con exactitud el estado de infección del animal con un grado predeterminado de certeza estadística.

Cabe mencionar que para esta validación en particular se toma como punto de partida una muestra que se considera positiva al ISAV mediante la técnica de referencia (Snow *et al*., 2006), en la cual se intenta dilucidar si el virus detectado pertenece o no a la variante HPR0. Para tal efecto debe considerarse el sesgo que puede producir la coexistencia de más de una variante en la misma muestra (Cárdenas *et al*. 2014), dejando como única opción la comparación semi-cuantitativa de la presencia de un segmento genómico viral conservado (segmento 8) versus el otro variable (segmento 6).

Muestras.

Para dar cumplimiento a los objetivos de esta propuesta, no es posible utilizar una muestra de campo ni tampoco una cepa caracterizada cultivada en el laboratorio, debido principalmente a que, hasta hoy en día, es imposible replicar *in vitro* eficientemente la variante HPR0 del ISAV.

Para superar la dificultad anterior el GIM-PUCV propone amplificar y clonar fragmentos correspondientes al marco de lectura abierto (ORF's del inglés *Open reading frame*) de los segmentos genómicos virales usados para la detección y caracterización de las diferentes variantes del ISAV en torno al HPR, preservándolos, así como material de referencia. Dichos segmentos son el segmento 8 y el segmento 6 de algunas de las diferentes variantes virales prevalentes en Chile durante los últimos años (HPR0, HPR3, HPR7b, HPR8 y HPR14).

La amplificación, clonamiento de estos fragmentos será realizado tomando muestras seleccionadas y previamente caracterizadas por el GIM-PUCV, a partir de las cuales se amplificarán los ORF de los segmentos antes mencionados del virus. Para esto se realizará un método de extracción de RNA total utilizando el kit E.Z.N.A. Total RNA Kit I de la empresa Omega Bio-tek.

Una vez comprobada la presencia de ISAV en las muestras mediante qRT-PCR usando dos marcadores (Snow, 2006 y GIM) y además evaluada y cuantificada en forma relativa la presencia del factor de elongación 1 alfa se procederá a sintetizar el cDNA, utilizando para ello el kit SuperScrip® III reverse transcriptase de Invitrogen.

Posteriormente utilizando los cDNA como templado y mediante el uso de condiciones de PCR y partidores específicos para cada ORF de los segmentos genómicos del virus desarrollados y estandarizados en nuestro laboratorio y usando una enzima polimerasa de alta fidelidad para asegurar la óptima calidad de las secuencias se sintetizarán los diferentes productos de PCR.

Los productos de PCR correspondientes a cada ORF serán clonados en el vector pJET 1.2 de marca Thermo, con el cual se transformará la bacteria DH5α para asegurar la estabilidad de los productos por un tiempo indefinido, lo que además nos permitirá trabajar con secuencias únicas. Los clones apropiados serán seleccionados por colony pick PCR, y su DNA plasmidial purificado será secuenciado mediante el método convencional (Sanger) por ambos costados, para asegurar certeza

de las secuencias obtenidas. La secuenciación será realizada en la empresa Sud Koreana Macrogen. Los clones serán debidamente almacenados a -80ºC para su conservación y uso como referencia.

Cabe señalar que debido al alto riesgo de contaminación que significa trabajar con DNA plasmidial, estos serán utilizados como templados para realizar PCR's cuyo producto será el material a enviar para el ensayo de comparación inter-laboratorio.

De esta manera obtendremos los fragmentos de interés puros y cuantificados para así combinarlos entre sí en forma controlada para obtener muestras que nos permitirán finalmente validar la técnica en términos de especificidad.

Caracterización de muestras de referencia.

Una vez sintetizadas las muestras, se realizarán pruebas cruzadas en la detección de los dos blancos (segmentos 6 y 8) por separado y luego en combinación en diferentes proporciones, de tal manera de estandarizar la eficiencia de los partidores y sondas dirigidos a cada fragmento. Posteriormente se realizará una curva de calibrado para preparar muestras que contengan los dos segmentos en la misma proporción y en diferentes proporciones conocidas.

Ensayo de comparación inter-laboratorios.

Con las muestras de referencia ya caracterizadas se preparará un panel de muestras problemas con el cual se realizará una prueba de comparación inter-laboratorio que será capaz de evaluar la especificidad de cada ensayo, mediante la comparación entre los resultados de los distintos laboratorios participantes con el GIM-PUCV.

Resultados esperados.

1. Materia prima (clones) de los fragmentos de interés de los dos segmentos actualmente más utilizados para el diagnóstico y caracterización del ISAV.
2. Panel de muestras problemas que contengan los dos blancos de interés debidamente caracterizados y cuantificados.
3. Resultados de la validación y comparación inter-laboratorio de especificidad del ensayo.
4. Publicación con el desarrollo, validación de la técnica y, si es posible, los resultados del ensayo de comparación inter-laboratorio, el que será un input relevante para el PSEVC-ISAV.

Referencias.

1. Michelsen, B. K. (1995). Transformation of Escherichia coli Increases 260-Fold upon Inactivation of T4 DNA Ligase. *Analytical Biochemistry*, *225*(1), 172–174. http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1006/abio.1995.1130
2. Ojeda, N., Cárdenas, C., Guzmán, F., & Marshall, H. (2016). Chemical Synthesis and In Vitro Evaluation of a Phage Display- Derived Peptide Active against Infectious Salmon Anemia Virus, *82*(8), 2563–2571. http://doi.org/10.1128/AEM.00184-16.Editor
3. Sepúlveda, D., Bohle, H., Labra, A., Grothusen, H., & Marshall, S. H. (2013). Design and evaluation of a unique RT-qPCR assay for diagnostic quality control assessment that is applicable to pathogen detection in three species of salmonid fish. *BMC Veterinary Research*, *9*(1), 183. http://doi.org/10.1186/1746-6148-9-183
4. Snow M, McKay P, McBeath AJA, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham CO, Nylund A, Devold M: Development, application and validation of a taqman® real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus(ISAV) in atlantic salmon(Salmosalar). Dev Biol 2006, 126:133–145.

Actividad 3 y 4. Preparación y evaluación preliminar y definitiva de muestras

Como se mencionó en la actividad anterior se generaron clones de los segmentos virales 8 y 6, este ultimo de variantes que presentaron diferentes HPR, en resumen, se obtuvo: Un ORF de segmento 8 único que es compartido por todas las variantes virales y el cual incluye la región evaluada por la técnica de Snow y 5 OFR's de segmento 6, cada uno especifica para cada variante (HPR0, HPR3, HPR7b, HPR8 y HPR14).

Los anteriores fueron amplificados a partir de los plasmidos clonados para evitar el riego de trabajar con material plasmidial y los amplicones obtenidos en alta concentración fueron evaluados y cuantificados, obteniendo resultados positivos en todas las evaluaciones incluida la secuenciación (sanger). La cuantificación en el caso del ORF S8 arrojó valores superiores a $1x10^{14}$ y en el caso de los ORF S6 valores superiores a $1x10^{13}$.

Pasteriormente se procedió a diluir el material para llevar ambos amplicones a una proporción similar en una cantidad de $1x10^{8}$, sin embargo, al hacer las evaluaciones posteriores los resultados que se obtuvieon no fueron los esperados ya que los valores de Ct no resultaron ser similares como se esperaba. Dado lo anterior se reiptió el paso anterior en 5 oportunidades y volvió a evaluarse el material resultante, repitiéndose también la tónica de los resultados. Para solucionar el problema se hizo un análisis de causas probables, el cual indicaba que el principal motivo podría estar relacionada con la alta concentración (numero de copias) de las secuencias blanco y de acuerdo a esto se repitió el proceso haciendo mas diluciones de las muestras orginales, sin embargo, los resultados que obtivimos fueron desalentadores ya que se repetia la tónica de los resultados anteriores, haciendo imposible incluso encontrar alguna tendencia (graficos 38).

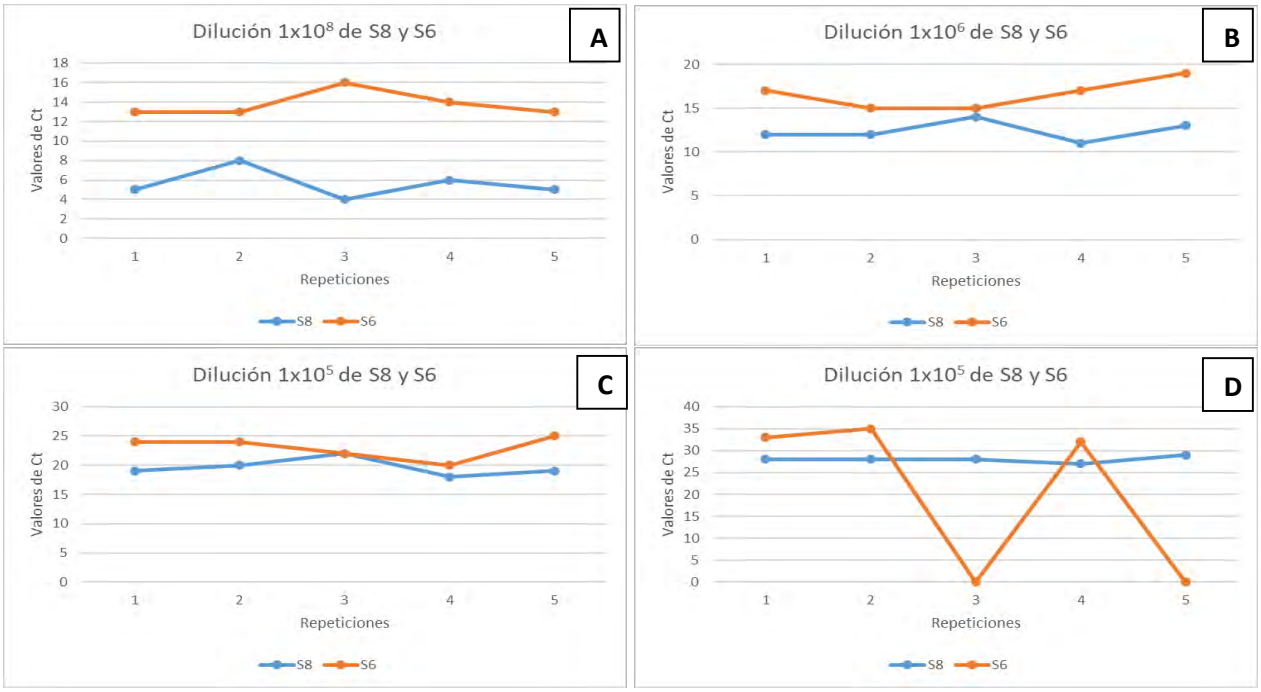


Grafico 38. Valores de Ct obtenidos para S8 y S6 de las multiples diluciones y evaluaciones realizadas.

Con estos resultados obtenidos, evaluamos nuevamente las acciones realizadas y notamos que las diluciones del material mezclado nisiquiera seguían un patrón de dilución 1:10 normal que es alrededor de 3 unidades de Ct y tomando en cuenta ello creemos que técnicamente la eficiencia que muestran los primers para cada reacción es diferente y por ende no se podrá obtener, de manera controlada, un valor similar entre un segmento y otro haciendo inviable la posibilidad de evaluar y validar el o los ensayos de RT-PCR y qRT-PCR para la detección especifica de la variante HPR0 del ISAV en los términos que se propusieron al inicio de este proyecto.

Para superar la situación anterior se propuso trabajar con ORF completos del segmento 8 y con amplicones mas pequeños del segmento 6, región HPR entre el nucleótido 836-1202 del virus ISA, tomando como referencia la secuencia de GenBank ID EU118820. Con esta modificación fuimos capaces de realizar el ensayo.

Actividad 5. Instructivo Para la Evaluación de Especificidad según punto 1.3.2 del procedimiento de validación del ensayo de qRT-PCR específico para virus ISA HPR0, descrito según LABD/NT 3 del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura.

Objetivo

El presente instructivo tiene por objeto instruir al laboratorio participante en la evaluación de la especificidad según punto 1.3.2 del procedimiento de validación del ensayo de qRT-PCR específico para virus ISA HPR0 de los pasos a seguir y tiempos a cumplir en dicho proceso de evaluación.

Este ensayo fue diseñado para evaluar la capacidad del laboratorio para discriminar específicamente entre una serie de muestras positivas a ISAv, cuales corresponden a la variante HPR0.

La información del este ensayo será codificada para los laboratorios participantes y los resultados no podrán ser utilizados, por estos Laboratorios o por terceros, para efectos de ranking u otra medición, tendiente a destacar unos laboratorios respecto de otros.

Descripción del Ensayo

La evaluación de la especificidad considera un total de 9 muestras ciegas, dichas muestras poseen una alta carga de un producto amplificado del OFR completo del segmento 8 y de la región HPR del segmento 6 entre el nucleótido 836-1202 del virus ISA, lo anterior tomando como referencia la secuencia de GenBank ID EU118820.

De estas 9 muestras, algunas corresponden a diferentes diluciones de la variante HPR0, para las cuales se esperan resultados positivos y otras corresponden a variantes distintas a HPR0, para las cuales se esperan resultados o interpretaciones negativas.

Procedimiento

El set de muestras problemas serán despachadas en tubos eppendorf de 1,5ml los que contendrán 40µL de muestra cada uno. Estos tubos estarán contenidos y ordenados en un rack de cartón, el cual as u vez estará contenido en una caja de polietileno con material refrigerante.

Cada tubo estará rotulado con un código de compuesto por una letra mayúscula y 1 o 2 números. Este código se utilizará para trazar la muestra con los resultados.

Cabe mencionar que las muestras serán acompañadas de una carta conductora, la que al ser recibida deberá ser completada con los datos solicitados firmada y enviada al GIM-PUCV (mediante correo electrónico alvaro.labra@pucv.cl).

Una vez recibidas las muestras deberá programarse la corrida, considerando que cada amplificación deberá ser realizada en duplicado para cada muestra y de la misma manera que se realiza el análisis rutinariamente a muestras de campo, con la excepción que no se deberá hacer el paso de extracción de RNA.

Es de suma importancia que se corra en paralelo el análisis específico para ISAV HPR0 (segmento 6) y el ensayo oficial Snow, 2006 (segmento 8).

Los kits, equipos, tiempos, temperaturas, partidores y sondas que se deben utilizar son las descritas en el informe de validación entregado el Sernapesca.

Envío de resultados e información general del procedimiento

Una vez obtenidos los resultados, estos deberán ser registrados en el formulario de resultados, el cual deberá ser completado y enviado (en formato Word o Excel) al correo electrónico alvaro.labra@pucv.cl. Cabe mencionar que, si para explicar la interpretación de algún resultado se considera necesario enviar información adicional a la solicitada como por ejemplo los gráficos de las curvas obtenidos, puede hacerse por esta misma vía, ya sea como archivo adjunto o a continuación del formulario de resultados.

Asimismo, la información general del procedimiento deberá ser enviada por la misma vía. Una vez recibidos estos documentos se confirmará su recepción.

Información General del Procedimiento.

12- Kit utilizado en el qRT-PCR (indicar Nombre/Marca):

13- Termociclador en tiempo real utilizado (indicar Modelo/Marca):

14- Alternativa de PCR utilizada (convencional, SybrGreen, Taqman u otra):

15- La secuencia de partidores y sondas (indicar bibliografía):

16- Número de ciclos en la corrida:

17- Valor de Ct de corte para el ensayo:
- Snow, 2006:
- Especifico HPR0:

18- En el caso de utilizar química Taqman la sonda utilizada posee MGB, LNA, otras o ninguna:

19- Marca de los partidores:

20- Marca de las sondas:

21- Volumen final de reacción (en µL)

22- Volumen de muestra usado en la reacción (en µL)

Formulario de resultados.

Nombre del Laboratorio:	
Nombre y correo de contacto:	
Fecha de recepción de muestras:	
Fecha y hora de análisis:	

Código de Muestra	**Segmento 6**			**Segmento 8**		
	CT 1	**CT 2**	**Int.***	**CT 1**	**CT 2**	**Int.***
Control Positivo						
Control Negativo						

* Int.: Interpretación de resultado (Positivo o Negativo).

Observaciones:

En este campo se debe agregar cualquier tipo de información que se considere relevante para la interpretación de los resultados y que no esté contenida en otras secciones de este formulario.

Actividad 6. Recepción y análisis de resultados

La recepción de los resultados de los análisis de los diferentes laboratorios se realizo sin contratiempos, en esta oportunidad el formulario para el registro de los resultados se envió en formato Word y se les solicitó a los laboratorios informarlos en este mismo formato o en formato Excel, lo que sin dudas facilito el traspaso de información y disminuyo de manera importante el numero de horas hombre necesarias.

Resultados Etapa 2. Informe "Ensayo de Comparación Inter-laboratorio para Evaluar el Ensayo de RT-PCR en Tiempo Real Específico para Virus ISA HPR0"

Introducción

El Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura designó al Laboratorio de Patógenos Acuícolas, perteneciente al Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (GIM-PUCV) como Laboratorio de referencia para el virus ISA (RES.EX. Nº1448 de 06.06.2011). Asimismo, la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) confirmo este nombramiento y reconoció dicho laboratorio como Referencia Mundial OIE para el ISAV.

Entre las funciones delegadas a éste en el marco de la referencia se encuentra la evaluación técnica y continua de la red de laboratorios de diagnóstico registrada por Sernapesca mediante rondas de comparación interlaboratorio y procesos de auditoría técnica.

Dado lo anterior y tomando en cuenta la importancia que tiene para la acuicultura nacional y el Programa Sanitario Especifico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmón (PSEVC-ISA) el actual sistema de diagnóstico y diferenciación de variantes utilizado para el ISAV basado en un PCR de tiempo real según lo publicado por Snow *et al*., en el año 2006 acoplado a un RT-qPCR específico para la región HPR del virus presente en el sexto segmento genómico viral, es que se diseñó y desarrolló este ensayo.

Sin duda, el tener un sistema nacional de intercomparación permitirá su ejecución periódica, como tambíen es un primer paso en la posibilidad de evaluar ensayos de RT-PCR en tiempo real orientados a la detección de otros patógenos que afectan la acuicultura nacional.

Objetivo

Las muestras fueron preparadas en el Laboratorio de Diagnóstico de Patógenos Acuícolas y enviadas para la ejecución del ensayo de qRT-PCR específico para virus ISA HPR0.

Este ensayo fue diseñado para evaluar la capacidad del laboratorio para discriminar específicamente entre una serie de muestras positivas a ISAV, cuales corresponden a la variante HPR0.

La información del este ensayo será codificada para cada laboratorio participante y los resultados no podrán ser utilizados, por este Laboratorio o por terceros, para efectos de ranking u otra medición, tendiente a destacar unos laboratorios respecto de otros.

Materiales y Métodos

Descripción del Ensayo

La evaluación de la especificidad consideró un total de 9 muestras ciegas, dichas muestras poseen una alta carga de un producto amplificado del OFR completo del segmento 8 y además incluyen la región HPR del segmento 6 entre el nucleótido 836-1202 del virus ISA, lo anterior tomando como referencia la secuencia de GenBank ID EU118820.

De las 9 muestras que conformaban el ensayo, 2 corresponden a diluciones de la variante HPR0, para las cuales se esperan resultados positivos al qRT-PCR de ISAV (Seg 8) y positivos al RT-qPCR específico para virus ISA HPR0 (Seg 6) y 6 muestras corresponden a variantes distintas a HPR0, para las cuales se esperan resultados positivos al RT-qPCR ISAV (Seg 8) y negativos al qRT-PCR específico para virus ISA HPR0 (Seg 6) y finalmente 1 muestra es agua (blanco), para la que se esperan todos los resultados negativos.

En el laboratorio PUCV se realizó un análisis al panel de muestras una vez que este fue preparado y en forma previa a su preservación para el envío y los resultados obtenidos se muestran en la tabla 1.

Tabla 31. Resultados obtenidos por el Laboratorio PUCV en el análisis de las muestras en forma previa a su envío.

Muestra	Región HPR segmento 6 (específico HPR 0)			Segmento 8 (Snow)			Interpretación
	Ct 1	Ct 2	Int.	Ct 1	Ct 2	Int.	
Hpr14	No Ct	No Ct	Neg	16,84	16,80	Pos	ISAV(+) HPR0(-)
Hpr8	No Ct	No Ct	Neg	21,84	22,74	Pos	ISAV(+) HPR0(-)
Hpr7	No Ct	No Ct	Neg	22,61	20,62	Pos	ISAV(+) HPR0(-)
Hpr5	No Ct	No Ct	Neg	20,67	20,61	Pos	ISAV(+) HPR0(-)
Hpr3	No Ct	No Ct	Neg	19,77	19,66	Pos	ISAV(+) HPR0(-)
Hpr2	No Ct	No Ct	Neg	25,30	25,35	Pos	ISAV(+) HPR0(-)
Hpr0-1	20,74	20,77	Pos	20,16	20,24	Pos	ISAV(+) HPR0(+)
Hpr0-2	25,36	25,39	Pos	24,92	25,12	Pos	ISAV(+) HPR0(+)
CP	27,45	27,66	Pos	27,46	27,07	Pos	ISAV(+) HPR0(+)
Blanco	No Ct	No Ct	Neg	No Ct	No Ct	Neg	ISAV(-) HPR0(-)

Los resultados obtenidos son los esperados para el tipo de muestras que se analizó y nos permiten aseverar lo siguiente:

1. **Región HPR segmento 6 (específico HPR 0).** Los resultados obtenidos indican que muestras pertenecen a la variante HPR0 y cuáles no. Debe considerarse que para la interpretación de dicho análisis el protocolo de nuestro laboratorio indica que se debe comparar el valor de Ct obtenido para este ensayo y el valor obtenido para el respectivo segmento 8 de la muestra, además debe considerarse la forma de la curva (figura 5).

2. **Segmento 8 (Snow).** Los resultados obtenidos nos indican que las muestras además de presentar segmento 6 presentan segmento 8 y en cantidades comparables, lo que hace posible y más real la detección de las variante HPR0.

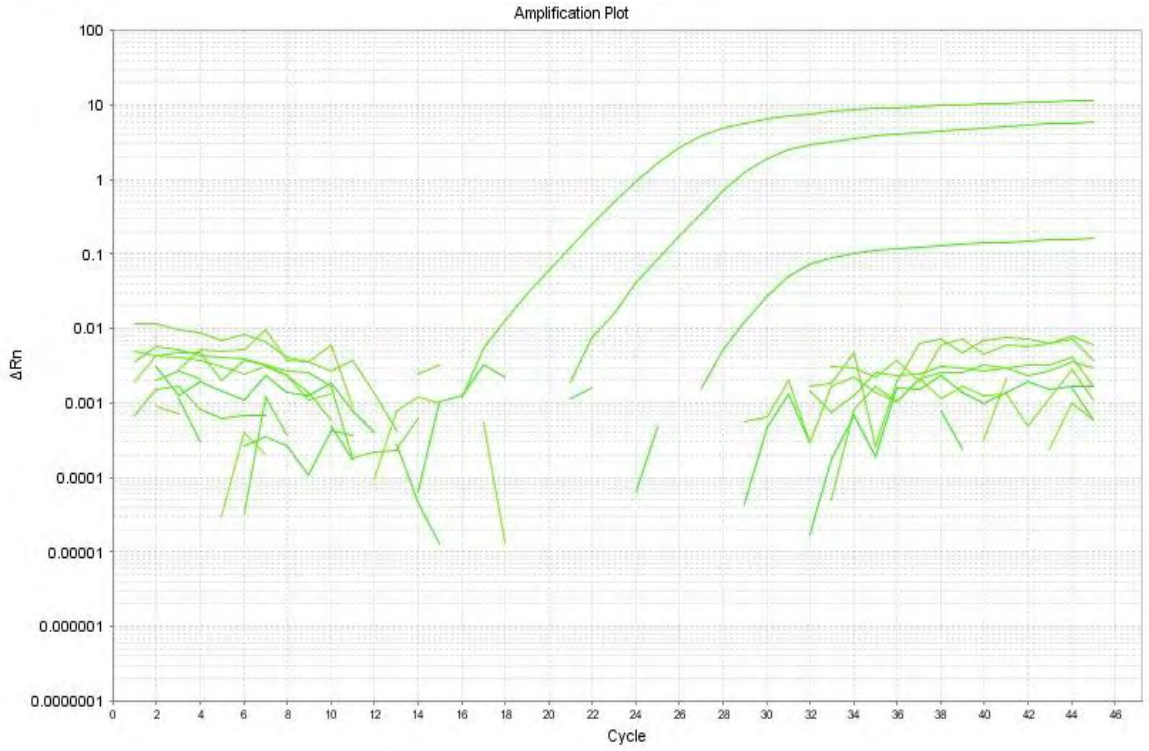


Figura 5. Curvas de amplificación para las diluciones de la muestra HPR0, obtenidas por el laboratorio PUCV con su ensayo qRT-PCR específico para HPR0

Procedimiento

El set de muestras problemas fue despachado en criotubos de 2 mL los que contenían 20 µL de muestra cada uno. Estos tubos estaban contenidos y ordenados en un rack de cartón, el cual a su vez estaba contenido en una caja de polietileno con material refrigerante.

Cada tubo fue rotulado con un código compuesto por una letra mayúscula y 3 números, los que fueron usados para la trazabilidad de la muestra y el resultado (tabla 32).

Cabe mencionar que las muestras se acompañaron de una carta conductora, la cual fue recibida, completada con los datos solicitados firmada y devuelta al GIM-PUCV mediante correo electrónico.

Tabla 32. Codificación de muestras enviadas.

Muestra	Lab	Código	Muestra	Lab	Código	Muestra	Lab	Código
HPR0-1	1	ISAV A051	HPR0-2	1	ISAV D040	Blanco (agua)	1	ISAV C028
	2	ISAV E043		2	ISAV C108		2	ISAV B101
	3	ISAV D094		3	ISAV B069		3	ISAV A059
	4	ISAV C075		4	ISAV A019		4	ISAV E032
	5	ISAV B083		5	ISAV E056		5	ISAV D080
	6	ISAV A125		6	ISAV D023		6	ISAV C050
	7	ISAV E086		7	ISAV C106		7	ISAV B072
	8	ISAV D121		8	ISAV B068		8	ISAV A018
	9	ISAV C061		9	ISAV A119		9	ISAV E095
	10	ISAV B092		10	ISAV E004		10	ISAV D099
	11	ISAV A015		11	ISAV D082		11	ISAV C085
	12	ISAV E110		12	ISAV C067		12	ISAV B064
	13	ISAV D084		13	ISAV B036		13	ISAV A001
	14	ISAV C020		14	ISAV A126		14	ISAV E014
	15	ISAV B118		15	ISAV E103		15	ISAV D088
HPR14	1	ISAV B017	HPR2	1	ISAV B055	HPR3	1	ISAV A120
	2	ISAV A089		2	ISAV A008		2	ISAV E029
	3	ISAV E065		3	ISAV E104		3	ISAV D077
	4	ISAV D102		4	ISAV D112		4	ISAV C073
	5	ISAV C038		5	ISAV C123		5	ISAV B113
	6	ISAV B041		6	ISAV B127		6	ISAV A096
	7	ISAV A027		7	ISAV A026		7	ISAV E016
	8	ISAV E031		8	ISAV E105		8	ISAV D132
	9	ISAV D071		9	ISAV D010		9	ISAV C115
	10	ISAV C066		10	ISAV C081		10	ISAV B006
	11	ISAV B042		11	ISAV B011		11	ISAV A078
	12	ISAV A048		12	ISAV A091		12	ISAV E013
	13	ISAV E058		13	ISAV E135		13	ISAV D134
	14	ISAV D009		14	ISAV D044		14	ISAV C003
	15	ISAV C057		15	ISAV C047		15	ISAV B024
HPR5	1	ISAV E030	HPR7	1	ISAV D049	HPR8	1	ISAV C107
	2	ISAV D052		2	ISAV C039		2	ISAV B114
	3	ISAV C063		3	ISAV B133		3	ISAV A053
	4	ISAV B097		4	ISAV A079		4	ISAV E062
	5	ISAV A034		5	ISAV E093		5	ISAV D111
	6	ISAV E124		6	ISAV D090		6	ISAV C109
	7	ISAV D007		7	ISAV C122		7	ISAV B022
	8	ISAV C045		8	ISAV B025		8	ISAV A060
	9	ISAV B117		9	ISAV A128		9	ISAV E131
	10	ISAV A054		10	ISAV E012		10	ISAV D046
	11	ISAV E129		11	ISAV D005		11	ISAV C002
	12	ISAV D033		12	ISAV C037		12	ISAV B098
	13	ISAV C074		13	ISAV B076		13	ISAV A116
	14	ISAV B035		14	ISAV A100		14	ISAV E087
	15	ISAV A070		15	ISAV E021		15	ISAV D130

Las amplificaciones fueron realizadas en duplicado para cada muestra y de la misma manera que se realiza el análisis rutinariamente a muestras de campo, con la excepción que no se realizó el paso de extracción de RNA.

Además, se corrió en paralelo el análisis específico para ISAV HPR0 (segmento 6) y el ensayo oficial para ISAV según Snow *et al.*, 2006 (segmento 8).

Los kits, equipos, tiempos, temperaturas, partidores y sondas utilizados fueron las descritas en el informe de validación de cada laboratorio, el que se encuentra debidamente reportado a el Sernapesca.

Envío de resultados e información general del procedimiento

Una vez obtenidos los resultados, estos fueron registrados en el formulario correspondiente, el cual una vez completo fue enviado por correo electrónico.

Cabe mencionar que a todos los laboratorios participantes se les informó que, si para explicar la interpretación de algún resultado era necesario enviar información adicional a la solicitada en los formularios enviados como por ejemplo los gráficos de las curvas obtenidos, podría hacerse por esta misma vía, ya sea como archivo adjunto o a continuación del formulario de resultados.

Asimismo, la información general del procedimiento fue enviada por la misma vía. Una vez recibidos los documentos se confirmó su recepción.

Resultados y Discusión

Dado que los resultados generados por este ensayo son de carácter confidencial entre la autoridad sectorial, el laboratorio de referencia y cada uno de los laboratorios participantes, la información será codificada, entregando a cada laboratorio su código correspondiente.

La tabla 33 nos indica el código asignado a cada laboratorio para este ensayo, el cual también se utilizará para presentar los resultados. Asimismo, nos muestra el método y la química utilizada.

Cabe mencionar que el laboratorio 13 participo del ensayo utilizando dos técnicas, por lo que los resultados se presentan diferenciando estos con las letras a y b según corresponda.

Tabla 33. Laboratorios participantes con su respectivo código asignado, método y química utilizada.

Código de laboratorio	Laboratorio	Método	Tipo de PCR
1		Propio	TaqMan
2		Propio	TaqMan
3		Propio	TaqMan
4		Propio	TaqMan
5		Propio	TaqMan
6		Propio	TaqMan
7		Propio	TaqMan
10		Antares	TaqMan
11		Antares	TaqMan
12		Markussen, 2013.	TaqMan
13a		Antares	TaqMan
13b		Propio	SybrGreen
14	PUCV	Propio	TaqMan

En la tabla 34 se indica información general relacionada con los protocolos utilizados por cada laboratorio, (kits de amplificación, equipos de PCR en tiempo real, valores de Ct de cortes, número de ciclos de amplificación para la detección especifica de ISAV HPR0.

Tabla 34. Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección especifica de ISAV HPR0 mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan® y/o SybrGreen.

Laboratorio	Kit Amplificación	Equipo	N° Ciclos	Ct corte
1	AgPath-ID One Step RT-PCR Kit / Applied Biosystems	StepOne Plus / Applied Biosystems	45	35,0
2	SuperScript® III Platinum®, One-Step qRT-PCR System	Stratagene Mx3000P	45	35,0
3	SuperScript® III Platinum®, One-Step qRT-PCR System	LC480 II/ Roche	45	35,0
4	SuperScript® III Platinum®, One-Step qRT-PCR System	Stratagene Mx3000P	45	36,60
5	SuperScript® III Platinum®, One-Step qRT-PCR System	Stratagene Mx3000P	45	38,74
6	SuperScript® III Platinum®, One-Step qRT-PCR System	Stratagene Mx3000P	45	36,60
7	Express Superscript/Express qPCR Super Mix	StepOne Plus / Applied Biosystems	45	45
10	SuperScript® III Platinum®, One-Step qRT-PCR System	LC480 II/ Roche	45	36,16
11	Light Cycler 480 RNA Master Hydrolysis - Roche	LC480 II/ Roche	45	36,33
12	TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix / Thermofisher	StepOne Plus / Applied Biosystems	45	36
13a	Brilliant III Ultra-Fast qRT-PCR master mix/Agilent	Stratagene Mx3000P	45	34,75
13b	Brilliant II Sybr Green QRT-PCR Master Mix 1-Step	Stratagene Mx3000P	45	34,75
14	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	StepOne Plus / Applied Biosystems	45	35,5

La tabla 34 indica que utilizan 7 kit de amplificación diferentes, predominando el kit SuperScript III Platinum, One-Step qRT-PCR System de Invitrogen. En términos de equipos utilizados hay solo tres, con una mayor representación del Mx 3000P de Stratagene.

Los resultados obtenidos fueron tabulados para su análisis, para el cual se consideró la interpretación entregada por cada laboratorio para cada muestra y para cada segmento específico (Seg8 y Seg6).

Respecto al laboratorio 13b se consideran las temperaturas de melting en conjunto con la imagen del producto amplificado corrido en un gel de agarosa al 2% y su comparación con estándares de

HPR7 y HPR0. Para el caso del laboratorio PUCV se adjuntan imágenes de los gráficos obtenidos en su ensayo.

Figura 6. Curvas de amplificación para las diluciones de la muestra HPR0, obtenidas por el laboratorio de Patógenos Acuícolas con su ensayo qRT-PCR específico para HPR0.

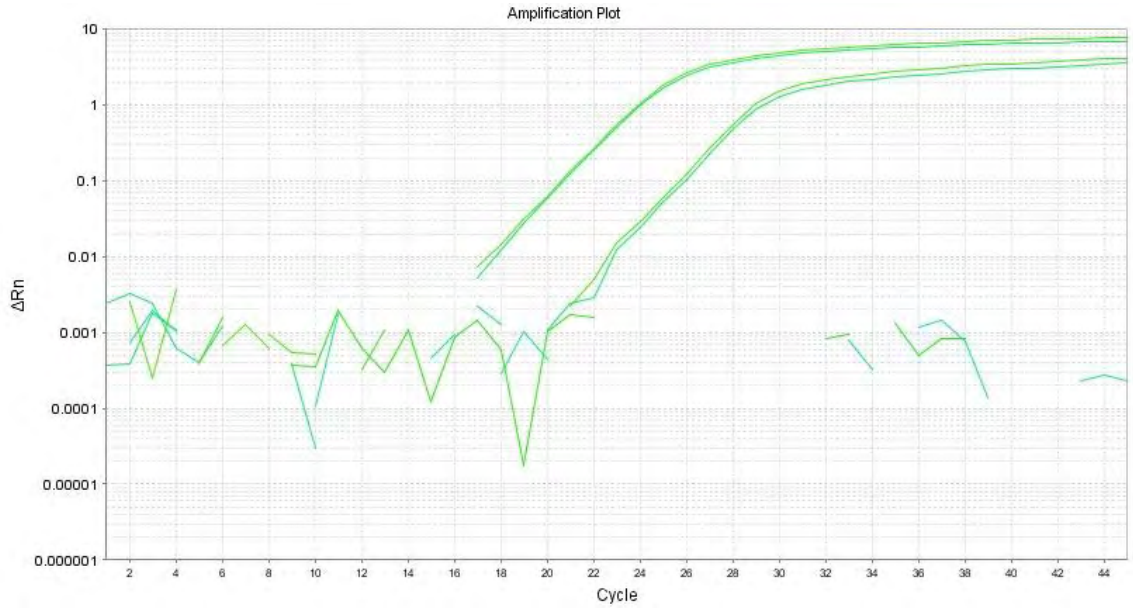


Figura 7. Curvas de amplificación para las diferentes variantes analizadas (HPR14, HPR8, HPR7, HPR5, HPR3, HPR2 y HPR0), obtenidas por el laboratorio de Patógenos Acuícolas con su ensayo qRT-PCR específico para HPR0.

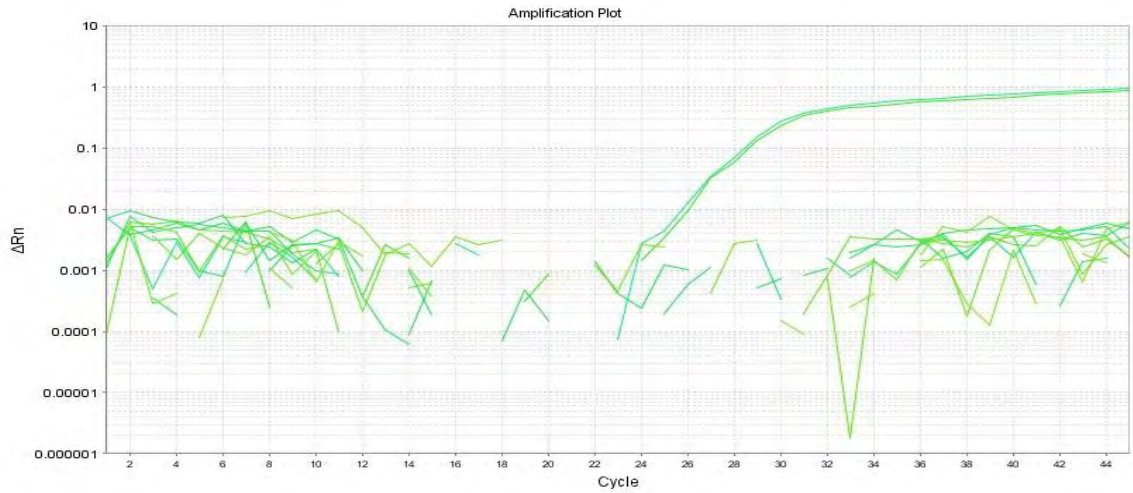
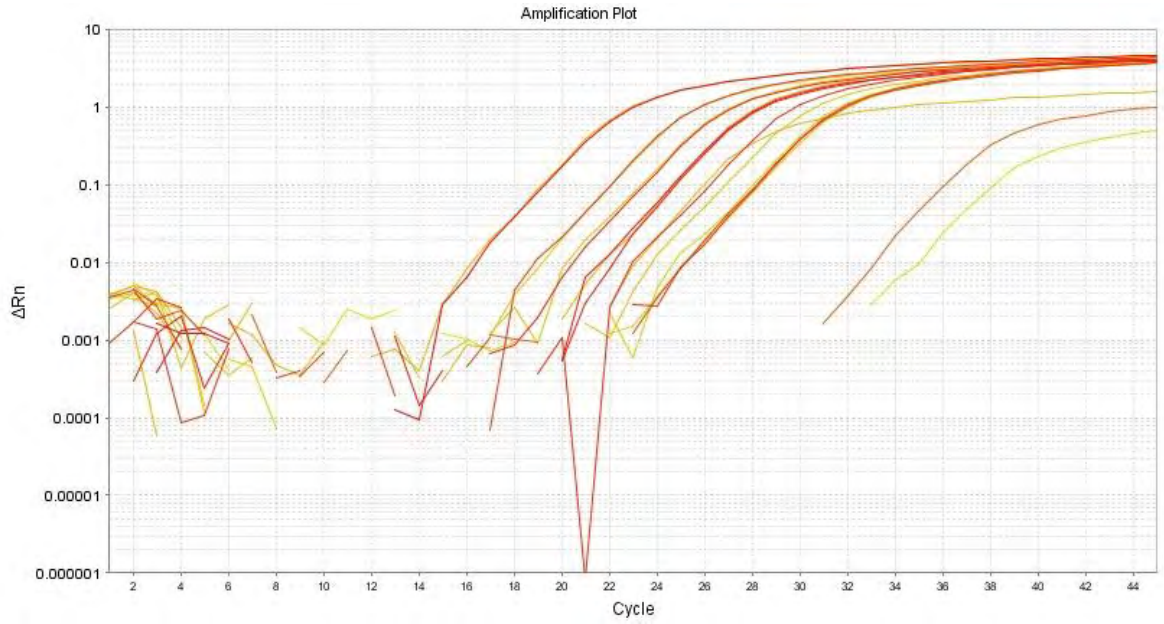


Figura 8. Curvas de amplificación para todas las muestras enviadas, obtenidas por el laboratorio de Patógenos Acuícolas con su ensayo qRT-PCR específico para una región conservada del Segmento 8 (Snow et al., 2006).



De análisis de los resultados presentados en la tabla 5 es importante mencionar que, si bien 3 laboratorios (1, 2 y 3) en 5 oportunidades y 1 laboratorio (4) en una oportunidad presentan amplificación del segmento 6 con valores de Ct dentro del rango de análisis positivos, estos al tomar en cuenta la relación entre el valor del Ct del segmento 8 y el valor del Ct del segmento 6 interpretan correctamente el resultado de la muestra.

Lo anterior permite indicar que todos los laboratorios con todos sus ensayos obtienen un 100% de sensibilidad y un 100% de especificidad.

Cabe mencionar que la muestra con agua libre de nucleasas (blanco) obtuvo en todos los laboratorios los resultados negativos a ambos análisis tal y como se esperaba.

Tabla 35. Valores de Ct promedio, para la detección de ISAV (seg6 y seg8) mediante RT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante en el ensayo de comparación inter-laboratorio, según muestra.

Muestra	HPR14		HPR8		HPR7b		HPR5		HPR3		HPR2		HPR0-1		HPR0-2		Blanco	
Lab\Seg	S8	S6	S8	S6	S8	S6	S8	S6	S8	S6	S8	S6	S8	S6	S8	S6	S8	S6
1	19,82	35,86	24,33	34,44	23,85	34,03	22,98	34,44	26,91	No Ct	27,80	32,83	21,62	21,29	27,69	26,59	No Ct	No Ct
2	20,79	34,19	26,38	33,63	26,13	33,28	24,78	37,87	28,36	No Ct	29,21	32,79	22,19	20,80	28,68	26,30	No Ct	No Ct
3	19,21	35,04	24,64	34,25	24,54	34,24	22,80	34,79	27,76	No Ct	27,54	34,82	20,89	22,25	27,08	27,42	No Ct	No Ct
4	18,90	No Ct	24,26	No Ct	24,19	No Ct	23,06	No Ct	26,25	No Ct	27,63	35,61	21,60	23,10	27,54	28,16	No Ct	No Ct
5	20,82	No Ct	25,35	No Ct	25,52	No Ct	24,20	No Ct	27,11	No Ct	28,88	No Ct	23,48	24,47	27,96	29,76	No Ct	No Ct
6	20,13	No Ct	25,24	No Ct	25,34	No Ct	24,05	No Ct	26,57	No Ct	29,23	No Ct	22,86	22,98	29,03	28,23	No Ct	No Ct
7	17,84	No Ct	23,89	No Ct	23,66	No Ct	22,47	No Ct	26,28	No Ct	26,91	No Ct	20,67	20,56	27,55	25,65	No Ct	No Ct
10	22,34	No Ct	27,28	No Ct	28,24	No Ct	26,59	No Ct	30,16	No Ct	31,30	No Ct	23,09	20,13	29,26	25,00	No Ct	No Ct
11	18,44	No Ct	24,20	No Ct	23,70	No Ct	22,32	No Ct	25,49	No Ct	27,97	No Ct	21,86	20,85	27,13	26,04	No Ct	No Ct
12	19,66	No Ct	25,08	No Ct	24,88	No Ct	23,89	No Ct	27,52	No Ct	28,82	No Ct	22,95	23,24	28,51	26,92	No Ct	No Ct
13a	20,36	No Ct	25,35	No Ct	25,36	No Ct	23,82	No Ct	26,41	No Ct	29,10	No Ct	22,38	23,47	28,69	28,32	No Ct	No Ct
13b	TM 79,25	25,17	TM 78,28 TM 79,33	29,87	TM 77,77	26,20	TM 79,21	26,72	TM 78,23	27,15	TM 78,26	23,84	TM 79,21	30,01	TM 79,21	34,51	-	No Ct
14	17,44	No Ct	23,04	No Ct	22,96	No Ct	21,50	No Ct	24,61	No Ct	26,46	No Ct	20,32	20,74	26,19	25,89	No Ct	No Ct

En color rojo se presentan los valores de Ct cuya interpretación es positiva, en azul los que fueron interpretadas como positivas pero debido a la diferencia entre los valores obtenidos entre el Seg 8 y Seg 6 la muestra es interpretada como negativa para ISAV HPR0 y en negro las muestras que no obtuvieron Ct y fueron interpretadas como negativas. En el caso del laboratorio 13b se indica la temperatura de melting (TM).

Conclusiones

Los resultados reportados demuestran que todos los métodos evaluados para la detección específica de la variante HPR0 del virus ISA, cumplen su objetivo, lo que se fundamenta en el hecho que se interpretan e informan como positivas las muestras correspondientes a la variante HPR0 en sus dos diluciones y como negativas el resto de las muestras que no corresponden a la variante HPR0, lo que indica que no existe reacción cruzada entre dicha variante y el resto de las variantes enviadas y en los casos excepcionales que se presenta, el mismo ensayo da la posibilidad de diferenciarlas si se toma en cuenta la relación entre el segmento 8 y el segmento 6.

Asimismo, podemos mencionar que los valores de desviación estándar entre los duplicados se encuentran dentro de un rango esperable para esta técnica (Introducción a PCR en tiempo real, Llanos, 2006).

Cabe señalar, que, si bien los valores de Ct pueden utilizarse como un indicador, estos no son comparables entre diferentes laboratorios, debido a los distintos procedimientos, kits y equipos utilizados.

Etapa 3. Ring Test para la detección de *Piscirickettsia salmonis.*

Actividades 1 y 2 Propuesta Ring Test para la detección de *Piscirickettsia salmonis.*

Introducción

Piscirickettsia salmonis (P. salmonis) es un agente patógeno de alta agresividad que constituye una amenaza constante para la sustentabilidad de la salmonicultura nacional. Sin embargo, en la actualidad no existe un procedimiento único y estandarizado para su diagnóstico, lo que dificulta significativamente el establecer comparaciones respecto al impacto que el agente tiene en los diferentes centros de cultivo nacionales. En consecuencia, el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura designó al Laboratorio de Patógenos Acuícolas como Laboratorio Nacional de Referencia para *Piscirickettsia salmonis* (RES.EX. Nº1448 de 06.06.2011) y le encomendó dentro de sus tareas la organización y evaluación de rondas de comparación inter-laboratorios (Ring Test) para la detección de *Piscirickettsia salmonis* y de esta manera poder generar un método estandarizado y validado de diagnóstico.

Sin duda, el tener un sistema nacional de comparación inter-laboratorios permitirá su ejecución periódica, como también es un primer paso en la posibilidad de evaluar ensayos de RT-PCR en tiempo real orientados a la detección de otros patógenos que afectan la acuicultura nacional.

Objetivo

Determinar la capacidad de los laboratorios registrados por Sernapesca para detectar en forma específica la presencia de material genético (ARN/ADN) de *Piscirickettsia salmonis* en muestras con diferentes concentraciones de dos cepas de la bacteria, mediante el uso de metodologías basadas en variantes de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Materiales y Métodos

Antecedentes previos

Como resultado de una encuesta realizada a los laboratorios pertenecientes a la red, en un proyecto previo a este, se recopiló información básica sobre las técnicas de diagnóstico actualmente en uso para la detección de *P. salmonis* y se concluyó lo siguiente:

1. Las metodologías usadas incluyen principalmente técnicas basadas en diferentes modalidades de la PCR y de microscopía de inmunofluorescencia.
2. La técnica de inmunofluorescencia es aplicada de manera similar por los laboratorios y se basa en el uso de un kit comercial llamado SRS Fluorotest® el cual es comercializado por el GrupoBios.
3. Las técnicas de PCR presentan variaciones importantes en cuanto a sus modalidades ya que algunos laboratorios utilizan PCR convencional y otros la modalidad de tiempo real. Adicionalmente, dentro de esta última además se utilizan diferentes químicas tales como TaqMan y SYBR green y también hay diferencias en cuanto a los equipos utilizados para la detección, lo que también se traduce en softwares diferentes para calcular el umbral y el análisis final de los resultados.
4. También se observan diferencias en los kits usados para la preparación de la reacción de PCR y principalmente existen diferencias en los partidores usados por cada laboratorio.

Lo anterior sumado a la diversidad genética que presentan las distintas variantes de *P. salmonis* aisladas en Chile y la gran versatilidad de su genoma hacen imperiosa la necesidad de comparar los diferentes tipos de PCR utilizados para el diagnóstico de este patógeno y de esta manera evaluar la capacidad de detección que presenta cada laboratorio independiente de la técnica que utilice.

Considerando lo anterior se diseñó la siguiente matriz para el ensayo:

Muestras	Descripción
Cepa LF-89	Concentración 1
Cepa LF-89	Concentración 2
Cepa LF-89	Concentración 3
Cepa EM-90	Concentración 1
Cepa EM-90	Concentración 2

Cepa EM-90	Concentración 3
Control Negativo 1	Mezcla de bacterias marinas
Control Negativo 2	Medio de cultivo sin infectar

Se propone que por intermedio de Sernapesca se envíe una invitación formal a todos los laboratorios registrados por el Servicio para participar de este ensayo, indicando las instrucciones de participación, los costos asociados y los tiempos de ejecución.

Preparación y evaluación de muestras

Se seleccionarán desde el Cepario Nacional de *P. salmonis* dos aislados, uno tipo LF-89 y otro tipo EM-90. Con la primera de ellas se infectarán células SHK-1 medio L-15, las que se incubarán a 18°C durante 7 días y la segunda se multiplicará en medio BM3 libre de células durante 48 horas según las indicaciones de (Henriquez *et al*., 2013).

Las muestras serán evaluadas mediante PCR de tiempo real (Taqman y Sybrgreen) para determinar la presencia de *P. salmonis*. Posteriormente se realizarán diluciones correspondientes con medio L15 y BM3, las que se evaluarán en repetidas oportunidades hasta obtener los valores buscados.

Posteriormente las muestras serán distribuidas y codificadas en 3 lotes de 8 muestras cada uno, una muestra positiva a LF-89 con una alta carga con un valor inicial de Ct de ±17 y 2 diluciones de esta muestra con valores iniciales de Cts de ±22 y 26, una muestra positiva a EM-90 con una alta carga con un valor inicial de Ct de ±21 y 2 diluciones de esta muestra con valores iniciales de Cts de ±27 y 31, más 1 control negativo que corresponde a medio de cultivo BM3 sin infectar y una muestra con una mezcla de bacterias marinas tales como *Vibrio alginolyticus* y *Listonella anguillarum* (mix).

Cada uno de los laboratorios participantes recibirá por correo electrónico las instrucciones necesarias para desarrollar el *ring test*, las cuales incluíran los formatos de reporte de resultados y una encuesta para evaluar el procedimiento. Con posterioridad a esto se despacharán las muestras en contenedores isotérmicos con material refrigerante, cada uno de estos contenedores llevará 24 muestras de referencia ciegas, codificadas y además una carta conductora que indicará que muestras se deben analizar diariamente.

Análisis de resultados

Los resultados serán analizados en relación a la sensibilidad y especificidad obtenida para cada Laboratorio, en base a lo expresado en el Manual Acuático de la OIE (2013), Capítulo 1.1.2. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas. La sensibilidad y especificidad se calcularán de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$Sensibilidad = \frac{VP}{VP + FN} * 100$$

$$Especificidad = \frac{VN}{VN + FP} * 100$$

Dónde:

VP: verdadero positivo
FN: falso negativo
VN: verdadero negativo
FP: falso positivo

Definiéndose la sensibilidad como la fracción de muestras positivas a *P. salmonis* y que efectivamente resultan positivas por las técnicas ensayadas y la especificidad como la fracción de las muestras que son negativas a *P. salmonis* y que dan un resultado negativo. Los datos que se utilizarán para realizar estos cálculos corresponderán a las interpretaciones entregadas por cada laboratorio para cada muestra, por día.

La repetibilidad se evaluará para la técnica de RT-PCR en tiempo real, en relación a la dispersión que caracterize a los resultados en base a los valores de Ct para las muestras positivas. Se tomará en cuenta la distribución de los datos en torno a la media, utilizando los estadísticos, desviación estándar, coeficiente de variación.

Actividad 3 y 4. Evaluación preliminar y definitiva de muestras.

Tanto para realizar estas actividades como para realizar el ensayo de comparación inter-laboratorios (ring test) el GIM-PUCV definió utilizar 2 metodologías para comprobar la presencia/ausencia del patógeno en cuestión en las muestras del ensayo. Estas metodologías serán dos tipos de RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR), todos ellos dirigidos al ITS (Internal transcribed spacer) (Marshall *et al.*, 1998), uno de ellos con química taqman y el otro con SYBR-Green.

Para todos los ensayos, se realizará una extracción de RNA comun, usando 200 µL de cada muestra con el kit E.Z.N.A.™ Total RNA Kit I (OMEGA bio-tek), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La concentración y pureza del RNA total extraído se determinará por la medición de la razón de la absorbancia a 260 nm sobre 280 nm usando un espectrofotómetro (MaestroNano, Maestrogen).

Las reacciones de PCR tiempo real SYBR-Green serán realizadas con el kit Brilliant III Ultra-Fast SYBRH Green QPCR Master Mix 1X (Agilent Technologies), 300 nM de cada partidor y 1 µl de muestra. La reacción será efectuada en un equipo CFX96 Real Time PCR System (Biorad), utilizando las siguientes condiciones: denaturación inicial 95°C/3 minutos, seguido por 40 ciclos de 95°C/5 segundos, 51°C/5 segundos, 60°C/15 segundos. Siguiendo con el proceso las muestras serán calentadas desde 65 a 95°C en incrementos de 0,5°C, manteniendo durante 5 segundos cada temperatura mientras se monitorea de forma continua la fluorescencia, finalmente se realizará un análisis de la curva de melting para determinar la especificidad de cada reacción y la ausencia de dimeros de partidores u otros productos no específicos.

Las reacciones de qPCR en tiempo real con sonda taqman serán realizadas con el kit SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System, Invitrogen™, en un equipo StepOne Plus, Applied Biosystems®, utilizando las siguientes condiciones: transcripción reversa 50°C/15 minutos, denaturación inicial 95°/2 minutos, seguido de 45 ciclos de 95°C/15 segundos, 55°C/15 segundos y 60°C/30 segundos, midiendo la fluorescencia en este último paso.

Cada muestra analizada mediante qPCR será ensayada en duplicado. Adicionalmente se utilizarán en cada corrida dos controles positivos de amplificación y 3 controles negativos o blancos, los

primeros con la finalidad de descartar fallas del procedimiento y los segundos para descartar algún tipo de contaminación.

Los análisis serán llevados a cabo luego de la preparación de las muestras, para confirmar su procesamiento y estado, y posteriormente en dos ocasiones, una los mismos días en que se realice el Ring Test en paralelo con el resto de laboratorios de la Red y una vez recibido los resultados se analizará nuevamente habiendo mantenido durante 48 horas las muestras a temperatura ambiente. Los resultados de este último análisis serán los que se utilizarán como base para realizar las comparaciones entre los resultados obtenidos por los participantes.

Actividad 5. Instructivo de procesamiento de muestras para el "Ensayo de Comparación Inter-laboratorios para la Evaluación de la Técnica de Detección de *Piscirickettsia salmonis* mediante qRT-PCR"

Objetivo

El presente instructivo tiene por objeto instruir al laboratorio participante en la evaluación del ensayo diagnóstico para *Piscirickettsia salmonis*, los pasos a seguir y tiempos a cumplir en dicho proceso de evaluación.

Este ensayo fue diseñado para evaluar la capacidad del laboratorio para discriminar específicamente entre una serie de muestras problemas, cuales presentan *P. salmonis*.

La información del este ensayo será codificada para los laboratorios participantes y los resultados no podrán ser utilizados, por estos Laboratorios o por terceros, para efectos de ranking u otra medición, tendiente a destacar unos laboratorios respecto de otros.

Descripción del Ensayo

La evaluación considera un total de 24 muestras ciegas, divididas en 3 lotes de 8 muestras cada uno, los cuales deberán ser evaluados en días o corridas diferentes. Estas muestras son cultivos bacterianos crecidos en medios libres de células y poseen diferentes cargas bacterianas de aislados representativos de ambas cepas de la bacteria presentes en Chile (LF-89 y EM-90).

Procedimiento

El set de muestras problemas serán despachadas en tubos eppendorf de 1,5ml los que contendrán 500µL de muestra cada uno. Estos tubos estarán contenidos y ordenados en un rack de cartón, el cual as u vez estará contenido en una caja de polietileno con material refrigerante.

Cada tubo estará rotulado con un código de compuesto por una letra mayúscula que indicará el lote (A, B o C) y 2 números. Este código se utilizará para trazar la muestra con los resultados.

Cabe mencionar que las muestras serán acompañadas de una carta conductora, la que al ser recibida deberá ser completada con los datos solicitados firmada y enviada al GIM-PUCV (mediante correo electrónico alvaro.labra@pucv.cl).

Una vez recibidas las muestras deberán programarse las extracciones y corridas, considerando que cada amplificación deberá ser realizada en duplicado para cada muestra y de la misma manera que se realiza el análisis rutinariamente a muestras de campo.

Los kits, equipos, tiempos, temperaturas, partidores y sondas que se deben utilizar son las descritas en el informe de validación entregado el Sernapesca.

Envío de resultados e información general del procedimiento

Una vez obtenidos los resultados, estos deberán ser registrados en el formulario de resultados, el cual deberá ser completado y enviado (en formato Word o Excel) al correo electrónico alvaro.labra@pucv.cl. Cabe mencionar que, si para explicar la interpretación de algún resultado se considera necesario enviar información adicional a la solicitada como por ejemplo los gráficos de las

curvas obtenidos, puede hacerse por esta misma vía, ya sea como archivo adjunto o a continuación del formulario de resultados.

Asimismo, la información general del procedimiento deberá ser enviada por la misma vía. Una vez recibidos estos documentos se confirmará su recepción.

Información General del Procedimiento.

1- Kit utilizado en el qRT-PCR (indicar Nombre/Marca):

2- Termociclador en tiempo real utilizado (indicar Modelo/Marca):

3- Alternativa de PCR utilizada (convencional, SybrGreen, Taqman u otra):

4- La secuencia de partidores y sondas (indicar bibliografía):

5- Número de ciclos en la corrida:

6- Valor de Ct de corte para el ensayo:

7- En el caso de utilizar química Taqman la sonda utilizada posee MGB, LNA, otras o ninguna:

8- Marca de los partidores:

9- Marca de las sondas:

10- Volumen final de reacción (en µL)

11- Volumen de muestra usado en la reacción (en µL)

Formulario de resultados.

Nombre del Laboratorio:	
Nombre y correo de contacto:	
Fecha de recepción de muestras:	
Fecha y hora de análisis:	

Código de Muestra Lote A	***Piscirickettsia salmonis***		
	CT 1	**CT 2**	**Int.***
Control Positivo			
Control Negativo			

* Int.: Interpretación de resultado (Positivo o Negativo).

Código de Muestra Lote B	***Piscirickettsia salmonis***		
	CT 1	**CT 2**	**Int.***
Control Positivo			
Control Negativo			

* Int.: Interpretación de resultado (Positivo o Negativo).

Código de Muestra Lote C	*Piscirickettsia salmonis*		
	CT 1	**CT 2**	**Int.***
Control Positivo			
Control Negativo			

* Int.: Interpretación de resultado (Positivo o Negativo).

Observaciones:

En este campo se debe agregar cualquier tipo de información que se considere relevante para la interpretación de los resultados y que no esté contenida en otras secciones de este formulario.

Actividad 6. Recepción y análisis de resultados

La recepción de los resultados de los análisis de los diferentes laboratorios se realizo sin contratiempos, en esta oportunidad el formulario para el registro de los resultados se envió en formato Word y se les solicitó a los laboratorios informarlos en este mismo formato o en formato Excel, lo que sin dudas facilito el traspaso de información y disminuyo de manera importante el numero de horas hombre necesarias.

Resultados Etapa 3. Informe "Ensayo de Comparación Inter-laboratorio para Evaluar el Ensayo de PCR o RT-PCR en Tiempo Real para el Diagnóstico de Piscirickettsiosis"

Introducción

Piscirickettsia salmonis (P. salmonis) es un agente patógeno de alta agresividad que constituye una amenaza constante para la sustentabilidad de la salmonicultura nacional. Sin embargo, en la actualidad no existe un procedimiento único y estandarizado para su diagnóstico, lo que dificulta significativamente el establecer comparaciones respecto al impacto que el agente tiene en los diferentes centros de cultivo nacionales. En consecuencia, el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura designó al Laboratorio de Patógenos Acuícolas como Laboratorio Nacional de Referencia para *Piscirickettsia salmonis* (RES.EX. Nº1448 de 06.06.2011) y le encomendó dentro de sus tareas la organización y evaluación de rondas de comparación inter-laboratorios para la detección de *Piscirickettsia salmonis* y de esta manera poder generar un método estandarizado y validado de diagnóstico.

Sin duda, el tener un sistema nacional de comparación inter-laboratorios permitirá su ejecución periódica, como también es un primer paso en la posibilidad de evaluar ensayos de RT-PCR en tiempo real orientados a la detección de otros patógenos que afectan la acuicultura nacional.

Objetivo

Determinar la capacidad de los laboratorios registrados por Sernapesca para detectar en forma específica la presencia de material genético (ARN/ADN) de *Piscirickettsia salmonis* en muestras con diferentes concentraciones de dos cepas de la bacteria, mediante el uso de metodologías basadas en variantes de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Materiales y Métodos

1.1. Antecedentes previos

La diversidad genética que presentan las distintas cepas de *P. salmonis* aisladas en Chile y la gran versatilidad de su genoma hacen imperiosa la necesidad de comparar los diferentes tipos de PCR utilizados para el diagnóstico de este patógeno y de esta manera evaluar la capacidad de detección que presenta cada laboratorio independiente de la técnica que utilice.

Considerando lo anterior se diseñó la siguiente matriz para el ensayo:

Muestras	Descripción
Cepa LF-89	Concentración 1
Cepa LF-89	Concentración 2
Cepa LF-89	Concentración 3
Cepa EM-90	Concentración 1
Cepa EM-90	Concentración 2
Cepa EM-90	Concentración 3
Control Negativo 1	Mezcla de bacterias marinas
Control Negativo 2	Medio de cultivo sin infectar

Por intermedio de Sernapesca fue enviada una invitación a todos los laboratorios registrados por el Servicio a participar de este ensayo, indicando los costos asociados y los tiempos de ejecución, recibiendo 13 respuestas positivas.

1.2. Preparación y evaluación de muestras

Se seleccionaron desde el cepario del GIM-PUCV dos cepas puras de *P. salmonis*, una correspondiente a la cepa tipo LF-89 y la otra correspondiente a una cepa tipo EM-90. Ambas se inocularon en 5 mL de medio AUSTRAL-SRS y se incubaron en agitación a 18°C durante 3 días. Posteriormente se confirmó la presencia de *P. salmonis* mediante PCR e IFAT y se procedió a escalar el cultivo en dos oportunidades, la primera hasta 15 mL y la segunda hasta 30 mL.

Una vez obtenido el crecimiento esperado las muestras fueron evaluadas mediante PCR de tiempo real (Taqman y Sybrgreen) para determinar la presencia de *P. salmonis*. Posteriormente se realizaron diluciones correspondientes con medio AUSTRAL_SRS, las que se evaluaron en repetidas oportunidades hasta obtener los valores buscados.

Posteriormente las muestras fueron distribuidas y codificadas en 3 lotes de 8 muestras cada uno (tabla 1), una muestra positiva a LF-89 con una alta carga con un valor inicial de Ct de ±21,9 y 2 diluciones de esta muestra con valores iniciales de Cts de ±24,8 y 29,3, una muestra positiva a EM-90 con una alta carga con un valor inicial de Ct de ±23,3 y 2 diluciones de esta muestra con valores iniciales de Cts de ±26,6 y 30,2 más 1 control negativo que corresponde a medio de cultivo AUSTRAL-SRS sin infectar y una muestra con una mezcla de bacterias marinas tales como *Vibrio alginolyticus* y *Listonella anguillarum* (mix).

Cada uno de los 13 laboratorios participantes recibió un correo enviado por Sernapesca con las instrucciones necesarias para desarrollar el *ring test*, las cuales incluían los formatos de reporte de resultados. El día lunes 01 de octubre fueron despachadas las muestras en contenedores isotérmicos con material refrigerante, cada uno de estos contenedores llevaba 24 muestras de referencia ciegas, codificadas según tabla 1 y además una carta conductora fue enviada por correo electrónico.

Tabla 36. Evaluación, codificación y distribución de Muestras.

Muestra	Lab	Código			Muestra	Lab	Código		
		Lote 1	Lote 2	Lote 3			Lote 4	Lote 5	Lote 6
CN-2	1	P.sal A069	P.sal B044	P.sal C191	LF-89-2	1	P.sal A064	P.sal B061	P.sal C049
	2	P.sal A100	P.sal B111	P.sal C119		2	P.sal A085	P.sal B115	P.sal C081
	3	P.sal A012	P.sal B097	P.sal C187		3	P.sal A014	P.sal B003	P.sal C071
	4	P.sal A075	P.sal B075	P.sal C201		4	P.sal A065	P.sal B107	P.sal C017
	5	P.sal A098	P.sal B008	P.sal C123		5	P.sal A040	P.sal B074	P.sal C113
	6	P.sal A009	P.sal B090	P.sal C229		6	P.sal A111	P.sal B098	P.sal C127
	7	P.sal A060	P.sal B112	P.sal C143		7	P.sal A102	P.sal B078	P.sal C041
	8	P.sal A094	P.sal B117	P.sal C027		8	P.sal A110	P.sal B039	P.sal C095
	9	P.sal A042	P.sal B043	P.sal C217		9	P.sal A119	P.sal B042	P.sal C185
	10	P.sal A105	P.sal B012	P.sal C189		10	P.sal A086	P.sal B087	P.sal C225
	11	P.sal A045	P.sal B063	P.sal C101		11	P.sal A026	P.sal B017	P.sal C221
	12	P.sal A024	P.sal B066	P.sal C133		12	P.sal A097	P.sal B118	P.sal C011
	13	P.sal A051	P.sal B093	P.sal C075		13	P.sal A095	P.sal B018	P.sal C159
	14	P.sal A093	P.sal B094	P.sal C059		14	P.sal A019	P.sal B004	P.sal C157
	15	P.sal A083	P.sal B092	P.sal C149		15	P.sal A090	P.sal B002	P.sal C029
LF-89-1	1	P.sal A070	P.sal B041	P.sal C115	LF-89-3	1	P.sal A087	P.sal B007	P.sal C039
	2	P.sal A015	P.sal B020	P.sal C151		2	P.sal A061	P.sal B001	P.sal C161
	3	P.sal A047	P.sal B113	P.sal C003		3	P.sal A027	P.sal B109	P.sal C033
	4	P.sal A079	P.sal B005	P.sal C131		4	P.sal A114	P.sal B059	P.sal C163
	5	P.sal A073	P.sal B065	P.sal C067		5	P.sal A091	P.sal B108	P.sal C137
	6	P.sal A092	P.sal B119	P.sal C239		6	P.sal A025	P.sal B105	P.sal C213
	7	P.sal A005	P.sal B072	P.sal C211		7	P.sal A080	P.sal B102	P.sal C073
	8	P.sal A067	P.sal B070	P.sal C237		8	P.sal A022	P.sal B040	P.sal C121
	9	P.sal A032	P.sal B120	P.sal C203		9	P.sal A020	P.sal B049	P.sal C047
	10	P.sal A118	P.sal B101	P.sal C135		10	P.sal A013	P.sal B060	P.sal C169
	11	P.sal A018	P.sal B021	P.sal C215		11	P.sal A004	P.sal B037	P.sal C077
	12	P.sal A057	P.sal B114	P.sal C085		12	P.sal A039	P.sal B076	P.sal C025
	13	P.sal A074	P.sal B038	P.sal C097		13	P.sal A044	P.sal B033	P.sal C177
	14	P.sal A001	P.sal B064	P.sal C199		14	P.sal A068	P.sal B016	P.sal C205
	15	P.sal A048	P.sal B091	P.sal C037		15	P.sal A106	P.sal B103	P.sal C155

Muestra	Lab	Código			Muestra	Lab	Código		
		Lote 1	Lote 2	Lote 3			Lote 4	Lote 5	Lote 6
EM-90-1	1	P.sal A071	P.sal B086	P.sal C139	EM-90-3	1	P.sal A049	P.sal B047	P.sal C103
	2	P.sal A021	P.sal B106	P.sal C165		2	P.sal A023	P.sal B035	P.sal C007
	3	P.sal A112	P.sal B024	P.sal C083		3	P.sal A010	P.sal B084	P.sal C223
	4	P.sal A096	P.sal B030	P.sal C055		4	P.sal A050	P.sal B080	P.sal C089
	5	P.sal A033	P.sal B019	P.sal C153		5	P.sal A082	P.sal B058	P.sal C105
	6	P.sal A058	P.sal B081	P.sal C193		6	P.sal A053	P.sal B010	P.sal C179
	7	P.sal A041	P.sal B034	P.sal C009		7	P.sal A007	P.sal B073	P.sal C057
	8	P.sal A088	P.sal B089	P.sal C087		8	P.sal A003	P.sal B062	P.sal C171
	9	P.sal A016	P.sal B096	P.sal C195		9	P.sal A116	P.sal B083	P.sal C019
	10	P.sal A077	P.sal B079	P.sal C023		10	P.sal A035	P.sal B025	P.sal C125
	11	P.sal A038	P.sal B069	P.sal C183		11	P.sal A008	P.sal B095	P.sal C043
	12	P.sal A002	P.sal B057	P.sal C051		12	P.sal A056	P.sal B068	P.sal C069
	13	P.sal A043	P.sal B085	P.sal C013		13	P.sal A054	P.sal B013	P.sal C079
	14	P.sal A089	P.sal B100	P.sal C117		14	P.sal A109	P.sal B036	P.sal C091
	15	P.sal A115	P.sal B031	P.sal C015		15	P.sal A117	P.sal B077	P.sal C111
EM-90-2	1	P.sal A078	P.sal B014	P.sal C145	Mix	1	P.sal A084	P.sal B027	P.sal C197
	2	P.sal A103	P.sal B104	P.sal C109		2	P.sal A076	P.sal B022	P.sal C093
	3	P.sal A072	P.sal B045	P.sal C129		3	P.sal A066	P.sal B067	P.sal C053
	4	P.sal A099	P.sal B054	P.sal C031		4	P.sal A104	P.sal B088	P.sal C035
	5	P.sal A055	P.sal B032	P.sal C231		5	P.sal A034	P.sal B082	P.sal C141
	6	P.sal A037	P.sal B055	P.sal C181		6	P.sal A120	P.sal B053	P.sal C175
	7	P.sal A059	P.sal B048	P.sal C207		7	P.sal A036	P.sal B028	P.sal C227
	8	P.sal A062	P.sal B051	P.sal C147		8	P.sal A107	P.sal B110	P.sal C005
	9	P.sal A113	P.sal B011	P.sal C107		9	P.sal A006	P.sal B009	P.sal C235
	10	P.sal A030	P.sal B099	P.sal C045		10	P.sal A081	P.sal B050	P.sal C167
	11	P.sal A011	P.sal B029	P.sal C219		11	P.sal A063	P.sal B116	P.sal C061
	12	P.sal A101	P.sal B006	P.sal C173		12	P.sal A017	P.sal B026	P.sal C063
	13	P.sal A052	P.sal B052	P.sal C099		13	P.sal A029	P.sal B015	P.sal C233
	14	P.sal A031	P.sal B056	P.sal C001		14	P.sal A028	P.sal B071	P.sal C209
	15	P.sal A046	P.sal B023	P.sal C065		15	P.sal A108	P.sal B046	P.sal C021

1.3. Métodos empleados en el Laboratorio de Referencia para el diagnóstico de *P. salmonis*

Para el ensayo de comparación inter-laboratorios el GIM-PUCV utilizó 1 metodología para comprobar la presencia/ausencia del patógeno en cuestión en las muestras del ensayo. Esta metodología fue de tipo RT-PCR en tiempo real (qRT-PCR) dirigido al ITS (Internal transcribed spacer), con química TaqMan.

Para estos ensayos, se realizó una extracción de RNA, usando 250 µL de cada muestra con el kit E.Z.N.A.™ Total RNA Kit I (OMEGA bio-tek), de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La concentración y pureza del RNA total extraído se determinó por la medición de la razón de la absorbancia a 260 nm sobre 280 nm usando un espectrofotómetro (MaestroNano, Maestrogen).

Las reacciones de qPCR en tiempo real con sonda taqman fueron realizadas con el kit SuperScript III Platinum One-Step qRT-PCR System, Invitrogen™, en un equipo StepOne Plus, Applied Biosystems®, utilizando las siguientes condiciones: transcripción reversa 50°C/15 minutos, denaturación inicial 95°/2 minutos, seguido de 45 ciclos de 95°C/15 segundos, 55°C/15 segundos y 60°C/30 segundos, midiendo la fluorescencia en este último paso.

Cada muestra analizada mediante qPCR fue ensayada en duplicado. Adicionalmente se utilizaron en cada corrida controles positivos de amplificación y controles negativos o blancos, los primeros con la finalidad de descartar fallas del procedimiento y los segundos para descartar algún tipo de contaminación.

Los análisis fueron llevados a cabo luego de la preparación de las muestras, para confirmar su procesamiento y estado, y posteriormente en paralelo con el resto de laboratorios de la Red habiendo mantenido durante 48 horas las muestras a temperatura ambiente. Estos últimos resultados fueron usados en la intercomparación.

1.4. Análisis de resultados

Los resultados fueron analizados en relación a la sensibilidad y especificidad obtenida para cada Laboratorio, en base a lo expresado en el Manual Acuático de la OIE (2013), Capítulo 1.1.2. Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas. La sensibilidad y especificidad se calcularon de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$Sensibilidad = \frac{VP}{VP + FN} * 100$$

$$Especificidad = \frac{VN}{VN + FP} * 100$$

Dónde:

VP: verdadero positivo
FN: falso negativo
VN: verdadero negativo
FP: falso positivo

Definiéndose la sensibilidad como la fracción de muestras positivas a *P. salmonis* y que efectivamente resultan positivas por las técnicas ensayadas y la especificidad como la fracción de las muestras que son negativas a *P. salmonis* y que dan un resultado negativo. Los datos utilizados para realizar estos cálculos corresponden a los promedios entregados por cada laboratorio para cada muestra, por día.

La repetibilidad se evaluó para la técnica de RT-PCR en tiempo real, en relación a la dispersión que caracterizó a los resultados en base a los Ct para las muestras positivas. Se tomó la distribución de los datos en torno a la media, utilizando los estadísticos, desviación estándar, coeficiente de variación.

Resultados y Discusión

Dado que los resultados generados por este ensayo son de carácter confidencial entre la autoridad sectorial, el laboratorio de referencia y cada uno de los laboratorios participantes, la información será codificada, entregando a cada laboratorio su código correspondiente.

La tabla 2 nos indica el código asignado a cada laboratorio para este ensayo, el cual también se utilizará para presentar los resultados. Asimismo, nos muestra el método y la química utilizada.

Cabe mencionar que el laboratorio 4 participo del ensayo utilizando dos técnicas, por lo que los resultados se presentan diferenciando estos con las letras a y b según corresponda. En el caso del laboratorio de referencia GIM-PUCV código 13, se utilizaron también 2 métodos diferentes (a y b).

Tabla 37. Laboratorios participantes con su respectivo código asignado, método y química utilizada.

Código de laboratorio	Laboratorio	Método	Tipo de PCR
1		Propio	Taqman
2		Propio	Taqman
3		Propio	Taqman
4a		Karatas S., 2008.	Taqman
4b		Karatas S., 2008.	Taqman
5		Karatas S., 2008.	Taqman
6		Karatas S., 2008.	Taqman
7		Propio	Taqman
8		Corbeil, 2003	Taqman
9		Karatas S., 2008.	Taqman
10		Corbeil, 2003.	Taqman
11		Corbeil, 2003.	Taqman
12		Karatas S., 2008.	Taqman
13	PUCV	Propio	Taqman

En la tabla 37 se indica información general relacionada con los protocolos utilizados por cada laboratorio, (kits de amplificación, equipos de PCR en tiempo real, valores de Ct de cortes para la detección de *P. salmonis*, número de ciclos de amplificación.

Tabla 38. Protocolos de los laboratorios utilizados para la detección de *P. salmonis* mediante RT-PCR en tiempo real con sonda TaqMan® y/o SybrGreen.

Laboratorio	Kit Amplificación	Equipo	N° Ciclos	Ct corte
1	RNA Master Hydrolisys Probe, Roche	LC480 II/ Roche	45	35,0
2	RNA Master Hydrolisys Probe, Roche	Stratagene Mx3000P	45	35,0
3	RNA Master Hydrolisys Probe, Roche	LC480 II/ Roche	45	35,0
4a	KAPA™ Probe Fast qPCR Kit Master Mix Universal (Kit qPCR)	Stratagene Mx3000P	40	37,5
4b	Takyon ROX PROBE Master Mix Takyon 1-Step QRT-PCR Converter (Kit qRT-PCR)	Stratagene Mx3000P	45	36,7
5	Brilliant II QPCR Master Mix , Agilent	Stratagene Mx3000P	40	36,7
6	Super script III Platinum / Invitrogen	Stratagene Mx3000P	45	34,9
7	Express Superscript/Express qPCR Super Mix	StepOne Plus / Applied Biosystems	45	36,0
8	Takyon Eurogentec Rox Probe	Stratagene Mx3000P	40	34,8
9	KAPA™ Probe Fast qPCR Kit Master Mix Universal (Kit qPCR)	Stratagene Mx3000P	40	36,0
10	Light Cycler 480 Probes Master (ROCHE)	LC480 II/ Roche	45	37,4
11	Light Cycler 480 Probes Master (ROCHE)	LC480 II/ Roche	45	36,7
12	TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix / Thermofisher	StepOne Plus / Applied Biosystems	45	34,0
13	SuperScript III Platinum , One-Step qRT-PCR System/Invitrogen	StepOne Plus / Applied Biosystems	45	36,0

La tabla 38 indica se utilizan 8 kit de amplificación diferentes, predominando el kit RNA Master Hydrolisys Probe de Roche. En términos de equipos utilizados hay solo tres, con una mayor representación del Mx 3000P de Stratagene.

Los resultados obtenidos fueron tabulados para su análisis cuantitativo (tabla 36 y 37) y cualitativo (tabla 38). Para el análisis cuantitativo del método se consideraron los valores de Ct reportados por

los laboratorios para cada muestra y se calculó la media, desviación estándar y coeficiente de variación de los valores obtenidos considerando cada una de las diferentes diluciones de las distintas cepas de *P. salmonis* para cada laboratorio, lo que puede apreciarse en la tabla 38.

Para el análisis cualitativo en cambio se consideró la interpretación entregada por cada laboratorio para cada muestra en cada uno de los lotes y se calculó, en base a lo expresado en el Manual Acuático de la OIE (2013), Capítulo 1.1.2. "Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico de las enfermedades infecciosas", tanto la sensibilidad como la especificidad obtenida por cada laboratorio con su o sus métodos, lo que se presenta en la tabla 37.

El análisis de los resultados obtenidos nos permite identificar lo siguiente:

- En general no hubo problemas con la preparación, distribución y preservación de las muestras.
- Las diluciones realizadas no se evidencian en los resultados a excepción del laboratorio de la PUCV, lo que puede deberse a los diferentes métodos utilizados (ADN v/s ARN) y (16S v/s ITS).
- Los resultados de los duplicados de cada muestra nos indican que no hubo fallas en el proceso de análisis que estén relacionados con la ejecución, reactivos, equipo o procedimiento de análisis. Asimismo, nos indican el grado de confianza y repetibilidad de los resultados obtenidos.
- El análisis cualitativo de los datos nos permite indicar que:
  - ✓ La sensibilidad de los métodos de todos los laboratorios es del 100%.
  - ✓ Por su parte la especificidad para todos los laboratorios fue de un 100%, indicando que los métodos no poseen reacción cruzada con el medio de cultivo ni con la mezcla de bacterias marinas que se utilizó en este ensayo.
- Por su lado el análisis cuantitativo nos permite indicar que:
  - ✓ Las diferencias de valores de Ct obtenidos entre cada lote perteneciente a un mismo laboratorio se encuentran dentro de rangos aceptables (menos de un 10%) a excepción de los laboratorios 5 y 12 para dos muestras. Lo anterior se puede apreciar mediante los valores de desviación estándar y el porcentaje de coeficiente de variación (tabla 5).
  - ✓ Las diferencias de Ct observadas entre los diferentes laboratorios para la misma muestra se encuentran en rangos aceptables si se considera que entre laboratorios se utilizan diferentes métodos, equipos, reactivos, etc.

En los gráficos siguientes 1 al 6 se puede apreciar claramente y por muestra lo indicado en el párrafo anterior, en donde se muestra en formato de líneas el valor promedio de Ct con su respectiva desviación estándar y en formato histograma los valores por cada lote y para cada laboratorio.

Tabla 39. Valores de Ct promedio, para la detección de *P. salmonis* mediante RT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante en el ensayo de comparación inter-laboratorio, según muestra y lote.

Muestra	LF-1			LF-2			LF-3			EM-1			EM-2			EM-3			Mix			Medio		
Lab/Lot	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
1	16,78	18,11	19,15	18,64	17,21	19,17	20,71	18,80	20,51	19,13	20,76	21,03	19,78	20,83	22,49	21,60	20,56	21,60	-	-	-	-	-	-
2	16,22	16,99	17,79	17,05	18,44	18,27	21,80	23,47	23,35	20,20	21,28	21,47	20,26	22,09	21,36	23,05	24,71	24,63	-	-	-	-	-	-
3	18,99	19,04	20,80	18,83	18,75	19,76	23,99	23,74	23,91	22,32	22,08	23,09	22,29	22,54	22,84	24,99	24,84	25,74	-	-	-	-	-	-
4a	23,49	22,88	22,65	24,06	24,33	22,47	19,28	19,34	19,14	25,81	24,86	25,33	25,62	25,75	23,25	20,96	20,69	20,85	-	-	-	-	-	-
4b	24,18	23,93	25,16	25,94	26,04	24,34	22,46	20,93	21,18	27,30	25,70	28,10	27,76	27,05	25,30	23,13	24,84	23,08	-	-	-	-	-	-
5	16,65	22,92	18,66	18,51	20,45	16,38	19,58	19,42	19,12	20,41	23,34	21,79	23,46	24,51	21,40	21,05	20,73	20,45	-	-	-	-	-	-
6	15,77	16,38	17,95	17,90	17,51	20,11	21,44	20,40	19,08	20,06	21,78	20,63	22,06	24,40	23,91	22,47	22,02	22,12	-	-	-	-	-	-
7	14,84	14,96	15,84	14,50	14,50	15,69	17,91	18,35	19,74	18,74	19,49	18,37	17,71	18,33	19,90	19,48	19,84	20,93	-	-	-	-	-	-
8	20,87	21,97	18,92	20,44	22,35	19,57	21,73	24,41	21,52	22,87	26,24	22,47	24,46	27,05	23,90	23,93	26,42	23,55	-	-	-	-	-	-
9	20,37	20,99	20,59	19,09	20,59	20,13	20,64	20,42	21,25	22,90	24,59	23,93	24,37	25,01	24,89	22,69	21,89	22,42	-	-	-	-	-	-
10	17,77	18,20	17,50	16,87	17,69	19,29	19,29	19,84	19,61	20,54	20,32	21,67	20,85	20,58	22,66	21,14	20,95	20,41	-	-	-	-	-	-
11	19,58	21,57	21,98	19,71	22,08	21,96	19,13	21,39	20,46	22,05	25,53	23,92	22,90	26,39	25,86	20,97	23,68	22,53	-	-	-	-	-	-
12	18,59	20,15	21,20	16,56	18,79	20,82	20,14	19,84	20,27	21,73	22,95	23,03	20,70	25,82	25,56	21,46	21,33	21,88	-	-	-	-	-	-
13	22,29	22,61	22,76	25,77	25,77	25,71	29,3	25,77	29,63	24,51	24,4	24,42	27,56	27,57	27,54	29,68	29,51	29,52	-	-	-	-	-	-

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas.

Tabla 40. Valores promedio de Ct por muestra, desviación estándar (SD) y coeficiente de Variación (CV) para la detección de *P. salmonis* mediante RT-PCR en tiempo real obtenidos por cada laboratorio participante en el ensayo de comparación inter-laboratorio, según muestra.

Muestras	LF-1			LF-2			LF-3			EM-1			EM-2			EM-3			Mix			Medio		
Lab	X Ct	SD	CV %	X Ct	SD	CV	X Ct	SD	CV	X Ct	SD	CV	X Ct	SD	CV	X Ct	SD	CV	X Ct	SD	CV	X Ct	SD	CV
1	18,01	1,19	6,59	18,34	1,01	5,51	20,01	1,05	5,24	20,30	1,03	5,07	21,03	1,37	6,50	21,25	0,60	2,81	-	-	-	-	-	-
2	17,00	0,79	4,63	17,92	0,76	4,24	22,87	0,93	4,07	20,98	0,68	3,25	21,24	0,92	4,34	24,13	0,94	3,88	-	-	-	-	-	-
3	19,61	1,03	5,25	19,11	0,56	2,93	23,88	0,13	0,53	22,50	0,53	2,35	22,55	0,27	1,21	25,19	0,48	1,91	-	-	-	-	-	-
4a	23,01	0,43	1,89	23,62	1,01	4,26	19,25	0,10	0,52	25,33	0,48	1,88	24,87	1,41	5,65	20,83	0,14	0,66	-	-	-	-	-	-
4b	24,42	0,65	2,66	25,44	0,96	3,76	21,52	0,82	3,83	27,03	1,22	4,52	26,70	1,27	4,74	23,68	1,00	4,22	-	-	-	-	-	-
5	19,41	**3,20**	**16,48**	18,44	**2,03**	**11,02**	19,37	0,23	1,21	21,85	1,46	6,70	23,12	1,58	6,84	20,74	0,30	1,46	-	-	-	-	-	-
6	16,70	1,12	6,72	18,51	1,40	7,58	20,31	1,18	5,81	20,82	0,88	4,21	23,46	1,24	5,27	22,20	0,24	1,06	-	-	-	-	-	-
7	15,21	0,55	3,60	14,90	0,69	4,62	18,66	0,95	5,11	18,87	0,57	3,01	18,65	1,13	6,07	20,08	0,75	3,75	-	-	-	-	-	-
8	20,59	1,55	7,52	20,79	1,42	6,84	22,55	1,61	7,14	23,86	2,07	8,69	25,13	1,68	6,68	24,63	1,56	6,34	-	-	-	-	-	-
9	20,65	0,31	1,52	19,94	0,77	3,84	20,77	0,43	2,08	23,80	0,85	3,58	24,75	0,34	1,36	22,33	0,40	1,81	-	-	-	-	-	-
10	17,82	0,35	1,98	17,95	1,23	6,86	19,58	0,27	1,40	20,84	0,72	3,47	21,36	1,13	5,29	20,83	0,38	1,82	-	-	-	-	-	-
11	21,04	1,28	6,11	21,25	1,33	6,28	20,33	1,14	5,59	23,83	1,74	7,30	25,05	1,88	7,52	22,39	1,36	6,07	-	-	-	-	-	-
12	19,98	1,31	6,56	18,72	**2,13**	**11,38**	20,08	0,22	1,09	22,57	0,73	3,22	24,02	**2,88**	**12,01**	21,56	0,29	1,34	-	-	-	-	-	-
13	22,55	0,24	1,07	25,75	0,03	0,12	28,23	2,14	7,57	24,44	0,06	0,24	27,56	0,01	0,04	29,57	0,10	0,33	-	-	-	-	-	-

- No presentan amplificación o son interpretadas como negativas.

Tabla 41. Interpretación de resultados de cada laboratorio por muestra y segmentado por lote de análisis. Calculo de sensibilidad y especificidad de cada uno de los métodos utilizado.

Laboratorio			1	2	3	4a	4b	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Lote	**Muestra**	**Result. Esp.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**	**Int.**
1	LF-89 (dil-1)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	LF-89 (dil-2)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	LF-89 (dil-3)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -1)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -2)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -3)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Mix	Negativo	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Medio	Negativo	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
2	LF-89 (dil-1)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	LF-89 (dil-2)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	LF-89 (dil-3)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -1)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -2)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -3)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Mix	Negativo	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Medio	Negativo	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
3	LF-89 (dil-1)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	LF-89 (dil-2)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	LF-89 (dil-3)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -1)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -2)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	EM-90 (dil -3)	Positivo	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
	Mix	Negativo	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
	Medio	Negativo	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
VP			18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
FP			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
VN			6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
FN			0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Sensibilidad			100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Especificidad			100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%

Conclusiones

Considerando el objetivo de este ensayo que dice relación con la determinación de la capacidad de los laboratorios registrados por Sernapesca para detectar específicamente la presencia de material genético (ARN/ADN) de *Piscirickettsia salmonis* a partir de muestras con diferentes concentraciones de dos cepas de la bacteria, mediante diferentes opciones de PCR, podemos concluir que:

Los resultados obtenidos son altamente satisfactorios obtenidos en este importante proceso, dado que todos los laboratorios participantes aprobaron las diferentes etapas involucradas en los Ring Test. Llamará la atención que las evaluaciones numéricas muestran ligeras diferencias, sin embargo, eso es esperable en este tipo de análisis dado que hay muchas variables involucrada que no los hacen absolutamente reproducibles en identidad. Entre ellas, las más distintivas son que los blancos de detección son diferentes (16s, 23s o ITS), los primers para cada caso tienen eficiencias diferentes, y la componente humana juega también un rol en el proceso. Pero en el análisis global, la relación de diluciones en cada caso respalda el cumplimiento del objetivo y la detección de positividad frente a los controles, avala en forma inequívoca la conclusión de aprobación para cada uno de los grupos involucrados. Como laboratorio de referencia, nos complace entonces declarar que los laboratorios registrados por Sernapesca, ofrecen, sin duda alguna, confianza al sector productivo de que sus diagnósticos en la detección de este patógeno son asertivos, confiables y reproducibles dentro de los rangos que involucra lo semi cuantitativo de los mismos.

Puntos críticos del procedimiento identificados como oportunidades de mejora:

1. Elección de muestras a utilizar: En futuras pruebas de este tipo deberá considerarse el uso de muestras de campo, las cuales puedan entregarse en la matriz real en la que se realiza el diagnóstico, es decir, órganos de peces infectados.

Objetivo Específico 5. Metodología

Objetivo Especifico 5	Evaluar y desarrollar técnicas de aislamiento, propagación y mantención de la variante HPR0 de ISAV en cultivos celulares y realizar investigación para mejorar resultados.			
Descripción:	En esta etapa tomando en cuenta la experiencia previa de nuestro y otros laboratorios se diseñará un estudio para que sistemáticamente sean puestas a pruebas diferentes condiciones de cultivo, con la intención de mejorar los resultados de estos en especial con la variante HPR0.			
Duración:	18 meses			
Descripción de la actividad	**Hitos de la Actividad**	**Estatus**	**Tablas**	**Anexos**
Diseño de un estudio sistemático que considere nuevas estrategias científicas para el aislamiento de ISAv HPR0	Propuesta de estudio	Completo		
Aplicación de la o las metodologías para el aislamiento de ISAv HPR0	Resultado del estudio	Completo		

Actividad 1. Diseño de un estudio sistemático que considere nuevas estrategias científicas para el aislamiento de ISAv HPR0

El diseño del estudio sistemático comprometido fue realizado y presentado durante la segunda reunión de coordinación, en la cual fue aceptado sin modificaciones. A continuación, se detalla el diseño:

Resultados actividad 1. Diseño de estrategia para cultivo de ISAV HPR0

Evaluando y tomando en cuenta la información científica disponible, los resultados y técnicas actualmente usadas para el cultivo de ISAv HPR0, incluyendo las que indican que “sin importar el tiempo de cultivo el ISAv HPR0 no evidencia efecto citopático (ECP)”, se propusieron 3 estrategias nuevas de evaluación.

Objetivo general: Establecimiento y mantención “*in vitro*” la Infección con ISAV variante HPR0.

Objetivos específicos:

- Evaluación la capacidad infectiva *in vitro* de distintas variantes de ISAV, bajo condiciones de limitación nutricional.
- Evaluación la capacidad infectiva *in vitro* de distintas variantesde ISAV, bajo condiciones de regulación catalítica.
- Evaluación la capacidad infectiva *in vitro* de HPR0, utilizando nuevas alternativas de líneas celulares.

Metodología:

Experimento 1:

- Se realizará el aislamiento y purificación del ISAV HPR0 a partir de muestras de campo que se reciban en el GIM-PUCV y en las que se haya confirmado mediante otras técnicas la presencia de ISAV HPR.
- Este aislamiento se hará mediante la Infección de células ASK-1 en condiciones estándar, es decir, utilizando los mismos protocolos y medios que se usan tradicionalmente para el aislamiento de ISAV.
- Cada 15 días se realizará un pasaje celular y se muestreará y analizará el cultivo por qRT-PCR y secuenciación.
- Según los resultados obtenidos se mantendrá el cultivo por periodos más prolongados.

Experimento 2:

- Se hará una Infección de células ASK-1 en condiciones estándar, pero modificando la cantidad de suero fetal presente en el medio de cultivo en forma previa y/o posterior a la infección. Lo anterior es similar a someter al cultivo a estrés nutricional. Los rangos de modificación incluirán desde la eliminación completa hasta varias veces la cantidad normal.
- Durante el periodo del cultivo se realizará una evaluación cinética mediante qRT-PCR utilizando el método de "$2^{-\Delta\Delta ct}$" (Livak K. and Schmittgen T., 2001).
- En el caso que los resultados lo permitan se realizará secuenciación de material genético para corroborar que se trata de ISAV HPR0.

Experimento 3:

- Se hará una Infección de células ASK-1 en condiciones estándar, pero modificando enzimas especificas del virus y/o la célula, usando compuestos químicos diseñados específicamente con estos fines. Lo anterior con el objetivo de mejorar la capacidad del virus de ingresar a las células o por el contrario empeorar la capacidad de la célula de impedir la entrada del virus.
- Durante el periodo de cultivo se realizará una evaluación cinética mediante qRT-PCR utilizando el método de "$2^{-\Delta\Delta ct}$" (Livak K. & Schmittgen T., 2001).
- En el caso que los resultados lo permitan se realizará secuenciación de material genético para corroborar que se trata de ISAV HPR0.

Experimento 4:

- Se hará una infección de nuevas líneas celulares en condiciones adecuadas para el desarrollo de las células y además para el crecimiento del virus.
- Durante el periodo de cultivo se realizará una evaluación mediante qRT-PCR y aparición de ECP.
- En el caso que los resultados lo permitan se realizará secuenciación de material genético para corroborar que se trata de ISAV HPR0.

Actividad 2. Aplicación de la o las metodologías para el aislamiento de ISAv HPR0

Dado que, por diversos motivos, no se recibieron las muestras de campo necesarias para realizar los experimentos propuestos, estos fueron realizados con muestras de campo de años anteriores y que formaban parte de la colección de virus ISA del GIM-PUCV. Es por esta razón que los experimentos realizados sufrieron pequeñas adecuaciones durante su desarrollo para poder ser operativizados.

Resultados actividad 2.

Experimento 1. Establecimiento y mantención "*in vitro*" la Infección con ISAV variante HPR0.

Materiales y Métodos:

Para realizar este experimento se seleccionaron dos líneas celulares, las cuales en nuestra experiencia han demostrados ser, dentro de las líneas comúnmente disponibles en el laboratorio, las más eficientes:

- **ASK** = derivada de leucocitos del riñón cefálico de *Salmo salar* (Salmón del Atlántico);
- **RTS-11=** derivada de bazo de *Oncorhynchus mykiss* (Trucha arcoíris). Es una línea compuesta de dos tipos celulares en constante desarrollo: monocitos y macrófagos. Los monocitos se mantienen en suspensión, y los macrófagos, que se diferencian de éstos, se adhieren al sustrato, formando una monocapa sub confluente.
- Tambien se incluyeron en este análisis dos líneas de células epiteliales recientemente conseguidas por nuestro laboratorio, EPI-1 y EPI-2.

Se utilizaron dos variantes virales, una de ellas ISAV HPR0, obedeciendo al objetivo del experimento y la otra ISAV HPR7b como control positivo:

- Variante pura y caracterizada por secuenciación de ***ISAV-HPRO***, aislada de branquias de un espécimen de *Salmo salar* asintomático, con una alta tasa de replicación sistémica como lo reflejaban los bajos valores de Ct por qRT-PCR cercanos a 18. Ello es indicativo de una alta carga viral.
- Variante pura y caracterizada por secuenciación de ***ISAV-HPR7b.*** El virus fue purificado de peces naturalmente infectados, con clara sintomatología clínica de la enfermedad, y al igual que el anterior, sometido ultra centrifugación en gradientes de equilibrio para realizar la infección inicial en las líneas celulares, seguido de pasajes ciegos cada 15 días, y evaluado por qPCR y Microscopía Electrónica.

Resultados:

Como era de esperar, el control positivo (HPR7b) se comportó con la virulencia esperada y en ambas líneas celulares hubo efecto citopático total a partir del día 5 post-infección.

Expresión de la variante HPR0:

Al día 31, a pesar de que los cultivos no demostraban efecto citopático alguno, alícuotas del sobrenadante de cada línea celular fueron evaluadas por qRT-PCR y concentradas en una microfuga y cargados en gradillas *ad hoc* para ser analizados por microscopía electrónica por tinción negativa.

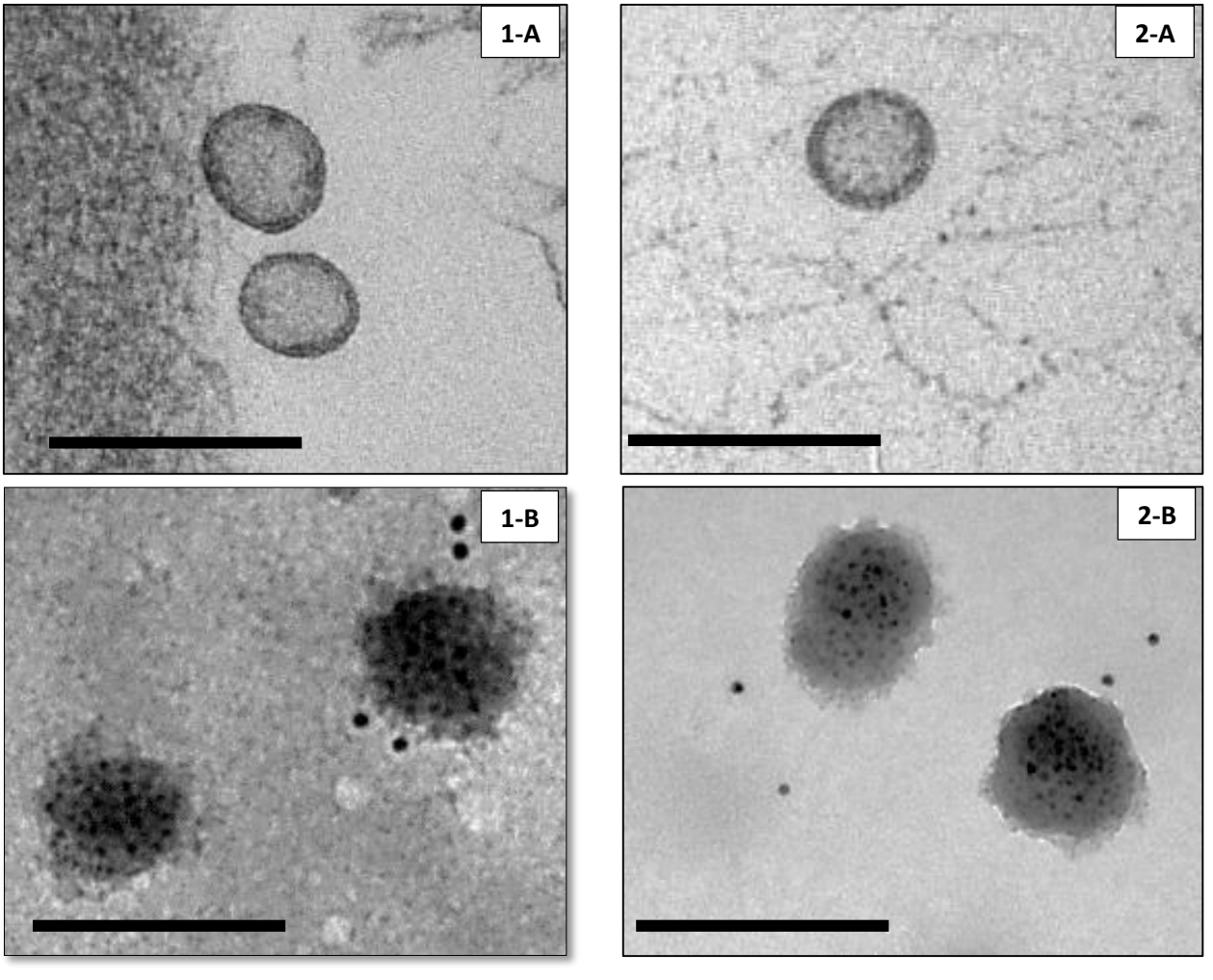


Figura Nº9. Microscopía electrónica de ISAV-HPR0; **2-A**: ISAV-HPR7b con tinción negativa; **1-B**: ISAV-HPR0 decorado con anticuerpos Anti-ISAV-NP-Oro coloidal; **2-B**: ISAV-HPR7b decorado con anticuerpos Anti-ISAV-NP-Oro coloidal. Barras de escala 200 nm.

Al día 31, con el mismo virus HPR0 proveniente de los sobrenadantes analizados por microscopías electrónica, se re-infectaron varias botellas con células nuevas de ambas líneas.

Después de sucesivos pasajes cada 15 días sin lograr un efecto citopático evidente, a los días 133 (133-30 = 103 días = 3,4 meses) y 251 post nueva infección (251 – 31 = 220 días = 7 meses), se recuperaron los sobrenadantes de cada uno de los cultivos, purificando de ellos eventuales virus, los que fueron analizados por secuenciación, y encontramos que, persistiendo la variante madre ISAV-HPR0, también aparecieron variantes delecionadas, confirmado nuestra hipótesis de que por presión de selección y en el tiempo, ISAV-HPR0 genera formas delecionadas en la región HPR del segmento genómico 6, sin que ellos sean cuantitativamente suficientes para dar efecto citopático. Los resultados de la secuenciación se presentan en la Tabla 41.

Tabla Nº 42**.** Detección por secuenciación de variantes HPR-delecionadas derivadas de ISAV-HPR0 original.

Línea Celular	Días post-infección	Variante HPR por secuenciación
ASK - 1	133	0>>>7b
RTS – 11	133	0>>>2
RTS – 11	133	0
ASK - 1	251	0>>>14
ASK – 1	251	0
RTS – 11	251	0>>>14
RTS - 11	251	0>>>7b

Resultados infección de ISAV variante HPR0 en células epiteliales de salares

A partir de pool órganos (Co-Ri-Br) de salares positivos para ISAV variante HPR0 (TABLA N°41), se extrajo virus mediante la homogenización de estos en medio de cultivo L-15. Una vez purificado el virus en medio L-15 (10ml aproximadamente), se concentró usando centricones de 100 KDa reduciendo el volumen a 3 ml. Posteriormente con el virus concentrado se infectaron células epiteliales de salares (EPI 1 y EPI 2) de cada aislado purificado contenidas en botellas de 25 cm^2. A los 7 días se tomaron 500 µl de cada botella para extraer RNA (KIT E.Z.N.A.), para evaluar la carga viral mediante qRT-PCR con sonda TaqMan con partidores para el segmento 8 Snow y HPR0 discriminatorio, finalmente se extrajo RNA de los sobrenadantes de las infecciones juntando los volúmenes por tipo celular, además de los pisos celulares para evaluar la carga viral (tabla N°42, 43).

Tabla N°43: qRT-PCR muestras positivas para HPR0.

MUESTRA Co-Ri-Br	CT SEG 8 Snow	CT HPR0 DISCRIMINATORIO
21312 inicial	26,08	26,44
21314 inicial	35,16	36,43
21316 inicial	30,58	29,10

TABLA N°44: qRT-PCR con sonda TaqMan de infección con ISAV HPR0 en células EPI-1 y EPI-2.

MUESTRA Co-Ri-Br	CT SEG 8 Snow	CT HPR0 DISCRIMINATORIO
21312 inicial	28,80	25,36
21314 inicial	37,74	39,36
21316 inicial	32,14	31,03
21312 EPI 1 7 d.p.i.	33,38	33,69
21312 EPI 2 7 d.p.i.	36,61	35,84
21314 EPI 1 7 d.p.i.	38,43	41,74
21314 EPI 2 7 d.p.i.	37,92	40,96
21316 EPI 1 7 d.p.i.	32,56	31,98
21316 EPI 2 7 d.p.i.	35,15	35,83
EPI 1 27 d.p.i.	32,87	32,96
EPI 2 27 d.p.i.	33,64	33,51

d.p.i.= Días post-infección.

TABLA N°45: qRT-PCR con sonda TaqMan de pisos celulares infectados con ISAV variante HPR0.

MUESTRAS	CT SEG 8 Snow	CT HPR0 DISCRIMINATORIO	EFECTO CITOPÁTICO
21312 EPI 1 27 d.p.i.	34,95	36,03	+/-
21312 EPI 2 27 d.p.i.	34,37	33,85	+
21314 EPI 1 27 d.p.i.	N.A.	N.A.	+
21314 EPI 2 27 d.p.i.	N.A.	N.A.	+/-
21316 EPI 1 27 d.p.i.	N.A.	N.A.	+/-
21316 EPI 2 27 d.p.i.	N.A.	N.A.	+

N.A.= No Amplifica.

Experimento 2. Infección con ISAV Variante HPR7b según Método de Falk

Para comenzar con este experimento se hicieron infecciones de cultivos con ISAV HPR7b en células ASK-1 comparando la eficiencia de la infeccion cuando se hace en presencia de un 2% de SFB versus la eficiencia que se obtiene al realizarlo sin SFB (Falk et al., 1997).

Los resultados obtenidos se aprecian en las siguientes tablas:

Tabla Nº 46**.** Resultados de los pisos infectados con ISA virus variante HPR7B en células SHK-1 con M.O.I. 0.1, según el método de Falk y del laboratorio GIM evaluados al cuarto día de infección.

MUESTRAS	CT SEGMENTO 6	CT ELF	[RNA] ng/ul
INFECCION GIM (L-15 2% SFB 2X AA)	19,15	18,03	44,9
INFECCION FALK (L-15 S/SUERO)	15,47	17,03	52,1

Tabla Nº 47**.** Resultados de los sobrenadantes infectados con virus ISA variante HPR7B en células SHK-1 con M.O.I. 0.1, según el método de Falk y del laboratorio GIM evaluados al cuarto día de infección.

MUESTRAS	CT SEGMENTO 6	[RNA] ng/ul
INFECCION GIM (L-15 2% SFB 2X AA)	26,64	35,3
INFECCION FALK (L-15 S/SUERO)	24,27	48,7

Los resultados preliminares obtenidos si bien fueron alentadores (3 unidades de Ct, equivalentes a un logaritmo), cuando los experimetos fueron realizados utilizando la variante HPR0 del virus ISA, esta diferencia no pudo ser observada, lo que nos hace pensar que, si bien el SFB es un facor a considerar en el cultivo del virus ISA, no es un factor que marque la diferencia cuando se trata de la variante HPR0.

Experimento 3. Evaluación de la influencia de la actividad enzimática de HE sobre el proceso de infección viral.

Para evaluar la influencia de la actividad esterasa en el proceso de infección de ISAV *in vitro*, el virus fue tratado con el inhibidor enzimático 3,4 Dicloroisocomaurina (DCIC), el cual alquila irreversiblemente la serina en el sitio activo. Dada una influencia negativa hipotética de la enzima sobre la interacción de la proteína de fusión con receptores celulares, la inhibición enzimática podría favorecer el proceso infectivo, siendo este fenómeno particularmente evidente en el caso de HPR0.

Inicialmente, alícuotas del virus, de las variantes 3, 7b y 14, correspondiente a $3x10^3$ PFU fueron incubadas con DCIC a una concentración de 50 µM por 30 minutos. Luego de esto, el virus fue purificado, para eliminar el inhibidor, utilizando un concentrador Amicon Ultra (Milipore) de 30 kDa de corte y 500 µl de capacidad, centrifugando a 14000 x *g* y lavando con medio L15 6 veces. El virus fue recuperado desde el concentrador en 500 µl de medio L15, al invertir el tubo y centrifugar a 1000 x *g* por 5 minutos. Alicuotas control fueron sometidas al proceso de purificación, pero agregando solo el vehículo en el tratamiento (DMSO).

El virus fue tratado y los controles, fueron utilizados para infectar por triplicado 1x105 células ASK sembradas en placas de 12 pocillos, de acuerdo al procedimiento descrito previamente (i.e. la monocapa celular es inoculada con el virus e incubada por 4 horas, para luego remover el virus y agregar medio de cultivo L-15 suplementado con 2% de SFB). 48 horas más tarde, se extrajo RNA total desde las células, utilizando el reactivo TRIzol, de acuerdo a lo descrito previamente. 2 µl de RNA fueron utilizados como templado para reacciones de qRT-PCR para detectar la expresión del segmento 8 del virus, así como del gen del Factor de Elongación 1 Alfa (ELF-1α). El efecto del inhibidor enzimático fue estimado al comparar los Ct obtenidos para el segmento 8 de ISAV en las infecciones tratadas, respecto al control, y normalizadas con el gen *housekeeping,* calculándose las veces de cambio de acuerdo al método $2^{\Delta\Delta Ct}$ (Livak K. and Schmittgen T., 2001)

Una muestra de cerebro de *Salmo salar* positiva para HPR0, con un Ct de 24 para el PCR especifico para HPR0 de segmento 6 y Ct 22 para segmento 8, fue procesada para la recuperación de virus. En breve: la muestra fue homogenizada en medio L-15 suplementado con 2% SFB, centrifugándose a 2000 x *g* por 15 minutos, a 10ºC. El sobrenadante (1 ml) fue utilizado para el ensayo con DCIC, tomándose además una alícuota de 100 µl para ser analizada por qRT-PCR para detectar ISAV.

Resultados:

Efecto de la actividad esterasa sobre la infectividad, *in vitro*

Para analizar la influencia de la esterasa sobre el proceso infectivo viral, se inactivo la enzima de distintas cepas de ISAV usando un inhibidor químico. Los virus tratados fueron utilizados para infectar células ASK, para luego evaluar la presencia de RNA específico del virus usando qRT-PCR. El cambio respecto al control no tratado refleja la influencia de la inhibición sobre la infección. Se observa un aumento significativo respecto al control, del nivel de expresión de RNA para el Segmento 8 en la cepa HPR14 tratada con inhibidor (Figura 1). Por otro lado, la inhibición de la actividad esterasa parece no tener efecto sobre las cepas HPR3 y HPR7b.

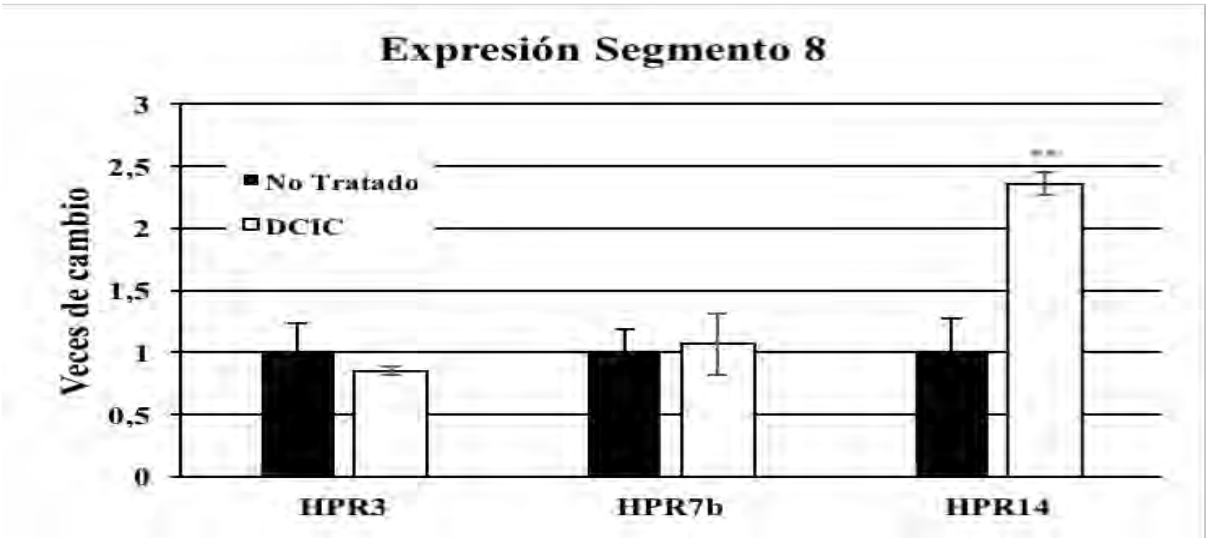


Figura Nº 10. Grafico que muestra los cambios del segmento 8 en distintos HPRs

La muestra de tejido positiva para HPR0 contenía una alta concentración de grasas las cuales no pudieron ser eliminadas desde el sobrenadante. Esta condición afectó de forma negativa a las células ASK inoculada, produciendo un evidente daño celular. La figura 7 muestra el estado de las células en distintos momentos de la infección.

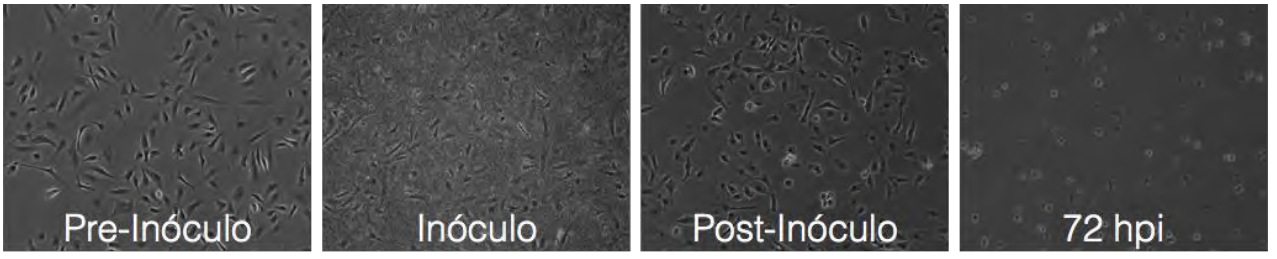


Figura Nº11. Estado de las células en distintos momentos de la infección.

Sin embargo, el inóculo de virus parece haber infectado efectivamente las células: una alícuota (10%) fue evaluada por qRT-PCR arrojando un Ct de 35 para segmento 8. Luego de 72 horas de infección, las células arrojaron un Ct de 24 para segmento 8 y para el qRT-PCR especifico para HPR0.

Conclusiones generales:

Los resultados nos hacen reafirmar la hipótesis de la influencia de la actividad esterasa contenida en HE sobre el proceso de infección. En este contexto, la enzima podría interferir sobre la interacción inicial de F con un receptor celular, y esta influencia estar a su vez regulada por el largo del tallo de HE, con el tipo HPR0 teniendo mayor acceso al receptor de F, y por lo tanto, un pronunciado efecto negativo sobre el proceso de fusión/infección en esta cepa viral.

Dado que durante el transcurso del proyecto no se recibieron muestras ISAV HPR0 en las condiciones adecuadas para su cultivo, no nos fue posible repetir estos ensayos y corroborar nuestras conclusiones preliminares, sin emabrgo recientes publicaciones en revistas científicas indexadas (incluidas en referencias) coinciden con nuestra hipótesis.

Objetivo Especifico 6. Análisis de Muestras

Objetivo Especifico 6	Analizar muestras en laboratorio para el diagnóstico de ISAv y *P. salmonis*, de acuerdo a necesidad de la Autoridad sectorial.			
Descripción:	Se realizara el análisis de muestras para el diagnóstico de ISAV y *P. salmonis* según requerimiento de la autoridad.			
Duración:	18 meses			
Descripción de la actividad	**Hitos de la Actividad**	**Estatus**	**Tablas**	**Anexos**
Definición de metodologías de análisis	Metodologías de análisis definidas	Completo		
Análisis de Muestras	Resultados de los análisis	Completo		

Resultados Actividad 1. Metodología de Muestreo y Análisis Para Estudio de Casos Positivos a ISAV

1. Objetivos.

- Establecer procedimientos estandarizados que deberán ser aplicados, en casos positivos a ISAV, para la extracción, manipulación, obtención y envío de peces, sus órganos y los especímenes de *Caligus rogercresseyi* adheridos a ellos, los cuales serán utilizados como muestras biológicas para el diagnóstico y caracterización del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISAV).
- Establecer las medidas de bioseguridad tanto del procedimiento como del lugar en el que se realice el muestreo y del personal involucrado.

2. Muestreo.

a. Personal

Este procedimiento será realizado por funcionarios del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca) o en su defecto por miembros del laboratorio de Genética e Inmunología Molecular de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (GIM-PUCV). En ambos casos se realizará siguiendo las directrices de la LABD/NT1 de Sernapesca.

b. Generalidad de Bioseguridad

Al momento de realizar un muestreo, el muestreador deberá cumplir con todos los filtros sanitarios dispuestos por el centro de cultivo y solicitar el cumplimiento de las medidas de bioseguridad adecuadas

entre una y otra jaula o unidad epidemiológica, tales como desinfección de quiñe, lances, buzos, quechas entre otros.

Si en el centro de cultivo se solicita como medida de bioseguridad, que en la toma de muestras no se utilicen materiales externos al centro (bolsas, hielera, etc.), se deberá acceder a tal petición, siempre y cuando éste proporcione los materiales adecuados. Además, se debe considerar la adecuada disposición del material cortopunzante.

c. Materiales

El muestreador deberá contar con los materiales necesarios para la extracción de las muestras, conforme a la situación e infraestructura disponible para realizar la tarea, poniendo especial énfasis en los materiales necesarios para una correcta trazabilidad, conservación y prevención de la contaminación cruzada de las muestras.

1. Materiales para disección

a. Pinzas anatómicas y quirúrgicas estériles o desinfectadas.
b. Tijeras romas y con punta estéril o desinfectada.
c. Mangos de bisturíes estériles o desinfectados.
d. Hojas de bisturí desechables.
e. Bolsas de basura para retiro de material orgánico e inorgánico.
f. Bolsas plásticas.
g. Alcohol 70º u otro que no afecte la condición de las muestras.
h. Papel absorbente desechable.
i. Depósito con agua limpia.
j. Aspersores con desinfectante (viricida).

2. Materiales para el transporte y mantención de muestras

a. Tubos con preservante de RNA (RNAlater)[1]
b. Tubos con medio de cultivo L15[1]
c. Hielera o caja de polietileno.
d. Hielo o Gelpack (previamente congelados y desinfectados).
e. Gradillas para tubos o láminas de polietileno.
f. Cinta adhesiva.
g. Bolsas plásticas.

[1] Proporcionados por el Laboratorio de Patógenos Acuícolas a las oficinas regionales según indicación de Sernapesca.

3. Materiales para identificación de las muestras

a. Plumón de tinta indeleble ó lápiz grafito.
b. Cinta adhesiva de papel.
c. Baja lengua desechable.

d. Procedimiento de Muestreo

Selección de peces

Previo a la selección de los ejemplares que conformaran las muestras, se deberá recopilar tanto en oficina como en el centro de cultivo los antecedentes productivos y sanitarios necesarios para la planificación del muestreo y la elección de las jaulas o unidades epidemiológicas. Entre los principales antecedentes que se deberán tomar en cuenta se encuentran:

- Ubicación del centro de cultivo (región y ACS)
- Actividad del Centro de cultivo (alevinaje, smoltificación, engorda o reproducción)
- Porcentajes de mortalidad por unidad epidemiológica o jaula de cultivo en las últimas semanas
- Tipo de agua (dulce, mar, recirculación, flujo abierto u otros)
- Peso promedio del grupo de peces
- Signología clínica de la enfermedad (en terreno)
- Diagnóstico previo de la enfermedad
- Presencia de otras enfermedades y tratamientos aplicados
- Grado de infestación por *Caligus rogercresseyi* y baños realizados

Se privilegiará la extracción de peces orillados, moribundos, desorientados o mortalidad fresca del día (de menos de 12 horas) que no haya sido tratada con desinfectante o inactivador. Si el número requerido de ejemplares no se completa con peces en tales condiciones, se deberá completar la muestra con peces elegidos al azar.

Los peces extraídos deben ser dispuestos en contenedores debidamente rotulados, con la identificación de jaula o unidad epidemiológica en forma clara y permanente, asegurando la trazabilidad de las muestras hasta el lugar y momento de la extracción de órganos.

Extracción de muestras

Preferentemente se deben enviar peces vivos o enteros, si esto no es posible, se recomienda que las muestras sean extraídas conforme las siguientes especificaciones. Es obligatorio el uso de guantes durante todo el proceso.

Se debe depositar al pescado sobre un papel absorbente desechable, limpio, seco y antideslizante. A continuación se debe recorrer la superficie del pez en busca de *Caligus rogercresseyi* extrayendo los ejemplares encontrados y depositándolos en un tubo con preservante de RNA debidamente rotulado con la identificación del pez del cual fueron extraídos.

Posteriormente realizar con el bisturí un corte en la zona lateral, paralela a la línea media ventral, desde craneal a caudal; luego realizar un segundo corte desde las branquias hacia la línea media ventral (figura 4).

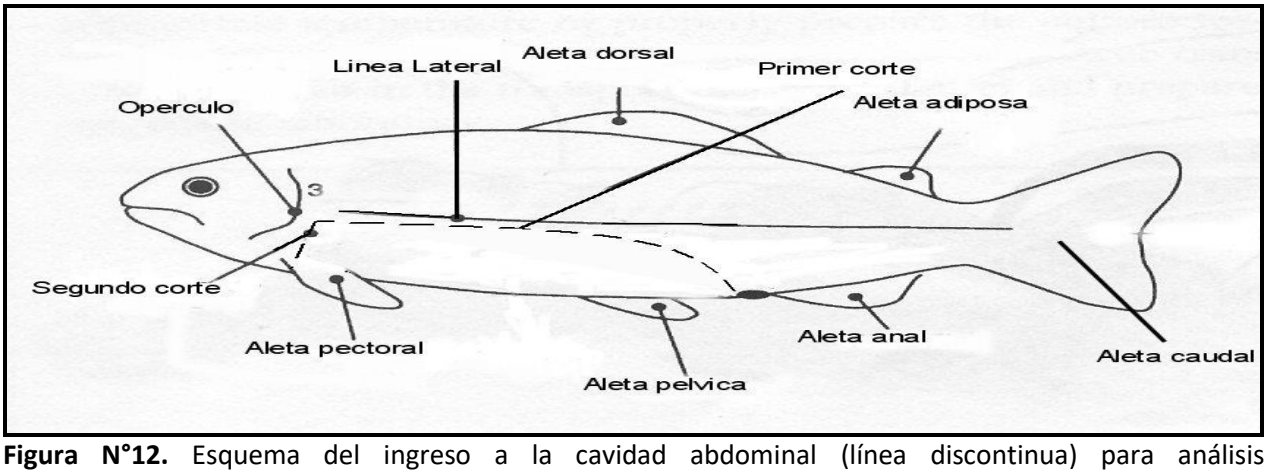


Figura N°12. Esquema del ingreso a la cavidad abdominal (línea discontinua) para análisis anatomopatológico en un pez con simetría bilateral.

Una vez expuestos los órganos por remoción de la pared lateral se debe proceder de la siguiente manera según sea el caso:

qRT-PCR: Extraer trozos de 5 mm^3 de los órganos blanco (riñón, corazón y branquias) (figura 2) y depositarlos en un tubo eppendorf con preservante de RNA.

Cultivo celular: Extraer trozos de 1 cm^3 de los órganos blanco (riñón, corazón y branquias) (figura 2) y depositarlos en un tubo falcon de 15ml con medio de cultivo L15.

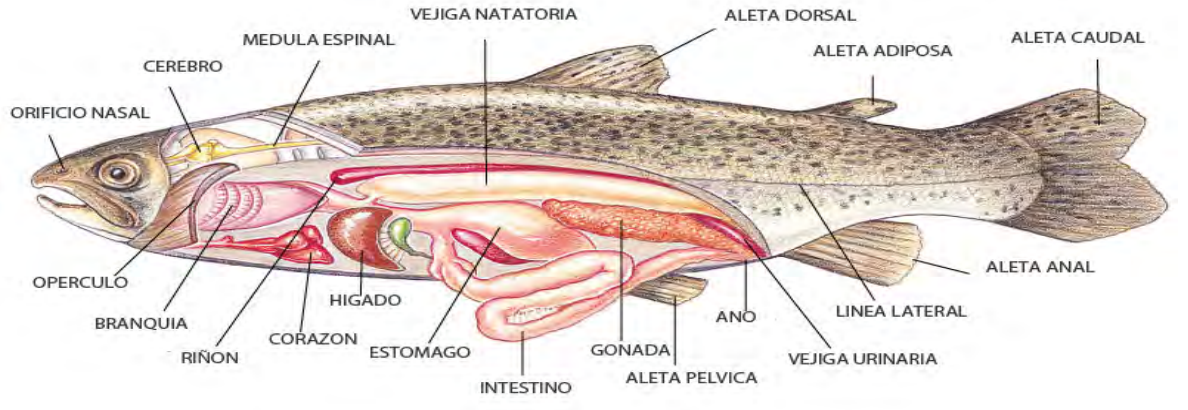


Figura N°13. Anatomía interna de un pez óseo

Consideraciones Importantes.

- Entre muestras de distintas jaulas o estanques se debe proceder a cambiar todo el material desechable (papel absorbente, guantes, hoja de bisturí, etc.) y limpiar y desinfectar la superficie y el material reutilizable (pinzas, mango de bisturí, etc.).
- En el caso de alevines con saco, se debe enviar el pez completo sin saco vitelino y en los casos en que estos se depositen en preservante, se debe abrir la cavidad abdominal y cortar opérculos para asegurar una buena penetración del preservante.
- En los casos en que los peces tengan una talla entre 4 a 6 centímetros se debe extraer todas las vísceras, incluyendo riñones, branquias, corazón, hígado y cerebro.
- En casos de reproductores se debe, además de los órganos, extraer en tubos falcon vacíos gametos del mismo pez (ovas en su fluido ovárico para las hembras y semen para los machos), los cuales se deberán enviar en conjunto con las muestras de órganos y con un rotulo que correlacione los órganos y los gametos del mismo pez. Estas muestras son colectadas sin preservante de ningún tipo, por lo que deben ser despachadas en forma inmediata solicitando a la empresa de transporte servicio overnight, en caso contrario, mantener en congelación hasta su envío.

- En los casos que se muestrean caligus, cada muestra debe contener al menos 10 ejemplares y siempre se debe muestrear los órganos del pez del cual se extrajeron haciendo la correlación entre ambos en la ficha de muestreo.
- Los restos de peces que queden de la toma de muestra, se debe adicionar al tratamiento de mortalidad del centro o disponer como desecho biológico en el laboratorio.

Contramuestras

Es altamente recomendable extraer simultáneamente a las muestras de órganos o tejidos una contramuestra equivalente, la que será almacenada en el laboratorio a -20°C por un periodo mínimo de 3 meses.

Numero de muestras

El número de peces a extraer en cada centro de cultivo deberá considerar en términos generales un mínimo de 3 y un máximo de 30 peces, pero el número exacto debe ser definido en terreno por el profesional de Sernapesca que realiza el muestreo de acuerdo a la presentación de la enfermedad en cada centro de cultivo, tomando las precauciones necesarias para asegurar un buen diagnóstico y el aislamiento de ISAV en cada uno de los muestreos.

Las muestras podrán conformar pooles para su análisis, considerando un máximo de 3 peces por pool, conformado siempre por peces de la misma unidad epidemiológica o jaula. En un mismo muestreo se podrán enviar muestras individuales y pooles siempre y cuando esto sea debidamente reportado en la ficha de muestreo.

Conservación y traslado de las muestras al laboratorio

En los casos en que el tiempo que medie entre la toma de muestra y el inicio de los análisis no supere las 24 horas, las muestras deberán ser mantenidas en condiciones de refrigeración (4-10ºC$\pm$0,5°C o inferior) en contenedores adecuados que permita garantizar la mantención de la cadena de frío.

Cuando el tiempo que medie entre la toma de muestra y el inicio de los análisis supere las 24 horas, ya sea en el laboratorio, centro de cultivo o bien en un lugar especialmente habilitado para ello, se extraerán los órganos, con instrumental de disección, y se introducirán en recipientes con preservante de RNA comercial en la proporción recomendada por el fabricante.

Las muestras deben ser enviadas de forma tal de asegurar su identificación y dispuestas en un doble contenedor (muestras en bolsas y las bolsas dentro de cajas de polietileno). Los contenedores deberán ser debidamente sellados para evitar su alteración o manipulación, lo que deberá ser minuciosamente chequeado a la llegada al laboratorio.

Previo al envío de las muestras deberá completarse el "Formulario de envío de muestras al laboratorio de verificación", enviándose una copia (sin información de origen) junto con las muestras al albratorio y otra copia (con información de origen) a verificación@sernapesca.cl.

Datos de envío

Dirección: Laboratorio de Patógenos Acuícolas, Edificio NBC 1, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Avenida Universidad 330, Curauma, Valparaíso.

Personas a contactar:

- Dannia Giménez (danniagimenez@hotmail.com; Fono: (32) 2274828)
- Álvaro Labra M.(alvaro.labra@pucv.cl; Fono: (09) 920 77 954)

***Las muestras deben ser enviadas de lunes a jueves, en caso contrario congelar a la menor temperatura posible (-20°C) y enviar el lunes siguiente.**

Batería de Técnicas Para el Análisis Diagnóstico de ISAV y la Caracterización Genética de los Virus Detectados

Métodos estandarizados de extracción de ARN.

La extracción de RNA a partir de tejido del salmón es un importante factor en el buen desempeño del sistema de diagnóstico oficial de virus ISA, ya que de esta etapa depende el tener un RNA de buena calidad que permita detectar bajas cargas virales. Este punto ha tomado gran relevancia en el último tiempo, donde se ha detectado cada vez con mayor frecuencia la variante del virus HPR0 que hasta el momento se ha descrito como no patogénico y que generalmente se encuentra en una baja carga viral. Dado lo anterior es de vital importancia que en este proceso se utilicen procedimientos debidamente optimizados, estandarizados y validados con el fin de lograr resultados comparables, uniformes y que sean independientes del cuándo o quién realice la extracción.

Homogenización de las muestras

La homogenización de una muestra consiste en obtener una "pasta" uniforme sobre la cual se agregarán los reactivos necesarios para la obtención de RNA. El sistema de homogenización empleado por el laboratorio de Patógenos Acuícolas actualmente es automatizado y realizado por un equipo especializado llamado Magnalyser® Roche[2]. Este equipo, permite homogenizar el tejido de acuerdo a disrupción mecánica con esferas de material no adherente las cuales están dentro de un tubo de homogenización, el tejido macerado es previamente pesado y sobre ese peso se agrega un volumen definido de buffer de lisis, disminuyendo la incertidumbre del volumen de trabajo de esta forma se uniforman las condiciones de extracción.

La homogenización por el método descrito es sencilla si se trata de matrices de baja complejidad, pero la situación cambia cuando se trata de analizar tejidos de alta complejidad como las ovas, semen, fluido

[2] Magnalyser® Roche, produce una agitación multidirecciónal a 6500 revoluciones por minuto. La muestra es colocada en un tubo con perlas de cerámica de 1,4 mm, que al ser agitada produce una eficiente disrupción y homogenización del tejido, aumentando la eficiencia en que el buffer de lisis actúa.

ovárico y/o seminal. Dado lo anterior para este tipo de matrices es necesario incluir un solvente orgánico como el Trizol LS®, que permita separar el contenido lipídico de la matriz, en el proceso de homogenización.

1.1. Extracción de RNA total

5. Una vez realizada la homogenización se realizará la extracción de RNA total, mediante el uso de un kit comercial. Para esto se proponen dos alternativas de kits: a) E.Z.N.A. Total RNA Kit I de Omega bio-tek® y b) Rneasy Mini KiT de Qiagen®, ambos kits demostraron resultados acordes con lo esperado en el ensayo de evaluación realizado por nuestro laboratorio el año recién pasado (Informe Ensayo de Comparación Inter-Laboratorio para Evaluar la Técnica de Extracción de ARN, PUCV 2014).

Métodos estandarizados de análisis para la detección y caracterización de ISAV.

Se realizará el siguiente esquema de análisis de muestras (esquema 1): al recibir las muestras se les realizará la homogenización y extracción de ARN total utilizando la metodología definida en el punto anterior y a este se le realizará un análisis por qRT-PCR para detectar la presencia de ISAV utilizando para ello la metodología oficial (Snow *et al.,* 2006) y adicionalmente una metodología propia del GIM-PUCV también dirigida al segmento 8 del virus. Adicionalmente y para todas las muestras se realizará la amplificación y detección del factor de elongación 1 alfa (ELF-1α). Los resultados de estos análisis serán plasmados en un informe de resultados que será enviado al Sernapesca mediante correo electrónico.

Las muestras que resulten positivas al análisis anterior, es decir, las muestras en que se detecte ISAV serán sometidas a un análisis específico para detectar la presencia de la variante HPR0 también mediante qRT-PCR, la que incluye la repetición de la detección del segmento 8 más la detección especifica del segmento 6 de la variante en cuestión. Los resultados de estos análisis serán plasmados en un segundo informe de resultados que será enviado al Servicio mediante correo electrónico.

Posteriormente, por recomendación del laboratorio y a petición expresa del Servicio algunas de estas muestras con resultados positivos, serán sometidas a análisis complementarios con la finalidad de caracterizar el virus detectado, comenzando mediante un proceso de síntesis de cDNA para los segmentos virales 5 y 6, los cuales están directamente relacionados con la patogenicidad del virus. A partir de este cDNA se enviarán muestras para secuenciación en Macrogen Corea. Una vez recibidos los resultados de las secuencias estas serán sometidas a un análisis bioinformático exhaustivo, en el cual se identificarán

secuencias y compararán con las secuencias de ISAV previamente publicadas en las bases de datos y las que posee el laboratorio de casos reportados.

Adicionalmente si Sernapesca asi lo requiere se podrán someter a las muestras a otros análisis complementarios como lo son el HRM y DGGE y de ser necesario la o las bandas resultantes del DGGE también serán secuenciadas.

Cabe mencionar que en paralelo a los análisis complementarios mencionados y con la finalidad de aislar el virus en cada caso para incluirlo en el cepario de referencia, se infectaran líneas celulares, alternando entre las líneas RTS-11, ASK y SHK, según sea necesario. Una vez que se distinga efecto citopático (ECP) en los cultivos, se corroborará la presencia de ISAV mediante un qRT-PCR para segmento 8 y posteriormente este virus se enviará a secuenciar y a microscopía según necesidad.

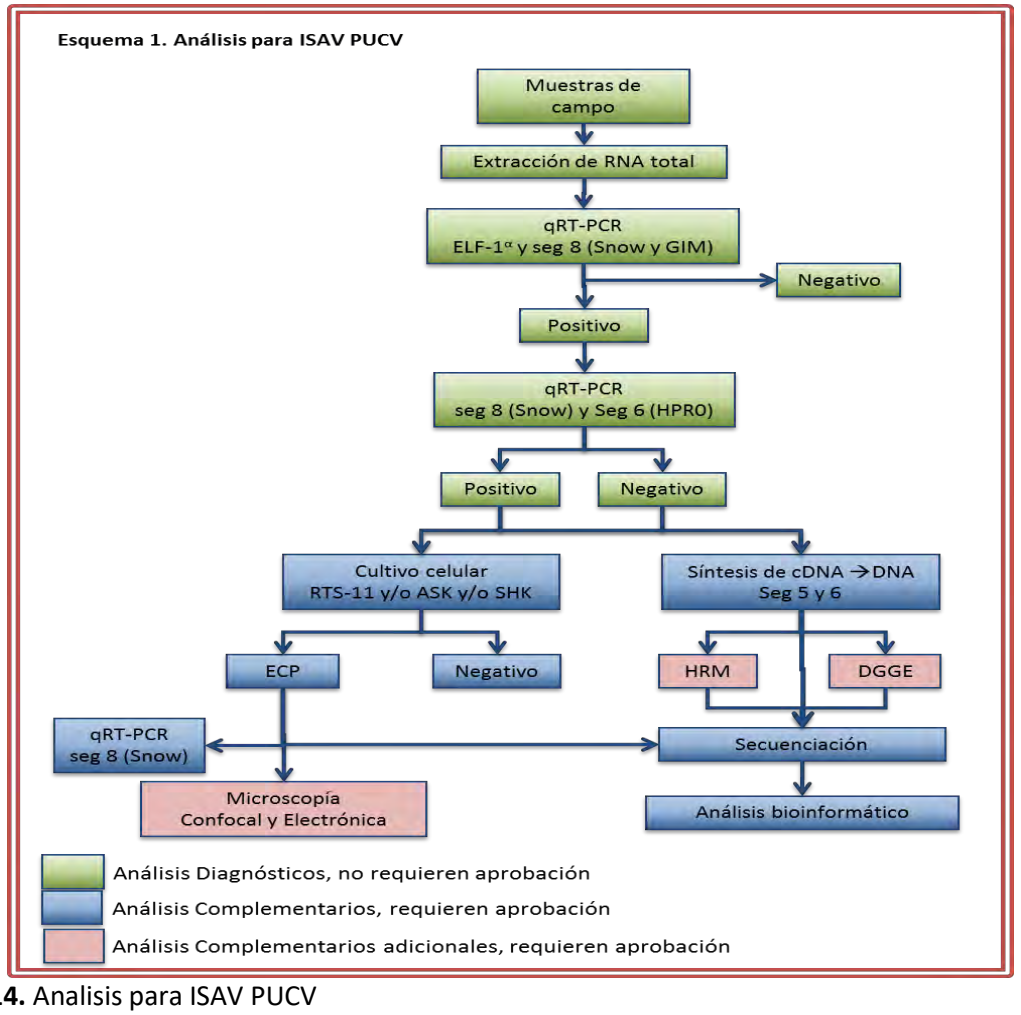


Figura N°14. Analisis para ISAV PUCV

Cabe mencionar que el esquema de análisis es una guía a seguir, la que podrá ser modificada de acuerdo a los resultados de cada ronda de análisis.

Resultados Actividad 2. Resultados de muestras analizadas durante el proyecto

Según la necesidad de la autoridad sectorial se han analizado hasta la fecha 247 grupos de muestras codificadas de las cuales se desconoce la precedencia a excepción de la región, en el detalle se contabilizan un total aproximado de 1214 muestras, lo que se traduce en ± 4492 análisis si se considera que cada muestra corresponde a 3 análisis (Snow, GIM y ELF) y a eso se le agrega un 70% de análisis específicos para ISAVHPR0.

A medida que fueron recibidas en el laboratorio se aplicó el procedimiento de análisis de muestra acordado y se ha ido generando y entregando los informes de resultados correspondientes.

En la siguiente tabla se presenta un resumen de los grupos de muestras recibido y/o analizados en el periodo comprendido entre el inicio y el fin del proyecto y los detalles de cada uno de estos análisis se pueden ver en cada uno de los informes de resultado correspondientes, los que forman parte del anexo 2.

Tabla Nº 47**.** Muestras recibidas y/o analizadas en el periodo de ejecución del proyecto (noviembre 2015 a 20 de diciembre de 2018).

RESULT						
MES/AÑO	**COD_SERNAP**	**COD_GIM**			**REGIÓN**	**INF_ASOC**
nov-15	21AL	19890	-	19908	X	540 - 541HPR0 - Isec43
nov-15	DF-37	19910	-	19956	X	542
nov-15	AB-39	19958	-	19962	XI	543 - 544HPR0 - Isec44
nov-15	AB-52	19970	-	19972	XI	545 - HPR0546
ene-16	PA-04	19986	-	19990	XI	550
mar-16	LF02	19998	-	20000	X	551
abr-16	LM66	20010	-	20026	S/I	553-554HPR0
may-16	HR-108	20028	-		XI	555-556HPR0
jun-16	CL	20040	-	20054	XI	C*

jun-16	HR-133	20056	-		XI	557-558HPR0
jun-16	HR-132	20058	-	20062	XI	559-560HPR0
jun-16	TR14	20064	-		X	561-562HPR0
jul-16	MP-174	20066	-		XI	563-567HPR0
jul-16	EM-175	20068	-	20072	XI	564-568HPR0
jul-16	MP-173	20074	-		XI	565
jul-16	AZ-172	20076	-	20078	XI	566-569HPR0
ago-16	EP-199	20086	-		S/I	C*
ago-16	EP-200	20088	-		S/I	C*
ago-16	EP-194	20090	-	20094	S/I	C*
ago-16	EP-195	20096	-	20100	S/I	C*
ago-16	EP-196	20102	-	20104	S/I	C*
ago-16	AB00	20106	-	20130	X	570-571HPR0
ago-16	CD00	20132	-	20134	X	572-573HPR0
sept-16	MP-211	20144	-		XI	C*
sept-16	MP-213	20146	-		XI	C*
sept-16	MP-212	20148	-		XI	C*
sept-16	MP-125	20150	-		XI	C*
sept-16	MP-216	20152	-		XI	C*
sept-16	MP-217	20154	-		XI	C*
sept-16	MP-218	20156	-		XI	C*
sept-16	MP-214	20158	-		XI	C*
sept-16	CL	20160	-	20186	XI	C*
sept-16	GF22	20188	-		X	C*
sept-16	ER15	20190	-		X	C*
sept-16	FT88	20192	-		X	C*
sept-16	IJ99	20194	-		X	C*
sept-16	AL77	20196	-		X	C*
sept-16	TV66	20198	-		X	C*
sept-16	LG55	20200	-		X	C*
nov-16	MT-285-1	20202	-	20209	XI	574 - 575HPR0
dic-16	HR-298-1	20352	-	20357	XI	576 - 577HPR0 - Isec45
dic-16	DGS-299-1	20358	-	20359	XI	578 - 579HPR0

dic-16	PZ01	20360	-		X	580 - 581HPR0
dic-16	HR-304-1	20361	-	20373	X	582 - 583HPR0
dic-16	ZZ-310-1	20374	-	20385	XI	584 - 585HPR0
dic-16	CQ-01-1	20386	-	20417	S/I	586 - 587HPR0
dic-16	PA-314-1	20424	-	20429	XI	588 - 589HPR0
dic-16	HR-322-1	20438	-	20445	XI	590 -591HPR0
dic-16	PA-315-1	20446	-	20451	XI	592 - 593HPR0
dic-16	PA-316-1	20452	-	20457	XI	594 - 595HPR0
dic-16	DM-313-1	20458	-	20459	XI	596 - 597HPR0
dic-16	MP-308	20460	-	20461	XI	598 -598HPR0
dic-16	MP-309	20462	-	20463	XI	600 - 601HPR0
dic-16	AR77-1	20464	-	20483	X	602
dic-16	HF-323-1	20484	-	20513	XI	603 - 604HPR0 - Sec46
ene-17	EF00-1	20560	-	20565	XI	605 - 609 HPR0
ene-17	HR-333-1	20566	-	20575	XI	606
ene-17	AZ-332-1	20582	-	20587	XI	607 - 610 HPR0
ene-17	AZ-334-1	20588	-	20605	XI	608 - 611 HPR0
ene-17	DE16-1	20606	-	20611	X	612 - 613 HPR0
ene-17	HR-337-1	20612	-	20617	S/I	614 - 616 HPR0
ene-17	PC67 1	20622	-	20651	X	615 - 617HPR0
ene-17	C(-)C-6 HRS	20676	-	20701	S/I	618
ene-17	EL-340	20672	-	20673	XI	619 - 620HPR0
ene-17	AZ-341-1	20674	-	20675	XI	621 - 622HPR0
ene-17	JE-346-1	20702	-	20711	XI	623 -625HPR0
ene-17	CO-347-01	20712	-	20713	XI	624 - 626HPR0
ene-17	C(-)D TOTAL	20874	-	20881	S/I	647
ene-17	CEGT-1	20714	-	20745	X	627 - 628HPR0
feb-17	JE-357-1	20752	-	20761	S/I	629 - 630HPR0
feb-17	JA80-1	20762	-	20769	S/I	631 - 632HPR0
feb-17	JE-378-1	20770	-	20777	S/I	633 - 634HPR0
feb-17	MF-371-1	20778	-	20789	S/I	635 - 636HPR0
feb-17	EP-395-1	20796	-	20803	S/I	637
feb-17	EP-396-1	20804	-	20817	S/I	638

feb-17	MF-390-1	20818	-	20865	S/I	639 - 642HPR0 - 644HPR0
feb-17	CL-392	20866	-	20867	S/I	640 - 643
feb-17	AZ-07-1	20868	-	20873	S/I	641
feb-17	MF-402-1	20882	-	20891	X	645 - 646HPR0
mar-17	MF-405-1	20892	-	20905	X	647 - 649HPR0 - Sec47
mar-17	MF-406-1	20906	-	20909	X	648 - 650HPR0
mar-17	EP-408-1	20910	-	20923	X	651 - 653HPR0
mar-17	EP-407-1	20924	-	20929	X	652 - 654HPR0
mar-17	MA78-01	20930	-	20933	S/I	655 - 657HPR0
mar-17	EP-412-1	20934	-	20951	X	656 - 658HPR0
mar-17	PA066	20954	-	20959	S/I	659 - 669HPR0
mar-17	PLS015	20960	-	20961	S/I	660 - 670HPR0
mar-17	MA58-01	20962	-	21001	S/I	661 - 671HPR0
mar-17	HJ52-01	21002	-	21003	S/I	662 - 672HPR0
mar-17	AC75-1	21004	-	21005	S/I	663 - 673HPR0
mar-17	MN96-1	21006	-	21007	S/I	664 - 674HPR0
mar-17	OK69-01	21008	-	21009	S/I	665 - 675HPR0
mar-17	CK54-01	21010	-	21015	S/I	666 - 676HPR0
mar-17	MF-415-1	21016	-	21027	S/I	667 - 677HPR0
mar-17	MF-416-1	21028	-	21039	S/I	668 - 678HPR0 - Sec48
mar-17	1A	21040	-	21051	S/I	679 - 680HPR0
abr-17	SERN 01	21052	-	21079	XII	681
abr-17	SERN 01	21052	-	21079	XII	682_Psal - 682-1_Psal
abr-17	S.I.	21080-2	-	21101-2	XII	684_Psal
abr-17	MF-423-1	21102	-	21123	S/I	685 - 689HPR0
abr-17	CL-421-1	21124	-	21135	S/I	686 - 690HPR0
abr-17	MF-419-1	21136	-	21145	S/I	687 - 691HPR0
abr-17	MF-420-1	21146	-	21155	S/I	688 - 692HPR0
abr-17	MF-430-1	21188	-	21205	X	693 - 693HPR0
abr-17	MF-426-1	21206	-	21213	X	694 - 694HPR0
abr-17	CL-428-1	21214	-	21215	X	695 - 695HPR0
abr-17	MF-427-1	21216	-	21217	X	696 - 696HPR0
may-17	CL-434-1	21236	-	21239	XI	697

may-17	CL-438-1	21240	-	21247	XI	698
may-17	ND-01-01	21252	-	21261	X	699 - 699HPR0
may-17	MF-463-1	21262	-	21263	X	700 - 700HPR0
may-17	CL-464-1	21264	-	21265	X	701 - 701HPR0
may-17	NAC01	21266	-	21273	XII	702_Psal
may-17	SF92-1	21274	-	21279	X	703 - 703HPR0
may-17	HR-466-1	21280	-	21281	XI	704 - 704HPR0 - Sec49
may-17	MP-468	21282	-	21283	X	705
may-17	CL-479-1	21284	-	21285	X	706
may-17	MF-477-1	21286	-	21293	X	707 - 707-1 - 707-1HPR0
may-17	GR00-1	21294	-	21311	X	708 - 708HPR0 - Sec50
may-17	WQ11-1	21312	-	21317	X	709 - 709HPR0
may-17	1	21318	-	21323	XIV	710
may-17	307 - 305 - 301	21324	-	21333	S/I	711_Psal
jun-17	ET00-1	21334	-	21353	X	712
jun-17	E 03	21354	-	21359	S/I	713
jun-17	DB981	21360	-	21369	X	714 - 714HPR0 - Sec51
jun-17	AD-492	21370	-	21371	S/I	715 - 715HPR0
jul-17	LA00-1	21372	-	21379	S/I	716
jul-17	LO00-1	21380	-	21381	S/I	717
jul-17	LE00-1	21382	-	21385	S/I	718
jul-17	JE-497-1	21386	-	21388	S/I	719 - 719-1 - 719-1HPR0
jul-17	HE33	21390	-	21436	X	720 - 720HPR0
jul-17	AD-500	21438	-	21438	S/I	721 - 721HPR0
jul-17	LD01-1	21440	-	21458	S/I	722 - 722HPR0
jul-17	QQ77-1	21460	-		X	723 - 723HPR0
jul-17	180729-1	21468	-	21472	XIV	724
jul-17	HP99	21474	-		X	725 - 725HPR0
jul-17	JE-508-1	21476	-	21481	X	726 - 726HPR0
jul-17	IL-509-101	21482	-	21487	X	727 - 727HPR0
jul-17	CC77-1	21488	-	21490	X	728 - 728HPR0 - Sec52
jul-17	AA11-01	21492	-	21500	X	729 - 729HPR0
ago-17	BB11-01	21502	-	21506	X	730 - 730HPR0

ago-17	XX01-1	21508	-	21514	X	731 - 731HPR0
ago-17	M1	21516	-	21520	XIV	732
ago-17	AC13-1	21522	-	21530	X	733 - 733HPR0 - Sec55
ago-17	MM1	21532	-	21538	X	734 - 734HPR0
ago-17	WD01	21540	-		X	735 - 735HPR0
ago-17	HF01-1	21542	-	21546	X	736
ago-17	PP55-1	21548	-	21554	X	737 - 737HPR0
ago-17	TK20.8-1	21556	-	21558	XIV	738
ago-17	MM01-1	21560	-	21562	X	739
ago-17	BB01-1	21564	-	21568	X	740
ago-17	HC00-1	21570	-	21580	X	741 - 741HPR0
ago-17	RR01-3	21584	-	21584	S/I	742 - 742HPR0 - Sec53
ago-17	MM01-1	21586	-	21590	S/I	743 - 743HPR0
ago-17	WW01-1	21592	-	21602	S/I	744
sept-17	HR-511-1	21616	-	21618	XI	745
sept-17	HR-510-1	21604	-	21614	XI	746_ Psal
sept-17	ER-512 11133 ISA 2	21620	-	21624	XI	747 - 747HPR0 - Sec54
sept-17	CM-01-1	21626	-	21632	S/I	748
sept-17	LP01-1	21634	-	21646	S/I	749
sept-17	LI77-1	21648	-	21654	S/I	750
sept-17	ZZ01-1	21656	-	21660	S/I	751
sept-17	SS22-1	21662	-	21686	S/I	752 - 752HPR0
sept-17	ER-513-1	21688	-	21706	S/I	753 - 753HPR0
sept-17	MP-514-1	21708	-	21716	S/I	754 - 754HPR0
sept-17	PA-518-1	21718	-		S/I	755 - 755HPR0
sept-17	FV88-1	21720	-	21724	X	756
sept-17	AZ-520-1	21726	-	21730	S/I	757
sept-17	CJ04-1	21732	-	21736	S/I	758
sept-17	AR09-1	21738	-	21742	S/I	759
sept-17	AN12-1	21744	-	21748	S/I	760
sept-17	1-016	21750	-	21756	S/I	761
sept-17	JE-521-1	21758	-	21760	S/I	762
sept-17	PP77-1	21762	-	21766	S/I	763 - 763HPR0

sept-17	SS01-1	21768	-	21772	S/I	764
sept-17	MM01-1	21774	-	21776	S/I	765
sept-17	VV01-1	21778	-		S/I	766
sept-17	JE-523-1	21890	-	21894	S/I	767 - 767HPR0
sept-17	HR-528-1	21896	-	21898	S/I	768
sept-17	HR-527-1	21900	-	21902	S/I	769
sept-17	PA-526-1	21904	-	21908	S/I	770
sept-17	PA-525-1	21910	-	21914	S/I	771
sept-17	PX01-1	21916	-	21920	S/I	772 - 772HPR0
sept-17	VR01-1	21922	-	21926	S/I	773 - 773HPR0
sept-17	CS08-1	21928	-	21934	S/I	774
sept-17	CS10-1	21936	-	21940	S/I	775 - 775HPR0
sept-17	KF01-1	21942	-	21946	S/I	776
sept-17	SC11-1	21948	-	21952	S/I	777
sept-17	CS12-1	21954	-	21958	S/I	778 - 778HPR0
sept-17	SC09-1	21960	-	21964	S/I	779
sept-17	JC78-01	21966	-	21976	S/I	780 - 780HPR0
sept-17	NJ98-01	21978	-	21980	S/I	781 - 781HPR0
sept-17	JN63-01	21982	-	22002	S/I	782 - 782HPR0
oct-17	HM04-1	22004	-	22008	S/I	783 - 783HPR0
oct-17	XX22-1	22010	-	22014	S/I	784
oct-17	KK55-1	22016	-	22020	S/I	785 - 785HPR0
oct-17	WW11-1	22022	-	22026	S/I	786
oct-17	WW22	22028	-	22031	S/I	787
oct-17	EE33-1	22032	-	22036	S/I	788 - 788HPR0
oct-17	32-1	22038	-	22046	VIII	789 - 789Rep - 789HPR0 - 789HPR0 Rep
oct-17	AA55-1	22050	-	22058	X	790 - 790HPR0
oct-17	JE-533-1	22060	-	22064	XI	791 - 791HPR0
oct-17	SD02-1	22066	-	22070	S/I	792 - 792HPR0
oct-17	HH55-01	22072	-		X	793
oct-17	FH84-1	22074	-	22078	S/I	794 - 794HPR0 - Sec56
oct-17	RR01-1	22080	-	22084	S/I	795 - 795HPR0
oct-17	ÑÑ77-01	22086	-	22090	S/I	796

oct-17	MH02-1	22092	-	22096	S/I	797
oct-17	MH01-1	22098	-	22102	S/I	798
oct-17	LÑ87-1	22104	-	22106	S/I	799 - 799HPR0
oct-17	ISAPL01	22108	-	22116	XII	800 - 800HPR0
nov-17	HM04-1	22118	-	22122	S/I	801
nov-17	ZL01-01	22124	-	22128	S/I	802
nov-17	TCMA2	22130	-	22136	X	803 - 803HPR0
nov-17	VI10	22138	-		S/I	804 - 804HPR0
nov-17	OC20-1	22140	-		S/I	805 - 805HPR0
nov-17	516-1	22142	-	22146	VIII	806
nov-17	ISAUS01	22172	-	22180	XII	807 - 807HPR0
nov-17	M1	22182	-	22186	XIV	808
nov-17	JE-544-1	22188	-	22198	S/I	809 - 809HPR0
nov-17	PC01-1	22200	-	22204	S/I	810 - 810HPR0
nov-17	XX11-1	22206	-	22210	S/I	811 - 811HPR0
nov-17	MM98-1	22212	-	22216	S/I	812 - 812HPR0
nov-17	SS88-1	22218	-	22220	S/I	813
nov-17	GH11-1	22222	-		S/I	814
dic-17	SSII-1	22224	-	22228	S/I	815
dic-17	SD11-01	22230	-	22232	S/I	816 - 816HPR0
dic-17	ZZ11-1	22234	-	22238	S/I	817 - 817HPR0
dic-17	M1	22240	-	22244	XIV	818
ene-18	M1	22246	-	22250	S/I	819
ene-18	AP09-1	22252	-	22256	S/I	820
ago-18	KK-613	22258	-		XI	821 - 821HPR0 – Sec57
ago-18	KK-614-1	22260	-	22262	XI	822 - 822HPR0 – Sec58
nov-18	DW-01	22264	-	22268	XII	823
nov-18	AK-660-1	22270	-	22274	X	824
nov-18	MA36-01	22276	-		X	825
dic-18	HPG 01	22278	-	22280	X	826_Psal
dic-18	EP-671-1	22282	-	22284	XII	827
dic-18	EP-667-1	22286	-		XII	828 - 828HPR0
dic-18	FF33-01	22288	-	22296	X	829 - 829HPR0

dic-18	ER43-1	22298	-	22302	S/I	830
dic-18	TR22-01	22304	-	22308	X	831
dic-18	EP-690-1	22310	-	22314	X	832 - 832HPR0
dic-18	EP-692-1	22316	-	22318	X	833

C*: Muestras de Caligis rogercresseyi utilizadas para las actividades 1.1, 1.2, 1.3 y 1.4 del objetivo especifico 2 del Proyecto FIPA. Estas muestras fueron analizadas en conjunto una vez que se obtuvo el número necesario de muestras para el objetivo de la actividad correspondiente. Asimismo, es importante mencionar que los resultados no se consignaron en un informe de resultados propiamente tal, pero fueron incluidos en el presente informe en las actividades correspondientes.

Mayores antecedentes de la procedencia de las muestras pueden ser solicitados a Sernapesca usando para ello el código Sernapesca indicado en la tabla 1. En el anexo 2 se pueden ver los informes de resultados respectivos.

Objetivo Especifico 7. Capacitación de Profesionales en Diagnóstico Molecular de ISA y *P. salmonis*

Objetivo Especifico 7	Realizar una capacitación de profesionales en diagnóstico clínico o molecular de la enfermedad ISA y *P. salmonis*.			
Descripción:	Esta etapa comprenderá una fase capacitación para personal tanto de Subpesca como de Sernapesca.			
Duración:	7 meses			
Descripción de la actividad	**Hitos de la Actividad**	**Estatus**	**Tablas**	**Anexos**
Diseño y propuesta de un programa de capacitación	Programa de capacitación	Completo		
Elaboración y selección del material de apoyo	Plataforma con material de apoyo disponible para los alumnos	Completo		
Desarrollo de la actividad teórica	Lista de asistentes	Completo		
desarrollo de la actividad practica	Lista de asistentes	Completo		
Evaluación	Notas	Completo		

Actividad 1. Diseño y propuesta de un programa de capacitación

El curso que tendrá una duración total de 48 horas lectivas estará a cargo del Dr. Sergio Marshall G., docente de amplia y reconocida trayectoria y colaboraran el Sr. Alvaro Labra M. y la Srta. Dannia Giménez.

Esta actividad se realizaría en dos modalidades: la primera exclusivamente teórica, de 16 horas de duración, donde se darán a conocer los aspectos básicos de la biología de virus y bacterias, manteniendo el foco en ISAV y PS, así como los aspectos básicos de los diagnósticos moleculares para estos microorganismos.

En la segunda modalidad que tendrá una duración de 24 horas, se considera el trabajo práctico en el laboratorio donde se realizarán procedimientos de extracción y amplificación de material genético, cultivos bacterianos y virales, tinciones e inmunomarcacion, entre otras cosas. Finalmente habrá una jornada de interpretación y discusión de resultados para terminar con una evaluación escrita.

Actividad 2. Elaboración y selección del material de apoyo

Para facilitar el acceso a los resultados de esta actividad se decidió crear una carpeta virtual compartida con los profesores y eventuales alumnos en la plataforma gratuita ofrecida por Google Drive, la cual solo tiene como requisito el crear o usar una cuenta de correo de Gmail para acceder.

La modalidad será la siguiente: Una vez que Sernapesca y Subpesca establezcan la lista de participantes del curso, deberán hacer llegar al GIM-PUCV un listado con los nombres completos, número de celular y correo electrónico (Gmail) de cada uno de los asistentes, de esa manera se les enviará un correo electrónico con la invitación a participar de esta plataforma en la que estará disponible todo el material de apoyo y complementario del curso.

Dicha carpeta a esta creada y si la contraparte técnica lo solicita, de la misma forma antes mencionada (correo electrónico de Gmail), se le puede dar acceso desde ya para su revisión.

Resultados actividades 1 y 2. Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

Descripción.

La actividad se enmarca dentro de las actividades del Proyecto FIP N° 2015-12, y tiene como objetivo general la realización de cursos de formación para el personal de Subpesca y Sernapesca que incluye conocimientos sobre patologías específicas de salmónidos y sus técnicas de diagnóstico.

Curso.

- Profesor responsable: Dr. Sergio Marshall
- Profesores colaboradores: Alvaro Labra, Dannia Giménez, Cristian Muñoz y Gabriela Carril
- Duración del Curso: 2 días, total de 16 horas lectivas
- Número de alumnos: 5
- Lugar: Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC, Campus Curauma, Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Objetivo General

Conocer de forma teórica y práctica las técnicas actuales utilizadas en el diagnóstico de patógenos de Peces, relacionados específicamente con el Diagnóstico del virus ISA y de *P. salmonis*.

Objetivos Específicos

1. Realizar un barniz teórico de biología celular, virología, bacteriología y diagnóstico.
2. Realizar el procedimiento de extracción de RNA y DNA a partir de tejidos de peces infectados con virus ISA y *P. salmonis*.
3. Realizar el procedimiento de qRT-PCR de muestras de RNA extraidas a partir de tejidos infectados de virus ISA y *P. salmonis*.
4. Comprender la utilización de softwares de interpretación de PCR en tiempo real.
5. Realizar cultivos bacterianos que permitan el aislamiento de *P. salmonis*.

Metodología de trabajo:

Las clases teóricas serán presenciales para todo el grupo. La metodología de enseñanza aplicada para el alumno será fundamentalmente de carácter activo y participativo en donde:

- El alumno recibirá una carpeta digital con material de apoyo de los temas a tratar durante el desarrollo de la capacitación, para que el aprendizaje sea expedito en el desarrollo del curso.
- Los Relatores realizarán clases expositivas y talleres prácticos basados en lecturas complementarias y el material revisado durante las clases expositivas.
- Los Relatores utilizaran para sus clases expositivas un documento Power Point, el cual será incluido en la carpeta virtual como material de apoyo.
- Se presentarán imágenes audiovisuales referentes a los temas expuestos.
- Tanto la parte teórica como la práctica irá acompañada de una revisión bibliográfica y discusión de papers y protocolos.

Evaluación.

- Se requiere un 85% mínimo de asistencia
- La aprobación del curso requerirá que el alumno cumpla con la rendición de una prueba escrita para medir el nivel de comprensión de los contenidos analizados.

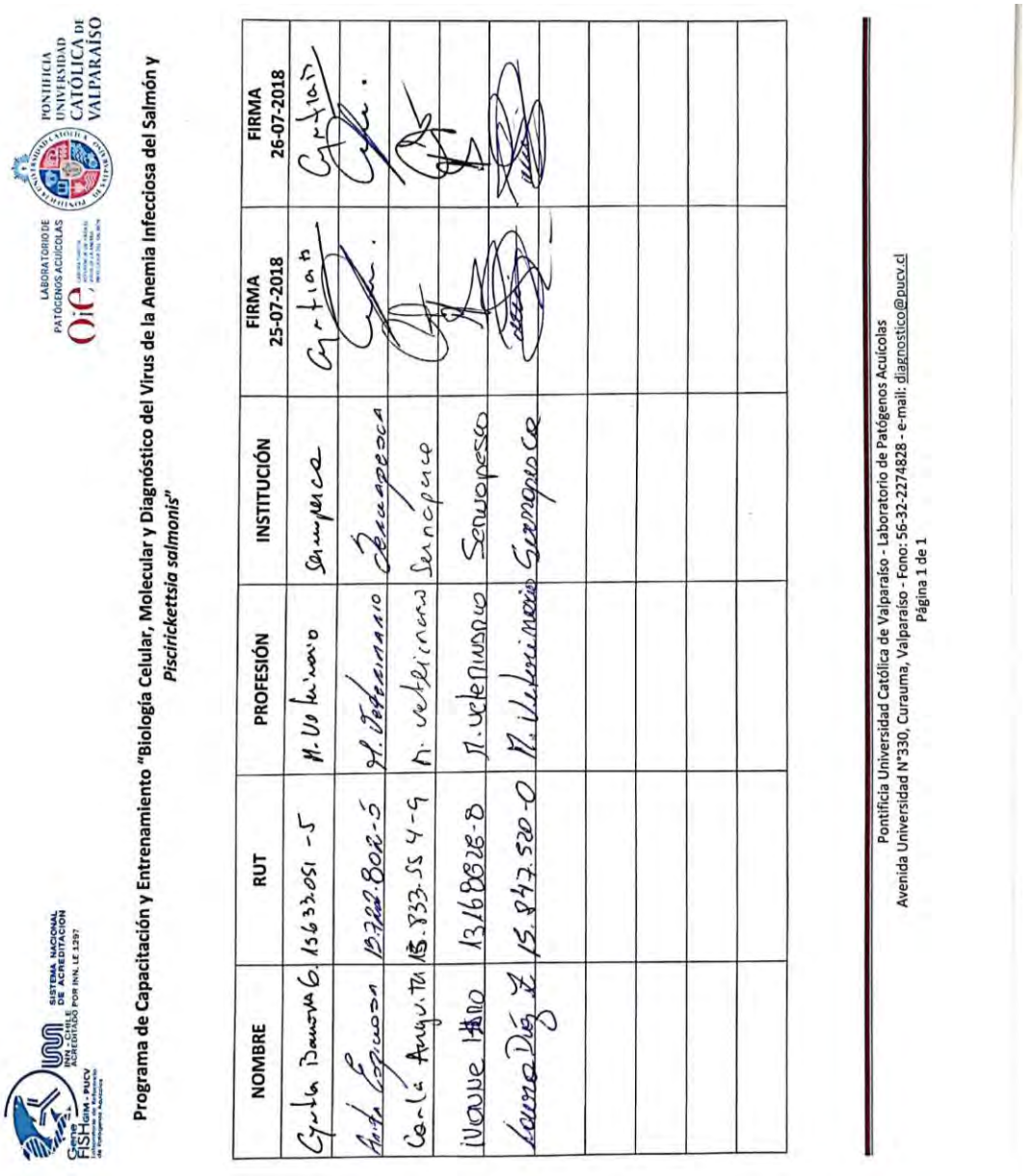
Resultados Actividades 3, 4 y 5.

Para lleva a cabo el programa de capacitación propuesto se coordinó tanto con Subpesca como con Sernapesca fechas ideales para asegurar la máxima asistencia posible al curso, y finalemente se llego al acuerdo que las fecha seria los días 25 y 26 de julio del presente año, como consta en los acuerdos de la sexta reunión de coordinación FIPA 2015-12.

Contamos con la asistencia al curso de 5 alumnos, todos ellos funcionarios del Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura (Sernapesca), específicamente dos de Dirección Nacional, 2 de la oficina regional de Puerto Montt y uno perteneciente a la oficina regional de Puerto Aysén.

Cabe mencionar que todos ellos cumplieron con el 100% de asistencia y realizaron las actividades prácticas del curso, además aprobaron de excelente forma la evaluación teórica que se realizó una vez finalizado el curso.

A continuación, se aprecia el registro de asistencia correspondiente y en el anexo 6 se presentan los resultados de las evaluciones finales.



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO
LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION INN - CHILE ACREDITADO POR INN, LE 1297
Gene FISH GIM - PUCV Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

NOMBRE	RUT	PROFESIÓN	INSTITUCIÓN	FIRMA 25-07-2018	FIRMA 26-07-2018
Cynthia Daniela G.	15633.051-5	M. Veterinaria	Sanpedro		
Ana Espinoza	17.202.802-5	M. Veterinaria	Cermaq		
Carla Angulo M.	15.833.554-9	M. veterinaria	Sunchile		
Ivonne Haro	13.168.828-8	M. Veterinaria	Servipesca		
Laura Díaz K.	15.947.520-0	M. Veterinaria	Sunchile		

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso - Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso - Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@pucv.cl
Página 1 de 1

Análisis y discusión de resultados

Objetivo 1.

Respecto a las fichas técnicas elaboradas, se puede concluir para ambos patógenos que aún queda mucho camino por recorrer en términos de investigación, validación y comprobación de muchos aspectos de la biología de ambos microorganismos.

Para el caso puntual del ISAV las brechas de conocimiento detectadas y consideradas como fundamentales son:

- Comprobación de la transmisión vertical de la enfermedad, ya que hasta ahora solo sabemos que existe virus infectivo dentro de la ova, sin embargo, no sabemos si este va a ser capaz de producir un alevín infectado.
- Rol de la variante HPR0 (apatógena) como fuente o reservorio de variantes delecionadas o patógenas.
- Otros marcadores de virulencia. Hasta este momento todas las investigaciones realizadas centran sus esfuerzos en regiones específicas de los segmentos virales 5 y 6, dejando de lado el resto de los segmentos genómicos del virus, donde podrían perfectamente existir otros marcadores de virulencia.
- Aspectos de la biología que no permiten que la variante HPR0 se replique eficientemente en cultivos celulares.
- Otros reservorios. Si bien la prevalencia de la variante apatogena del virus puede explicar la aparición de algunos casos de ISA, existe también, un número de importante de casos en los que no se ha evidenciado un historial previo de ISAV HPR0, lo que hace que epidemiológicamente haya algunas contradicciones con la teoría de la evolución de apatogeno a patógeno. Lo anterior podría deberse a la existencia de reservorios aún desconocidos del virus.

Para el caso puntual del *P. salmonis* las brechas de conocimiento detectadas y consideradas como fundamentales son:

- Factores y marcadores de virulencia de la bacteria.

- Factores que afectan la eficiencia de tratamientos y vacunas.
- Transmisión vertical y su importancia real en la epidemiologia de la enfermedad.
- Reservorios y huéspedes hasta ahora desconocidos y su rol en la virulencia de la bacteria y/o patogenicidad de la enfermedad.
- Inmunidad e inmunoestimulantes que sean capaces de disminuir de manera importante el uso de antibióticos.

Objetivo 2.

El factor de elongación 1 alfa ha sido descrito en varias oportunidades como un adecuado control endógeno para evaluar tanto la integridad como la cantidad del material genético que logra extraerse de una muestra biológica de diferentes tejidos de peces (Sepúlveda *et al*., 2013). Asimismo en nuestro laboratorio se han generado antecedentes (no publicados) de que este gen puede detectarse en cantidades equivalentes en los tejidos de *Caligus Rogercresseyi*, lo que en esta etapa fue aplicado en forma exitosa para realizar la evaluación de la eficiencia de extracción de material genético desde estos parasitos, estableciendo, de esta manera una metodología estandarizada y validada para realizar la homogenización y extracción de material genético a partir de muestras del parásito *Caligus rogercresseyi.*

Con este antecedente en carpeta solo restaba aplicar las mismas técnicas que ya estaban validadas para realizar los diagnósticos correspondientes a ISAV y *P. salmonis* simplemente cambiando la matriz. El proceso se realizo siguiendo las directrices de la LABD/NT3 de Sernapesca y los resultados dieron cuenta, tal y como se esperaba, que los métodos aplicados tal cual como se aplican a las muestras de órganos de peces funcionan eficientemente.

En la segunda etapa de este objetivo logró demostrarse que el parasito *Caligus rogercresseyi* si bien obtiene resultados positivos a *P. salmonis* en baja prevalencia, cuando se obtiene desde un centro en brote de piscirickettsiosis, solo podría comportarse como un vector mecanico del patógeno, ya que cuando este es apartado del huésped por 6 horas o mas, no es capaz de mantener por si solo la carga bacteriana. Asimismo, en base a los resultados de esta etapa no se logra demostrar la presencia de *P. salmonis* en estadios de vida libre del parásito, y por tanto no debiesen ser capaces de transmitir la enfermedad.

En la tercera etapa de este objetivo no logró demostrarse que el parasito *Caligus rogercresseyi* se comporte como un vector mecanico del patógeno *Piscirickettsia salmonis*, ya que este no logró transferir la infección desde peces infectados a peces sanos. Tampoco pudo demostrarse que el parásito se comporte como vector biológico debido a que cuando este es apartado del huésped no es capaz de mantener por si solo la carga bacteriana y menos transmitirla desde un pez enfermo a uno sano.

Cabe mencionar que no existen antecedentes previos respecto a la carga de *P. salmonis* ni al tiempo de exposición requeridas para infectar caligus en condiciones de laboratorio en comparación a las condiciones de terreno, considerando los factores inmunosupresores propios del cultivo de salmones en esta última condición. Aun así, los porcentajes de ejemplares de Caligus positivos a *P. salmonis*, extraídos de peces cursando brotes de piscirickettsiosis, son bajos, lo que refuerza la teoría de que Caligus no actúa como "vector" biológico y tampoco mecánico. El único caso en el que se registró una positividad del 70% (7+ de 10), correspondió a ejemplares positivos por PCR que requerían confirmación.

Por otro lado, podemos indicar que *P. salmonis* se ha detectado en ejemplares de Caligus alimentados de mucus con presencia de *P. salmonis*, por lo que se requiere de una alta carga de bacterias, con peces en pleno brote de piscirickettsiosis. De hecho, Smith et al. (1999) demostraron que las rutas de ingreso de *P. salmonis* son la piel y branquias, y que daños en la piel debieran facilitar la invasión de *P. salmonis*, por lo que el daño mecánico generado por Caligus en la piel de los peces, y la inmunosupresión generada por los compuestos inmunomoduladores secretados en la saliva en el lugar de infección, facilitarían el ingreso de estas bacterias al pez.

Finalmente debemos ser cautos en el análisis de los resultados obtenidos, entendiendo las limitaciones que presenta un ensayo "*in vitro*" frente a lo que significa el proceso infectivo en condiciones "de campo" y, por tanto, mas análisis de comprobación son necesarios para comprobar y respaldar nuestras aseveraciones.

Objetivo 3.

Los principales resultados de este objetivo extraidos desde la publicación Oelckers, K., Vike, S., Duesund, H., Gonzalez, J., Wadsworth, S., & Nylund, A. (2014). *Caligus rogercresseyi* as a potential vector for

transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. Aquaculture, 420-421, 126–132. doi: 10.1016/j.aquaculture.2013.10.016 son los siguientes:

- *C. rogercresseyi* es capaz de ser un vector mecánico del virus ISA.
- *C. rogercresseyi* aun estando 48 horas lejos de un huésped positivo a ISAV todavía puede transmitir el virus a salmones sanos, lo que fue demostrado tanto por la inyección intraperitoneal de homogenizados de Caligus como en el modelo de infección natural y además confirmado mediante la secuenciación del virus.
- La infectividad también fue demostrada en cultivo celular.
- Tanto la cantidad como la prevalencia del material genético del virus (RNA) fue decreciendo en el Caligus a medida que pasaba el tiempo lejos del huésped positivo, lo que indica que el virus no replica en el Caligus y por lo tanto no es un vector biológico.
- No fue posible detectar ISAV en ninguna muestra de larvas de Caligus (Nauplius y/o Copepoditos), ya sea dentro o fuera de las jaulas positivas a ISA.
- Tampoco fue posible detectar ISAV en larvas de Caligus (Nauplius y/o Copepoditos) aunque estos fueran recolectados directamente desde Caligus adultos positivos a ISAV, lo que indica que el virus ISA no se transmite verticalmente desde el Caligus adulto a su descendencia.
- Basado en los puntos anteriores es muy probable que las larvas de Caligus (Nauplius y/o Copepoditos) no puedan ser vectores del ISAV.
- Es probable que el Caligus se infecte cuando se alimenta del mucus de peces infectados, sin embargo, los lavados realizados a los ejemplares indican que, si bien los valores de Ct aumentan, estos no desaparecen por lo que de alguna manera el ISAV se mantiene al interior del Caligus.
- Basados en las idénticas secuencias obtenidas en el experimento de infestación de peces sanos con Caligus positivos a ISA, puede concluirse que *Caligus rogercresseyi* transmitió el virus ISA a Salmones del Atlántico sanos.
- ISAV sobrevive y se mantiene infectivo en el Caligus al menos por 48 horas, lo que indica que el parasito puede diseminar el virus entre centros de cultivo que se encuentren en la misma área. Se estima que en 48 horas el Caligus podría moverse unos 18 kilómetros.
- Para la industria del salmón esta información indica que las co-infecciones de ISAV y Caligus aumentan el riesgo de transmisión a los centros vecinos, además debe considerarse que los peces infestados pueden ser más susceptibles al Virus dada la inmunosupresión que produce el parásito.

Objetivo 4.

El constante monitoreo y evaluación de los actuales mecanismos de diagnóstico utilizados oficialmente para la detección de los patógenos ISAV y *P. salmonis* es lo único que nos asegura que la vigilancia y el control de estas patologías se realiza de una manera eficaz. Asimismo, las pruebas interlaboratorio cruzadas o "Ring Test" han demostrado ser una forma confiable de realizar este monitoreo. Dado lo anterior y en conformidad con las contrapartes técnicas de este proyecto se consideró realizar 3 ring test en el periodo del proyecto: ISAV, ISAV HPR0 y *P. salmonis.*

El Ring Test correspondiente a ISAV fue realizado sin grandes contratiempos y los resultados de este en combinación entre la primera y segunda instancia indican que el ensayo fue bien acogido por los participantes y sus resultados confirman de haber cumplido acabalidad con el objetivo planteado reafirmando la idoneidad tanto de la técnica como de los laboratorios que la aplican.

En cuanto al Ring Test especifico para la variante HPR0 del ISAV, los resultados reportados demuestran que todos los métodos evaluados para este fin, cumplen su objetivo, lo que se fundamenta en el hecho que se interpretan e informan como positivas las muestras correspondientes a la variante HPR0 en sus dos diluciones y como negativas el resto de las muestras que no corresponden a la variante HPR0, lo que indica que no existe reacción cruzada entre dicha variante y el resto de las variantes enviadas y en los casos excepcionales que se presenta, el mismo ensayo da la posibilidad de diferenciarlas si se toma en cuenta la relación entre el segmento 8 y el segmento 6.

Asimismo, podemos mencionar que los valores de desviación estándar entre los duplicados se encuentran dentro de un rango esperable para esta técnica.

Respecto al Ring Test para la detección de *P. salmonis* podemos indicar que los resultados obtenidos son altamente satisfactorios, dado que todos los laboratorios participantes aprobaron las diferentes etapas involucradas en los Ring Test. Llamará la atención que las evaluaciones numéricas muestran ligeras diferencias, sin embargo, eso es esperable en este tipo de análisis dado que hay muchas variables involucrada que no los hacen absolutamente reproducibles en identidad. Entre ellas, las más distintivas son que los blancos de detección son diferentes (16s, 23s o ITS), los primers para cada caso tienen eficiencias diferentes, y la componente humana juega también un rol en el proceso.

Objetivo 5.

En relación con el cultivo de HPR0, se han obtenido resultados que nos tienen muy esperanzados en el camino que estamos siguiendo, tanto en relación al uso de la microscopía electrónica como una técnica necesaria para esta evaluación como en el uso de inhibidores enzimáticos que puedan aumentar el rendimiento de la infeccion viral en líneas celulares y de esta manera pueda establecerse de una vez y por todas la infeccion de la variante ISAV HPR0 en cultivos celulares.

Cabe mencionar que para este objetivo solo se realizaron eperimentos a nivel de pilotos debdo a la falta de muestras en el periodo que estuvieran en condiciones de ser cultivadas, lo anterior básicamente se explica por la dificultad que presenta la elección de muestras debido a que los peces no presentan signos y síntomas de enfermedad, por lo que no hay posibilidad es de dirigir el muestreo.

Objetivo 6.

Respecto al análisis de muestras requedrido por la autoridad sanitaria, durante el ultimo trimestre del año 2015 y los primeros tres trimestres del año 2016 se mantuvieron por debajo de lo esperado, lo que puede interpretarse de dos maneras: A) es una positiva señal de la situación sanitaria que vive nuestra acuicultura o B) es una demostración de que la distribución de los fondos en el Sernapesca depende de los eventos sanitarios o ambientales que se presenten. En este punto específico hay que hacer hincapie en la fatal floración de algas nocivas que se dio en nuestro país durante el verano y que puso en jaque a la salmonicultura y su estrategia de eliminación de mortalidades masivas.

Durante el periodo 2017 hubo un aumento significativo de las muestras analizadas, sin emabrago durante el periodo 2018 nuevamente se registro una baja en el numero de muestras derivadas a nuestro laboratorio para su análisis.

Producto de estas variaciones mayores en los números de muestras se hace imposible concluir sobre alguna tendencia respecto a la presencia de la enfermedad o nivel de infección, ya sea de manera sntomatica o asintomática. En cuanto a *P. salmonis* se hace imposible incluso referirse a ello ya que durante todo el periodo (3 años) apenas se recibieron 6 grupos de muestras lo que claramente no refleja el real comportamiento de la enfermedad en nuestro país.

Objetivo 7.

Para nuestra institución realizar una capacitación siempre es un desafío, sobretodo debido a que, como entidad de Educación Superior, estamos comprometidos con la calidad de nuestra labor. Es por ello que se desarrollo todo un programa de capacitación que se hace cargo en gran medida de los problemas al dia de hoy de los patogenos en cuestión, asi como sus métodos de diagnóstico.

Si bien tuvimos algunos contratiempos en el camino, finalmente logramos concretar este objetivo exitosamente y lo que es mejor aun logramos que los alumnos asistentes al curso aprobaran este sin problemas y además lo evaluaran satisfactoriamente (anexo 6 evaluacion y encuesta).

Independientemente del logro del objetivo creemos que esta labor debiese enfrentarse de otra manera ya sea virtual o con cursos parcelados por región y en terreno.

Taller de Difusión de Resultados

Para finalizar el presente estudio se realizó con fecha 06 de diciembre de 2018, en dependencias del Hotel Enjoy, específicamente en el salón Tronador, ubicado en la cuidad de Puerto Varas, un taller de difusión de resultados, el cual contó con la valiosa presencia presencia tanto del Estado, a través de Sernapesca, los laboratorios pertenecientes a la Red de Sernapesca, la asociación de salmonicultores INTESAL y la industria.

En dicho taller nuestro laboratorio presentó los resultados obtenidos en este proyecto. Asimismo, se dio pie para la discusión de estos resultados y el eventual seguimiento que tiene que realizarse de estos.

A continuación, se muestra la invitación del taller, incluido el programa del mismo.

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

WORKSHOP

Difusión de Resultados

FIPA2015-12

En el marco del Proyecto FIPA 2015-12 "Investigación en factores epidemiológicos, de patogenicidad, desarrollo, validación y control de técnicas de diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmon y *Piscirickettsiosis*", la Subsecretaria de Pesca y Acuicultura en conjunto con la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso tienen el agrado de invitar a Usted a un taller de difusión de resultados.

FIPA 2015-12

Investigación en factores epidemiológicos, de patogenicidad, desarrollo, validación y control de técnicas de diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmon y *Piscirickettsiosis*

El evento se realizará el jueves 6 de diciembre de 2018, desde las 09:00 horas en el salón Tronador del hotel Enjoy de Puerto Varas, ubicado en KLENNER 349, PUERTO VARAS, CHILE.

Esperamos contar con su valiosa presencia.

Se ruega confirmar asistencia al correo electrónico:

alvaro.labra@pucv.cl

Fondo de Investigación Pesquera y de Acuicultura
Ministerio de Economía, Fomento y Turismo
Gobierno de Chile

GeneFISH GIM - PUCV
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas

Programa Workshop

08:30 – 09:00	Acreditación
09:00 – 09:30	Palabras de Bienvenida e introducción FIPA2015-12
09:30 – 10:00	Avances en el aislamiento, propagación y mantención de la variante HPR0 de ISAV en cultivos celulares
10:00 – 11:30	Resultados Ring test ISAV 2016-2017, *P. salmonis* 2018 y evaluación especificidad de ensayos RT-qPCR ISAV especifico para HPR0
11:30 – 12:00	Coffe
12:00 – 12:30	Rol epidemiológico del *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por *P. salmonis*.
12:30 – 13:00	Peguntas y cierre

Este taller en general tuvo una buena convocatoria de público, lo que se evidencia en el siguiente listado de asistentes

Workshop de Difusión de Resultados Proyecto FIPA 2015-12 "Investigación en factores epidemiológicos, de patogenicidad, desarrollo, validación y control de técnicas de diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmon y *Piscirickettsiosis*"
Jueves 06 de diciembre de 2018

Nombre	Empresa	E-mail	Teléfono	Firma
Sergio Marshall	PUCV	Sergio.marshall@pucv.cl	56 32 2274866	
Alvaro Labra	PUCV	Alvaro.labra@pucv.cl	56 32 2274828	
Fernando Gómez	PUCV	Fernando.gomez@pucv.cl	56 32 22748	
Patricio Flores	PUCV	Patricio.flores@pucv.cl	56 32 22748	
Gabriela Carril	PUCV	Gabriela.carril@pucv.cl	56 32 22748	
Sandra Zelada	PUCV	Sandra.zelada@pucv.cl	56 32 2274847	
Javier Moya	FishVet Group	javier.moya@fishvetgroup.com	56 (9)42562185	
Ricardo Idelfonso	Pathovet	ricardo.ildefonso@pathovet.cl	56 9 4043 1185	
Jorge Vásquez	Pathovet	jorge.vasquez@pathovet.cl	65 2 773179	
Oscar Parra	Merck	oscar.parra2@merck.com	56 9 9285 4730	
Nombre	**Empresa**	**E-mail**	**Teléfono**	**Firma**

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso - Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso - Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@pucv.cl
Página 1 de 5

Workshop de Difusión de Resultados Proyecto FIPA 2015-12 "Investigación en factores epidemiológicos, de patogenicidad, desarrollo, validación y control de técnicas de diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmon y *Piscirickettsiosis*"
Jueves 06 de diciembre de 2018

Valeria Capurro	Merck	valeria.capurro@merck.com		
Alexis Martínez	Antares	alexis.martinez@alab.cl	56978791122	
Sara Guerra	Antares	biologia.molecular@alab.cl	56 65 2204320	
Ivonne Muñoz	Antares	Ivonne.munoz@alab.cl	56 65 2204320	
Jorge Hidalgo	Sernapesca	jhidalgof@sernapesca.cl	56 67 2243670	
Marcelo Días	Sernapesca	mdias@sernapesca.cl	57 67 2243670	
Ivonne Haro	Sernapesca	iharo@sernapesca.cl	56 65 2220013	
Eduardo Oyarzo	Sernapesca	eoyarzo@sernapesca.cl	56 65 2220013	
Josué González	Alas	josue.gonzalez@acuicolaalas.cl		
Ervin Serón	Etecma	ervin.seron@etecma.cl	56 65 533663	
José Ramírez				
Nombre	**Empresa**	**E-mail**	**Teléfono**	**Firma**
Rocío Torres	FishVet Group	rocio.torres@fishvetgroup.com	56 (9)94070351	

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION INN - CHILE ACREDITADO POR INN, LE 1297
Gene FISH GIM - PUCV
LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS OIE
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Workshop de Difusión de Resultados Proyecto FIPA 2015-12 "Investigación en factores epidemiológicos, de patogenicidad, desarrollo, validación y control de técnicas de diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmon y *Piscirickettsiosis*"
Jueves 06 de diciembre de 2018

Nombre	**Empresa**	**E-mail**	**Teléfono**	**Firma**

Conclusiones

Primero que todo queremos destacar la relevancia de la ejecución de este proyecto, que por primera vez unifica información relevante frente a tres agentes patógenos que constituyen una amenaza constante para la sustentabilidad de la salmonicultura nacional. No debemos olvidar que esta es una actividad productiva introducida en Chile, desde los peces y desagraciadamente con ellos, los agentes patógenos inexistentes de otra manera en nuestro ambiente. Por ello, y dado que la industria es joven, no más allá de 50 años de su inicio, es que los agentes patógenos introducidos están aún en plena evolución y adaptándose a este nuevo medio. Adicionalmente, la condición de crecimiento confinado de los salmones, somete tanto a los peces como sus patógenos a estados de stress constantes y crecientes, lo que hace que su expresión patogénica se incremente en el tiempo y muy cercano a la cosecha, con el impacto económico-social que ello involucra. Por ello, al enfocar el primer objetivo, tratamos de ser muy selectivos en la validación de la literatura existente. En muchos casos de reportes circunstanciales, y con poca capacidad de integrar conocimientos sobre la biología de los agentes patógenos, condición *sine qua non* para poder entender al agente y diseñar las estrategias más plausibles para su control.

Sin perjuicio de lo anterior y respecto a las fichas técnicas elaboradas, se puede concluir para ambos patógenos que aún queda mucho camino por recorrer en términos de investigación, validación y comprobación de muchos aspectos de la biología de ambos microorganismos.

En este marco referencial, la información existente sobre *Piscirickettsia salmonis* se ha hecho más fructífera en los últimos 5 años, con reportes precisos sobre su biología y comportamiento biológico. Dado que en los últimos diez años la bacteria afecta principalmente a la salmonicultura nacional, la mayoría de las publicaciones se han originado en Chile, con una buena participación sinérgica de investigadores de diferentes Universidades, integrante del sector productivo, y administradores estatales. A pesar de ello, aunque se ha avanzado en técnicas de diagnóstico precisas, el conocimiento sobre las estrategias que usa la bacteria para desarrollar la enfermedad en agua de mar, siguen siendo muy limitadas, las vacunas existentes de baja eficacia y, por ende, se requiere más investigación fundamental.

En el caso de ISAV, la situación y los aportes son más internacionales, dado que el virus sigue siendo un problema latente, además de en Chile, principalmente en Noruega y las Islas Faroe. La gran contribución ha sido el reconocer a HPR0, la variante viral no infectiva, como la que origina las variantes infectivas en todas

las latitudes. Importante ha sido el hecho también de reconocer su prevalencia, y crípticamente también reconocer que esta prevalencia se transforma, querámoslo o no, en una verdadera espada de Damocles para el sector. Afortunadamente, los encargados de gestión en estos países han concordado medidas a través de la OIE, que permiten, al día de hoy, aplicar estrategias coordinadas para el seguimiento de la variante HPR0.

Por ello, creemos que adicionalmente a la revisión bibliográfica presentada, el mayor aporte en este objetivo es la presentación de las fichas técnicas realizadas, validadas y actualizadas, para cada enfermedad. Ello constituirá un referente resumido tanto para el productor como para el gestor gubernamental en apoyo del manejo y gestión de las patologías asociadas a estos dos agentes.

Respecto a la evaluación del rol epidemiológico del parasito *Caligus rogercresseyi* podemos indicar que antecedentes previos generados por nuestro laboratorio (no publicados) nos permitieron generar un protocolo de evaluación de extracción de ácidos nucleicos a partir de la matriz del parasito considerando los diferentes estadios. Este protocolo fue aplicado y la evaluación mostro que existen técnicas de homogenización y kits de extracción que son mas eficientes que otros para esta labor especifica, con lo cual se valido una de las metodologías para su uso estandarizado en nuestro laboratorio para las siguientes etapas del proyecto.

Nuevamente, nos encontramos con un agente infectivo, ahora un ectoparásito, que se ha convertido en un dolor de cabeza para el sector productivo. Principalmente porque es un agente diferente en género y especie del que afecta a las mismas especies de salmones que se cultivan también confinadamente en el norte de Europa y de América. Por ello, la bibliografía específica para el agente es más limitada, pero por análisis comparativo con el agente que afecta a las especies en el Norte, bastante orientadora para seguir los pasos realizados en otras latitudes para comprender el rol e impacto epidemiológico de *Caligus rogercresseyi* en la salmonicultura nacional. Por ello nos preguntamos si nuestros dos agentes patógenos estrellas*, Piscirickettsia salmonis* y/o *ISAV* tenían alguna relación funcional con el ectoparásito. Para ello diseñamos y validamos primero, alternativas de diagnóstico para la detección de la presencia de cada agente en Caligus, determinando que a pesar de que existe una asociación física del ectoparásito con los dos agentes, esta no es cuantitativamente significativa, aunque la de ISAV fue ligeramente mayor que la de *P. salmonis*. Luego, validamos la viabilidad y potencial infectivo de ambos agentes, en forma independiente,

recuperados de muestras de campo de peces infectados con el ectoparásito, así como de peces sin signología clínica asociada al agente y del mismo centro productivo.

Eso nos permitió concluir o al menos hipotetizar que ni ISAV ni *P. salmonis* generan un ciclo de vida funcional dentro de *Caligus rogergresseyi*. Creemos que esta información es contribución significativa para el diseño global de estrategias de control de enfermedades asociadas a la salmonicultura nacional, porque, aunque el agente es una amenaza para su sustentabilidad, no es el vector biológico de los otros dos agentes considerados. Para poder robustecer esta conclusión, también se diseñaron experimentos que permitieran infectar peces susceptibles con a lo menos uno de los agentes, y se seleccionó *P. salmonis* por haber presentado un nivel más alto de potencial asociación con Caligus, sin embargo, nuevamente los resultados obtenidos nos confirman lo mencionado anteriormente ya que el parásito *Caligus rogercresseyi* no fue capaz de transmitir horizontalmente la enfermedad desde peces enfermos a peces sanos, independientemente que material genético de la bacteria pueda encontrarse en el parásito cuando este es analizado al momento de ser extraido, ya que cuando el parásito es separado de su huésped por al menos 6 horas o mas, no es capz de mantener la carga bacteriana.

Evaluar métodos de diagnóstico para los patógenos ISAV y *P. salmonis* utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico del Servicio y por entidades de investigación en caso de ser requerido, en especial para la cepa HPR-0.

Por otra parte, y en relación a la evaluación de los métodos de diagnstico para los patógenos ISAV y *P. salmonis* utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico registrada por el Sernapesca, como laboratorio de referencia, nos complace declarar que los laboratorios registrados por Sernapesca, ofrecen, sin duda alguna, confianza al sector productivo de que sus diagnósticos en la detección de estos patógenos son asertivos, confiables y reproducibles dentro de los rangos que involucra lo semi cuantitativo de los mismos. Lo anterior basado en que todos los participantes en los ensayos de intercomparación (Ring Test) obtienen resultados satisfactorios para ambos patógenos y a su vez en la detección especifica de la variante HPR0 del ISAV.

En otro ámbito, se plantearon hipótesis referentes a la mejora de eficiencia del cultivo de ISAV de la variante HPR0, las cuales fueron aceptadas o rechazadas a lo largo de este proyecto, con lo que estamos seguros se hará un aporte en este ámbito y en la investigación de este patógeno. En este aspecto ya hemos puesto a

prueba dos de nuestras hipótesis obteniendo valiosos resultados que acaban con el mito que indica que el ISAV HPR0 no puede ser cultivado. Sin emabrgo, aun no obtenemos la eficiencia que tanto anhelamos.

Considerando que la variante HPR0 representa el virus completo, sin embargo no desarrolla la enfermedad, aunque si se reproduce tanto *in vitro* como *in vivo* a niveles límites, decidimos diseñar y poner a prueba alternativas que nos permitieran mediante un estudio sistemático evaluar nuevas alternativas a las ya existentes para intentar generar biomasa de la variante generando dos modelos *in vitro* consistentes en dos nuevas líneas celulares derivadas de tejido epitelial de peces, en contraposición de que la gran mayoría de las líneas celulares que se han utilizado para intentar crecer el virus son de origen inmunológico. Pudimos comprobar que, en ambas líneas, la variante HPR0 se comporta en forma equivalente a las de otro origen. Esto nos permite concluir que debe existir un mecanismo autoregulatorio viral que le permite persistir como HPR0 y bajo condiciones que aún desconocemos, le permita gatillar deleciones selectivas en la región HPR del segmento codificante número 6 y generar una variante virulenta. Este sistema de verdadera persistencia viral, aún desconocido, representa el principal desafío investigativo a futuro para poder controlar en forma asertiva el potencial patogénico de ISAV.

En relación a los resultados obtenidos de los análisis requeridos por la autoridad sectorial, podemos concluir lo siguiente:

- Durante el periodo del proyecto la autoridad sectorial en nuestro laboratorio privilegió el análisis de las muestras para ISAV, ya que entendemos que en paralelo al nuestro el Sernapesca mantiene un proyecto especifico con fondos FIE para *P. salmonis*, por lo que las muestras de este patógenos fueron derivadas con ese fin.
- Durante el año el segundo semestre de 2015 recibimos solo 4 grupos de muestras con resultados variables, los que no nos permitieron evaluar alguna tendencia.
- Durante gran parte del 2016 no se recibieron muestras debido a desviación de recursos producto del gran Bloom de agas nocivas que se produjo y la alta mortalidad de salmónidos que esto ocacionó.
- En el periodo de fines de 2016 y todo el 2017 se recibieron gran cantidad de muestras, muchas de ellas con resultados positivos a ISAV producto de un brote que se produjo en la XI región de nuestro país. Este gatilló una campaña sanitaria en la ACS (barrio) involucrada y producto de ello se detectaron varios centros de cultivo positivos a ISAV HPR0 y uno a HPR9. Lamentablemente, las

muestras extraidas por el Sernapesca a través de sus funcionarios tienen por objetivo, cumplir con lo mencionado en el Programa Sanitario Especifico de Vigilancia y Control de la Anemia Infecciosa del Salmón (PSEVC-ISA), por tanto, las muestras corresponden a porciones pequeñas de los tres órganos blanco de la enfermedad (branquias, corazón y riñón) de tres peces, preservados en RNAlater®, lo que hace imposible o muy difícil lograr aislar un virus infectivo.

- Respecto al año 2018 nuevamente experimentamos una baja considerable en el numero de muestras enviadas por las autoridades a nuestro laboratorio. La cuasa para nosotros es desconocida.
- En resumen, podemos concluir que el virus ISA se mantiene prevalente en la zona acuícola de nuestro país, causando estragos de cuando en cuando como lo ha hecho y lo sigue haciendo en todos los países productores de salmones en el mundo, sin embargo, producto de estas variaciones mayores en los números de muestras durante el periodo, se hace imposible concluir sobre alguna tendencia respecto a la presencia de la enfermedad o nivel de infección, ya sea de manera sntomatica o asintomática. En cuanto a *P. salmonis* se hace imposible incluso referirse a ello ya que durante todo el periodo (3 años) apenas se recibieron 6 grupos de muestras lo que claramente no refleja el real comportamiento de la enfermedad en nuestro país.

Respecto al programa de capacitación realizado, es importante mencionar que, si bien tuvimos algunos contratiempos en el camino, finalmente logramos concretar este objetivo exitosamente y lo que es mejor aun logramos que los alumnos asistentes al curso aprobaran este sin problemas y además lo evaluaran satisfactoriamente.

Cabe mencionar que independientemente que se haya logrado cumplir con el objetivo planteado, creemos que esta labor (capacitación) debiese enfrentarse de otra manera ya sea de forma virtual o con cursos parcelados por región y en terreno.

Referencias Bibliográficas

Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón

1. AAMELFOT M., DALE O.B., WELI S., KOPPANG E.O. & FALK K. (2012). Expression of 4-O-acetylated sialic acids on Atlantic salmon endothelial cells correlates with cell tropism of Infectious salmon anemia virus. J.Virol., 86, 10571–10578.
2. ALDRIN M., LYNGSTAD T.M., KRISTOFFERSEN A.B., STORVIK B., BORGAN O. & JANSEN P.A. (2011). Modelling the spread of infectious salmon anaemia among salmon farms based on seaway distances between farms and genetic relationships between infectious salmon anaemia virus isolates. J.R. Soc. Interface, 8, 1346–1356.
3. BIACCHESI S., LE BERRE M., LE GUILLOU S., BENMANSOUR A., BREMONT M., QUILLET E. & BOUDINOT P. (2007). Fish genotype significantly influences susceptibility of juvenile rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), to waterborne infection with infectious salmon anaemia virus. J. Fish Dis., 30, 631–636
4. Cárdenas, C., Carmona, M., Gallardo, A., Labra, A., & Marshall, S. H. (2014). Coexistence in Field Samples of Two Variants of the Infectious Salmon Anemia Virus: A Putative Shift to Pathogenicity. PLoS ONE, 9(1), e87832. doi:10.1371/journal.pone.0087832
5. CHRISTIANSEN D.H., ØSTERGAARD P.S., SNOW M., DALE O.B & FALK K. (2011). A low-pathogenic variant of infectious salmon anemia virus (ISAV1 - HPR0) is highly prevalent and causes a non-clinical transient infection in farmed Atlantic salmon (Salmo salar L.) in the Faroe Islands. J. Gen. Virol., 92, 909–918.
6. CLOUTHIER S.C., RECTOR T., BROWN N.E.C. & ANDERSON E.D. (2002). Genomic organization of infectious salmon anaemia virus. J. Gen. Virol., 83, 421–428.
7. Cottet, L., Cortez-San Martin, M., Tello, M., Olivares, E., Rivas-Aravena, a, Vallejos, E., … Martin, M. C. (2010). Bioinformatic analysis of the genome of infectious salmon anemia virus associated with outbreaks with high mortality in Chile. Journal of Virology, 84(22), 11916–28. doi:10.1128/JVI.01202-10
8. COTTET L., RIVAS-ARAVENA A., CORTEZ-SAN MARTIN M., SANDINO A.M. & SPENCER E. (2011) Infectious salmon anemia virus – genetics and pathogenesis. Virus Res., 155, 10-19.

9. CUNNINGHAM C.O., GREGORY A., BLACK J., SIMPSOM I. & RAYNARD R.S. (2002). A novel variant of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) haemagglutinin gene suggests mechanisms for virus diversity. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 22, 366–374.
10. DANNEVIG, B.H., FALK, K. & NAMORK E. (1995). Isolation of the causal virus of infectious salmon anemia (ISA) in a long-term cell line from Atlantic salmon head kidney. J. Gen. Virol., 76, 1353–1359.
11. DEVOLD M., KARLSEN M. & NYLUND A. (2006). Sequence analysis of the fusion protein gene from infectious salmon anemia virus isolates: evidence of recombination and reassortment. J. Gen. Virol., 87, 2031–2040.
12. DEVOLD M., KROSSOY B., ASPEHAUG V. & NYLUND A. (2000). Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout Salmo trutta after experimental infection. Dis. Aquat. Org., 40, 9–18.
13. Hetland, D. L., Dale, O. B., Skjødt, K., Press, C. M., & Falk, K. (2011). Depletion of CD8 alpha cells from tissues of Atlantic salmon during the early stages of infection with high or low virulent strains of infectious salmon anaemia virus (ISAV). Developmental and Comparative Immunology, 35(8), 817–26. doi:10.1016/j.dci.2011.02.001
14. Hetland, D. L., Jørgensen, S. M., Skjødt, K., Dale, O. B., Falk, K., Xu, C., … Press, C. M. (2010). In situ localisation of major histocompatibility complex class I and class II and CD8 positive cells in infectious salmon anaemia virus (ISAV)-infected Atlantic salmon. Fish & Shellfish Immunology, 28(1), 30–39. doi:10.1016/j.fsi.2009.09.011
15. EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY (EFSA) (2012) EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on infectious salmon anaemia. EFSA Journal, 10 (11), 2971.
16. FALK K., NAMORK E., RIMSTAD E., MJAALAND S. & DANNEVIG B.H. (1997). Characterization of infectious salmon anemia virus, an orthomyxo-like virus isolated from Atlantic salmon (Salmo salar L). J. Virol., 71, 9016–9023.
17. GJØEN H.M., REFSTIE T., ULLA O. & GJERDE B. (1997). Genetic correlations between survival of Atlantic salmon in challenge and field tests. Aquaculture, 158, 277–288.
18. GUSTAFSON L.L., ELLIS S.K., BEATTIE M.J., CHANG B.D., DICKEY D.A., ROBINSON T.L., MARENGHI F.P., MOFFETT P.J. & PAGE F.H. (2007). Hydrographics and the timing of infectious salmon anemia outbreaks among Atlantic salmon (Salmo salar L.) farms in the Quoddy region of Maine, USA and New Brunswick, Canada. Prev. Vet. Med., 78, 35–56.

19. Gustafson, L., Antognoli, M., Lara Fica, M., Ibarra, R., Mancilla, J., Sandoval Del Valle, O., … Remmenga, M. (2014). Risk factors perceived predictive of ISA spread in Chile: Applications to decision support. Preventive Veterinary Medicine, 117(1), 276–285. doi:10.1016/j.prevetmed.2014.08.017

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

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

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

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

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

25. Kjøglum, S., Larsen, S., Bakke, H. G., & Grimholt, U. (2006). How specific MHC class I and class II combinations affect disease resistance against infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (Salmo salar). Fish & Shellfish Immunology, 21(4), 431–41. doi:10.1016/j.fsi.2006.02.001

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

27. L. Tort, J.C. Balasch, S. Mackenzie.(2003). Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. Inmunología, 22 (3): 277-286.

28. LYNGSTAD T.M., ., KRISTOFFERSEN A. B., HJORTAAS M. J., DEVOLD, M., ASPEHAUG, V., LARSSEN, R. B. & JANSEN, P. A. (2012). Low virulent infectious salmon anaemia virus (ISAV-HPR0) is prevalent and geographically structured in Norwegian salmon farming. Dis. Aquat. Org., 101, 197–206.
29. LYNGSTAD T.M., HJORTAAS M.J, KRISTOFFERSEN A.B, MARKUSSEN T., KARLSEN E.T., JONASSEN C.M. & JANSEN P.A. (2011). Use of molecular epidemiology to trace transmission pathways for infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Norwegian salmon farming. Epidemics, 3, 1–11.
30. LYNGSTAD T.M., JANSEN P.A., SINDRE H., JONASSEN C.M., HJORTAAS M.J., JOHNSEN S. & BRUN E. (2008). Epidemiological investigation of infectious salmon anaemia (ISA) outbreaks in Norway 2003–2005. Prev. Vet. Med., 84, 213–227.
31. MACLEAN S.A., BOUCHARD D.A. & ELLIS S.K. (2003). Survey of non-salmonid marine fishes for detection of infectious salmon anemia virus and other salmonid pathogens. In: Technical Bulletin 1902. International Response to Infectious Salmon Anemia: Prevention, Control and Eradication, Miller O. & Cipriano R.C., eds. USDA, APHIS; US Dept Interior, US Geological Survey; US Dept Commerce, National Marine Fisheries Service, Washington DC, USA, 135–143.
32. Magnadottir, B. (2010) . REVIEW. Immunological Control of Fish Diseases. Mar. Biotechnol.,12: 361 – 379.
33. Marshall, S. H., Ramírez, R., Labra, A., Carmona, M., & Muñoz, C. (2014). Bona fide evidence for natural vertical transmission of infectious salmon anemia virus in freshwater brood stocks of farmed Atlantic Salmon (Salmo salar) in Southern Chile. Journal of Virology, 88(11), 6012–6018. doi:10.1128/JVI.03670-13
34. MARDONES F.O., MARTINEZ-LOPEZ B., VALDES-DONOSO P., CARPENTER T.E. & PEREZ A.M. (2014). The role of fish movements and the spread of infectious salmon anemia virus (ISAV) in Chile, 2007–2009. Prev. Vet. Med. (in press)
35. MARDONES F.O., PEREZ A.M., VALDES-DONOSO P. & CARPENTER T.E. (2011). Farm-level reproduction number during an epidemic of infectious salmon anaemia virus in southern Chile in 2007–2009. Prev. Vet. Med., 102 (3), 175–184.
36. MARKUSSEN T., JONASSEN C.M., NUMANOVIC S., BRAAEN S., HJORTAAS M., NILSEN H. & MJAALAND S. (2008). Evolutionary mechanisms involved in the virulence of infectious salmon anaemia virus (ISAV), a piscine orthomyxovirus. Virology, 374, 515–527.
37. MCBEATH A. J., BAIN N. & SNOW M. (2009). Surveillance for infectious salmon anaemia virus HPR0 in marine Atlantic salmon farms across Scotland. Dis. Aquat. Org., 87, 161–169.

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

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

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

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

42. Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: A fish perspective. Fish and Shellfish Immunology, 29(1), 2–14. doi:10.1016/j.fsi.2010.02.017

43. Norwegian Scientific Committee for Food Safety, 2007. Which risk factors relating to spread of infectious salmon anemia (ISA) require development of management strategies?

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

45. Oelckers, K., Vike, S., Duesund, H., Gonzalez, J., Wadsworth, S., & Nylund, A. (2014). *Caligus rogercresseyi* as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. Aquaculture, 420-421, 126–132. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.10.016

46. Organización Internacional de Sanidad Animal (OIE) (2014). Manual de pruebas de diagnóstico para los animales acuáticos. Cap 2.3.5.

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

48. Plarre, H., Nylund, A., Karlsen, M., Brevik, Ø., Sæther, P. A., & Vike, S. (2012). Evolution of infectious salmon anaemia virus (ISA virus). Archives of Virology, 157(12), 2309–26. doi:10.1007/s00705-012-1438-0

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

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

51. Rubio-Godoy, M. (2010). Review. Teleost fish immunology. Téc Pecu Méx; 48 (1): 47 – 57.

52. Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172(1-2), 63–92. doi:10.1016/S0044-8486(98)00436-0

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

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

55. Tort, L., Balasch, J. C., & Mackenzie, S. (2003). Fish immune system. A crossroads between innate and adaptive responses. Immunologia, 22, 277–286.

56. Vike S, Nylund S, Nylund (2009). ISA virus in Chile: evidence of vertical transmission. Arch Virol 154(1):1–8. Epub 2008 Nov 26

57. Vike, S., Duesund, H., Andersen, L., & Nylund, A. (2014). Release and survival of infectious salmon anaemia (ISA) virus during decomposition of Atlantic salmon (Salmo salar L.). Aquaculture, 420-421, 119–125. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.09.043

Piscirickettsia salmonis

1. Aguayo, J., Miquel, A., Aranki, N., Jamett, A., Valenzuela, P. D. T., & Burzio, L. O. (2002). Detection of *Piscirickettsia salmonis* in fish tissues by an enzyme-linked immunosorbent assay using specific monoclonal antibodies. Diseases of Aquatic Organisms, 49(1), 33–38. doi:10.3354/dao049033
2. ALDAY-SANZ V., RODGER H., TURNBULL T., ADAMS A. & RICHARDS R.H. (1994). An immunohistochemical diagnostic test for rickettsial disease. J. Fish Dis., 17, 189–191.
3. ALMENDRAS F.E., FUENTEALBA I.C., JONES S.R.M., MARKHAM F. & SPANGLER E. (1997). Experimental infection and horizontal transmission of *Piscirickettsia salmonis* in freshwater-raised Atlantic salmon, salmo salar L. J. Fish Dis., 20, 409–418.
4. Almendras, F. E., Fuentealba, I. C., Frederick Markham, R. F., & Speare, D. J. (2000). Pathogenesis of liver lesions caused by experimental infection with *Piscirickettsia salmonis* in juvenile Atlantic salmon, Salmo salar L. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 12(6), 552–557. doi:10.1177/104063870001200610
5. ALVARADO, V.; SCHÄFER, W.; ENRÍQUEZ, R.; MONRÁS, M.; CUBILLOS, V.; FARÍAS, C.; ALBERDI, A. 1990. Síndrome del salmón coho (S.S.C.), nueva enfermedad de salmonídeos cultivados en fase de agua de mar en Chile. Situación actual. Patología Animal 4:10-13
6. Arkush KD, McBride AM, Mendonca HL, Okihiro MS and others (2005) Genetic characterization and experimental pathogenesis of *Piscirickettsia salmonis* isolated from white seabass Atractoscion nobilis. Dis Aquat Org 63: 139−149
7. Arkush, K. D., Edes, H. L., McBride, A. M., Adkison, M. A., & Hedrick, R. P. (2006). Persistence of *Piscirickettsia salmonis* and detection of serum antibodies to the bacterium in white seabass Atractoscion nobilis following experimental exposure. Diseases of Aquatic Organisms, 73(2), 131–139. doi:10.3354/dao073131
8. Athanassopoulou F, Groman D, Prapas T, Sabatakou O (2004) Pathological and epidemiological observations on rickettsiosis in cultured sea bass (Dicentrarchus labrax L.) from Greece. J Appl Ichthyol 20: 525−529
9. Barnes, M. N., Landolt, M. L., Powell, D. B., & Winton, J. R. (1998). Purification of *Piscirickettsia salmonis* and partial characterization of antigens. Diseases of Aquatic Organisms, 33(1), 33–41. doi:10.3354/dao033033
10. BERGER, E.K. 2014. *Piscirickettsia salmonis*; characterization and infection in the zebra fish model.

Theses for the Master`s degree in Molecular Biosciences. The Faculty of Mathematics and Natural Sciences. University of Oslo. 74 pp.

11. BIRKBECK, H. 2011. Francisellosis. In: Avendaño-Herrera R (Ed.). Enfermedades Infecciosas del Cultivo de Salmónidos en Chile y el Mundo. Niva Chile S.A., Puerto Varas, Chile, pp. 105-128.
12. Birkbeck, T. H., & Ringø, E. (2005). Chapter 10 Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing fish. Biology of Growing Animals, 2(C), 208–234. doi:10.1016/S1877-1823(09)70043-8
13. Birkbeck, T. H., Griffen, A. A., Reid, H. I., Laidler, L. A., & Wadsworth, S. (2004). Growth of *Piscirickettsia salmonis* to High Titers in Insect Tissue Culture Cells, 72(6), 3693–3694. doi:10.1128/IAI.72.6.3693
14. Birrell, J., Mitchell, S., & Bruno, D. W. (2003). *Piscirickettsia salmonis* in farmed Atlantic salmon, Salmo salar in Scotland. Bulletin of the European Association of Fish Pathologists, 23(October 2002), 213–218.
15. Boxshall, G., Bravo, S., 2000. On the identity of the common Caligus (Copepoda: Siphonostomatoidea: Caligidae) from salmonid netpen systems in Southern Chile. Contrib. Zool. 69, 137–146.
16. BRANSON E.J. & NIETO DIAZ-MUNOZ D. (1991). Description of a new disease condition occurring in farmed coho salmon, Oncorhynchus kisutch (Walbaum), in South America. J. Fish Dis., 14, 147–156.
17. BRAVO S. & CAMPOS M. (1989). Coho salmon syndrome in Chile. AFS/FHS Newsletter, 17, 3.
18. BRAVO S. (1994). Piscirickettsiosis in freshwater. Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol., 14, 137–138.
19. Bravo, S., & Midtlyng, P. J. (2007). The use of fish vaccines in the Chilean salmon industry 1999-2003. Aquaculture, 270(1-4), 36–42. doi:10.1016/j.aquaculture.2007.06.017
20. BRAVO, S.; GUTIÉRREZ, S. 1991. Avances en el estudio del síndrome del salmón coho. Chile Pesquero 64:39-42.
21. BROCKLEBANK J.R., SPEARE D.J., ARMSTRONG R.D. & EVELYN T. (1992). Septicemia suspected to be caused by a rickettsia-like agent in farmed Atlantic salmon. Can. Vet. J., 33, 407–408.
22. Bruno, D. (1986). Histopathology of bacterial kidney disease in laboratory infected rainbow trout, Salmo gairdneri Richardson, and Atlantic salmon, Salmo salar L., with reference to naturally infected fish. Journal of Fish Diseases, 9(6), 523–537. doi:10.1111/j.1365-2761.1986.tb01049.x
23. Cabello F.C. (2006) Heavy use of prophylactic antibiotics in aquaculture: a growing problem for human and animal health and for the environment. Environmental Microbiology 8, 1137–1144
24. CASSIGOLI, J. 1994. Patología y nutrición en el desarrollo de la acuicultura: factores de éxito. In: Patología y nutrición en el desarrollo de la acuicultura. Puerto Montt, Chile. 3-7 octubre. Fundación

Chile.

25. CHEN M.F., YUN S., MARTY G.D., MCDOWELL T.S., HOUSE M.L., APPERSEN J.A., GUENTHER T.A., ARKUSH K.D. & HEDRICK R.P. (2000). A *Piscirickettsia salmonis*-like bacterium associated with mortality of white seabass Atractoscion nobilis. Dis. Aquat. Org., 43, 117–126.
26. CHEN S.C., TUNG M.C., CHEN S.P., TSAI J.F., WANG P.C., CHEN R.S., LIN S.C. & ADAMS A. (1994). Systemic granulomas caused by a rickettsia-like organism in Nile tilapia, Oreochronuis niloticus (L.), from southern Taiwan. J. Fish Dis., 17, 591–599.
27. CHEN S.C., WANG P.C., TUNG M.C., THOMPSON K.D. & ADAMS A. (2000). A Pisicirickettsia salmonis-like organism in grouper, Epinephelus melanostigma, in Taiwan. J. Fish Dis., 23, 415–418.
28. Contreras-Lynch, S., Olmos, P., Vargas, a, Figueroa, J., González-Stegmaier, R., Enríquez, R., & Romero, a. (2015). Identification and genetic characterization of *Piscirickettsia salmonis* in native fish from southern Chile. Diseases of Aquatic Organisms, 115(3), 233–244. doi:10.3354/dao02892
29. Corbeil, S., Hyatt, A. D., & Crane, M. S. J. (2005). Characterisation of an emerging rickettsia-like organism in Tasmanian farmed Atlantic salmon Salmo salar. Diseases of Aquatic Organisms, 64(1), 37–44. doi:10.3354/dao064037
30. CORBEIL, S.; CRANE, M. S. 2009. *Piscirickettsia salmonis*. [en línea] <http://www.scahls.org.au/__data/assets/pdf_file/0005/1516514/Piscirickettsia_salm onis.pdf>
31. CORREAL, P. 1995. Prospección de *Piscirickettsia salmonis* en fauna marina silvestre asociada al cultivo intensivo de salmónidos. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 52 p
32. CUBILLOS, V.; FARÍAS, C.; ALBERDI, A.; ALVARADO, V.; SCHÄFER, W.; MONRÁS, M. 1990. Características anatomopatológicas del "síndrome del salmón coho" (SSC), nueva enfermedad de los salmonídeos. Patol. Animal 4:14- 17.
33. Cusack, R. R., Groman, D. B., & Jones, S. R. M. (2002). Rickettsial infection in farmed Atlantic salmon in eastern Canada. Canadian Veterinary Journal, 43(6), 435–440.
34. CVITANICH J.D., GARATE N.O. & SMITH C.E. (1991). The isolation of a rickettsia-like organism causing disease and mortality in Chilean salmonids and its confirmation by Koch's postulate. J. Fish Dis., 14, 121–145.
35. Dettleff, P., Bravo, C., Patel, A., & Martinez, V. (2015). Patterns of *Piscirickettsia salmonis* load in susceptible and resistant families of Salmo salar. Fish & Shellfish Immunology, 45(1), 67–71. doi:10.1016/j.fsi.2015.03.039

36. FLORES, C. 2012. Determinación de los factores de riesgo para mortalidad por septicemia rickettsial del salmón en las regiones de Los Lagos y de Aysén, Chile. Memoria título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile. Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 70 p

37. FRYER J.L., LANNAN C.N., GARCES L.H., LARENAS J.J. & SMITH P.A. (1990). Isolation of a rickettsiales-like organism from diseased coho salmon Oncorhynchus kisutch in Chile. Fish Pathol., 25, 107–114.

38. FRYER J.L., LANNAN C.N., GIOVANNONI S.J. & WOOD N.D. (1992). *Piscirickettsia salmonis* gen. nov., sp. nov., the causative agent of an epizootic disease in salmonid fishes. Int. J. Syst. Bacteriol., 42, 120–126.

39. Fryer JL, Lannan CN (2005) Family II Piscirickettsiaceae fam. Nov. In: Garrity GM (ed) Bergey´s manual of systematic bacteriology. Springer, New York, pp 180–184

40. Fryer, J. L., & Hedrick, R. P. (2003). *Piscirickettsia salmonis*: A Gram-negative intracellular bacterial pathogen of fish. Journal of Fish Diseases, 26(5), 251–262. doi:10.1046/j.1365-2761.2003.00460.x

41. Fryer, J. L., & Mauel, M. J. (1997). The Rickettsia: An Emerging Group of Pathogens in Fish. Emerging Infectious Diseases, 3(2), 137–144. doi:10.3201/eid0302.970206

42. Gaggero, a., Castro, H., & Sandino, a. M. (1995). First isolation of *Piscirickettsia salmonis* from coho salmon, Oncorhynchus kisutch (Walbaum), and rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum), during the freshwater stage of their life cycle. Journal of Fish Diseases, 18(3), 277–280. doi:10.1111/j.1365-2761.1995.tb00303.x

43. Garces, L. H., Larenas, J. J., Smith, P. A., Sandino, S., Lannan, C. N., & Fryer, J. L. (1991). Infectivity of a rickettsia isolated from coho salmon Oncorhynchus kisutch. Diseases of Aquatic Organisms, 11(2), 93–97. doi:10.3354/dao011093

44. Garcías, F., Mendoza, J., & Carvajal, J. (2005). Posible susceptibilidad de Oncorhynchus kisutch a adquirir piscirickettsiosis en la fase de engorda debido al estrés fisiológico que le produce la alimentación a saciedad. AquaTIC, 22, 11–19.

45. Garrity GM (ed) Bergey´s manual of systematic bacteriology. Springer, New York, pp 180–184

46. GJEDREM, T.; BARANSKI, M. 2009. Initiating Breeding Programs. In: Selective Breeding in Aquaculture: An Introduction. Springer. ordrecht, The Netherlands, pp. 3-85.

47. Gómez, F., Henríquez, V., & Marshall, S. (2009). Additional evidence of the facultative intracellular nature of the fish bacterial Evidencia adicional de la naturaleza intracelular facultativa del patógeno bacteriano de peces *Piscirickettsia salmonis*. Archivos de Medicina Veterinaria, 267(41), 261–267. doi:10.4067/S0301-732X2009000300011

48. GRAUMANN, R.; ENRÍQUEZ, R.; MONRÁS, M.; BROWN, A.W.; ROSENTHAL, H. 1997. Experimental challenge of *Piscirickettsia salmonis* in postsmolts of Atlantic salmon (Salmo salar). In: 8th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish. Edinburgh, Scotland. September, 14-19. European Association of Fish Pathologists (EAFP), pp. P-056.

49. Groff Joseph M.; Lapatra, S. E. (2000). Infectious Diseases Impacting the Commercial Culture of Salmonids. Journal of Applied Aquaculture, 10(4), 37–41. doi:10.1300/j028v10n04_02

50. Gutenberger, S. K., Duimstra, J. R., Rohovec, J. S., & Fryer, J. L. (1997). Intracellular survival of Renibacterium salmoninarum in trout mononuclear phagocytes. Disease of Aquatic Organisms, 28(2), 93–106. doi:10.3354/dao028093

51. Henríquez, M., González, E., Marshall, S. H., Henríquez, V., Gómez, F. a, Martínez, I., & Altamirano, C. (2013). A Novel Liquid Medium for the Efficient Growth of the Salmonid Pathogen *Piscirickettsia salmonis* and Optimization of Culture Conditions. PloS One, 8(9), e71830. doi:10.1371/journal.pone.0071830

52. HOUSE, M.L.; FRYER, J.L. 2002. The Biology and Molecular Detection of *Piscirickettsia salmonis*. In: Cunningham, C.O. (Ed.). Molecular Diagnosis of Salmonid Diseases. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda, pp. 141- 155.

53. Jakob, E., Stryhn, H., Yu, J., Medina, M. H., Rees, E. E., Sanchez, J., & St-Hilaire, S. (2014). Epidemiology of Piscirickettsiosis on selected Atlantic salmon (Salmo salar) and rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) salt water aquaculture farms in Chile. Aquaculture, 433, 288–294. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.06.018

54. JONES S.R.M., MARKHAM R.J.F., GROMAN D.B. & CUSACK R.R. (1998). Virulence and antigenic characteristics of a cultured Rickettsiales-like organism isolated from farmed Atlantic salmon Salmo salar in eastern Canada. Dis. Aquat. Org., 33, 25–31.

55. Kuzyk, M. a, Burian, J., Thornton, J. C., & Kay, W. W. (2001). OspA, a lipoprotein antigen of the obligate intracellular bacterial pathogen *Piscirickettsia salmonis*. Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology, 3(1), 83–93.

56. Kuzyk, M. A., Burian, J., Machander, D., Dolhaine, D., Cameron, S., Thornton, J. C., & Kay, W. W. (2001). An efficacious recombinant subunit vaccine against the salmonid rickettsial pathogen *Piscirickettsia salmonis*. Vaccine, 19(17-19), 2337–2344. doi:10.1016/S0264-410X(00)00524-7

57. Kuzyk, M. A., Thorton, J. C., & Kay, W. W. (1996). Antigenic characterization of the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis*. Infection and Immunity, 64(12), 5205–5210.

58. Labra, Á., Arredondo-Zelada, O., Flores-Herrera, P., Marshall, S. H., & Gómez, F. A. (2016). In sílico identification and characterization of putative Dot/Icm secreted virulence effectors in the fish pathogen *Piscirickettsia salmonis*. Microbial Pathogenesis, 92, 11–18. doi:10.1016/j.micpath.2015.12.002

59. Lannan C., E. S. A. & F. J. L. (1991). A Fluorescent Antibody Test for Detection of the Rickettsia Causing Disease in Chilean Salmonids. Journal Od Aquatic Animal Health, 3(January 2015), 77–86. doi:10.1577/1548-8667(1991)003

60. LANNAN C.N. & FRYER J.L. (1991). Recommended methods for inspection of fish for the salmonid rickettsia. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 11, 135–136.

61. LANNAN C.N., EWING S.A. & FRYER J.L. (1991). A fluorescent antibody test for detection of the rickettsia causing disease in Chilean salmonids. J. Aquat. Anim. Health, 3, 229–234.

62. Lannan, C. N., & Fryer, J. L. (1994). Extracellular Survival of Piscirickettsia-Salmonis. Journal of Fish Diseases, 17(10408), 545–548. doi:10.1111/j.1365-2761.1994.tb00251.x

63. LARENAS, J.; CONTRERAS, J.; SMITH, P. 2000. Piscirickettsiosis: uno de los principales problemas en cultivos de salmones en Chile. Tecnovet 6:28-30.

64. LARENAS, J.; HIDALGO, L.; GARCÉS, H.; FRYER, J.; SMITH, P. 1995. Piscirickettsiosis: Lesiones en salmón del Atlántico (Salmo salar) infectados naturalmente con *Piscirickettsia salmonis*. Av. Cs. Vet. 10:53-58.

65. LARENAS, J.J. 1999. Evaluación experimental clínico patológica del efecto de la densidad poblacional, temperatura e infección concominante con Renibacterium salmoninarum sobre la presentación de piscirickettsiosis. Memoria Grado Magíster en Ciencias Animales y Veterinarias, Mención Patología Animal. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 149 p.

66. Larsson, P., Oyston, P. C. F., Chain, P., Chu, M. C., Duffield, M., Fuxelius, H.-H., … Titball, R. W. (2005). The complete genome sequence of Francisella tularensis, the causative agent of tularemia. Nature Genetics, 37(2), 153–9. doi:10.1038/ng1499

67. Leal J, Woywood D. Piscirickettsiosis en Chile: avances y perspectivas para su control. Salmociencia. 2007;2:34–42.

68. MANCILLA, M.; BUSTOS, P. 2015. Desafíos para avanzar a un control efectivo de la piscirickettsiosis. ¿Por qué podríamos llegar a estar optimistas a mediano plazo?. Research Gate, 9 pp. [en línea] <http://www.researchgate.net/publication/281377738>

69. MARSHALL S., HEATH S., HENRIQUEZ V. & ORREGO C. (1998). Minimally invasive detection of

Piscirickettsia salmonis in cultivated salmonids via the PCR. Appl. Environ. Microbiol., 64, 3066–3069.

70. Marshall, S. H., Conejeros, P., Zahr, M., Olivares, J., Fernando, G., Cataldo, P., & Henr, V. (2007). Immunological characterization of a bacterial protein isolated from salmonid fish naturally infected with *Piscirickettsia salmonis*, 25, 2095–2102. doi:10.1016/j.vaccine.2006.11.035
71. Marshall, S. H., Gómez, F. a, Ramírez, R., Nilo, L., & Henríquez, V. (2012). Biofilm generation by *Piscirickettsia salmonis* under growth stress conditions: a putative in vivo survival/persistence strategy in marine environments. Research in Microbiology, 163(8), 557–66. doi:10.1016/j.resmic.2012.08.002
72. MAUEL M. J., GIOVANNONI S.J. & FRYER J.L. (1996). Development of polymerase chain reaction assays for detection, identification, and differentiation of *Piscirickettsia salmonis*. Dis. Aquat. Org., 26, 189–195.
73. Mauel, M. J., & Miller, D. L. (2002). Piscirickettsiosis and piscirickettsiosis-like infections in fish: A review. Veterinary Microbiology, 87, 279–289. doi:10.1016/S0378-1135(02)00085-8
74. Mauel, M. J., Giovannoni, S. J., & Fryer, J. L. (1999). Phylogenetic analysis of *Piscirickettsia salmonis* by 16S, internal transcribed spacer (ITS) and 23S ribosomal DNA sequencing. Diseases of Aquatic Organisms, 35(2), 115–123. doi:10.3354/dao035115
75. Mauel, M. J., Ware, C., & Smith, P. a. (2008). Culture of *Piscirickettsia salmonis* on enriched blood agar. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation : Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 20(2), 213–214. doi:10.1177/104063870802000211
76. McCarthy Ú, Steiropoulos NA, Thompson KD, Adams A, Ellis AE, Ferguson HW (2005) Confirmation of Piscirick- ettsia salmonis as a pathogen in European sea bass Dicentrarchus labrax and phylogenetic comparison with salmonid strains. Dis Aquat Org 64: 107−119
77. McCarthy, Ú. M., Bron, J. E., Brown, L., Pourahmad, F., Bricknell, I. R., Thompson, K. D., … Ellis, A. E. (2008). Survival and replication of *Piscirickettsia salmonis* in rainbow trout head kidney macrophages. Fish and Shellfish Immunology, 25(5), 477–484. doi:10.1016/j.fsi.2008.07.005
78. Mikalsen, J., Skjaervik, O., Wiik-Nielsen, J., Wasmuth, M. A., & Colquhoun, D. J. (2008). Agar culture of *Piscirickettsia salmonis*, a serious pathogen of farmed salmonid and marine fish. FEMS Microbiology Letters, 278(1), 43–47. doi:10.1111/j.1574-6968.2007.00977.x
79. Miquel, A., Müller, I., Ferrer, P., Valenzuela, P. D. T., & Burzio, L. O. (2003). Immunoresponse of Coho salmon immunized with a gene expression library from *Piscirickettsia salmonis*. Biological Research, 36(3-4), 313–323. doi:10.4067/S0716-97602003000300004

80. MONASTERIO, M. 2008. Descripción patológica en salmones coho (Oncorhynchus kisutch) coinfectados para reproducir experimentalmente piscirickettsiosis y anemia hemolítica del salmón. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 98 pp.

81. Nayak, S. K. (2010). Probiotics and immunity: A fish perspective. Fish and Shellfish Immunology, 29(1), 2–14. doi:10.1016/j.fsi.2010.02.017

82. OIE (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE SANIDAD ANIMAL). 2006. Piscirickettsiosis (*Piscirickettsia salmonis*). In: Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos 2006. 5th ed. Organización Mundial de Sanidad Animal. París, Francia, pp. 250-256.

83. Olivares, J., & Marshall, S. H. (2010). Determination of minimal concentration of *Piscirickettsia salmonis* in water columns to establish a fallowing period in salmon farms, 1–6. doi:10.1111/j.1365-2761.2009.01119.x

84. OLSEN A.B., MELBY H.P., SPEILBERG L., EVENSEN O. & HASTEIN T. (1997). *Piscirickettsia salmonis* infection in Atlantic salmon Salmo salar in Norway – epidemiological, pathological and microbiological findings. Dis. Aquat. Org., 31, 35–48.

85. Olson, T. K., & Criddle, K. R. (2008). Industrial Evolution: a Case Study of Chilean Salmon Aquaculture. Aquaculture Economics & Management, 12(2), 89–106. doi:10.1080/13657300802110687

86. Otterlei, A., Brevik, Ø. J., Jensen, D., Duesund, H., Sommerset, I., Frost, P., … Apablaza, P. (2016). Phenotypic and genetic characterization of *Piscirickettsia salmonis* from Chilean and Canadian salmonids. BMC Veterinary Research, 1–11. doi:10.1186/s12917-016-0681-0

87. PALMER R., RUTTLEDGE M., CALLANAN K. & DRINAN E. (1997). A Piscirickettsiosis-like disease in farmed Atlantic salmon in Ireland – isolation of the agent. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 17, 68–72.

88. PÉREZ, B.A.; ALERT, A.A.; CONTRERAS, J.R.; SMITH, P.A. 1998. Detection of *Piscirickettsia salmonis* in up-stream- migrating coho salmon Oncorhynchus kisutch, in Chile. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 18:189-191.

89. Pulgar, R., Hödar, C., Travisany, D., Zuñiga, A., Domínguez, C., Maass, A., … Cambiazo, V. (2015). Transcriptional response of Atlantic salmon families to *Piscirickettsia salmonis* infection highlights the relevance of the iron-deprivation defence system. BMC Genomics, 16(1), 495. doi:10.1186/s12864-015-1716-9

90. Ramírez, R., Gómez, F. A., & Marshall, S. H. (2015). The infection process of *Piscirickettsia salmonis* in fish macrophages is dependent upon interaction with host-cell clathrin and actin. FEMS Microbiology Letters, 362(1), 1–8. doi:10.1093/femsle/fnu012

91. Rees, E. E., Ibarra, R., Medina, M., Sanchez, J., Jakob, E., Vanderstichel, R., & St-Hilaire, S. (2014). Transmission of *Piscirickettsia salmonis* among salt water salmonid farms in Chile. Aquaculture, 428-429(January 2009), 189–194. doi:10.1016/j.aquaculture.2014.03.031

92. RODGER H.D. & DRINAN E.M. (1993). Observation of a rickettsia-like organism in Atlantic salmon, Salmo salar L., in Ireland. J. Fish Dis., 16, 361–369.

93. Rojas Verónica, Olivares P., J., del R??o, R., & Marshall, S. H. (2008). Characterization of a novel and genetically different small infective variant of *Piscirickettsia salmonis*. Microbial Pathogenesis, 44(5), 370–378. doi:10.1016/j.micpath.2007.10.012

94. Rozas M., Sandoval A., Navarrete A., Arriagada G., Bohle H., Cortínez G., Tapia E. & Ildefonso R. (2009) Detección del virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) y de la enfermedad pancreática (PDV-SAV) en peces silvestres y asilvestrados de lagos de la Región de Los Lagos con concesiones de acuicultura, http://www.bcn.cl/ obtienearchivo?id=documentos/10221.1/14521/16/Informe% 20Final%20Consultor%C3%ADa%20Especializada% 20ISA-PD.pdf.

95. Rozas, M., & Enr, R. (2013). Review Piscirickettsiosis and *Piscirickettsia salmonis* in fish : a review. Journal of Fish Diseases, 1–26. doi:10.1111/jfd.12211

96. "SAG (SERVICIO AGRÍCOLA Y GANADERO). 2015. Productos Biológicos Inmunológicos con Registro Provisional Uso en Salmónidos. Última Modificación 17 de Agosto del 2015. In: Medicamentos de Uso Veterinario. Registros y Listas. 12 pp. [en línea] <http://www.sag.cl/sites/default/files/lista_salmonidos_registro_provisional_18- 8-2015.pdf > [Consulta 21.10. 2015]."

97. Sakai, M. (1999). Current research status of fish immunostimulants. Aquaculture, 172(1-2), 63–92. doi:10.1016/S0044-8486(98)00436-0

98. SALONIUS, K.; SIDERAKIS, C.; MACKINNON, A.M.; GRIFFITHS, S.G. 2005. Use of Arthrobacter davidanieli as a live vaccine against Renibacterium salmoninarum and *Piscirickettsia salmonis* in salmonids. Dev. Biol. 121:189- 197.

99. SCHAFER J.W., ALVARADO V., ENRIQUEZ R. & MONRAS M. (1990). The 'coho salmon syndrome' (CSS): a new disease in Chilean salmon, reared in sea water. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 10, 130.

100. SERNAPESCA (SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA). 2015a. Chile, Cosechas de Centros de Acuicultura por Especie y Región. In: Anuario Estadístico de Pesca 2014. Subsector Acuicultura. SERNAPESCA, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. Valparaíso, Chile, p.1 [en línea] <https://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_content&task=view&id=201 0&Itemid=889>

[Consulta 17.10.2015].

101. SERNAPESCA (SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA). 2015b. Informe Sanitario Salmonicultura en Centros Marinos año 2014. In: Informes Sanitarios y Ambientales Acuicultura. SERNAPESCA, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. Valparaíso, Chile, 34 pp. [en línea] <https://www.sernapesca.cl/index.php?option=com_remository&Itemid=246&func=startdown&id=11083>
102. SERNAPESCA (SERVICIO NACIONAL DE PESCA Y ACUICULTURA). 2015c. Informe sobre el Uso de Antimicrobianos 2014. In: Informes Sanitarios y Ambientales. SERNAPESCA, Ministerio de Economía, Fomento y Turismo. Valparaíso, Chile, 17 pp. [en línea] <https://www.sernapesca.cl/index.php?option=com
103. SKARMETA A.M., HENRIQUEZ, V., ZAHR M., ORREGO C. & MARSHALL S.H. (2000). Isolation of a virulent *Piscirickettsia salmonis* from the brain of naturally infected coho salmon. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 20, 261–264.
104. Smith, P. A., Rojas, M. E., Guajardo, A., Contreras, J., Morales, M. A., & Larenas, J. (2004). Experimental infection of coho salmon Oncorhynchus kisutch by exposure of skin, gills and intestine with *Piscirickettsia salmonis*. Diseases of Aquatic Organisms, 61(1-2), 53–57. doi:10.3354/dao061053
105. SMITH, P.A.; CONTRERAS, J.R.; LARENAS, J.J.; AGUILLÓN, J.C.; GARCÉS, L.H.; PÉREZ, B.; FRYER, J.L. 1997. Immunization with bacterial antigens: piscirickettsiosis. Dev. Biol. Stand. 90:161-166.
106. Smith, P. A., Pizarro, P., Ojeda, P., Contreras, J., Oyanedel, S., & Larenas, J. (1999). Routes of entry of Piscirickettsia salmonis in rainbow trout Oncorhvnchus mvkiss, (May 2014). https://doi.org/10.3354/dao037165
107. SMITH, P.A.; LANNAN, C.N.; GARCÉS, L.H.; JARPA, M.; LARENAS, J.; CASWELL-RENO, P.; WHIPPLE, M.; FRYER, J.L. 1995. Piscirickettsiosis: a bacterin field trial in coho salmon (Oncorhynchus kisutch). Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 15:137-141.
108. Sommerset, I., Krossøy, B., Biering, E., & Frost, P. (2005). Vaccines for fish in aquaculture. Expert Review of Vaccines, 4(1), 89–101. doi:10.1586/14760584.4.1.89
109. Thomas MV, Faisal M (2009) Piscirickettsia infection in the muskellunge population of Lake St. Clair. Fisheries Research Report 2092. Michigan Department of Natural Resources, Ann Arbor, MI. Available at www.michi-gandnr.com/PUBLICATIONS/PDFS/ifr/ifrlibra/Research/reports/2092/RR2092.pdf

111. Tobar, J. A., Jerez, S., Caruffo, M., Bravo, C., & Contreras, F. (n.d.). Author ' s personal copy Oral vaccination of Atlantic salmon (Salmo salar) against salmonid rickettsial septicaemia. doi:10.1016/j.vaccine.2010.12.107

112. Turnbull, J.F. 1993. Bacterial gill disease and fin rot. Pages 40-58 in V. Inglis, R.J. Roberts, and N.R. Bromage, eds. Bacterial Diseases of Fish. Blackwell Scientific Publications, Oxford, England

113. VENEGAS, C. 1996. *Piscirickettsia salmonis*: prospección en fauna marina asociada a cultivos de salmónidos infectados. Período invierno-primavera. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Cs. Veterinarias y Pecuarias. 95 pp.

114. Venegas, C. A., Contreras, J. R., Larenas, J. J., & Smith, P. A. (2004). DNA hybridization assays for the detection of *Piscirickettsia salmonis* in salmonid fish. Journal of Fish Diseases, 27(7), 431–433. doi:10.1111/j.1365-2761.2004.00557.x

115. Vera T, Isla A, Cuevas A, Figueroa J (2012) A new liquid medium for the pathogen *Piscirickettsia salmonis*. Arch Med Vet 44:273-277

116. Vitalia Henríquez, M. Verónica Rojas, and S. H. Marshall. (2003). An Alternative Ef cient Procedure for Puri cation of the Obligate Intracellular Fish Bacterial Pathogen. Society, 69(10), 6268–6271. doi:10.1128/AEM.69.10.6268

117. Wilhelm, V., Miquel, A., Burzio, L. O., Rosemblatt, M., Engel, E., Valenzuela, S., … Valenzuela, P. D. T. (2006). A vaccine against the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* based on recombinant proteins. Vaccine, 24(23), 5083–5091. doi:10.1016/j.vaccine.2006.03.027

118. Yañez Alejandro J.,a,b,d Cristian Molina,b Ronie E. Haro,a Patricio Sanchez,a Adolfo Isla,a Julio Mendoza,e Marcelo Rojas-Herrera,c Annette Trombert,c Andrea X. Silva,b Juan G. Cárcamo,a,d Jaime Figueroa,a,d Victor Polanco,c Patricio Manque,c Vinicius Mar, c V. H. O. (2014). Draft Genome Sequence of Virulent Strain AUSTRAL-005 of, 2(5), 5–6. doi:10.1128/genomeA.00990-14.Copyright

119. Yañez, A. J., Valenzuela, K., Silva, H., Retamales, J., Romero, A., Enriquez, R., … Carcamo, J. G. (2012). Broth medium for the successful culture of the fish pathogen *Piscirickettsia salmonis*, 97, 197–205. doi:10.3354/dao02403

120. Young, C. L., & Chapman, G. B. (1978). Ultrastructural Aspects of the Causative Agent and Renal Histopathology of Bacterial Kidney Disease in Brook Trout (Salvelinus fontinalis). Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 35(14545), 1234–1248. doi:10.1139/f78-194

121. Yuksel, S. A., Thompson, K. D., Ellis, A. E., & Adams, A. (2006). Improved purification of *Piscirickettsia salmonis* using Percoll gradients. Journal of Microbiological Methods, 66(2), 251–262.

doi:10.1016/j.mimet.2005.12.001

122. ZRNČIĆ, S.; VENDRAMIN, N.; BOUTRUP, T.S.; BOYE, M.; BRUUN, M.S.; BRNIĆ, D.; ORAIĆ, D. 2015. *Piscirickettsia salmonis* infection in European sea bass – An emerging disease in Mediterranean mariculture. 17th International Conference on Diseases of Fish and Shellfish. European Association of Fish Pathologists. Las Palmas de Gran Canaria, España, septiembre 7 a 11. Abstract Book, O-45, p. 153.

ANEXOS

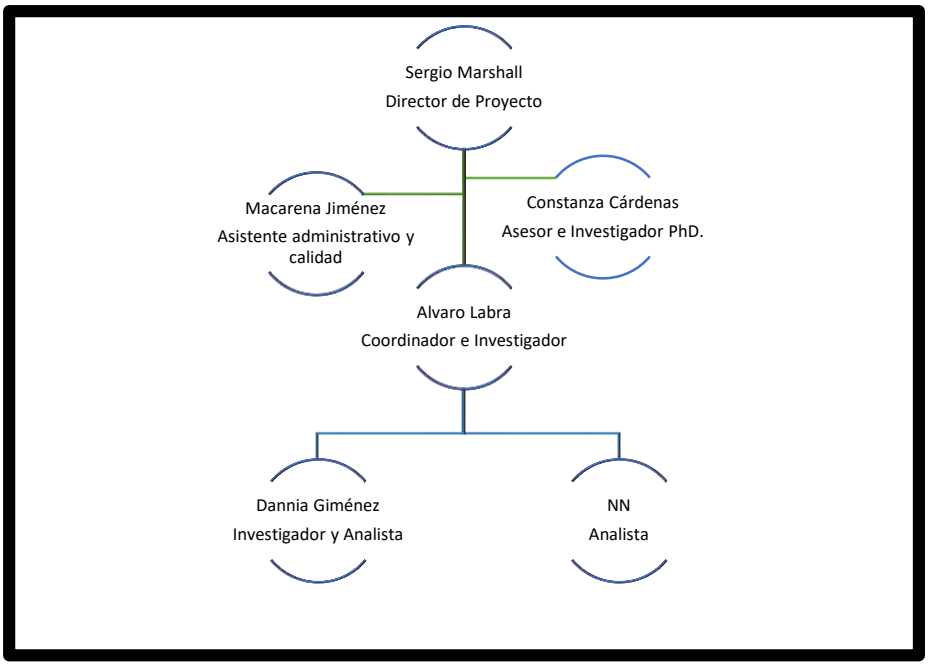
Anexo 1: Personal Participante por Actividad y Número de Horas Empleadas

Equipo técnico

Nombre	Institución	Cargo en el Proyecto	Funciones	% Dedicación /mes
Sergio Marshall (SM)	PUCV	Director del Proyecto	Coordinación general de Investigación y transferencia tecnológica	30
Constanza Cárdenas (CC)	PUCV – FCR	Asesor e Investigador PhD.	Análisis bioinformáticos de secuencias y análisis de información	10
Álvaro Labra (AL)	PUCV	Coordinador General e Investigador	Coordina Actividades de I+D, Mantiene el contacto permanente entre la PUCV, Subsecretaria de Pesca y Sernapesca. Desarrollo de nuevas técnicas	50
Dannia Giménez (DG)	PUCV	Investigador y Analista	Aplicación y validación de técnicas	100
Macarena Jiménez (MJ)	PUCV	Asistente administrativo	Aplicación y validación de técnicas. Apoyo administrativo general.	50
Cristian Muñoz	PUCV	Analista	Aplicación de técnicas y registro de resultados	10

Los antecedentes curriculares del personal profesional y técnico relevante para la realización del proyecto, se encuentran detallados en la oferta técnica, sin embargo, un breve resumen se presenta a continuación.

Organigrama



Descripción del Laboratorio

La Pontificia Universidad Católica de Valparaíso ha definido entre sus líneas prioritarias de desarrollo futuro, la biotecnología. De ahí que desde hace 10 años cuenta con el programa de Doctorado en Biotecnología, el que se encuentra acreditado por la Comisión Nacional de Acreditación, y sustentado por proyectos concursables del Gobierno (MECESUP). Dentro de las sub áreas prioritarias se encuentra la Biotecnología Marina, consolidada en la Facultad de Ciencias con uno de los laboratorios más completos del país. Dirigido por el Dr. Sergio Marshall, posee un reconocimiento nacional e internacional refrendado por sus publicaciones en el área de patógenos acuícolas.

El ISAv y la bacteria *P. salmonis* han sido los patógenos más estudiados por su grupo de investigación. La presentación y concesión de patentes, así como la adjudicación de proyectos de alta competitividad en el área tanto nacional como internacional ha permitido que el director y su grupo de trabajo haya sido reconocido como uno de los grupos más influyentes de la temática a nivel nacional, demostrado al ser nombrado por Sernapesca como Laboratorio Nacional de Referencia. En relación al reconocimiento internacional el Dr. Marshall ha sido invitado a participar

en calidad de experto en comité *ad hoc* por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) como experto en ISAV, una de las más devastadoras patologías de la industria acuícola. En concreto, las capacidades técnicas del grupo proponente se encuentran reconocidas tanto nacional como internacionalmente, con más de 15 publicaciones en el área.

Podemos destacar el desarrollo de un proyecto con colaboración conjunta entre el Laboratorio de Patógenos Acuícolas (PUCV) y el Atlantic Veterinary College, en donde el laboratorio proponente ha adquirido la experiencia suficiente como para convertirse en un laboratorio de referencia internacional para el virus ISA. Finalmente, la estrecha relación PUCV-Sernapesca, puede ser comprobada por los seminarios tanto nacionales como internacionales, en donde esta alianza ha permitido sentar bases que actualmente guían las decisiones de la entidad pública.

Dr. Sergio Marshall:

Doctor en Biología Molecular, Harvard University. Experto mundial en virus ISA y *Piscirickettsia salmonis.* Hoy en día, es Director del Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular, perteneciente al Instituto de Biología y del Laboratorio de Patógenos Acuícolas, ambos pertenecientes a la PUCV.

En éste último, mientras la dirección ha estado a su cargo, se ha reconocido como Laboratorio Nacional de Referencia para especies hidrobiológicas por el Servicio Nacional de Pesca en el año 2011 y como laboratorio de Referencia de la OIE para la infección por virus de la anemia infecciosa del salmón.

Dra. Constanza Cárdenas:

Doctora en Ciencias Químicas Universidad Nacional de Colombia. Amplia experiencia en formulación y dirección de proyectos multidisciplinarios. Experiencia en Bioinformática, síntesis de péptidos, análisis de datos y estadística aplicada.

Hoy en día se desempeña como investigadora asociada del Núcleo de Biotecnología Curauma (NBC) de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Dr. Nicolás Ojeda:

Bioquímico de la Universidad Austral de Chile. 10 años de experiencia en el área de inmunología y patógenos acuícolas. Amplio manejo de técnicas de biología molecular.

Su tesis doctoral, dirigida por los Drs. Sergio Marshall y Constanza Cárdenas, dedicada al estudio del mecanismo de infección en cepas HPR0 de ISAV.

Actualmente se desempeña en el Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular como investigador y participa activamente en proyectos de investigación relacionados con ambos patógenos (ISAV y *P. salmonis*).

Sr. Alvaro Labra:

Médico Veterinario, Magister en Ciencias Microbiológicas. Amplia experiencia en el diagnóstico y manejo de patologías y sus agentes etiológicos en peces. Su desarrollo profesional tanto en el Servicio Agrícola y Ganadero como en Sernapesca le ha otorgado un profundo conocimiento y manejo de normas y reglamentos asociados al rubro.

Ha participado activamente en proyectos de investigación tanto para ISAV como para *P. salmonis*.

Hoy en día se desempeña como coordinador e investigador del laboratorio de Patógenos Acuícolas, el cual ostenta el reconocimiento de parte de la OIE como laboratorio de referencia mundial para el ISAV.

Srta. Dannia Giménez:

Ingeniero en Bioprocesos con Diplomado en Bionegocios, de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV). Actualmente se desempeña como analista titular en el Laboratorio de Patógenos Acuícolas, Referencia Mundial para el virus ISA. Ha trabajado en diversos proyectos de investigación relacionados con virus ISA y *P. salmonis*, realizando baterías de análisis para identificar y determinar dichos agentes. Ha participado activamente en la validación y estandarización de las técnicas utilizadas para este propósito. De igual forma, desarrolla análisis de inter-comparación, para evaluar a laboratorios que identifican los mismos patógenos.

Colabora activamente en el desarrollo de publicaciones científicas, en materias que se mencionan anteriormente.

Srta. Macarena Jiménez:

Ingeniero en Gestión Industrial, con sólidos conocimientos en gestión y evaluación de proyectos. Actualmente es responsable de implementar y mantener el sistema de gestión de calidad, basado en NCh-ISO 17025 "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración" para el Laboratorio de Patógenos Acuícolas y la acreditación ante el Instituto Nacional de Normalización (INN). Para ello cuenta con cursos relacionados en materias de implementación y auditorías internas. Cabe destacar que el laboratorio es Referencia Mundial para virus ISA de la OIE. Además, lidera el sistema logístico en relación a compras de insumos, pagos a proveedores, ingreso de muestras, control de costos y otros.

Ha participado activamente en proyectos de investigación tanto para virus ISA y *P. salmonis*, apoyando labores administrativas y de análisis, participando como analista subrogante.

Sr. Cristian Muñoz:

Biólogo, Diplomado en Bionegocios de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Actualmente se desempeña como profesional científico del Laboratorio de Genética e Inmunología Molecular de la PUCV a cargo de la mantención, proliferación, infección y monitoreo de líneas celulares. Asimismo, realiza funciones relacionadas con la mantención de variantes de ISAV que forman parte del cepario y el estudio molecular y proteico de éstas y otras cepas virales y bacterianas.

Colabora activamente en el desarrollo de publicaciones científicas, en materias que se mencionan anteriormente.

En relación al personal participante, a continuación, se adjunta cuadro incluyendo cada objetivo, las actividades principales, y el número de horas empleadas por actividad.

Tabla Nº 38. Personal Participante por Actividad y Número de Horas totales Empleadas

Actividad	Institución / Personal	Número de Horas totales Empleadas
Revisión bibliográfica: estado del arte de PS e ISAv y las enfermedades que provocan	**PUCV**	
Búsqueda de Documentos nacionales	AL	15
	MJ	20
	DG	30
Búsqueda de documentos internacionales	AL	30
	MJ	20
	DG	30
Búsqueda de actas de congresos	DG	10
	MJ	20
	AL	20
Revisión de Información	MJ	15
	AL	80
Desarrollo de Ficha técnica de cada enfermedad	SM	30
	MJ	20
	AL	85
Diseño y validación de alternativas de diagnóstico de ISAV y P. salmonis desde Caligus	**PUCV**	
Evaluar alternativas de extracción de material genético desde Caligus	MJ	15
	DG	230
Evaluar alternativas de diagnóstico a partir del RNA recuperado para ISAV y PS	DG	240
	AL	20
Evaluar variaciones necesarias por estados de desarrollo	AL	65
Validación de técnicas	AL	60
	DG	190
	MJ	130
Etapa 1. Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con P. salmonis.	PUCV/UACh	
Muestreo en centro de salmonidos con alta carga de caligus y negativo a P. salmonis	SB	48
Muestreo en centro de salmonidos con alta carga de caligus y positivo a P. salmonis	SB	48
Rotulacion, clasificación (adultos y chalimus) y preservación de muestras	SB	48
Extracción de larvas desde sacos ovigeros	SB	24
Mantención de Caligus adultos vivos por 120 horas (muestreos respectivos)	SB	148
Envío de muestras al GIM-PUCV	SB	12
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR	DG	72
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación	DG	120
Infeccion de cultivos celulares	AL	240
Infeccion de peces	AL	240
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR	DG	41
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación	DG	72
Etapa 2. Infección de peces susceptibles con parásitos infectados in vitro con P. salmonis y verificación de la	PUCV/UACh	

capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos.		
Infeccion de 10 salmonidos con P. salmonis	SB	240
Infestacion de salmonidos con Caligus	SB	120
Extracción de caligus y órganos de los peces	SB	24
Infestacion de salmonidos sanos cn caligus positivos a P. salmonis	SB	240
Muestreo, rotulación, preservacion y envío de muestras al GIM-PUCV	SB	48
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR	DG	70
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación	AL	120
Evaluación de métodos diagnósticos para ISAV y *P. salmonis*	**PUCV - SUBPESCA - SERNAPESCA**	
Definición de objetivos	PUCV - SUBPESCA - SERNAPESCA	20
Diseño del ensayo	SM	10
	AL	40
Preparación y evaluación preliminar de muestras	AL	70
	DG	160
Preparación y evaluación definitivas de muestras	DG	190
Diseño de instrucciones de análisis y Envío de muestras	AL	50
	MJ	60
Recepción y análisis de resultados	AL	30
Informe de resultados	AL	60
Aislamiento ISAv HPR0	**PUCV**	
Diseño de un estudio para el aislamiento de ISAv HPR0	SM	70
Aplicación de la o las metodologías para el aislamiento de ISAv HPR0	DG	625
	CM	150
Análisis de Muestras	**PUCV**	
Definición de metodologías de análisis	SM	10
	AL	15
Análisis de Muestras	MJ	295
	DG	1315
Capacitación de Profesionales en Diagnóstico Molecular de ISA y *P. salmonis*	**PUCV**	
Diseño y propuesta de un programa de capacitación	SM	10
	AL	45
Elaboración y selección del material de apoyo	SM	20
	MJ	60
	AL	70
Desarrollo de la actividad teórica	SM	8
	AL	20
	CM	8
Desarrollo de la actividad practica	DG	100
	MJ	80
Evaluación	MJ	20
	AL	10
Informes	**PUCV**	
Primer informe de avance	SM	50
	MJ	60
	AL	100
Segundo informe de avance	SM	50

	MJ	75
	AL	235
Pre-informe final	SM	50
	MJ	70
	AL	240
Informe final	SM	30
	MJ	70
	AL	220
Talleres, Reuniones y Difusión	**PUCV - SUBPESCA - SERNAPESCA**	
Reunión inicial de coordinación	PUCV - SUBPESCA - SERNAPESCA	10
Reuniones de avance de proyecto		90
Reuniones internas	SM	49
	AL	175
	DG	105
	MJ	610
	CM	49
Taller de difusión de resultados	SM	36
	AL	50

SM: Sergio Marshall; AL: Alvaro Labra; DG: Dannia Giménez; MJ: Macarena Jiménez y Cristian Muñoz.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 540	Fecha Informe 12-11-2015

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	03-11-2015	Fecha Análisis	12-11-2015
Fecha Recepción	11-11-2015	Hora Recepción Muestras	10:08
Numero de Muestras	10	Numero de Análisis	10
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
19890	21AL-01	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	20,681	DR
19892	21AL-02	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	17,975	DR
19894	21AL-03	CO-RI-BR	POOL	30,901	POSITIVO	12,743	DR
19896	21AL-04	CO-RI-BR	POOL	25,988	POSITIVO	13,016	DR
19898	21AL-05	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	18,921	DR
19900	21AL-06	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,470	DR
19902	21AL-07	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	21,884	DR
19904	21AL-08	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	18,234	DR
19906	21AL-09	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,598	DR
19908	21AL-10	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,224	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	541

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	ETANOL	**Fecha de Muestreo**	03-11-2015	
Nº de Muestras	2	**Fecha de Recepción de muestras**	11-11-2015	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	10:08	
		Fecha de análisis	13-11-2015	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	13-11-2015	

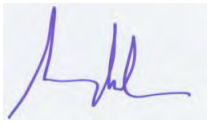
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
19894	21AL-03	Co-Ri-Br	-	30.94	POOL	HPR0 NEGATIVO
19896	21AL-04	Co-Ri-Br	-	26.42	POOL	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23.69	27.77	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	43	Nº de informe al que pertenece	540

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE LA MUESTRA				
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	03-11-2015	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	11-11-2015	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	10:08	
		Fecha de análisis	12-11-2015	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	12-11-2015	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	12-11-2015	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			04-12-2015	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
19896	21AL-04	-	-

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
19896	21AL-04	-	-

OBS: Se realiza amplificación para segmento 5 y 6 , no dando resultados favorables, debido a la baja cantidad de material genético contenido en la muestra.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 542	Fecha Informe 20-11-2015

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-11-2015	Fecha Análisis	20-11-2015
Fecha Recepción	18-11-2015	Hora Recepción Muestras	09:28
Numero de Muestras	24	Numero de Análisis	24
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
19910	DF-37-25	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,138	DR
19912	DF-37-26	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,216	DR
19914	DF-37-27	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,697	DR
19916	DF-37-28	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,268	DR
19918	DF-37-29	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,685	DR
19920	DF-37-30	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,540	DR
19922	DF-37-31	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,066	DR
19924	DF-37-32	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,930	DR
19926	DF-37-33	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,138	DR
19928	DF-37-34	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	12,404	DR
19930	DF-37-35	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	12,659	DR
19932	DF-37-36	CO-RI-BR	POOL	41,233	NEGATIVO	15,604	DR
19934	DF-37-37	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,274	DR
19936	DF-37-38	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,711	DR
19938	DF-37-39	CO-RI-BR	IND	42,321	NEGATIVO	14,308	DR
19940	DF-37-40	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	15,591	DR
19942	DF-37-41	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	32,019	FR
19944	DF-37-42	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,110	DR
19946	DF-37-43	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,869	DR
19948	DF-37-44	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	15,195	DR
19950	DF-37-45	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,374	DR
19952	DF-37-46	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,152	DR
19954	DF-37-47	CO-RI-BR	POOL	42,286	NEGATIVO	12,058	DR
19956	DF-37-48	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,042	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

La muestra 19942, posee un ct de ELF-1α fuera de rango, debido a la degradación de RNA en el tejido.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 543	Fecha Informe 20-11-2015

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-11-2015	Fecha Análisis	20-11-2015
Fecha Recepción	19-11-2015	Hora Recepción Muestras	12:52
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
19958	AB-39-01	CO-RI-BR	IND	9,699	POSITIVO	11,211	DR
19960	AB-39-02	CO-RI-BR	IND	16,223	POSITIVO	12,744	DR
19962	AB-39-03	CO-RI-BR	IND	10,477	POSITIVO	12,985	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	544

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	15-11-2015
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	19-11-2015
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	12:52
		Fecha de análisis	20-11-2015
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	20-11-2015

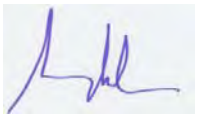
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
19958	AB-39-01	Co-Ri-Br	-	9,610	IND	HPR0 NEGATIVO
19960	AB-39-02	Co-Ri-Br	-	15,451	IND	HPR0 NEGATIVO
19962	AB-39-03	Co-Ri-Br	-	8,733	IND	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,643	27,400	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	44	Nº de informe al que pertenece	544

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

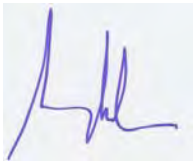
INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	15-11-2015	
Nº de Muestras a secuenciar	3	**Fecha de Recepción de muestras**	19-11-2015	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	12:52	
		Fecha de análisis	20-11-2015	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	20-11-2015	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	20-11-2015	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			04-12-2015	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
19958	AB-39-01	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto
19960	AB-39-02	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto
19962	AB-39-03	QHGWSKYNF**NLRA**FPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
19958	AB-39-01	SKLQRNITDV**KIRVDAIPPQLNQTF**GVAGFGIALFLAGWKACIWIAAF	HPR35
19960	AB-39-02	SKLQRNITDV**KIRVDAIPPQLNQTF**GVAGFGIALFLAGWKACIWIAAF	HPR35
19962	AB-39-03	SKLQRNITDV**KIRVDAIPPQLNQTF**GVAGFGIALFLAGWKACIWIAAF	HPR35

OBS: Se confirma una vez más que las muestras corresponde a HPR35 y no HPR2d.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 545	Fecha Informe 30-11-2015

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-11-2015	Fecha Análisis	30-11-2015
Fecha Recepción	30-11-2015	Hora Recepción Muestras	11:43
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	BUFFER TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
19970	AB-52-1	CO-RI-BR	IND	17,113	POSITIVO	15,302	DR
19972	AB-52-2	CO-RI-BR	IND	18,261	POSITIVO	15,399	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	546

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	TRK	**Fecha de Muestreo**	12-11-2015
Nº de Muestras	2	**Fecha de Recepción de muestras**	30-11-2015
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	11:43
		Fecha de análisis	01-12-2015
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	01-12-2015

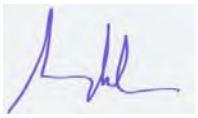
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
19970	AB-52-1	Co-Ri-Br	-	17,354	IND	HPR0 NEGATIVO
19972	AB-52-2	Co-Ri-Br	-	18,145	IND	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,504	30,169	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 550	Fecha Informe 21-01-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-01-2016	Fecha Análisis	21-01-2016
Fecha Recepción	20-01-2016	Hora Recepción Muestras	16:50
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
19986	PA-04-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,922	DR
19988	PA-04-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,734	DR
19990	PA-04-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,222	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 551	Fecha Informe 07-03-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-02-2016	Fecha Análisis	07-03-2016
Fecha Recepción	04-03-2016	Hora Recepción Muestras	16:10
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
19998	LF02 1	CO-RI-BR	IND	16,403	POSITIVO	15,571	DR
20000	LF02 1	CO-RI-BR	IND	20,427	POSITIVO	14,791	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA	Kit E.Z.N.A.	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 553	Fecha Informe 22-04-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	07-04-2016	Fecha Análisis	22-04-2016
Fecha Recepción	21-04-2016	Hora Recepción Muestras	14:40
Numero de Muestras	9	Numero de Análisis	9
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20010	LM66-1	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	-	NEGATIVO	20,080	DR
20012	LM66-2	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	-	NEGATIVO	19,808	DR
20014	LM66-3	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	-	NEGATIVO	26,001	FR
20016	LM66-4	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	-	NEGATIVO	24,676	FR
20018	LM66-5	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	-	NEGATIVO	19,686	DR
20020	LM66-6	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	35,393	NEGATIVO	19,492	DR
20022	LM66-7	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	-	NEGATIVO	20,904	FR
20024	LM66-8	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	35,709	NEGATIVO	19,894	DR
20026	LM66-9	CO-RI-BZ-HI-BR	IND	-	NEGATIVO	20,026	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

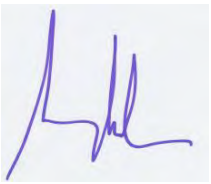
Extracción de RNA	E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Algunos valores de ct del ensayo de ELF-1α, se encuentran fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	554

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	07-04-2016
Nº de Muestras		**Fecha de Recepción de muestras**	21-04-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:40
		Fecha de análisis	22-04-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	22-04-2016

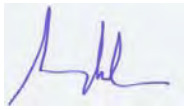
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20010	LM66-1	CO-RI-BZ-HI-BR	-	-	IND	HPR0 NEGATIVO
20012	LM66-2	CO-RI-BZ-HI-BR	-	-	IND	HPR0 NEGATIVO
20014	LM66-3	CO-RI-BZ-HI-BR	-	-	IND	HPR0 NEGATIVO
20016	LM66-4	CO-RI-BZ-HI-BR	-	-	IND	HPR0 NEGATIVO
20018	LM66-5	CO-RI-BZ-HI-BR	-	-	IND	HPR0 NEGATIVO
20020	LM66-6	CO-RI-BZ-HI-BR	-	35,393	IND	HPR0 NEGATIVO
20022	LM66-7	CO-RI-BZ-HI-BR	-	-	IND	HPR0 NEGATIVO
20024	LM66-8	CO-RI-BZ-HI-BR	-	35,709	IND	HPR0 NEGATIVO
20026	LM66-9	CO-RI-BZ-HI-BR	-	-	IND	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	32,812	28,556	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 555	Fecha Informe 12-05-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	27-04-2016	Fecha Análisis	12-05-2016
Fecha Recepción	11-05-2016	Hora Recepción Muestras	17:30
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	BUFFER TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20028	HR-108-1	CO-RI-BR	POOL	25,415	POSITIVO	14,177	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Kit E.Z.N.A.	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	556

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	Buffer TRK	**Fecha de Muestreo**	27-04-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	11-05-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:30
		Fecha de análisis	12-05-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	12-05-2016

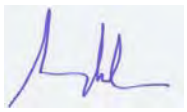
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20028	HR-108-1	Co-Ri-Br	24,139	25,415	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	28,737	28,718	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 557	Fecha Informe 17-06-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-05-2016	Fecha Análisis	17-06-2016
Fecha Recepción	16-06-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20056	HR-133-1	CO-RI-BR	IND	21,261	POSITIVO	23,187	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	558

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	Sin preservante	**Fecha de Muestreo**	16-05-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	16-06-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	20-06-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	20-06-2016

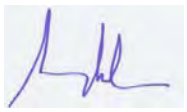
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20056	HR-133-1	Co-Ri-Br	-	18,590	IND	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	28,443	26,112	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 559	Fecha Informe 17-06-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	10-06-2016	Fecha Análisis	17-06-2016
Fecha Recepción	16-06-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20058	HR-132-1	CO-RI-BR	IND	34,674	POSITIVO	18,134	DR
20060	HR-132-2	CO-RI-BR	IND	19,310	POSITIVO	20,661	DR
20062	HR-132-3	CO-RI-BR	IND	16,772	POSITIVO	20,822	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Kit E.Z.N.A.	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	560

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	Sin preservante	**Fecha de Muestreo**	10-06-2016
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	16-06-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	20-06-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	20-06-2016

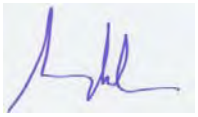
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20058	HR-132-1	Co-Ri-Br	29,450	30,389	IND	**HPR0 POSITIVO**
20060	HR-132-2	Co-Ri-Br	-	15,939	IND	HPR0 NEGATIVO
20062	HR-132-3	Co-Ri-Br	-	14,668	IND	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	28,443	26,112	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 561	Fecha Informe 21-06-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	03-06-2016	Fecha Análisis	21-06-2016
Fecha Recepción	20-06-2016	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	AGUA	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20064	TR14-1	CO-RI-BR	POOL	14,518	POSITIVO	17,755	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1	
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos	
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT	

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Cabe destacar que la muestra corresponde a tejido homogenizado en agua.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 562

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	AGUA	**Fecha de Muestreo**	03-06-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	20-06-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:00
		Fecha de análisis	22-06-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	22-06-2016

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20064	TR14-1	Co-Ri-Br	32,111	14,518	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	28,370	12,357	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

El resultado de la muestra es positivo a HPR0. Sin embargo no se observa una correlación entre los valores de ct del segmento 8 y del segmento 6.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 563	Fecha Informe 25-07-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-06-2016	Fecha Análisis	25-07-2016
Fecha Recepción	22-07-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	S.I.	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20066	MP-174	CO-RI-BR	IND.	37,164	NEGATIVO	16,388	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 567

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	S.I.	**Fecha de Muestreo**	29-06-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	22-07-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	26-07-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	26-07-2016

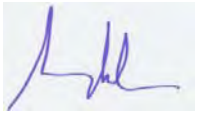
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20066	MP-174	Co-Ri-Br	36,048	35,832	IND	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	29,448	26,216	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 564	Fecha Informe 25-07-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	20-06-2016	Fecha Análisis	25-07-2016
Fecha Recepción	22-07-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SI	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20068	KMAM1	CO-RI-BR	IND.	35,684	POSITIVO	16,694	DR
20070	KMAM2	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,742	DR
20072	KMAM3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,952	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. Kit		Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1		Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System		Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 568

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	S.I.	**Fecha de Muestreo**	29-06-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	22-07-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	26-07-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	26-07-2016

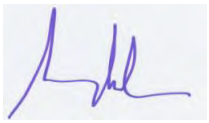
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20068	EM-175-1	Co-Ri-Br	35,883	37,204	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	29,448	26,216	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 565	Fecha Informe 25-07-2015

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-06-2016	Fecha Análisis	25-07-2016
Fecha Recepción	22-07-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	S.I.	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real							
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20074	MP-173	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	19,119	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 566	Fecha Informe 25-07-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	23-06-2016	Fecha Análisis	25-07-2016
Fecha Recepción	22-07-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	S.I.	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20076	AZ-172-1	CO-RI-BR	IND.	35,336	POSITIVO	18,233	DR
20078	AZ-172-2	CO-RI-BR	IND.	36,279	NEGATIVO	18,027	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 569

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	S.I.	**Fecha de Muestreo**	29-06-2016
Nº de Muestras	2	**Fecha de Recepción de muestras**	22-07-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	26-07-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	26-07-2016

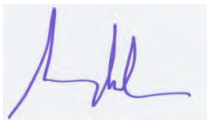
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20076	AZ-172-1	Co-Ri-Br	-	35,235	IND.	HPR0 NEGATIVO
20078	AZ-172-2	Co-Ri-Br	36,205	34,776	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	29,448	26,216	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 570	Fecha Informe 01-09-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-08-2016	Fecha Análisis	01-09-2016
Fecha Recepción	31-08-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	13	Numero de Análisis	13
Preservante	S.I.	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20106	AB00-1	CO-RI-BR	I.N.D.	28,881	POSITIVO	16,926	DR
20108	AB00-2	CO-RI-BR	I.N.D.	18,720	POSITIVO	14,845	DR
20110	AB00-3	CO-RI-BR	I.N.D.	17,776	POSITIVO	15,146	DR
20112	AB00-4	CO-RI-BR	I.N.D.	15,330	POSITIVO	15,344	DR
20114	AB00-5	CO-RI-BR	I.N.D.	17,282	POSITIVO	15,738	DR
20116	AB00-6	CO-RI-BR	I.N.D.	15,389	POSITIVO	15,066	DR
20118	AB00-7	CO-RI-BR	I.N.D.	19,683	POSITIVO	16,454	DR
20120	AB00-8	CO-RI-BR	I.N.D.	13,877	POSITIVO	15,210	DR
20122	AB00-9	CO-RI-BR	I.N.D.	16,331	POSITIVO	16,401	DR
20124	AB00-10	CO-RI-BR	I.N.D.	17,313	POSITIVO	15,343	DR
20126	AB00-11	CO-RI-BR	I.N.D.	15,879	POSITIVO	15,863	DR
20128	AB00-12	CO-RI-BR	I.N.D.	15,872	POSITIVO	15,309	DR
20130	AB00-13	CO-RI-BR	I.N.D.	18,617	POSITIVO	15,142	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Kit E.Z.N.A.	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 571

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	S.I.	**Fecha de Muestreo**	24-08-2016
Nº de Muestras	13	**Fecha de Recepción de muestras**	31-08-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	01-09-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	01-09-2016

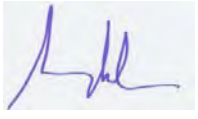
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20106	AB00-1	Co-Ri-Br	28,550	28,878	IND	HPR0 POSITIVO
20108	AB00-2	Co-Ri-Br	18,771	18,602	IND	HPR0 POSITIVO
20110	AB00-3	Co-Ri-Br	17,496	17,534	IND	HPR0 POSITIVO
20112	AB00-4	Co-Ri-Br	15,227	15,236	IND	HPR0 POSITIVO
20114	AB00-5	Co-Ri-Br	17,027	16,948	IND	HPR0 POSITIVO
20116	AB00-6	Co-Ri-Br	15,246	15,274	IND	HPR0 POSITIVO
20118	AB00-7	Co-Ri-Br	19,598	19,561	IND	HPR0 POSITIVO
20120	AB00-8	Co-Ri-Br	13,945	13,996	IND	HPR0 POSITIVO
20122	AB00-9	Co-Ri-Br	16,544	16,367	IND	HPR0 POSITIVO
20124	AB00-10	Co-Ri-Br	16,308	16,632	IND	HPR0 POSITIVO
20126	AB00-11	Co-Ri-Br	16,343	15,633	IND	HPR0 POSITIVO
20128	AB00-12	Co-Ri-Br	15,574	15,684	IND	HPR0 POSITIVO
20130	AB00-13	Co-Ri-Br	18,231	18,568	IND	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	28,847	28,980	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el

muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 572	Fecha Informe 01-09-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-08-2016	Fecha Análisis	01-09-2016
Fecha Recepción	31-08-2016	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	S.I.	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20132	CD00-1	CO-RI-BR	I.N.D.	21,856	POSITIVO	16,876	DR
20134	CD00-2	CO-RI-BR	I.N.D.	14,567	POSITIVO	14,865	DR
20136	CD00-3	CO-RI-BR	I.N.D.	17,879	POSITIVO	15,258	DR
20138	CD00-4	CO-RI-BR	I.N.D.	18,592	POSITIVO	15,556	DR
20140	CD00-5	CO-RI-BR	I.N.D.	17,116	POSITIVO	14,823	DR
20142	CD00-6	CO-RI-BR	I.N.D.	17,381	POSITIVO	14,950	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA		Kit E.Z.N.A.	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	573				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	S.I.		**Fecha de Muestreo**	24-08-2016	
Nº de Muestras	6		**Fecha de Recepción de muestras**	31-08-2016	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
			Fecha de análisis	01-09-2016	
			Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
			Fecha de emisión de informe	01-09-2016	

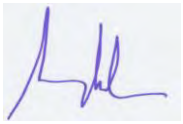
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20132	CD00-1	Co-Ri-Br	23,030	21,762	IND	**HPR0 POSITIVO**
20134	CD00-2	Co-Ri-Br	15,471	14,319	IND	**HPR0 POSITIVO**
20136	CD00-3	Co-Ri-Br	18,241	17,705	IND	**HPR0 POSITIVO**
20138	CD00-4	Co-Ri-Br	19,478	18,162	IND	**HPR0 POSITIVO**
20140	CD00-5	Co-Ri-Br	16,999	16,798	IND	**HPR0 POSITIVO**
20142	CD00-6	Co-Ri-Br	17,395	16,962	IND	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	28,847	28,980	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 574	Fecha Informe 28-11-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-11-2016	Fecha Análisis	25-11-2016
Fecha Recepción	24-11-2016	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	BUFFER TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20202	MT-285-1	CO-RI-BR	POOL	22,599	POSITIVO	18,294	DR
20204	MT-285-2	CO-RI-BR	POOL	21,760	POSITIVO	16,590	DR
20206	MT-285-3	CO-RI-BR	POOL	23,498	POSITIVO	17,238	DR
20208	MT-285-4	CO-RI-BR	POOL	23,206	POSITIVO	16,421	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 575

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	Buffer TRK	**Fecha de Muestreo**	28-11-2016
Nº de Muestras	4	**Fecha de Recepción de muestras**	24-11-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:45
		Fecha de análisis	28-11-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	28-11-2016

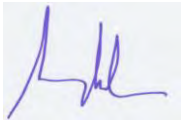
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20202	MT-285-1	Co-Ri-Br	21,559	23,682	POOL	HPR0 POSITIVO
20204	MT-285-2	Co-Ri-Br	21,328	23,171	POOL	HPR0 POSITIVO
20206	MT-285-3	Co-Ri-Br	23,730	24,780	POOL	HPR0 POSITIVO
20208	MT-285-4	Co-Ri-Br	22,976	24,750	POOL	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,109	28,436	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 576	Fecha Informe 09-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-12-2016	Fecha Análisis	09-12-2016
Fecha Recepción	07-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:05
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20352	HR-298-1	CO-RI-BR	POOL	32,648	POSITIVO	15,751	DR
20354	HR-298-2	CO-RI-BR	POOL	29,973	POSITIVO	16,770	DR
20356	HR-298-3	CO-RI-BR	POOL	10,139	POSITIVO	14,520	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

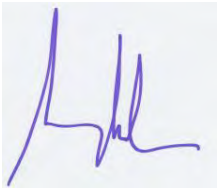
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 577

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	01-12-2016
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	07-12-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:05
		Fecha de análisis	09-12-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	09-12-2016

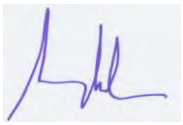
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20352	HR-298-1	Co-Ri-Br	30,891	32,648	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20354	HR-298-2	Co-Ri-Br	-	29,973	POOL	HPR0 NEGATIVO
20356	HR-298-3	Co-Ri-Br	-	10,139	POOL	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,417	28,012	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	45	Nº de informe al que pertenece	576

INFORMACIÓN CLIENTE

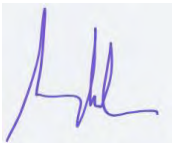
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	01-12-2016	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	07-12-2016	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:05	
		Fecha de análisis	09-12-2016	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	09-12-2016	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	09-12-2016	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			29-12-2016	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
20356	HR-298-3	QHGWSKYNFNLRAFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
20356	HR-298-3	KTSVLSNIFISM	HPR7b



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 578	Fecha Informe 09-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-11-2016	Fecha Análisis	09-12-2016
Fecha Recepción	07-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:05
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	BUFFER TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20358	DGS-299-1	CO-RI-BR	POOL	21,426	POSITIVO	15,962	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	E.Z.N.A.Kit		Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1		Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System		Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 579

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	BUFFER TRK	**Fecha de Muestreo**	24-11-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	07-12-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:05
		Fecha de análisis	09-12-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	09-12-2016

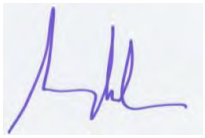
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20358	DGS-299-1	Co-Ri-Br	21,335	21,426	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,417	28,012	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 580	Fecha Informe 13-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-12-2016	Fecha Análisis	13-12-2016
Fecha Recepción	12-12-2016	Hora Recepción Muestras	13:13
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	BUFFER PBS	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20360	HR-304-1	RIÑÓN	IND.	16,876	POSITIVO	17,347	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT		Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1		Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System		Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 581

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	BUFFER PBS	**Fecha de Muestreo**	01-12-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	12-13-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	13:13
		Fecha de análisis	13-13-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	13-13-2016

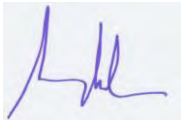
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20360	PZ01	RIÑÓN	-	18,876	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	20,486	28,311	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 582	Fecha Informe 13-13-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-12-2016	Fecha Análisis	13-12-2016
Fecha Recepción	12-12-2016	Hora Recepción Muestras	13:13
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20362	HR-304-1	CO-RI-BR	IND.	36,801	NEGATIVO	17,031	DR
20364	HR-304-2	CO-RI-BR	IND.	39,031	NEGATIVO	16,980	DR
20366	HR-304-3	CO-RI-BR	IND.	32,272	POSITIVO	16,074	DR
20368	HR-304-4	CO-RI-BR	IND.	36,055	NEGATIVO	15,123	DR
20370	HR-304-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,966	DR
20372	HR-304-6	CO-RI-BR	IND.	37,292	NEGATIVO	16,582	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	583		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	24-11-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	07-12-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:05
		Fecha de análisis	09-12-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	09-12-2016

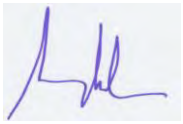
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20362	HR-304-1	Co-Ri-Br	-	36,801	IND.	HPR0 NEGATIVO
20364	HR-304-2	Co-Ri-Br	-	39,031	IND.	HPR0 NEGATIVO
20366	HR-304-3	Co-Ri-Br	-	32,272	IND.	HPR0 NEGATIVO
20368	HR-304-4	Co-Ri-Br	-	36,055	IND.	HPR0 NEGATIVO
20370	HR-304-5	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20372	HR-304-6	Co-Ri-Br	-	37,292	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	20,486	28,012	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 584	Fecha Informe 14-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-12-2016	Fecha Análisis	14-12-2016
Fecha Recepción	13-12-2016	Hora Recepción Muestras	15:33
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20374	ZZ-310-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	23,700	DR
20376	ZZ-310-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,060	DR
20378	ZZ-310-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,460	DR
20380	ZZ-310-6	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,790	DR
20382	ZZ-310-7	CO-RI-BR	IND.	34,060	POSITIVO	14,380	DR
20384	ZZ-310-8	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,500	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 585

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	09-12-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	13-12-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:33
		Fecha de análisis	14-12-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	15-12-2016

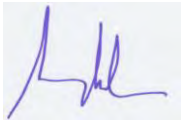
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20382	ZZ-310-7	Co-Ri-Br	-	34,060	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	19,417	28,350	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

El resultado negativo para HPR0 se puede atribuir a la baja carga de material genético presente en la muestra.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 586	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-12-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	16	Numero de Análisis	16
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20386	CQ-01-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	17,213	DR
20388	CQ-01-2	CO-RI-BR	IND.	36,313	NEGATIVO	12,963	DR
20390	CQ-01-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,036	DR
20392	CQ-01-4	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,869	DR
20394	CQ-01-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,796	DR
20396	CQ-01-6	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	12,957	DR
20398	CQ-01-7	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	12,277	DR
20400	CQ-01-8	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	12,863	DR
20402	CQ-01-9	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,798	DR
20404	CQ-01-10	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,856	DR
20406	CQ-01-11	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	17,616	DR
20408	CQ-01-12	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,011	DR
20410	CQ-01-13	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	19,056	DR
20412	CQ-01-14	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,166	DR
20414	CQ-01-16	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	22,072	DR
20416	CQ-01-17	CO-RI-BR	IND.	35,566	NEGATIVO	21,451	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

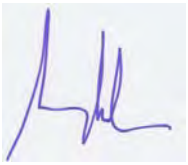
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 587

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	13-12-2016
Nº de Muestras	16	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45
		Fecha de análisis	19-12-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016

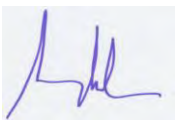
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20386	CQ-01-1	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20388	CQ-01-2	Co-Ri-Br	-	36,313	IND.	HPR0 NEGATIVO
20390	CQ-01-3	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20392	CQ-01-4	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20394	CQ-01-5	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20396	CQ-01-6	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20398	CQ-01-7	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20400	CQ-01-8	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20402	CQ-01-9	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20404	CQ-01-10	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20406	CQ-01-11	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20408	CQ-01-12	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20410	CQ-01-13	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20412	CQ-01-14	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20414	CQ-01-15	Co-Ri-Br	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20416	CQ-01-16	Co-Ri-Br	-	35,566	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	20,750	27,664	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 588	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-11-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20424	PA-314-1	CO-RI-BR	POOL	36,320	NEGATIVO	29,662	FR
20426	PA-314-2	CO-RI-BR	POOL	34,711	NEGATIVO	29,754	FR
20428	PA-314-3	CO-RI-BR	POOL	35,916	NEGATIVO	22,110	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

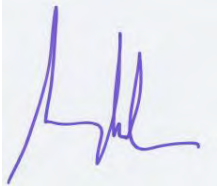
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Algunos valores de ct del ensayo de ELF-1α, se encuentran fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 589

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	30-11-2016	
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45	
		Fecha de análisis	19-12-2016	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016	

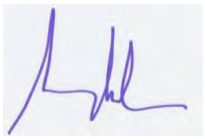
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20424	PA-3141	Co-Ri-Br	-	36,320	POOL	HPR0 NEGATIVO
20426	PA-314-2	Co-Ri-Br	-	34,711	POOL	HPR0 NEGATIVO
20428	PA-3142	Co-Ri-Br	-	35,916	POOL	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,112	28,366	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 590	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-12-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20438	HR-322-1	CO-RI-BR	IND.	36,010	NEGATIVO	23,432	DR
20440	HR-322-2	CO-RI-BR	IND.	33,144	POSITIVO	27,011	FR
20442	HR-322-3	CO-RI-BR	IND.	35,086	NEGATIVO	29,582	FR
20444	HR-322-4	CO-RI-BR	IND.	35,510	NEGATIVO	21,594	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

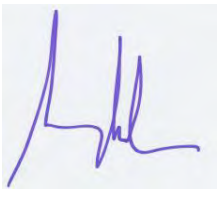
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Algunos valores de ct del ensayo de ELF-1α, se encuentran fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 591

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	13-12-2016	
Nº de Muestras	4	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45	
		Fecha de análisis	19-12-2016	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016	

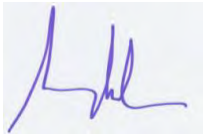
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20438	HR-322-1	Co-Ri-Br	-	36,010	IND.	HPR0 NEGATIVO
20440	HR-322-2	Co-Ri-Br	-	33,144	IND.	HPR0 NEGATIVO
20442	HR-322-3	Co-Ri-Br	-	35,086	IND.	HPR0 NEGATIVO
20444	HR-322-4	Co-Ri-Br	-	35,510	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,112	28,366	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 592	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-11-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20446	PA-315-1	CO-RI-BR	IND.	35,175	NEGATIVO	20,450	DR
20448	PA-315-2	CO-RI-BR	IND.	36,476	NEGATIVO	21,887	DR
20450	PA-315-3	CO-RI-BR	IND.	35,334	NEGATIVO	22,140	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

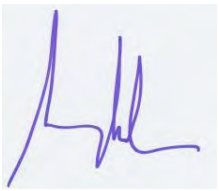
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 593

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	24-11-2016
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45
		Fecha de análisis	19-12-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016

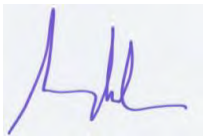
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20446	PA-315-1	Co-Ri-Br	43,094	35,175	IND.	HPR0 NEGATIVO
20448	PA-315-2	Co-Ri-Br	-	36,476	IND.	HPR0 NEGATIVO
20450	PA-315-3	Co-Ri-Br	-	35,334	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,112	28,366	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 594	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-12-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20452	PA-316-1	CO-RI-BR	POOL	36,263	NEGATIVO	21,006	DR
20454	PA-316-2	CO-RI-BR	POOL	34,559	NEGATIVO	32,654	FR
20456	PA-316-3	CO-RI-BR	POOL	36,664	NEGATIVO	37,565	FR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Algunos valores de ct del ensayo de ELF-1α, se encuentran fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 595

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	09-12-2016	
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45	
		Fecha de análisis	19-12-2016	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016	

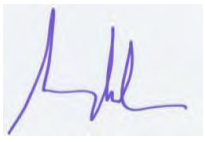
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20452	PA-316-1	Co-Ri-Br	-	36,263	IND.	HPR0 NEGATIVO
20454	PA-316-2	Co-Ri-Br	-	34,559	IND.	HPR0 NEGATIVO
20456	PA-316-3	Co-Ri-Br	-	36,664	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,112	28,366	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297
GeneFISH NBC-PUCV

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 596	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-12-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

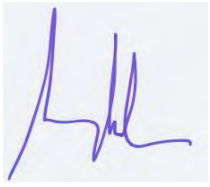
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20458	DM-313-1	CO-RI-BR	IND.	34,765	NEGATIVO	21,013	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 597

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	06-12-2016	
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45	
		Fecha de análisis	19-12-2016	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016	

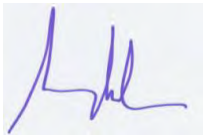
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20458	DM-313-1	Co-Ri-Br	-	34,765	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,112	28,366	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 598	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-12-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20460	MP-308	CO-RI-BR	IND.	36,241	NEGATIVO	25,688	FR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

EL valor de ct del ensayo de ELF-1α, se encuentra fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 598

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	06-12-2016	
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45	
		Fecha de análisis	19-12-2016	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016	

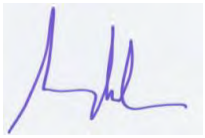
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20460	MP-308	Co-Ri-Br	-	36,241	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,112	28,366	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 600	Fecha Informe 19-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-12-2016	Fecha Análisis	19-12-2016
Fecha Recepción	16-12-2016	Hora Recepción Muestras	14:45
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20462	MP-309	CO-RI-BR	IND.	35,773	NEGATIVO	19,380	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 601

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	09-12-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	16-12-2016
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:45
		Fecha de análisis	19-12-2016
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	19-12-2016

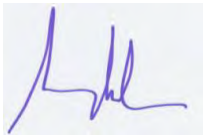
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20462	MP-309	Co-Ri-Br	-	35,773	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	21,112	28,366	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 602	Fecha Informe 22-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-12-2016	Fecha Análisis	22-12-2016
Fecha Recepción	21-12-2016	Hora Recepción Muestras	13:20
Numero de Muestras	10	Numero de Análisis	10
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20464	AR77-1	PEZ COMPLETO	POOL	33,563	NEGATIVO	18,285	DR
20466	AR77-2	PEZ COMPLETO	POOL	43,593	NEGATIVO	16,463	DR
20468	AR77-3	PEZ COMPLETO	POOL	38,832	NEGATIVO	16,292	DR
20470	AR77-4	PEZ COMPLETO	POOL	38,140	NEGATIVO	15,849	DR
20472	AR77-5	PEZ COMPLETO	POOL	34,323	NEGATIVO	16,944	DR
20474	AR77-6	PEZ COMPLETO	POOL	39,602	NEGATIVO	16,356	DR
20476	AR77-7	PEZ COMPLETO	POOL	34,147	NEGATIVO	16,345	DR
20478	AR77-8	PEZ COMPLETO	POOL	35,216	NEGATIVO	16,087	DR
20480	AR77-9	PEZ COMPLETO	POOL	34,116	NEGATIVO	16,763	DR
20482	AR77-10	PEZ COMPLETO	POOL	35,659	NEGATIVO	16,121	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

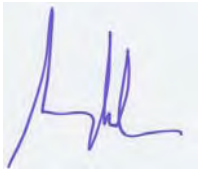
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Muestras con valores de Ct dentro de rango, no muestran repetibilidad entre duplicados ni una curva caracteristica,por lo tanto se interpretan como negativas.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS OIE

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 603	Fecha Informe 26-12-2016

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	20-12-2016	Fecha Análisis	23-12-2016
Fecha Recepción	23-12-2016	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	15	Numero de Análisis	15
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20484	HF-323-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,550	DR
20486	HF-323-2	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,964	DR
20488	HF-323-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,302	DR
20490	HF-323-4	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,351	DR
20492	HF-323-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	17,619	DR
20494	HF-323-6	CO-RI-BR	IND.	21,066	POSITIVO	14,625	DR
20496	HF-323-7	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,758	DR
20498	HF-323-8	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,329	DR
20500	HF-323-9	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,879	DR
20502	HF-323-10	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,709	DR
20504	HF-323-11	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,673	DR
20506	HF-323-12	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,104	DR
20508	HF-323-13	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,071	DR
20510	HF-323-14	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,473	DR
20512	HF-323-15	CO-RI-BR	IND.	37,111	NEGATIVO	16,916	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

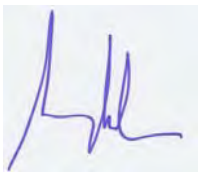
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	604				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Dra. Marcela Lara Fica	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNALATER		**Fecha de Muestreo**	20-12-2016	
Nº de Muestras	1		**Fecha de Recepción de muestras**	23-12-2016	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	9:00	
			Fecha de análisis	26-12-2016	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	26-12-2016	

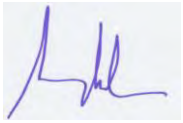
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20494	HF-323-6	Co-Ri-Br	-	21,730	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	19,250	28,620	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	46	Nº de informe al que pertenece	

INFORMACIÓN CLIENTE

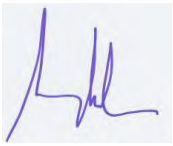
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNAlater	**Fecha de Muestreo**	20-12-2016	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	23-12-2016	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	9:00	
		Fecha de análisis		
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	20-01-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	23-01-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación				

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
HF-323-6	20494	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
HF-323-6	20494	TDVKTSVLSN**S**FISMGV	HPR7*



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS: Cambio de aminoacido sin precedente. Como referencia el HPR7b presenta en el lugar de la S destacada una I.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 605	Fecha Informe 03-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-12-2016	Fecha Análisis	03-01-2017
Fecha Recepción	03-01-2017	Hora Recepción Muestras	08:30
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20560	EF00-1	CO-RI-BR	POOL	22,578	POSITIVO	18,295	DR
20562	EF00-2	CO-RI-BR	POOL	21,890	POSITIVO	15,842	DR
20564	EF00-3	CO-RI-BR	POOL	23,929	POSITIVO	15,705	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	609		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	ETANOL	**Fecha de Muestreo**	22-12-2016
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	03-01-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	8:30
		Fecha de análisis	04-01-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-01-2017

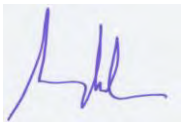
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20560	EF00-1	Co-Ri-Br	25,553	25,558	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20562	EF00-2	Co-Ri-Br	25,934	25,008	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20564	EF00-3	Co-Ri-Br	24,778	25,634	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	20,491	27,041	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 606	Fecha Informe 03-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-12-2016	Fecha Análisis	03-01-2017
Fecha Recepción	03-01-2017	Hora Recepción Muestras	08:30
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20566	HR-333-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,182	DR
20568	HR-333-2	CO-RI-BR	IND.	37,429	NEGATIVO	13,871	DR
20570	HR-333-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,692	DR
20572	HR-333-4	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	12,740	DR
20574	HR-333-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,365	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 607	Fecha Informe 04-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-12-2016	Fecha Análisis	04-01-2017
Fecha Recepción	03-01-2017	Hora Recepción Muestras	08:30
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20582	AZ-332-1	CO-RI	IND.	11,650	POSITIVO	17,350	DR
20584	AZ-332-2	CO-RI	IND.	33,760	POSITIVO	18,244	DR
20586	AZ-332-3	CO-RI	IND.	33,465	POSITIVO	22,642	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

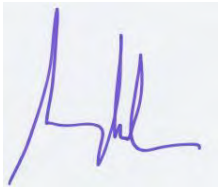
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	610		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	28-12-2016
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	03-01-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	8:30
		Fecha de análisis	04-01-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-01-2017

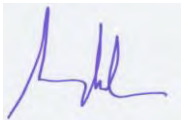
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20582	AZ-332-1	Co-Ri	-	13,471	IND.	HPR0 NEGATIVO
20584	AZ-332-2	Co-Ri	-	33,760	IND.	HPR0 NEGATIVO
20586	AZ-332-3	Co-Ri	-	33,465	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	20,491	27,041	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 608	Fecha Informe 03-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-12-2016	Fecha Análisis	03-01-2017
Fecha Recepción	03-01-2017	Hora Recepción Muestras	08:30
Numero de Muestras	9	Numero de Análisis	9
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20588	AZ-334-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,834	DR
20590	AZ-334-2	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,049	DR
20592	AZ-334-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,134	DR
20594	AZ-334-4	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	17,691	DR
20596	AZ-334-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,517	DR
20598	AZ-334-6	CO-RI-BR	IND.	21,671	POSITIVO	15,202	DR
20600	AZ-334-7	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,678	DR
20602	AZ-334-8	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,670	DR
20604	AZ-334-9	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,116	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	611				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNALATER		**Fecha de Muestreo**	28-12-2016	
Nº de Muestras	1		**Fecha de Recepción de muestras**	03-01-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	8:30	
			Fecha de análisis	04-01-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	04-01-2017	

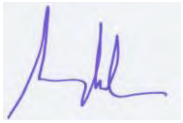
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20598	AZ-334-6	CO-RI-BR	-	21,671	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	20,491	27,041	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 612	Fecha Informe 10-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-12-2016	Fecha Análisis	10-01-2017
Fecha Recepción	09-01-2017	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20606	DE16-1	CO-RI-BR	POOL	32,870	POSITIVO	14,760	DR
20608	DE16-3	CO-RI-BR	POOL	31,330	POSITIVO	14,120	DR
20610	DE16-5	CO-RI-BR	POOL	34,150	POSITIVO	16,450	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

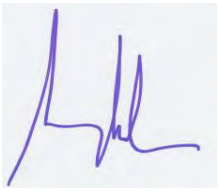
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT		Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1		Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System		Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 613

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	30-12-2016
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	09-01-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:45
		Fecha de análisis	10-01-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	10-01-2017

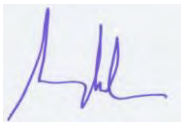
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20606	DE16-1	CO-RI-BR	32,200	32,870	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20608	DE16-3	CO-RI-BR	34,700	31,330	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20610	DE16-5	CO-RI-BR	-	34,150	POOL	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	30,316	6,580	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 614	Fecha Informe 13-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	05-01-2017	Fecha Análisis	13-01-2017
Fecha Recepción	10-01-2017	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20612	HR-337-1	CO-RI-BR	IND.	39,646	NEGATIVO	22,435	DR
20614	HR-337-2	CO-RI-BR	IND.	35,172	POSITIVO	15,365	DR
20616	HR-337-3	CO-RI-BR	IND.	35,312	POSITIVO	21,144	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 616

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	05-01-2017
Nº de Muestras	2	**Fecha de Recepción de muestras**	10-01-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:45
		Fecha de análisis	16-01-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	16-01-2017

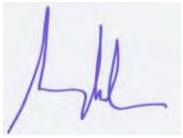
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20614	HR-337-2	CO-RI-BR	---	37,139	IND.	HPR0 NEGATIVO
20616	HR-337-3	CO-RI-BR	---	36,373	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,481	25,894	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 615	Fecha Informe 16-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-12-2016	Fecha Análisis	13-01-2017
Fecha Recepción	11-01-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	15	Numero de Análisis	15
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20622	PC67 1	CO-RI-BR	POOL	28,576	POSITIVO	16,208	DR
20624	PC67 2	CO-RI-BR	POOL	36,167	NEGATIVO	14,136	DR
20626	PC67 3	CO-RI-BR	POOL	32,659	POSITIVO	17,327	DR
20628	PC67 4	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	16,310	DR
20630	PC67 5	CO-RI-BR	POOL	36,434	NEGATIVO	17,691	DR
20632	PC67 6	CO-RI-BR	POOL	30,122	POSITIVO	15,528	DR
20634	PC67 7	CO-RI-BR	POOL	30,463	POSITIVO	14,311	DR
20636	PC67 8	CO-RI-BR	POOL	23,916	POSITIVO	16,796	DR
20638	PC67 9	CO-RI-BR	POOL	27,302	POSITIVO	16,760	DR
20640	PC67 10	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,952	DR
20642	PC67 11	CO-RI-BR	POOL	34,130	POSITIVO	13,596	DR
20644	PC67 12	CO-RI-BR	POOL	30,601	POSITIVO	13,617	DR
20646	PC67 13	CO-RI-BR	POOL	41,864	NEGATIVO	13,467	DR
20648	PC67 14	CO-RI-BR	POOL	33,615	POSITIVO	14,637	DR
20650	PC67 15	CO-RI-BR	POOL	30,315	POSITIVO	15,972	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 617

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	28-12-2016
Nº de Muestras	10	**Fecha de Recepción de muestras**	11-01-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	16-01-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	16-01-2017

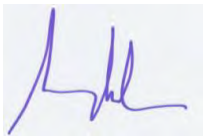
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20622	PC67 1	CO-RI-BR	29,331	29,011	POOL	HPR0 POSITIVO
20626	PC67 3	CO-RI-BR	33,799	33,085	POOL	HPR0 POSITIVO
20632	PC67 6	CO-RI-BR	30,364	30,181	POOL	HPR0 POSITIVO
20634	PC67 7	CO-RI-BR	30,505	30,935	POOL	HPR0 POSITIVO
20636	PC67 8	CO-RI-BR	24,547	24,836	POOL	HPR0 POSITIVO
20638	PC67 9	CO-RI-BR	27,800	27,493	POOL	HPR0 POSITIVO
20642	PC67 11	CO-RI-BR	33,153	33,008	POOL	HPR0 POSITIVO
20644	PC67 12	CO-RI-BR	28,704	31,165	POOL	HPR0 POSITIVO
20648	PC67 14	CO-RI-BR	33,811	34,307	POOL	HPR0 POSITIVO
20650	PC67 15	CO-RI-BR	31,147	30,834	POOL	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,481	25,894	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 618	Fecha Informe 18-01-2017

Información Cliente			
Empresa		Dirección	
Contacto	Dra.Sandra Bravo	Fono/Fax	

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-01-2017	Fecha Análisis	17-01-2017
Fecha Recepción	16-01-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	13	Numero de Análisis	13
Preservante	AGUA MAR-RNALATER	Especie	S.I.

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	SRS		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20676	C(-)C-6 HRS	CALIGUS	POOL	-	NEGATIVO	NR	-
20678	C(-)C-12 HRS	CALIGUS	POOL	37,934	NEGATIVO	NR	-
20680	C(-)C-24 HRS	CALIGUS	POOL	-	NEGATIVO	NR	-
20682	C(-)C-48 HRS	CALIGUS	POOL	-	NEGATIVO	NR	-
20684	C(-)C-P1	RI-HI	IND.	-	NEGATIVO	NR	-
20686	C(-)C-P2	RI-HI	IND.	-	NEGATIVO	NR	-
20688	C(-)C-P3	RI-HI	IND.	-	NEGATIVO	NR	-
20690	C(-)C-P4	RI-HI	IND.	-	NEGATIVO	NR	-
20692	C(-)C-P5	RI-HI	IND.	-	NEGATIVO	NR	-
20694	C(-) NAV-COP	CALIGUS	POOL	39,008	NEGATIVO	NR	-
20696	C(-)C NAV	CALIGUS	POOL	-	NEGATIVO	NR	-
20698	C(-) NAV	CALIGUS	POOL	-	NEGATIVO	NR	-
20700	C(-) CHALIMUS	CALIGUS	POOL	-	NEGATIVO	NR	-

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia de *Piscirikettsia salmonis* en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR SRS en Tiempo Real RT		Metodo modificado de Marshall et al,1998		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	PROYECTO F.I.P.A.
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 619	Fecha Informe 18-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	03-01-2017	Fecha Análisis	18-01-2017
Fecha Recepción	16-01-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	BUFFER TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20672	EL-340	CO-RI-BR	POOL	22,512	POSITIVO	14,832	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

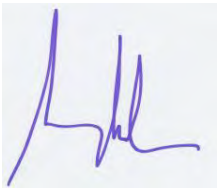
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT		Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1		Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System		Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	620				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	BUFFER TRK		**Fecha de Muestreo**	03-01-2017	
Nº de Muestras	3		**Fecha de Recepción de muestras**	16-01-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
			Fecha de análisis	18-01-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	18-01-2017	

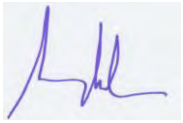
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20672	EL-340	Co-Ri-Br	20,077	22,512	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	22,724	25,543	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 621	Fecha Informe 19-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	23-12-2016	Fecha Análisis	19-01-2017
Fecha Recepción	16-01-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20674	AZ-341-1	CO-RI-BR	IND.	35,927	POSITIVO	24,394	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

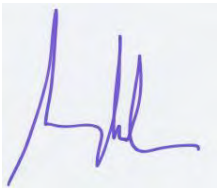
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 622

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	23-12-2016
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	16-01-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	19-01-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	19-01-2017

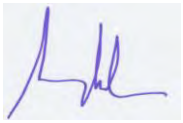
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20674	AZ-341-1	Co-Ri-Br	-	35,927	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,416	21,178	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

El resultado negativo para HPR0 se puede atribuir a la baja carga de material genético presente en la muestra.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 623	Fecha Informe 23-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	18-01-2017	Fecha Análisis	20-01-2017
Fecha Recepción	20-01-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20702	JE-346-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,057	DR
20704	JE-346-2	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,908	DR
20706	JE-346-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,705	DR
20708	JE-346-4	CO-RI-BR	IND.	28,569	POSITIVO	14,625	DR
20710	JE-346-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	13,894	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	625				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNAlater		**Fecha de Muestreo**	18-01-2017	
Nº de Muestras	1		**Fecha de Recepción de muestras**	20-01-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
			Fecha de análisis	20-01-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	23-01-2017	

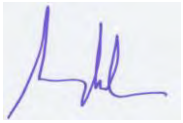
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20708	JE-346-1	Co-Ri-Br	-	28,569	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 624	Fecha Informe 23-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Carla Anguita Bohmwald	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	14-01-2017	Fecha Análisis	20-01-2017
Fecha Recepción	20-01-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	S.I.	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20712	CO-347-01	CO-RI-BR	POOL	20,385	POSITIVO	15,282	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	626				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNAlater		**Fecha de Muestreo**	14-01-2017	
Nº de Muestras	1		**Fecha de Recepción de muestras**	20-01-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
			Fecha de análisis	20-01-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	23-01-2017	

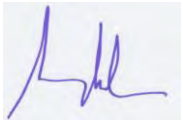
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20712	CO-347-01	Co-Ri-Br	19,156	20,385	IND.	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 627	Fecha Informe 30-01-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-01-2017	Fecha Análisis	30-01-2017
Fecha Recepción	30-01-2017	Hora Recepción Muestras	10:00
Numero de Muestras	32	Numero de Análisis	16
Preservante	Agua	Especie	S. salar

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20714	CEGT-1	Co+Ri+Br	IND	16,832	POSITIVO	15,836	DR
20716	CEGT-2	Co+Ri+Br	IND	26,681	POSITIVO	15,500	DR
20718	CEGT-3	Co+Ri+Br	IND	30,827	POSITIVO	14,946	DR
20720	CEGT-4	Co+Ri+Br	IND	28,947	POSITIVO	15,462	DR
20722	CEGT-5	Co+Ri+Br	IND	21,956	POSITIVO	16,334	DR
20724	CEGT-6	Co+Ri+Br	IND	13,854	POSITIVO	14,756	DR
20726	CEGT-7	Co+Ri+Br	IND	14,730	POSITIVO	15,494	DR
20728	CEGT-8	Co+Ri+Br	IND	16,372	POSITIVO	16,190	DR
20730	CEGT-9	Co+Ri+Br	IND	14,892	POSITIVO	15,137	DR
20732	CEGT-10	Co+Ri+Br	IND	12,625	POSITIVO	14,852	DR
20734	CEGT-11	Co+Ri+Br	IND	13,087	POSITIVO	15,480	DR
20736	CEGT-12	Co+Ri+Br	IND	23,051	POSITIVO	16,157	DR
20738	CEGT-13	Co+Ri+Br	IND	15,464	POSITIVO	16,458	DR
20740	CEGT-14	Co+Ri+Br	IND	13,119	POSITIVO	16,427	DR
20742	CEGT-15	Co+Ri+Br	IND	28,416	POSITIVO	14,388	DR
20744	CEGT-16	Co+Ri+Br	IND	24,312	POSITIVO	15,431	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

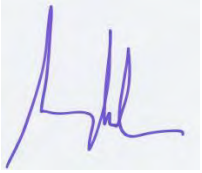
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 628

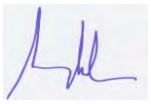
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	AGUA	**Fecha de Muestreo**	22-01-2017
Nº de Muestras	16	**Fecha de Recepción de muestras**	30-01-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	10:00
		Fecha de análisis	30-01-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	30-01-2017

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20714	CEGT-1	Co+Ri+Br	-	16,832	IND.	HPR0 NEGATIVO
20716	CEGT-2	Co+Ri+Br	-	26,681	IND.	HPR0 NEGATIVO
20718	CEGT-3	Co+Ri+Br	-	30,827	IND.	HPR0 NEGATIVO
20720	CEGT-4	Co+Ri+Br	-	28,947	IND.	HPR0 NEGATIVO
20722	CEGT-5	Co+Ri+Br	-	21,956	IND.	HPR0 NEGATIVO
20724	CEGT-6	Co+Ri+Br	-	13,854	IND.	HPR0 NEGATIVO
20726	CEGT-7	Co+Ri+Br	-	14,730	IND.	HPR0 NEGATIVO
20728	CEGT-8	Co+Ri+Br	-	16,372	IND.	HPR0 NEGATIVO
20730	CEGT-9	Co+Ri+Br	-	14,892	IND.	HPR0 NEGATIVO
20732	CEGT-10	Co+Ri+Br	-	12,625	IND.	HPR0 NEGATIVO
20734	CEGT-11	Co+Ri+Br	-	13,087	IND.	HPR0 NEGATIVO
20736	CEGT-12	Co+Ri+Br	-	23,051	IND.	HPR0 NEGATIVO
20738	CEGT-13	Co+Ri+Br	-	15,464	IND.	HPR0 NEGATIVO
20740	CEGT-14	Co+Ri+Br	-	13,119	IND.	HPR0 NEGATIVO
20742	CEGT-15	Co+Ri+Br	-	28,416	IND.	HPR0 NEGATIVO
20744	CEGT-16	Co+Ri+Br	-	24,312	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica
S.I. = Sin Información
IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".
Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 629	Fecha Informe 03-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-01-2017	Fecha Análisis	02-02-2017
Fecha Recepción	02-02-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNAlater	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20752	JE-357-1	CO-RI-BR	IND	26,501	POSITIVO	14,138	DR
20754	JE-357-2	CO-RI-BR	IND	31,843	POSITIVO	15,133	DR
20756	JE-357-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,715	DR
20758	JE-357-4	CO-RI-BR	IND	31,029	POSITIVO	14,268	DR
20760	JE-357-5	CO-RI-BR	IND	31,911	POSITIVO	14,824	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

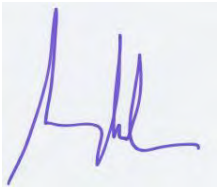
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	630				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNAlater		**Fecha de Muestreo**	24-01-2017	
Nº de Muestras	5		**Fecha de Recepción de muestras**	02-02-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	S/I	
			Fecha de análisis	02-02-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	03-02-2017	

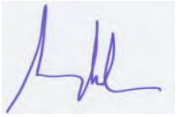
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20752	JE-357-1	CO-RI-BR	-	26,501	IND.	HPR0 NEGATIVO
20754	JE-357-2	CO-RI-BR	-	31,843	IND.	HPR0 NEGATIVO
20756	JE-357-3	CO-RI-BR	-	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
20758	JE-357-4	CO-RI-BR	-	31,029	IND.	HPR0 NEGATIVO
20760	JE-357-5	CO-RI-BR	-	31,911	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 631	Fecha Informe 03-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	26-01-2017	Fecha Análisis	02-02-2017
Fecha Recepción	02-02-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNAlater	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20762	JA80-1	CO+RI+BR	IND	29,854	POSITIVO	14,832	DR
20764	JA80-3	CO+RI+BR	IND	10,714	POSITIVO	13,976	DR
20766	JA80-5	CO+RI+BR	IND	10,195	POSITIVO	14,696	DR
20768	JA80-7	CO+RI+BR	IND	10,638	POSITIVO	14,993	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	632				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNAlater		**Fecha de Muestreo**	26-01-2017	
Nº de Muestras	4		**Fecha de Recepción de muestras**	02-02-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	S/I	
			Fecha de análisis	02-02-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	03-02-2017	

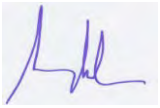
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20762	JA80-1	CO+RI+BR	-	29,854	IND.	HPR0 NEGATIVO
20764	JA80-3	CO+RI+BR	-	10,714	IND.	HPR0 NEGATIVO
20766	JA80-5	CO+RI+BR	-	10,195	IND.	HPR0 NEGATIVO
20768	JA80-7	CO+RI+BR	-	10,638	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 633	Fecha Informe 03-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-01-2017	Fecha Análisis	02-02-2017
Fecha Recepción	02-02-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNAlater	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20770	JE-378-1	CO + RI + BR	IND	28,882	POSITIVO	14,981	DR
20772	JE-378-1	CO + RI + BR	IND	32,792	POSITIVO	13,914	DR
20774	JE-378-1	CO + RI + BR	IND	25,665	POSITIVO	15,02	DR
20776	JE-378-1	CO + RI + BR	IND	34,164	POSITIVO	17,176	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	634		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNAlater	**Fecha de Muestreo**	31-01-2017
Nº de Muestras	4	**Fecha de Recepción de muestras**	02-02-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	S/I
		Fecha de análisis	02-02-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	03-02-2017

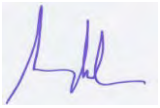
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20770	JE-378-1	CO + RI + BR	-	28,882	IND.	HPR0 NEGATIVO
20772	JE-378-1	CO + RI + BR	-	32,792	IND.	HPR0 NEGATIVO
20774	JE-378-1	CO + RI + BR	-	25,665	IND.	HPR0 NEGATIVO
20776	JE-378-1	CO + RI + BR	-	34,164	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 635	Fecha Informe 03-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-01-2017	Fecha Análisis	02-02-2017
Fecha Recepción	02-02-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNAlater	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20778	MF-371-1	CO + RI + BR	IND	30,557	POSITIVO	16,39	DR
20780	MF-371-3	CO + RI + BR	IND	32,39	POSITIVO	16,309	DR
20782	MF-371-5	CO + RI + BR	IND	31,459	POSITIVO	14,751	DR
20784	MF-371-7	CO + RI + BR	IND	31,359	POSITIVO	16,438	DR
20786	MF-371-9	CO + RI + BR	IND	19,014	POSITIVO	17,962	DR
20788	MF-371-11	CO + RI + BR	IND	31,45	POSITIVO	17,645	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	636				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNAlater		**Fecha de Muestreo**	30-01-2017	
Nº de Muestras	6		**Fecha de Recepción de muestras**	02-02-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	S/I	
			Fecha de análisis	02-02-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	03-02-2017	

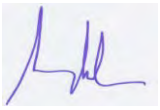
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20778	MF-371-1	CO + RI + BR	-	30,557	IND.	HPR0 NEGATIVO
20780	MF-371-3	CO + RI + BR	-	32,390	IND.	HPR0 NEGATIVO
20782	MF-371-5	CO + RI + BR	-	31,459	IND.	HPR0 NEGATIVO
20784	MF-371-7	CO + RI + BR	-	31,359	IND.	HPR0 NEGATIVO
20786	MF-371-9	CO + RI + BR	-	19,014	IND.	HPR0 NEGATIVO
20788	MF-371-11	CO + RI + BR	-	31,450	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 637	Fecha Informe 21-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-02-2017	Fecha Análisis	21-02-2017
Fecha Recepción	20-02-2017	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

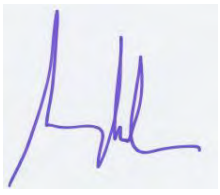
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20796	EP-395-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,988	DR
20798	EP-395-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,540	DR
20800	EP-395-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,188	DR
20802	EP-395-7	CO-RI-BR	IND.	32,780	POSITIVO	15,123	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 638	Fecha Informe 21-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-02-2017	Fecha Análisis	21-02-2017
Fecha Recepción	20-02-2017	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	7	Numero de Análisis	7
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20804	EP-396-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	18,101	DR
20806	EP-396-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	17,325	DR
20808	EP-396-5	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,234	DR
20810	EP-396-7	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,991	DR
20812	EP-396-9	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,344	DR
20814	EP-396-11	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,081	DR
20816	EP-396-13	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	14,793	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

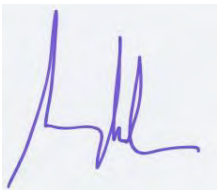
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 639	Fecha Informe 22-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-02-2017	Fecha Análisis	22-02-2017
Fecha Recepción	20-02-2017	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	24	Numero de Análisis	24
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20818	MF-390-1	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	17,185	DR
20820	MF-390-2	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,443	DR
20822	MF-390-3	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,123	DR
20824	MF-390-4	CO-RI-BR	IND.	35,815	POSITIVO	12,699	DR
20826	MF-390-5	CO-RI-BR	IND.	34,993	POSITIVO	14,980	DR
20828	MF-390-6	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,223	DR
20830	MF-390-7	CO-RI-BR	POOL	39,095	NEGATIVO	26,367	FR
20832	MF-390-8	CO-RI-BR	POOL	36,013	NEGATIVO	16,135	DR
20834	MF-390-9	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	11,253	DR
20836	MF-390-10	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,720	DR
20838	MF-390-11	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,984	DR
20840	MF-390-12	CO-RI-BR	IND.	36,064	NEGATIVO	14,955	DR
20842	MF-390-13	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	16,239	DR
20844	MF-390-14	CO-RI-BR	IND.	32,155	POSITIVO	14,243	DR
20846	MF-390-15	CO-RI-BR	IND.	11,274	POSITIVO	14,306	DR
20848	MF-390-16	CO-RI-BR	POOL	36,997	NEGATIVO	16,290	DR
20850	MF-390-17	CO-RI-BR	POOL	30,673	POSITIVO	16,290	DR
20852	MF-390-18	CO-RI-BR	POOL	34,981	POSITIVO	16,949	DR
20854	MF-390-19	CO-RI-BR	IND.	28,524	POSITIVO	17,582	DR
20856	MF-390-20	CO-RI-BR	POOL	32,180	POSITIVO	15,722	DR
20858	MF-390-21	CO-RI-BR	IND.	31,376	POSITIVO	16,857	DR
20860	MF-390-22	CO-RI-BR	IND.	34,725	POSITIVO	16,525	DR
20862	MF-390-23	CO-RI-BR	IND.	-	NEGATIVO	15,218	DR
20864	MF-390-24	CO-RI-BR	POOL	35,122	POSITIVO	16,366	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas
EL valor de ct del ensayo de ELF-1α, se encuentra fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 642

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	06-02-2017
Nº de Muestras	11	**Fecha de Recepción de muestras**	20-02-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:45
		Fecha de análisis	23-02-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	23-02-2017

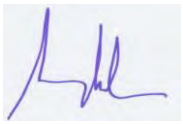
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20824	MF-390-4	Co-Ri-Br	33,045	34,210	IND.	HPR0 NEGATIVO
20826	MF-390-5	Co-Ri-Br	33,351	33,086	IND.	HPR0 NEGATIVO
20844	MF-390-14	Co-Ri-Br	-	32,961	IND.	HPR0 NEGATIVO
20846	MF-390-15	Co-Ri-Br	34,995	11,580	IND.	HPR0 NEGATIVO
20850	MF-390-17	Co-Ri-Br	35,987	31,314	POOL	HPR0 NEGATIVO
20852	MF-390-18	Co-Ri-Br	35,360	33,186	POOL	HPR0 NEGATIVO
20854	MF-390-19	Co-Ri-Br	-	28,979	IND.	HPR0 NEGATIVO
20856	MF-390-20	Co-Ri-Br	-	33,313	POOL	HPR0 NEGATIVO
20858	MF-390-21	Co-Ri-Br	34,128	31,329	IND.	HPR0 NEGATIVO
20860	MF-390-22	Co-Ri-Br	34,473	35,268	IND.	HPR0 NEGATIVO
20864	MF-390-24	Co-Ri-Br	35,679	34,521	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	25,056	23,244	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".
Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

El resultado negativo para HPR0 se puede atribuir a la baja carga de material genético presente en la muestra.

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 644

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	11-02-2017
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	20-02-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:45
		Fecha de análisis	23-02-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	23-02-2017

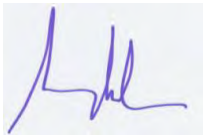
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20802	MF-390-4	Co-Ri-Br	32,562	32,657	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	25,056	23,244	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 640	Fecha Informe 22-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-02-2017	Fecha Análisis	22-02-2017
Fecha Recepción	20-02-2017	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	*C. rogercresseyi*

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20866	CL-392	CALIGUS	POOL	33,200	POSITIVO	16,733	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

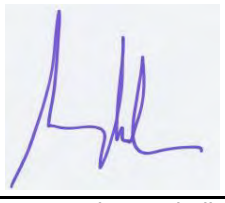
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 643

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	06-02-2017
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	20-02-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:45
		Fecha de análisis	23-02-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	23-02-2017

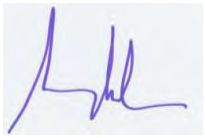
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20866	CL-392	Co-Ri-Br	-	32,965	POOL	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	25,056	23,244	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 640	Fecha Informe 22-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	21-01-2017	Fecha Análisis	22-02-2017
Fecha Recepción	20-02-2017	Hora Recepción Muestras	17:45
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	3
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20868	AZ-07-1	CO+RI+BR+HI	POOL	-	NEGATIVO	26,646	FR
20870	AZ-07-2	CO+RI+BR+HI+BA	POOL	37,380	NEGATIVO	22,497	DR
20872	AZ-07-3	CO+RI+BR+HI+BA	POOL	36,635	NEGATIVO	22,299	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

EL valor de ct del ensayo de ELF-1α, se encuentra fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 645	Fecha Informe 28-02-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	21-02-2017	Fecha Análisis	28-02-2017
Fecha Recepción	28-02-2017	Hora Recepción Muestras	13:30
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20882	MF-402-1	CO-RI-BR	POOL	19,500	POSITIVO	14,350	DR
20884	MF-402-3	CO-RI-BR	POOL	18,430	POSITIVO	14,170	DR
20886	MF-402-5	CO-RI-BR	POOL	12,990	POSITIVO	15,110	DR
20888	MF-402-7	CO-RI-BR	POOL	35,370	POSITIVO	14,990	DR
20890	MF-402-9	CO-RI-BR	POOL	36,360	NEGATIVO	17,510	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. Kit	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	646		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	21-02-2017
Nº de Muestras	5	**Fecha de Recepción de muestras**	28-02-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	13:30
		Fecha de análisis	28-02-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	01-03-2017

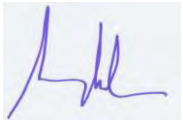
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20882	MF-402-1	Co-Ri-Br	-	19,503	POOL	HPR0 NEGATIVO
20884	MF-402-3	Co-Ri-Br	-	18,431	POOL	HPR0 NEGATIVO
20886	MF-402-5	Co-Ri-Br	36,694	12,991	POOL	HPR0 NEGATIVO
20888	MF-402-7	Co-Ri-Br	-	35,374	POOL	HPR0 NEGATIVO
20890	MF-402-9	Co-Ri-Br	-	36,364	POOL	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,659	22,603	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 647	Fecha Informe 09-03-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	02-03-2017	Fecha Análisis	09-03-2017
Fecha Recepción	08-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	7	Numero de Análisis	7
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20892	MF-405-1	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,498	DR
20894	MF-405-2	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,822	DR
20896	MF-405-3	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,574	DR
20898	MF-405-4	CO-RI-BR	POOL	11,339	POSITIVO	14,109	DR
20900	MF-405-5	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	15,117	DR
20902	MF-405-6	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	15,239	DR
20904	MF-405-7	CO-RI-BR	POOL	34,623	POSITIVO	14,493	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

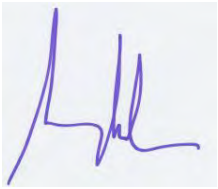
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 649

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	02-03-2017
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	08-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	10-03-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	10-03-2017

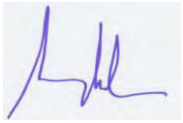
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20898	MF-405-4	Co-Ri-Br	32,055	12,252	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,377	23,960	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

El resultado de la muestra es positivo a HPR0. Sin embargo no se observa una correlación entre los valores de ct segmento 8 y del segmento 6.

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

página: 1

N ° de informe secuenciación	47	Nº de informe al que pertenece	647

INFORMACIÓN CLIENTE

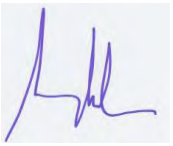
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNAlater	**Fecha de Muestreo**	02-03-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	08-03-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
		Fecha de análisis	09-03-2017	
		Hora de inicio y término de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	09-03-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	09-03-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			12-06-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
MF-405-4	21898	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
MF-405-4	21898	--	-



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS: Para el segmento 6 se obtuvo una secuencia muy corta y si bien se insinúa como un HPR9 no puede confirmarse.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 648	Fecha Informe 09-03-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	02-03-2017	Fecha Análisis	09-03-2017
Fecha Recepción	08-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20906	MF-406-1	CORAZÓN	IND.	20,214	POSITIVO	27,028	FR
20908	MF-406-2	RIÑÓN	IND.	21,706	POSITIVO	30,252	FR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

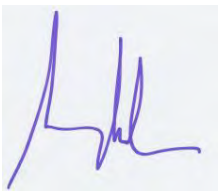
Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

- Muestras proporcionadas por el cliente.
- El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas
- Los valores de ct de los ensayos de ELF-1α, se encuentran fuera de rango, probablemente debido a degradación de RNA presente en las muestras.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 650

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	02-03-2017	
Nº de Muestras	2	**Fecha de Recepción de muestras**	08-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
		Fecha de análisis	10-03-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	10-03-2017	

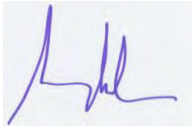
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20906	MF-406-1	CORAZÓN	36,222	21,056	IND.	HPR0 NEGATIVO
20908	MF-406-2	RIÑÓN	-	22,298	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,377	23,960	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 651	Fecha Informe 17-03-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-03-2017	Fecha Análisis	17-03-2017
Fecha Recepción	15-03-2017	Hora Recepción Muestras	13:30
Numero de Muestras	7	Numero de Análisis	7
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20910	EP-408-1	CO-RI-BR	POOL	34,162	POSITIVO	14,380	DR
20912	EP-408-2	CO-RI-BR	POOL	34,609	POSITIVO	14,119	DR
20914	EP-408-3	CO-RI-BR	POOL	36,182	NEGATIVO	13,138	DR
20916	EP-408-4	CO-RI-BR	POOL	35,027	POSITIVO	14,439	DR
20918	EP-408-5	CO-RI-BR	POOL	35,845	NEGATIVO	14,286	DR
20920	EP-408-6	CO-RI-BR	POOL	34,856	POSITIVO	13,540	DR
20922	EP-408-7	CO-RI-BR	POOL	37,796	NEGATIVO	13,911	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 653

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	11-03-2017	
Nº de Muestras	4	**Fecha de Recepción de muestras**	15-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	13:30	
		Fecha de análisis	30-03-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	30-03-2017	

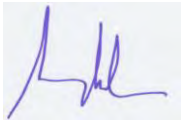
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20910	EP-408-1	Co-Ri-Br	30,095	34,363	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20912	EP-408-2	Co-Ri-Br	31,927	34,910	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20916	EP-408-4	Co-Ri-Br	33,416	33,178	POOL	**HPR0 POSITIVO**
20920	EP-408-6	Co-Ri-Br	33,406	35,143	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,698	24,765	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 652	Fecha Informe 17-03-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-03-2017	Fecha Análisis	17-03-2017
Fecha Recepción	15-03-2017	Hora Recepción Muestras	13:30
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20924	EP-407-1	CO-RI-BR	IND.	33,309	POSITIVO	17,795	DR
20926	EP-407-2	CO-RI-BR	IND.	30,330	POSITIVO	18,515	DR
20928	EP-407-3	CO-RI-BR	IND.	35,242	POSITIVO	16,106	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

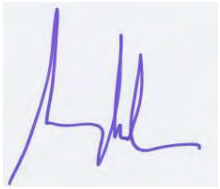
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 654

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	11-03-2017	
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	15-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	13:30	
		Fecha de análisis	30-03-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	30-03-2017	

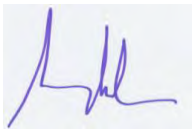
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20924	EP-407-1	Co-Ri-Br	31,972	34,119	IND.	HPR0 POSITIVO
20926	EP-407-2	Co-Ri-Br	28,573	34,146	IND.	HPR0 POSITIVO
20928	EP-407-3	Co-Ri-Br	30,341	35,434	IND.	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,698	24,765	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 655	Fecha Informe 29-03-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	07-03-2017	Fecha Análisis	20-03-2017
Fecha Recepción	20-03-2017	Hora Recepción Muestras	16:30
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

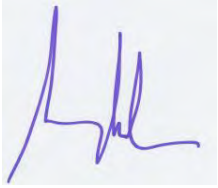
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20930	MA78-01	CO-RI-BR	IND.	37,139	NEGATIVO	14,920	DR
20932	MA78-02	CO-RI-BR	IND.	21,641	POSITIVO	14,840	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 657

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	07-03-2017	
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	20-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	16:30	
		Fecha de análisis	30-03-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	30-03-2017	

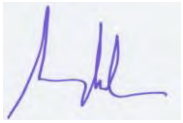
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20932	MA78-02	Co-Ri-Br	18,832	20,822	IND.	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,936	25,789	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 656	Fecha Informe 29-03-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-03-2017	Fecha Análisis	23-03-2017
Fecha Recepción	22-03-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	9	Numero de Análisis	9
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20934	EP-412-1	CO-RI-BR	POOL	22,939	POSITIVO	16,691	DR
20936	EP-412-2	CO-RI-BR	POOL	36,630	NEGATIVO	17,057	DR
20938	EP-412-3	CO-RI-BR	POOL	19,783	POSITIVO	15,963	DR
20940	EP-412-4	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	15,659	DR
20942	EP-412-5	CO-RI-BR	POOL	38,458	NEGATIVO	16,621	DR
20944	EP-412-6	CO-RI-BR	POOL	38,194	NEGATIVO	14,677	DR
20946	EP-412-7	CO-RI-BR	POOL	18,510	POSITIVO	16,206	DR
20948	EP-412-8	CO-RI-BR	POOL	24,924	POSITIVO	17,058	DR
20950	EP-412-9	CO-RI-BR	POOL	29,379	POSITIVO	15,664	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

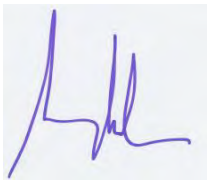
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 658

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	16-03-2017	
Nº de Muestras	5	**Fecha de Recepción de muestras**	22-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	16:00	
		Fecha de análisis	30-03-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	30-03-2017	

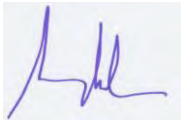
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20934	EP-412-1	Co-Ri-Br	34,616	23,542	POOL	HPR0 POSITIVO
20938 *	EP-412-3	Co-Ri-Br	29,747	19,651	POOL	HPR0 POSITIVO
20946*	EP-412-7	Co-Ri-Br	35,361	17,712	POOL	HPR0 POSITIVO
20948	EP-412-8	Co-Ri-Br	27,222	24,734	POOL	HPR0 POSITIVO
20950*	EP-412-9	Co-Ri-Br	34,621	29,969	POOL	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,936	25,789	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Las muestras con asterístico, muestran un resultado positivo a HPR0. Sin embargo no se observa una correlación entre los valores de ct segmento 8 y del segmento 6.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 659	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	27-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	28-03-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	BUFFER TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20954	PA066	CO-RI-BR	POOL	24,872	POSITIVO	16,398	DR
20956	PA066	CO-RI-BR	POOL	25,132	POSITIVO	16,054	DR
20958	PA066	CO-RI-BR	POOL	26,879	POSITIVO	13,879	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

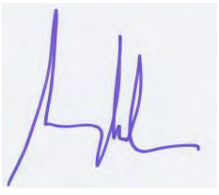
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 669

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	BUFFER TRK	**Fecha de Muestreo**	27-03-2017	
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	28-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	16:00	
		Fecha de análisis	03-04-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017	

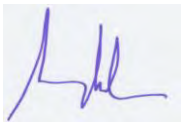
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20954	PA066	Co-Ri-Br	21,844	23,299	POOL	HPR0 POSITIVO
20956*	PA066	Co-Ri-Br	24,768	27,145	POOL	HPR0 POSITIVO
20958	PA066	Co-Ri-Br	23,786	25,894	POOL	HPR0 POSITIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	HPR0 POSITIVO
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

La muestra con asterístico, reporta un resultado positivo a HPR0. Sin embargo no se observa una correlación entre los valores de ct segmento 8 y del segmento 6.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 660	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2014
Fecha Recepción	28-03-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20960	PLS015	CO-RI-BR	POOL	22,312	POSITIVO	14,162	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

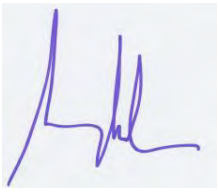
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 670

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	28-03-2017	
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	28-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	16:00	
		Fecha de análisis	03-04-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017	

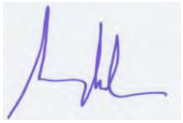
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20960*	PLS015	Co-Ri-Br	19,820	22,146	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

La muestra con asterístico, reporta un resultado positivo a HPR0. Sin embargo no se observa una correlación entre los valores de ct segmento 8 y del segmento 6.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 661	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	20	Numero de Análisis	20
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
20962	MA58-01	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	18,367	DR
20964	MA58-02	CO-RI-BR	POOL	36,694	NEGATIVO	20,490	DR
20966	MA58-03	CO-RI-BR	POOL	36,937	NEGATIVO	20,594	DR
20968	MA58-04	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	20,535	DR
20970	MA58-05	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	18,434	DR
20972	MA58-06	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	18,982	DR
20974	MA58-07	CO-RI-BR	POOL	39,494	NEGATIVO	19,110	DR
20976	MA58-08	CO-RI-BR	POOL	37,443	NEGATIVO	21,333	DR
20978	MA58-09	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	20,012	DR
20980	MA58-10	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	19,062	DR
20982	MA58-11	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	21,201	DR
20984	MA58-12	CO-RI-BR	POOL	35,462	POSITIVO	21,142	DR
20986	MA58-13	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	20,069	DR
20988	MA58-14	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	22,836	DR
20990	MA58-15	CO-RI-BR	POOL	40,195	NEGATIVO	24,928	DR
20992	MA58-16	CO-RI-BR	POOL	38,557	NEGATIVO	23,538	DR
20994	MA58-17	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	24,329	DR
20996	MA58-18	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	24,964	DR
20998	MA58-19	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	23,665	DR
21000	MA58-20	CO-RI-BR	POOL	36,619	NEGATIVO	23,116	DR

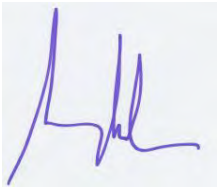
SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 671

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	22-03-2017	
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
		Fecha de análisis	03-04-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017	

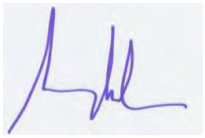
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
20984	MA58-12	Co-Ri-Br	-	38,521	POOL	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 662	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	14-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21002	HJ52-01	CO-RI-BR	IND.	27,168	POSITIVO	16,062	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 672

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	14-03-2017
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	03-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017

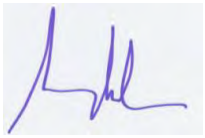
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21002	HJ52-01	Co-Ri-Br	23,577	25,660	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 663	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Marcela Lara Fica	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real							
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21004	AC75-1	CO-RI-BR	IND.	32,800	POSITIVO	18,997	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	673					
INFORMACIÓN CLIENTE						
Entidad Solicitante		Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**		(032) 2819282 / 2819280
Dirección		Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**		Miguel Jarpa
INFORMACIÓN DE la MUESTRA						
Preservante		ETANOL		**Fecha de Muestreo**		09-03-2017
Nº de Muestras		1		**Fecha de Recepción de muestras**		30-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall				**Hora de Recepción de muestras**		14:00
				Fecha de análisis		03-04-2017
				Hora de inicio y témino de análisis		--- ---
				Fecha de emisión de informe		04-04-2017

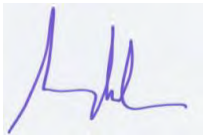
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21004	AC75-1	Co-Ri-Br	29,383	30,972	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 664	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21006	MN96-1	CO-RI-BR	IND.	18,100	POSITIVO	16,070	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 674

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	ETANOL	**Fecha de Muestreo**	22-03-2017
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	03-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017

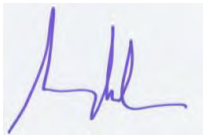
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21006	MN96-1	Co-Ri-Br	15,165	17,515	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 665	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	23-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21008	OK69-01	CO-RI-BR	IND.	16,383	POSITIVO	15,593	DR

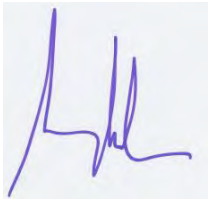
SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 675

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	ETANOL	**Fecha de Muestreo**	23-03-2017
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	03-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017

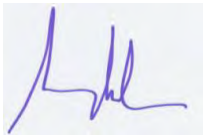
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21008	OK69-01	Co-Ri-Br	15,406	17,851	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 666	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

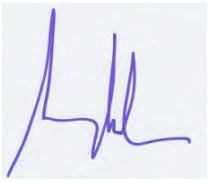
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21010	CK54-01	CO-RI-BR	POOL	23,082	POSITIVO	21,920	DR
21012	CK54-02	CO-RI-BR	POOL	26,871	POSITIVO	21,912	DR
21014	CK54-03	CO-RI-BR	POOL	27,311	POSITIVO	21,315	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 676

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	24-03-2017
Nº de Muestras	3	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	03-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017

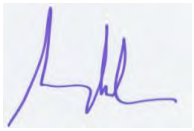
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21010 *	CK54-01	Co-Ri-Br	19,188	24,355	POOL	**HPR0 POSITIVO**
21012 *	CK54-02	Co-Ri-Br	22,682	28,179	POOL	**HPR0 POSITIVO**
21014 *	CK54-03	Co-Ri-Br	24,010	28,765	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Las muestras marcadas con asterístico, son positivas a HPR0. Sin embargo, no se observa una correlación entre los valores de ct de segmento 8 y segemento 6.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 667	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

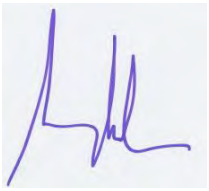
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21016	MF-415-1	CO-RI-BR	POOL	13,240	POSITIVO	17,456	DR
21018	MF-415-2	CO-RI-BR	POOL	17,299	POSITIVO	16,153	DR
21020	MF-415-3	CO-RI-BR	POOL	14,442	POSITIVO	15,747	DR
21022	MF-415-4	CO-RI-BR	POOL	14,234	POSITIVO	16,020	DR
21024	MF-415-5	CO-RI-BR	POOL	15,925	POSITIVO	16,191	DR
21026	MF-415-6	CO-RI-BR	POOL	32,499	POSITIVO	14,937	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 677

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	24-03-2017
Nº de Muestras	6	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	03-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017

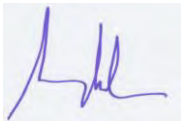
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21016*	MF-415-1	Co-Ri-Br	35,951	13,393	POOL	**HPR0 POSITIVO**
21018	MF-415-2	Co-Ri-Br	-	17,857	POOL	HPR0 NEGATIVO
21020*	MF-415-3	Co-Ri-Br	35,563	15,320	POOL	**HPR0 POSITIVO**
21022	MF-415-4	Co-Ri-Br	37,117	15,435	POOL	HPR0 NEGATIVO
21024*	MF-415-5	Co-Ri-Br	33,310	17,254	POOL	**HPR0 POSITIVO**
21026*	MF-415-6	Co-Ri-Br	33,751	33,438	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Las muestras marcadas con asterístico, son positivas a HPR0. Sin embargo, no se observa una correlación entre los valores de ct de segmento 8 y segemento 6.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 668	Fecha Informe 03-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-03-2017	Fecha Análisis	31-03-2017
Fecha Recepción	30-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

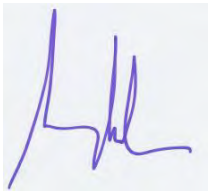
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21028	MF-416-1	CO-RI-BR	IND.	14,207	POSITIVO	21,055	DR
21030	MF-416-2	CO-RI-BR	IND.	24,654	POSITIVO	20,349	DR
21032	MF-416-3	CORAZÓN	IND.	13,605	POSITIVO	21,773	DR
21034	MF-416-4	RIÑÓN	IND.	15,912	POSITIVO	20,788	DR
21036	MF-416-5	BRANQUIA	IND.	20,855	POSITIVO	22,994	DR
21038	MF-416-6	CO-RI-BR	IND.	20,970	POSITIVO	20,019	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	678		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	24-03-2017
Nº de Muestras	6	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	03-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017

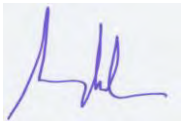
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21028	MF-416-1	Co-Ri-Br	39,420	16,240	IND.	HPR0 NEGATIVO
21030	MF-416-2	Co-Ri-Br	37,119	26,071	IND.	HPR0 NEGATIVO
21032*	MF-416-3	CORAZÓN	35,848	12,570	IND.	**HPR0 POSITIVO**
21034	MF-416-4	RIÑÓN	-	18,249	IND.	HPR0 NEGATIVO
21036*	MF-416-5	BRANQUIA	35,518	22,212	IND.	**HPR0 POSITIVO**
21038*	MF-416-6	Co-Ri-Br	34,931	22,675	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,322	27,610	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Las muestras marcadas con asterístico, son positivas a HPR0. Sin embargo, no se observa una correlación entre los valores de ct de segmento 8 y segemento 6.

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	48	Nº de informe al que pertenece	668

INFORMACIÓN CLIENTE

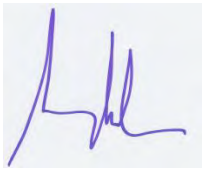
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	N/A	**Fecha de Muestreo**	24-03-2017
Nº de Muestras a secuenciar	2	**Fecha de Recepción de muestras**	30-03-2017
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00
		Fecha de análisis	31-03-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	----- -----
		Fecha de emisión de informe	03-04-2017
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	03-04-2017
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			12-06-2017

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
MF-416-5	21036	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto
MF-416-6	21038	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
MF-416-5	21036	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNT	HPR9a
MF-416-6	21038	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNT	HPR9a



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 679	Fecha Informe 04-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-03-2017	Fecha Análisis	04-04-2017
Fecha Recepción	31-03-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21040	1A	CO-RI-BR	POOL	31,690	POSITIVO	14,426	DR
21042	2B	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	18,556	DR
21044	3C	CO-RI-BR	POOL	33,466	POSITIVO	13,008	DR
21046	4D	CO-RI-BR	POOL	38,183	NEGATIVO	17,001	DR
21048	5E	CO-RI-BR	POOL	34,802	POSITIVO	17,808	DR
21050	6F	CO-RI-BR	POOL	33,140	POSITIVO	11,938	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

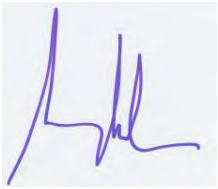
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 680

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	29-03-2017	
Nº de Muestras	4	**Fecha de Recepción de muestras**	31-03-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
		Fecha de análisis	04-04-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	---	---
		Fecha de emisión de informe	04-04-2017	

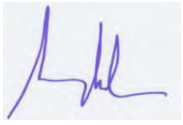
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21040	1A	Co-Ri-Br	30,518	31,690	POOL	**HPR0 POSITIVO**
21044	3C	Co-Ri-Br	31,890	33,466	POOL	**HPR0 POSITIVO**
21048	5E	Co-Ri-Br	36,878	34,802	POOL	HPR0 NEGATIVO
21050	6F	Co-Ri-Br	30,321	33,140	POOL	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	24,566	25,863	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 681	Fecha Informe 07-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-03-2017	Fecha Análisis	07-04-2017
Fecha Recepción	05-04-2017	Hora Recepción Muestras	14:30
Numero de Muestras	14	Numero de Análisis	14
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

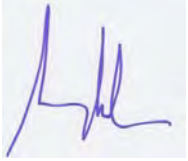
Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21052	SERN 01	RI-CE	IND.	37,334	NEGATIVO	14,881	DR
21054	SERN 03	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	16,241	DR
21056	SERN 05	RI-CE	IND.	37,100	NEGATIVO	16,160	DR
21058	SERN 07	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,949	DR
21060	SERN 09	RI-CE	IND.	38,942	NEGATIVO	15,558	DR
21062	SERN 11	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	18,527	DR
21064	SERN 13	RI-CE	IND.	36,161	NEGATIVO	15,607	DR
21066	SERN 15	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	12,545	DR
21068	SERN 17	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	13,097	DR
21070	SERN 19	RI-CE	IND.	36,996	NEGATIVO	13,646	DR
21072	SERN 21	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,427	DR
21074	SERN 23	RI-CE	IND.	37,534	NEGATIVO	13,483	DR
21076	SERN 25	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,401	DR
21078	SERN 27	RI-CE	IND.	36,581	NEGATIVO	12,737	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 682	Fecha Informe 06-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-03-2017	Fecha Análisis	06-04-2017
Fecha Recepción	05-04-2017	Hora Recepción Muestras	14:30
Numero de Muestras	14	Numero de Análisis	14
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21052	SERN 01	RI-CE	IND.	22,480	POSITIVO	14,881	DR
21054	SERN 03	RI-CE	IND.	23,771	POSITIVO	16,241	DR
21056	SERN 05	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	16,160	DR
21058	SERN 07	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,949	DR
21060	SERN 09	RI-CE	IND.	24,562	POSITIVO	15,558	DR
21062	SERN 11	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	18,527	DR
21064	SERN 13	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,607	DR
21066	SERN 15	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	12,545	DR
21068	SERN 17	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	13,097	DR
21070	SERN 19	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	13,646	DR
21072	SERN 21	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,427	DR
21074	SERN 23	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	13,483	DR
21076	SERN 25	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,401	DR
21078	SERN 27	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	12,737	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

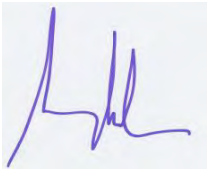
Se detectó la presencia de *Piscirickettsia salmonis* en las muestras analizadas.

Metodologias			
qRT-PCR SRS en Tiempo Real	Metodo modificado de Marshall et al,1998 - Química TaqMan.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 682-1	Fecha Informe 06-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-03-2017	Fecha Análisis	06-04-2017
Fecha Recepción	05-04-2017	Hora Recepción Muestras	14:30
Numero de Muestras	14	Numero de Análisis	14
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

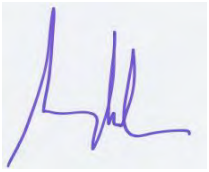
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	SRS		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21052	SERN 01	RI-CE	IND.	22,480	POSITIVO	14,881	DR
21054	SERN 03	RI-CE	IND.	23,771	POSITIVO	16,241	DR
21056	SERN 05	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	16,160	DR
21058	SERN 07	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,949	DR
21060	SERN 09	RI-CE	IND.	24,562	POSITIVO	15,558	DR
21062	SERN 11	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	18,527	DR
21064	SERN 13	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,607	DR
21066	SERN 15	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	12,545	DR
21068	SERN 17	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	13,097	DR
21070	SERN 19	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	13,646	DR
21072	SERN 21	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,427	DR
21074	SERN 23	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	13,483	DR
21076	SERN 25	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	15,401	DR
21078	SERN 27	RI-CE	IND.	-	NEGATIVO	12,737	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

Se detectó la presencia de *Piscirickettsia salmonis* en las muestras analizadas.

Metodologias			
qRT-PCR SRS en Tiempo Real	Metodo modificado de Marshall et al,1998 - Química TaqMan.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 684	Fecha Informe 10-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-04-2017	Fecha Análisis	10-04-2017
Fecha Recepción	06-04-2017	Hora Recepción Muestras	14:30
Numero de Muestras	11	Numero de Análisis	11
Preservante	ETANOL / SIN	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	*Piscirickettsia salmonis*		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21080	N/A	RI-HI	IND	-	NEGATIVO	11,960	DR
21082	N/A	RI-HI	IND	27,569	POSITIVO	14,977	DR
21084	N/A	RI-HI	IND	27,255	POSITIVO	14,190	DR
21086	N/A	RI-HI	IND	38,203	NEGATIVO	14,833	DR
21088	N/A	RI-HI-MU	IND	29,630	POSITIVO	13,216	DR
21090	N/A	Fouling	IND	-	NEGATIVO	-	FR
21092	N/A	RI-HI-MU	IND	-	NEGATIVO	14,115	DR
21094	N/A	RI-HI	IND	-	NEGATIVO	13,384	DR
21096	N/A	RI-HI	IND	-	NEGATIVO	13,456	DR
21098	N/A	RI-HI-BR-CO		-	NEGATIVO	12,809	DR
21100	N/A	RI-HI-BR-CO		-	NEGATIVO	28,740	FR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia de *Piscirickettsia salmonis* en las muestras analizadas.

Metodologias				
RT-PCR SRS en Tiempo Real		Metodo modificado de Marshall et al,1998 - Química Syber Green		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 685	Fecha Informe 11-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-03-2017	Fecha Análisis	11-04-2017
Fecha Recepción	06-04-2017	Hora Recepción Muestras	15:30
Numero de Muestras	11	Numero de Análisis	11
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

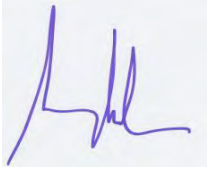
Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21102	MF-423-1	CO-RI-BR	IND.	32,424	POSITIVO	13,924	DR
21104	MF-423-2	CO-RI-BR	IND.	32,564	POSITIVO	16,076	DR
21106	MF-423-3	CO-RI-BR	IND.	36,723	NEGATIVO	14,712	DR
21108	MF-423-4	CO-RI-BR	IND.	27,644	POSITIVO	15,999	DR
21110	MF-423-5	CO-RI-BR	IND.	33,459	POSITIVO	14,343	DR
21112	MF-423-6	CO-RI-BR	IND.	33,401	POSITIVO	20,836	DR
21114	MF-423-7	CO-RI-BR	IND.	34,307	POSITIVO	14,913	DR
21116	MF-423-8	CO-RI-BR	IND.	33,688	POSITIVO	14,867	DR
21118	MF-423-9	CO-RI-BR	IND.	34,866	POSITIVO	14,351	DR
21120	MF-423-10	CO-RI-BR	IND.	34,380	POSITIVO	14,420	DR
21122	MF-423-11	CO-RI-BR	IND.	34,008	POSITIVO	15,416	DR

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 689

INFORMACIÓN CLIENTE

Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	31-03-2017
Nº de Muestras	10	**Fecha de Recepción de muestras**	06-04-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:30
		Fecha de análisis	11-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	11-04-2017

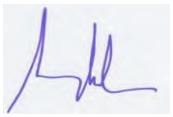
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21102	MF-423-1	Co-Ri-Br	-	30,446	IND.	HPR0 NEGATIVO
21104	MF-423-2	Co-Ri-Br	31,944	29,969	IND.	**HPR0 POSITIVO**
21108	MF-423-4	Co-Ri-Br	-	26,756	IND.	HPR0 NEGATIVO
21110	MF-423-5	Co-Ri-Br	-	31,160	IND.	HPR0 NEGATIVO
21112	MF-423-6	Co-Ri-Br	-	30,422	IND.	HPR0 NEGATIVO
21114	MF-423-7	Co-Ri-Br	-	31,909	IND.	HPR0 NEGATIVO
21116	MF-423-8	Co-Ri-Br	-	31,801	IND.	HPR0 NEGATIVO
21118	MF-423-9	Co-Ri-Br	-	28,404	IND.	HPR0 NEGATIVO
21120	MF-423-10	Co-Ri-Br	35,361	31,159	IND.	HPR0 NEGATIVO
21122	MF-423-11	Co-Ri-Br	-	29,872	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	25,262	23,361	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 686	Fecha Informe 10-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-03-2017	Fecha Análisis	10-04-2017
Fecha Recepción	06-04-2017	Hora Recepción Muestras	15:30
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	*Caligus rogercresseyi*

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

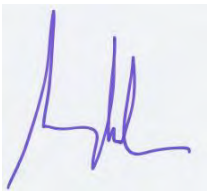
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21124	CL-421-1	CALIGUS	IND.	23,011	POSITIVO	14,876	DR
21126	CL-421-2	CALIGUS	IND.	22,898	POSITIVO	15,454	DR
21128	CL-421-3	CALIGUS	IND.	19,496	POSITIVO	16,535	DR
21130	CL-421-4	CALIGUS	IND.	19,446	POSITIVO	14,994	DR
21132	CL-421-5	CALIGUS	IND.	19,519	POSITIVO	16,758	DR
21134	CL-421-6	CALIGUS	IND.	31,942	POSITIVO	15,307	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 690

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	31-03-2017
Nº de Muestras	6	**Fecha de Recepción de muestras**	06-04-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:30
		Fecha de análisis	11-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	11-04-2017

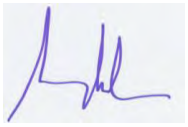
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21124	CL-421-1	CALIGUS	-	21,546	IND.	HPR0 NEGATIVO
21126	CL-421-2	CALIGUS	-	20,152	IND.	HPR0 NEGATIVO
21128	CL-421-3	CALIGUS	-	17,261	IND.	HPR0 NEGATIVO
21130	CL-421-4	CALIGUS	-	17,130	IND.	HPR0 NEGATIVO
21132	CL-421-5	CALIGUS	-	17,318	IND.	HPR0 NEGATIVO
21134	CL-421-6	CALIGUS	30,952	29,708	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	25,262	23,361	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 687	Fecha Informe 10-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-03-2017	Fecha Análisis	10-04-2017
Fecha Recepción	06-04-2017	Hora Recepción Muestras	15:30
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21136	MF-419-1	CO-RI-BR	IND.	13,065	POSITIVO	14,730	DR
21138	MF-419-2	CO-RI-BR	IND.	13,564	POSITIVO	13,294	DR
21140	MF-419-3	CO-RI-BR	IND.	12,847	POSITIVO	14,363	DR
21142	MF-419-4	CO-RI-BR	IND.	12,346	POSITIVO	14,316	DR
21144	MF-419-5	CO-RI-BR	IND.	16,691	POSITIVO	14,765	DR

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 691

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	31-03-2017
Nº de Muestras	5	**Fecha de Recepción de muestras**	06-04-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:30
		Fecha de análisis	11-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	11-04-2017

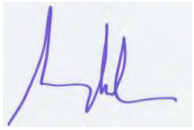
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21136	MF-419-1	Co-Ri-Br	-	10,821	IND.	HPR0 NEGATIVO
21138	MF-419-2	Co-Ri-Br	-	10,868	IND.	HPR0 NEGATIVO
21140	MF-419-3	Co-Ri-Br	-	10,465	IND.	HPR0 NEGATIVO
21142	MF-419-4	Co-Ri-Br	-	9,850	IND.	HPR0 NEGATIVO
21144	MF-419-5	Co-Ri-Br	-	15,035	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	25,774	24,300	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

INFORME DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Informe N° 688	Fecha Informe 10-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-03-2017	Fecha Análisis	10-04-2017
Fecha Recepción	06-04-2017	Hora Recepción Muestras	15:30
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	SIN PRESERVANTE	Especie	S.SALAR

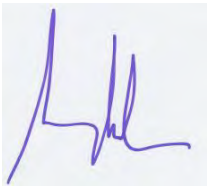
Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21146	MF-420-1	CO-RI-BR	IND.	19,746	POSITIVO	18,442	DR
21148	MF-420-2	CO-RI-BR	IND.	16,762	POSITIVO	20,913	DR
21150	MF-420-3	CO-RI-BR	IND.	13,833	POSITIVO	17,900	DR
21152	MF-420-4	CO-RI-BR	IND.	16,424	POSITIVO	20,138	DR
21154	MF-420-5	CO-RI-BR	IND.	15,558	POSITIVO	19,332	DR

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe 692

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	SIN PRESERVANTE	**Fecha de Muestreo**	31-03-2017
Nº de Muestras	5	**Fecha de Recepción de muestras**	06-04-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:30
		Fecha de análisis	11-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	11-04-2017

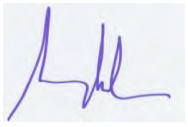
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21146	MF-420-1	Co-Ri-Br	-	19,746	IND.	HPR0 NEGATIVO
21148	MF-420-2	Co-Ri-Br	-	14,141	IND.	HPR0 NEGATIVO
21150	MF-420-3	Co-Ri-Br		10,895	IND.	HPR0 NEGATIVO
21152	MF-420-4	Co-Ri-Br	-	13,760	IND.	HPR0 NEGATIVO
21154	MF-420-5	Co-Ri-Br	-	12,444	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	25,774	24,300	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 693	Fecha Informe 17-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	07-04-2017	Fecha Análisis	17-04-2017
Fecha Recepción	17-04-2017	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	9	Numero de Análisis	9
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21188	MF-430-1	CO-RI-BR	IND	36,344	NEGATIVO	16,405	DR
21190	MF-430-2	CO-RI-BR	IND	35,41	POSITIVO	16,098	DR
21192	MF-430-3	CO-RI-BR	IND	34,579	POSITIVO	15,864	DR
21194	MF-430-4	CO-RI-BR	IND	34,463	POSITIVO	15,066	DR
21196	MF-430-5	CO-RI-BR	IND	34,948	POSITIVO	14,703	DR
21198	MF-430-6	CO-RI-BR	IND	35,424	POSITIVO	17,524	DR
21200	MF-430-7	CO-RI-BR	IND	34,818	POSITIVO	14,967	DR
21202	MF-430-8	CO-RI-BR	IND	33,73	POSITIVO	14,896	DR
21204	MF-430-9	CO-RI-BR	IND	37,705	NEGATIVO	16,796	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	693 HPR0		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNAlater	**Fecha de Muestreo**	07-04-2017
Nº de Muestras	7	**Fecha de Recepción de muestras**	17-04-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	9:00
		Fecha de análisis	18-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	18-04-2017

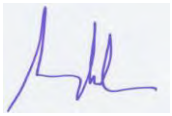
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21190	MF-430-2	CO-RI-BR	34,686	36,997	IND.	HPR0 NEGATIVO
21192	MF-430-3	CO-RI-BR	35,645	35,094	IND.	HPR0 NEGATIVO
21194	MF-430-4	CO-RI-BR	37,505	36,213	IND.	HPR0 NEGATIVO
21196	MF-430-5	CO-RI-BR	36,074	36,164	IND.	HPR0 NEGATIVO
21198	MF-430-6	CO-RI-BR	36,322	-	IND.	HPR0 NEGATIVO
21200	MF-430-7	CO-RI-BR	35,879	34,539	IND.	HPR0 NEGATIVO
21202	MF-430-8	CO-RI-BR	-	36,367	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 694	Fecha Informe 17-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	07-04-2017	Fecha Análisis	17-04-2017
Fecha Recepción	17-04-2017	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21206	MF-426-1	CO-RI-BR	IND	33,361	POSITIVO	14,739	DR
21208	MF-426-2	CO-RI-BR	IND	35,071	POSITIVO	14,346	DR
21210	MF-426-3	CO-RI-BR	IND	13,392	POSITIVO	14,671	DR
21212	MF-426-4	CO-RI-BR	IND	33,415	POSITIVO	14,433	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	694 HPR0				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNAlater		**Fecha de Muestreo**	07-04-2017	
Nº de Muestras	4		**Fecha de Recepción de muestras**	17-04-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	9:00	
			Fecha de análisis	18-04-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	18-04-2017	

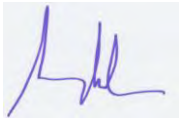
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21206	MF-426-1	CO-RI-BR	35,731	34,628	IND.	HPR0 NEGATIVO
21208	MF-426-2	CO-RI-BR	34,382	37,435	IND.	HPR0 NEGATIVO
21210	MF-426-3	CO-RI-BR	34,139	13,805	IND.	HPR0 NEGATIVO
21212	MF-426-4	CO-RI-BR	36,642	35,168	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 695	Fecha Informe 17-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	07-04-2017	Fecha Análisis	17-04-2017
Fecha Recepción	17-04-2017	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	CALIGUS

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21214	CL-428-1	OTRO	IND	22,472	POSITIVO	15,392	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

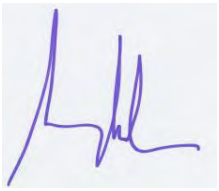
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	695 HPR0		
INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald
INFORMACIÓN DE la MUESTRA			
Preservante	RNAlater	**Fecha de Muestreo**	07-04-2017
Nº de Muestras	1	**Fecha de Recepción de muestras**	17-04-2017
Director de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	9:00
		Fecha de análisis	18-04-2017
		Hora de inicio y témino de análisis	--- ---
		Fecha de emisión de informe	18-04-2017

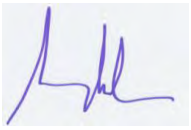
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21214	CL-428-1	OTRO	35,800	23,421	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 696	Fecha Informe 17-04-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	07-04-2017	Fecha Análisis	17-04-2017
Fecha Recepción	17-04-2017	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	-	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21216	MF-427-1	CO-RI-BR	IND	16,603	POSITIVO	19,876	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

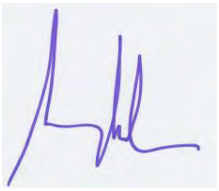
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	696 HPR0				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Carla Anguita Bohmwald	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	RNAlater		**Fecha de Muestreo**	07-04-2017	
Nº de Muestras	1		**Fecha de Recepción de muestras**	17-04-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	9:00	
			Fecha de análisis	18-04-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	18-04-2017	

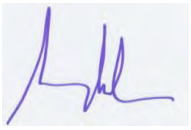
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21216	MF-427-1	Co-Ri-Br	36,018	17,223	IND.	HPR0 NEGATIVO
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	23,736	21,616	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	**X**	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 697	Fecha Informe 04-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-04-2017	Fecha Análisis	02-05-2017
Fecha Recepción	02-05-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21236	CL-434-1	CALIGUS	IND	37,343	NEGATIVO	14,957	DR
21238	CL434-2	CALIGUS	IND	38,921	NEGATIVO	14,609	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 698	Fecha Informe 04-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	18-04-2017	Fecha Análisis	02-05-2017
Fecha Recepción	02-05-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21240	CL-438-1	CALIGUS	POOL	--	NEGATIVO	14,996	DR
21242	CL-438-2	CALIGUS	POOL	--	NEGATIVO	16,174	DR
21244	CL-438-3	CALIGUS	POOL	38,400	NEGATIVO	15,010	DR
21246	CL-438-4	CALIGUS	POOL	38,008	NEGATIVO	17,109	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 699	Fecha Informe 12-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	S/I	Fecha Análisis	12-05-2017
Fecha Recepción	11-05-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	N/A	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21252	ND-01-01	RI+BR	IND	23,311	POSITIVO	17,623	DR
21254	ND-01-02	RI+BR	IND	24,335	POSITIVO	19,203	DR
21256	ND-01-03	RI+BR	IND	25,768	POSITIVO	19,185	DR
21258	ND-01-04	RI+BR	IND	25,426	POSITIVO	18,177	DR
21260	ND-01-05	RI+BR	IND	25,445	POSITIVO	17,471	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

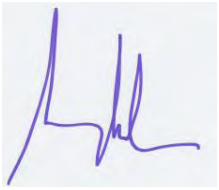
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad Nº330,Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

N ° de informe	699 HPR0				
INFORMACIÓN CLIENTE					
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca		**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280	
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso		**Contacto**	Miguel Jarpa	
INFORMACIÓN DE la MUESTRA					
Preservante	N/A		**Fecha de Muestreo**	S/I	
Nº de Muestras	5		**Fecha de Recepción de muestras**	11-05-2017	
Director de Laboratorio; Sergio Marshall			**Hora de Recepción de muestras**	17:00	
			Fecha de análisis	15-05-2017	
			Hora de inicio y témino de análisis	---	---
			Fecha de emisión de informe	15-05-2017	

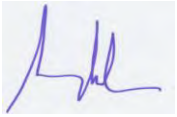
Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Tipo de muestra	HPR0 Específico	CT Seg 8	Pool	Interpretación
21252	ND-01-01	RI+BR	20,890	21,897	IND.	**HPR0 POSITIVO**
21254	ND-01-02	RI+BR	22,555	22,818	IND.	**HPR0 POSITIVO**
21256	ND-01-03	RI+BR	24,846	24,045	IND.	**HPR0 POSITIVO**
21258	ND-01-04	RI+BR	23,682	24,140	IND.	**HPR0 POSITIVO**
21260	ND-01-05	RI+BR	23,794	23,665	IND.	**HPR0 POSITIVO**
CONTROL POSITIVO		Co-Ri-Br	28,339	27,308	-------	**HPR0 POSITIVO**
BLANCO		AGUA	-	-	-------	HPR0 NEGATIVO

NA = No aplica

S.I. = Sin Información

IND= individual

Método de Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT
Cantidad de muestra cargada por reacción	500 ng de ARN total
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1
Ciclos totales	45 Ciclos
Interpretación	Basada en CT y forma de curva



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Notas: El procedimiento de muestreo es realizado por el cliente bajo la norma técnica Nº1: "Procedimientos para el muestreo de peces para el diagnóstico de enfermedades".

Muestras proporcionadas por el cliente.

Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente sin la autorización escrita del laboratorio

Desviación del protocolo actual:	Si	X	No	

OBS: El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 700	Fecha Informe 15-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-05-2017	Fecha Análisis	15-05-2017
Fecha Recepción	12-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real							
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21262	MF-463-1	ORGANOS	IND	34,554	POSITIVO	18,582	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 700 HPR0	Fecha Informe 16-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-05-2017	Fecha Análisis	16-05-2017
Fecha Recepción	12-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21262	MF-463-1	ORGANOS	IND	-	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

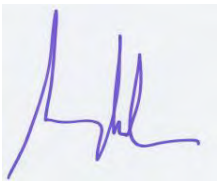
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 701	Fecha Informe 15-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Alicia Gallardo Lagno	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-05-2017	Fecha Análisis	15-05-2017
Fecha Recepción	12-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	CALIGUS

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21264	CL-464-1	CALIGUS	IND	26,126	POSITIVO	17,358	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 701 HPR0	Fecha Informe 16-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-05-2017	Fecha Análisis	16-05-2017
Fecha Recepción	12-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	CALIGUS

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21264	CL-464-1	CALIGUS	IND	26,703	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 702	Fecha Informe 16-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	03-05-2017	Fecha Análisis	15-05-2017
Fecha Recepción	12-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	*P. salmonis*	ELF-1α
				CT	Resultado
21266	NAC01	RI+CE+CO+BA+HI	IND	30,342	POSITIVO
21268	NAC03	RI+CE+CO+BA+HI	IND	16,992	POSITIVO
21270	NAC05	RI+CE+CO+BA+HI	IND	24,084	POSITIVO
21272	NAC07	RI+CE+CO+BA+HI	IND	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango	NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia de *Piscirickettsia salmonis* en las muestras analizadas.

Metodologias			
RT-PCR SRS en Tiempo Real	Metodo modificado de Marshall et al,1998 - Química Syber Green		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y curva de Melting

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 703	Fecha Informe 16-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-05-2017	Fecha Análisis	16-05-2017
Fecha Recepción	15-05-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21274	SF92-1	CO-RI-BR	IND	23,863	POSITIVO	16,166	DR
21276	SF92-2	CO-RI-BR	IND	22,579	POSITIVO	15,483	DR
21278	SF92-3	CO-RI-BR	IND	19,589	POSITIVO	15,368	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe N° 703 HPR0	Fecha Informe 16-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-05-2017	Fecha Análisis	16-05-2017
Fecha Recepción	15-05-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

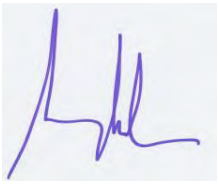
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21274	SF92-1	CO-RI-BR	IND	25,361	25,903	POSITIVO
21276	SF92-2	CO-RI-BR	IND	23,782	23,189	POSITIVO
21278	SF92-3	CO-RI-BR	IND	20,259	20,225	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 704	Fecha Informe 16-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-05-2017	Fecha Análisis	16-05-2017
Fecha Recepción	15-05-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21280	HR-466-1	CO-RI-BR	IND	18,938	POSITIVO	16,31	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

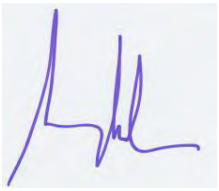
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 704 HPR0	Fecha Informe 16-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-05-2017	Fecha Análisis	16-05-2017
Fecha Recepción	15-05-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

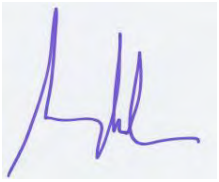
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21280	HR-466-1	CO-RI-BR	IND	20,087	20,444	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	49	Nº de informe al que pertenece	704

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	Otro	**Fecha de Muestreo**	06-05-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	15-05-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:00	
		Fecha de análisis	16-05-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	16-05-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	16-05-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			12-06-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
HR-466-1	21280	QHGWSKYNF**N**Q**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
HR-466-1	21280	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNTNQVEQPATSVLSNIFISMGVA	HPR0



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 705	Fecha Informe 25-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-05-2017	Fecha Análisis	25-05-2017
Fecha Recepción	24-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21282	MP-468	CALIGUS	IND	37,949	NEGATIVO	15,666	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 706	Fecha Informe 25-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-05-2017	Fecha Análisis	25-05-2017
Fecha Recepción	24-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21284	CL-479-1	CALIGUS	IND	-	NEGATIVO	17,352	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 707	Fecha Informe 25-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-05-2017	Fecha Análisis	25-05-2017
Fecha Recepción	24-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21286	MF-477-1	CALIGUS	IND	15,353	POSITIVO	13,899	DR
21288	MF-477-2	CALIGUS	IND	-	NEGATIVO	20,463	DR
21290	MF-477-3	CALIGUS	IND	30,871	POSITIVO	13,968	DR
21292	MF-477-4	CALIGUS	IND	35,607	POSITIVO	14,594	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 707-1	Fecha Informe 26-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-05-2017	Fecha Análisis	25-05-2017
Fecha Recepción	24-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21286	MF-477-1	CO-RI-BR	IND	15,353	POSITIVO	13,899	DR
21288	MF-477-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	20,463	DR
21290	MF-477-5	CO-RI-BR	IND	30,871	POSITIVO	13,968	DR
21292	MF-477-7	CO-RI-BR	IND	35,607	POSITIVO	14,594	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

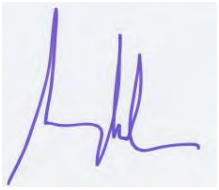
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 707-1 HPR0	Fecha Informe 26-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-05-2017	Fecha Análisis	25-05-2017
Fecha Recepción	24-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

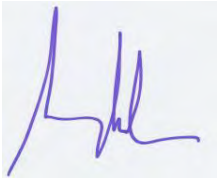
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21286	MF-477-1	CO-RI-BR	IND	14,641	-	NEGATIVO
21290	MF-477-5	CO-RI-BR	IND	30,920	-	NEGATIVO
21292	MF-477-7	CO-RI-BR	IND	35,815	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 708	Fecha Informe 26-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	19-05-2017	Fecha Análisis	25-05-2017
Fecha Recepción	25-05-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	9	Numero de Análisis	9
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21294	GR00-1	CO-RI-BR	IND	18,023	POSITIVO	13,605	DR
21296	GR00-2	CO-RI-BR	IND	18,179	POSITIVO	12,834	DR
21298	GR00-3	CO-RI-BR	IND	18,969	POSITIVO	15,118	DR
21300	GR00-4	CO-RI-BR	IND	19,155	POSITIVO	14,615	DR
21302	GR00-5	CO-RI-BR	IND	19,164	POSITIVO	14,919	DR
21304	GR00-6	CO-RI-BR	IND	18,105	POSITIVO	15,187	DR
21306	GR00-7	CO-RI-BR	IND	18,932	POSITIVO	15,037	DR
21308	GR00-8	CO-RI-BR	IND	18,382	POSITIVO	14,961	DR
21310	GR00-9	CO-RI-BR	IND	17,832	POSITIVO	14,024	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

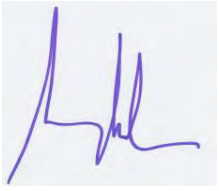
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	708 HPR0	Fecha Informe	26-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	19-05-2017	Fecha Análisis	26-05-2017
Fecha Recepción	25-05-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	9	Numero de Análisis	9
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21294	GR00-1	CO-RI-BR	IND	18,921	20,354	POSITIVO
21296	GR00-2	CO-RI-BR	IND	18,976	19,576	POSITIVO
21298	GR00-3	CO-RI-BR	IND	19,551	22,092	POSITIVO
21300	GR00-4	CO-RI-BR	IND	19,476	21,383	POSITIVO
21302	GR00-5	CO-RI-BR	IND	19,347	20,801	POSITIVO
21304	GR00-6	CO-RI-BR	IND	18,537	20,593	POSITIVO
21306	GR00-7	CO-RI-BR	IND	19,404	20,778	POSITIVO
21308	GR00-8	CO-RI-BR	IND	18,709	19,993	POSITIVO
21310	GR00-9	CO-RI-BR	IND	17,436	19,481	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso - NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@pucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

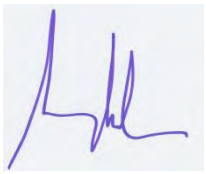
N ° de informe secuenciación	50	Nº de informe al que pertenece	708

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	RNAlater	**Fecha de Muestreo**	16-05-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	25-05-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	12:00	
		Fecha de análisis	26-05-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	26-05-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	26-05-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			12-06-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
GR00-9	21310	QHGWSKYNF**N**Q**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
GR00-9	21310	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNTNQVEQPATSVLSNIFISMGVA	HPR0



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 709	Fecha Informe 30-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-05-2017	Fecha Análisis	30-05-2017
Fecha Recepción	29-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	L15	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21312	WQ11-1	CO-RI-BR	IND	26,077	POSITIVO	16,981	DR
21314	WQ11-2	CO-RI-BR	IND	35,157	POSITIVO	17,039	DR
21316	WQ11-3	CO-RI-BR	IND	30,581	POSITIVO	15,283	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	709 HPR0	Fecha Informe	30-05-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-05-2017	Fecha Análisis	30-05-2017
Fecha Recepción	29-05-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	L15	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21312	WQ11-1	CO-RI-BR	IND	26,08	26,442	POSITIVO
21314	WQ11-2	CO-RI-BR	IND	35,16	36,43	NEGATIVO
21316	WQ11-3	CO-RI-BR	IND	30,58	29,105	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

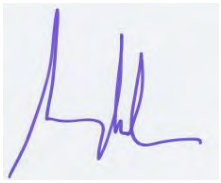
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso - NBC. Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@pucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 710	Fecha Informe 31-05-2007

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-05-2017	Fecha Análisis	31-05-2017
Fecha Recepción	30-05-2017	Hora Recepción Muestras	17:40
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21318	1	CO-RI-BR	IND	37,786	NEGATIVO	17,115	DR
21320	3	CO-RI-BR	IND	38,842	NEGATIVO	15,92	DR
21322	5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,362	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 711	Fecha Informe 05-06-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	23-05-2017	Fecha Análisis	30-05-2017
Fecha Recepción	30-05-2017	Hora Recepción Muestras	17:40
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	*P. salmonis*	
				CT	Resultado
21324	307	HI-ENC	IND	-	NEGATIVO
21326	305-A	HI-ENC	IND	-	NEGATIVO
21328	305-B	HI-ENC	IND	-	NEGATIVO
21330	301-A	HI-ENC	IND	-	NEGATIVO
21332	301-3	HI-ENC	IND	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango	NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia de *Piscirickettsia salmonis* en las muestras analizadas.

Metodologias			
RT-PCR SRS en Tiempo Real	Metodo modificado de Marshall et al,1998 - Química Syber Green		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y curva de Melting

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 712	Fecha Informe 06-06-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-05-2017	Fecha Análisis	05-06-2017
Fecha Recepción	01-06-2017	Hora Recepción Muestras	17:40
Numero de Muestras	10	Numero de Análisis	10
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21334	ET00-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	18,06	DR
21336	ET00-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,5	DR
21338	ET00-3	CO-RI-BR	IND	36,49	NEGATIVO	16,98	DR
21340	ET00-4	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,87	DR
21342	ET00-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,48	DR
21344	ET00-6	CO-RI-BR	IND	36,62	NEGATIVO	18,29	DR
21346	ET00-7	CO-RI-BR	IND	37,07	NEGATIVO	19,12	DR
21348	ET00-8	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	29,86	FR
21350	ET00-9	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	22,07	DR
21352	ET00-10	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	19,25	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

- Muestras proporcionadas por el cliente.
- El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas
- La muestra 21348 presentó un valor de Ct de ELF-1α fuera de rango, por lo que su resultado carece de confianza.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 713	Fecha Informe 05-06-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-05-2017	Fecha Análisis	05-06-2017
Fecha Recepción	02-06-2017	Hora Recepción Muestras	16:30
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21354	E 03	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,43	DR
21356	E 23	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,96	DR
21358	E 17	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,17	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 714	Fecha Informe 21-06-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-05-2017	Fecha Análisis	20-06-2017
Fecha Recepción	08-06-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21360	DB981	CO-RI-BR	IND	26,977	POSITIVO	12,201	DR
21362	DB982	CO-RI-BR	IND	18,814	POSITIVO	11,754	DR
21364	DB983	CO-RI-BR	IND	25,549	POSITIVO	11,672	DR
21366	DB984	CO-RI-BR	IND	23,471	POSITIVO	11,724	DR
21368	DB985	CO-RI-BR	IND	28,58	POSITIVO	13,382	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	714 HPR0	Fecha Informe	27-06-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-05-2017	Fecha Análisis	20-06-2017
Fecha Recepción	08-06-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21360	DB981	CO-RI-BR	IND	26,977	31,483	POSITIVO
21362	DB982	CO-RI-BR	IND	18,814	20,465	POSITIVO
21364	DB983	CO-RI-BR	IND	25,549	28,209	POSITIVO
21366	DB984	CO-RI-BR	IND	23,471	31,285	POSITIVO
21368	DB985	CO-RI-BR	IND	26,06	35,976	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

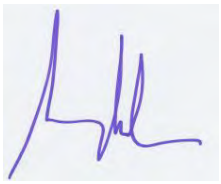
Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Para el caso de la muestra 21368 el Ct del segmento 8 no coincide con el de HPR0, lo que podria deberse a una posible coexistencia.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

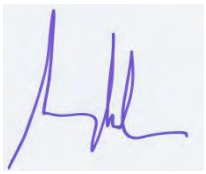
N ° de informe secuenciación	51	Nº de informe al que pertenece	714

INFORMACIÓN CLIENTE			
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA				
Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	29-05-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	08-06-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	14:00	
		Fecha de análisis	20-06-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	21-06-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	14-08-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			04-08-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
DB982	21362	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
DB982	21362	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNTNQVEQPATSVLSNIFISMGVA	HPR0



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 715	Fecha Informe 21-06-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-06-2017	Fecha Análisis	20-06-2017
Fecha Recepción	08-06-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21370	AD-492	CO-RI-BR	IND	22,15	POSITIVO	14,43	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

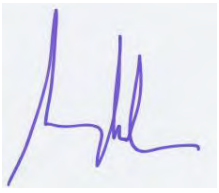
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	715 HPR0	Fecha Informe

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-06-2017	Fecha Análisis	00-01-1900
Fecha Recepción	08-06-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	7
Preservante	TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21370	AD-492	CO-RI-BR	IND	22,15	23,11	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

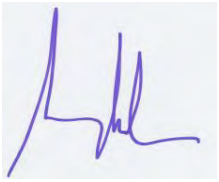
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 716	Fecha Informe 04-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-06-2017	Fecha Análisis	04-07-2017
Fecha Recepción	03-07-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21372	LA00-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,024	DR
21374	LA00-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,928	DR
21376	LA00-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,289	DR
21378	LA00-4	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,227	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 717	Fecha Informe 04-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-06-2017	Fecha Análisis	04-07-2017
Fecha Recepción	03-07-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21380	LO00-1	SEMEN	IND	-	NEGATIVO	23,389	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

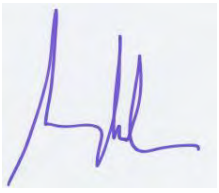
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 718	Fecha Informe 04-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-06-2017	Fecha Análisis	04-07-2017
Fecha Recepción	03-07-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21382	LE00-1	OVAS	IND	-	NEGATIVO	19,159	DR
21384	LE00-2	OVAS	IND	-	NEGATIVO	18,965	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 719	Fecha Informe 06-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-07-2017	Fecha Análisis	06-07-2017
Fecha Recepción	05-07-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21386	JE-497-1	CO-RI-BR	IND	37,734	NEGATIVO	20,103	DR
21388	JE-497-2	CO-RI-BR	IND	37247	NEGATIVO	17,909	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 719-1	Fecha Informe 07-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-07-2017	Fecha Análisis	06-07-2017
Fecha Recepción	05-07-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21386	JE-497-1	CO-RI-BR	IND	32,744	POSITIVO	20,103	DR
21388	JE-497-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,909	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

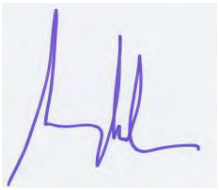
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 719-1 HPR0	Fecha Informe 10-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-07-2017	Fecha Análisis	10-07-2017
Fecha Recepción	05-07-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

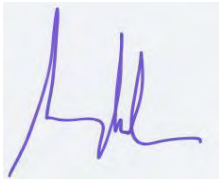
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21386	JE-497-1	CO-RI-BR	IND	34,438	34,927	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 720	Fecha Informe 11-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	VARIAS VER OBSERVACIONES	Fecha Análisis	10-07-2017
Fecha Recepción	10-07-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	24	Numero de Análisis	24
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21390	HE33-1	CO-RI-BR	IND	28,426	POSITIVO	14,008	DR
21392	HE33-2	CO-RI-BR	IND	25,283	POSITIVO	15,397	DR
21394	HE33-3	CO-RI-BR	IND	27,801	POSITIVO	15,979	DR
21396	HE33-4	CO-RI-BR	IND	22,493	POSITIVO	14,328	DR
21398	HE33-5	CO-RI-BR	IND	26,306	POSITIVO	15,909	DR
21400	HE33-6	CO-RI-BR	IND	29,219	POSITIVO	15,486	DR
21402	HE33-7	CO-RI-BR	IND	24,349	POSITIVO	14,678	DR
21404	HE33-8	CO-RI-BR	IND	29,874	POSITIVO	16,724	DR
21406	HE33-9	CO-RI-BR	IND	25,298	POSITIVO	14,984	DR
21408	HE33-10	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,071	DR
21410	HE33-11	CO-RI-BR	IND	27,184	POSITIVO	17,661	DR
21412	HE33-12	CO-RI-BR	IND	26,857	POSITIVO	17,065	DR
21414	HE33-13	CO-RI-BR	IND	22,817	POSITIVO	15,631	DR
21416	HE33-14	CO-RI-BR	IND	23,988	POSITIVO	15,518	DR
21418	HE33-15	CO-RI-BR	IND	24,362	POSITIVO	17,38	DR
21420	HE33-16	CO-RI-BR	IND	29,222	POSITIVO	16,273	DR
21422	HE33-17	CO-RI-BR	IND	24,990	POSITIVO	17,498	DR
21424	HE33-18	CO-RI-BR	IND	27,906	POSITIVO	15,738	DR
21426	HE33-19	CO-RI-BR	IND	27,762	POSITIVO	16,865	DR
21428	HE33-20	CO-RI-BR	IND	29,969	POSITIVO	16,071	DR
21430	HE33-21	CO-RI-BR	IND	37,703	NEGATIVO	16,073	DR
21432	HE33-22	CO-RI-BR	IND	27,929	POSITIVO	18,455	DR
21434	HE33-23	CO-RI-BR	IND	28,696	POSITIVO	16,195	DR
21436	HE33-24	CO-RI-BR	IND	35,048	POSITIVO	15,906	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

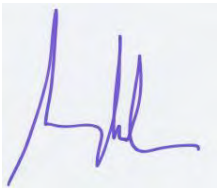
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Observaciones
Muestras HE33-1 a la HE33-4 fueron muestreadas el 28/06/2017
Muestras HE33-5 a la HE33-21 fueron muestreadas el 04/07/2017
Muestra HE33-22 fue muestreada el 05/07/2017
Muestra HE33-23 fue muestreada el 04/07/2017
Muestra HE33-24 fue muestreada el 29/06/2017
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	720 HPR0	Fecha Informe	12-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	VARIAS VER OBSERVACIONES	Fecha Análisis	11-07-2017
Fecha Recepción	10-07-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	24	Numero de Análisis	22
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21390	HE33-1	CO-RI-BR	IND	27,187	28,553	POSITIVO
21392	HE33-2	CO-RI-BR	IND	23,63	25,443	POSITIVO
21394	HE33-3	CO-RI-BR	IND	26,697	26,725	POSITIVO
21396	HE33-4	CO-RI-BR	IND	21,719	22,811	POSITIVO
21398	HE33-5	CO-RI-BR	IND	25,378	25,503	POSITIVO
21400	HE33-6	CO-RI-BR	IND	28,181	28,338	POSITIVO
21402	HE33-7	CO-RI-BR	IND	23,611	23,669	POSITIVO
21404	HE33-8	CO-RI-BR	IND	29,144	28,79	POSITIVO
21406	HE33-9	CO-RI-BR	IND	24,683	24,438	POSITIVO
21410	HE33-11	CO-RI-BR	IND	26,244	26,272	POSITIVO
21412	HE33-12	CO-RI-BR	IND	26,175	26,447	POSITIVO
21414	HE33-13	CO-RI-BR	IND	21,879	21,501	POSITIVO
21416	HE33-14	CO-RI-BR	IND	23,408	23,218	POSITIVO
21418	HE33-15	CO-RI-BR	IND	23,4	22,483	POSITIVO
21420	HE33-16	CO-RI-BR	IND	28,437	28,91	POSITIVO
21422	HE33-17	CO-RI-BR	IND	24,389	23,579	POSITIVO
21424	HE33-18	CO-RI-BR	IND	26,83	25,572	POSITIVO
21426	HE33-19	CO-RI-BR	IND	26,734	25,83	POSITIVO
21428	HE33-20	CO-RI-BR	IND	28,942	30,362	POSITIVO
21432	HE33-22	CO-RI-BR	IND	26,96	27,17	POSITIVO
21434	HE33-23	CO-RI-BR	IND	28,263	27,501	POSITIVO
21436	HE33-24	CO-RI-BR	IND	35,24	35,611	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

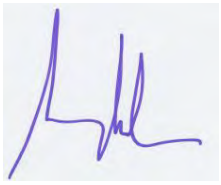
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Observaciones
Muestras HE33-1 a la HE33-4 fueron muestreadas el 28/06/2017
Muestras HE33-5 a la HE33-21 fueron muestreadas el 04/07/2017
Muestra HE33-22 fue muestreada el 05/07/2017
Muestra HE33-23 fue muestreada el 04/07/2017
Muestra HE33-24 fue muestreada el 29/06/2017
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 721	Fecha Informe 18-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-07-2017	Fecha Análisis	17-07-2017
Fecha Recepción	14-07-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21438	AD-500	CO-RI-BR	IND	24,92	POSITIVO	15,952	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	721 HPR0	Fecha Informe	18-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-07-2017	Fecha Análisis	18-07-2017
Fecha Recepción	14-07-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21438	AD-500	CO-RI-BR	IND	23,871	27,555	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

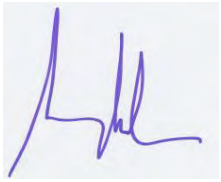
Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El resultado de la muestra es positivo a HPR0. Sin embargo no se observa una correlación entre los valores de Ct del segmento 8 y del segmento 6.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 722	Fecha Informe 18-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-07-2017	Fecha Análisis	17-07-2017
Fecha Recepción	14-07-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	10	Numero de Análisis	10
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21440	LD01-1	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	15,964	DR
21442	LD01-2	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	21,984	DR
21444	LD01-3	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	16,177	DR
21446	LD01-4	ALEVIN	IND	38,760	NEGATIVO	16,905	DR
21448	LD01-5	ALEVIN	IND	35,663	NEGATIVO	16,43	DR
21450	LD01-6	ALEVIN SACO	IND	33,310	POSITIVO	13,402	DR
21452	LD01-7	ALEVIN SACO	IND	36,520	NEGATIVO	13,028	DR
21454	LD01-8	ALEVIN SACO	IND	-	NEGATIVO	14,318	DR
21456	LD01-9	ALEVIN SACO	IND	36,248	NEGATIVO	12,655	DR
21458	LD01-10	ALEVIN SACO	IND	-	NEGATIVO	13,191	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 722 HPR0	Fecha Informe 18-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-07-2017	Fecha Análisis	18-07-2017
Fecha Recepción	14-07-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	10	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

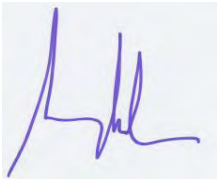
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21450	LD01-6	ALEVIN SACO	IND	33,138	40,538	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 723	Fecha Informe 21-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-07-2017	Fecha Análisis	21-07-2017
Fecha Recepción	20-07-2017	Hora Recepción Muestras	10:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21460	QQ77-1	CO-RI-BR	IND	32,14	POSITIVO	20,926	DR
21462	QQ77-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	26,109	FR
21464	QQ77-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	25,104	FR
21466	QQ77-4	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	26,680	FR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

- Muestras proporcionadas por el cliente.
- Muestras presenta Ct de ELF-1α fuera de rango, por lo que el resultado carece de confianza. Se recomienda remuestrear.
- El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	723 HPR0	Fecha Informe	24-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-07-2017	Fecha Análisis	24-07-2017
Fecha Recepción	20-07-2017	Hora Recepción Muestras	10:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

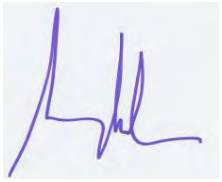
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21460	QQ77-1	CO-RI-BR	IND	31,597	29,812	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 724	Fecha Informe 21-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	18-07-2017	Fecha Análisis	21-07-2017
Fecha Recepción	20-07-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21468	180729-1	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	14,587	DR
21470	180729-2	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	27,473	FR
21472	180729-3	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	15,147	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Muestra 21470 presenta Ct de ELF-1α fuera de rango, por lo que el resultado carece de confianza. Se recomienda remuestrear.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 725	Fecha Informe 26-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	18-07-2017	Fecha Análisis	25-07-2017
Fecha Recepción	24-07-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21474	HP99	CO-RI-BR	IND	25,886	POSITIVO	18,791	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	725 HPR0	Fecha Informe	26-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	18-07-2017	Fecha Análisis	26-07-2017
Fecha Recepción	24-07-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

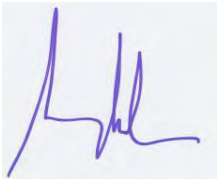
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21474	HP99	CO-RI-BR	IND	25,317	24,711	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 726	Fecha Informe 26-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	20-07-2017	Fecha Análisis	25-07-2017
Fecha Recepción	25-07-2007	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21476	JE-508-1	CO-RI-BR	IND	32,744	POSITIVO	16,01	DR
21478	JE-508-2	CO-RI-BR	IND	33,78	POSITIVO	14,97	DR
21480	JE-508-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,364	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	726 HPR0	Fecha Informe	26-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	20-07-2017	Fecha Análisis	26-07-2017
Fecha Recepción	25-07-2007	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21476	JE-508-1	CO-RI-BR	IND	32,251	33,026	POSITIVO
21478	JE-508-2	CO-RI-BR	IND	32,478	32,621	POSITIVO
21480	JE-508-3	CO-RI-BR	IND	34,262	36,662	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

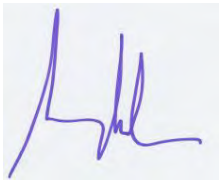
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 727	Fecha Informe 26-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-07-2017	Fecha Análisis	25-07-2017
Fecha Recepción	25-07-2007	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21482	IL-509-101	CO-RI-BR	IND	33,92	POSITIVO	14,444	DR
21484	IL-509-103	CO-RI-BR	IND	35,487	POSITIVO	16,965	DR
21486	IL-509-205	CO-RI-BR	IND	34,733	POSITIVO	15,165	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 727 HPR0	Fecha Informe 26-07-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-07-2017	Fecha Análisis	26-07-2017
Fecha Recepción	25-07-2007	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21482	IL-509-101	CO-RI-BR	IND	32,186	35,661	POSITIVO
21484	IL-509-103	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21486	IL-509-205	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 728	Fecha Informe 01-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-07-2017	Fecha Análisis	31-07-2017
Fecha Recepción	31-07-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	SIN	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21488	CC77-1	CO-RI-BR	IND	22,173	POSITIVO	17,583	DR
21490	CC77-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	20,35	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

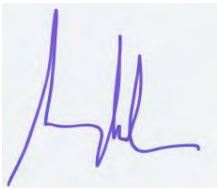
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	728 HPR0	Fecha Informe	01-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-07-2017	Fecha Análisis	01-08-2017
Fecha Recepción	31-07-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	1
Preservante	SIN	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

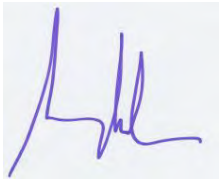
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21488	CC77-1	CO-RI-BR	IND	17,709	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	52	Nº de informe al que pertenece	728

INFORMACIÓN CLIENTE

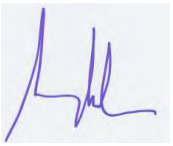
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	--	**Fecha de Muestreo**	24-07-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	31-07-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:00	
		Fecha de análisis	31-07-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	14-08-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	14-08-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			14-08-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
CC77-1	21488	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
CC77-1	21488	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNTNQVEQPATSVLSNIFISMGVA	HPR0



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 729	Fecha Informe 01-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	26-07-2017	Fecha Análisis	31-07-2017
Fecha Recepción	31-07-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	SIN	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21492	AA11-01	OVAS	POOL	32,959	POSITIVO	22,783	DR
21494	AA11-02	OVAS	POOL	33,645	POSITIVO	22,845	DR
21496	AA11-03	OVAS	POOL	33,666	POSITIVO	22,751	DR
21498	AA11-04	OVAS	POOL	33,555	POSITIVO	22,565	DR
21500	AA11-05	OVAS	POOL	31,812	POSITIVO	20,573	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

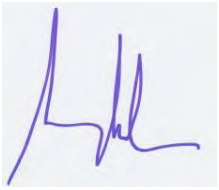
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	729 HPR0	Fecha Informe	01-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	26-07-2017	Fecha Análisis	01-08-2017
Fecha Recepción	31-07-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	SIN	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21492	AA11-01	OVAS	POOL	33,604	31,805	POSITIVO
21494	AA11-02	OVAS	POOL	33,563	34,471	POSITIVO
21496	AA11-03	OVAS	POOL	33,677	31,185	POSITIVO
21498	AA11-04	OVAS	POOL	35,261	31,747	POSITIVO
21500	AA11-05	OVAS	POOL	32,61	30,638	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

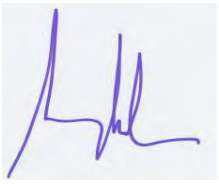
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 730	Fecha Informe 03-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-07-2017	Fecha Análisis	04-08-2017
Fecha Recepción	03-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21502	BB11-01	CO-RI-BR	IND	38,98	NEGATIVO	15,795	DR
21504	BB11-02	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,014	DR
21506	BB11-03	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,814	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	730 HPR0	Fecha Informe	-

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-07-2017	Fecha Análisis	03-08-2017
Fecha Recepción	03-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21502	BB11-01	CO-RI-BR	IND	38,98	35,876	POSITIVO
21504	BB11-02	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21506	BB11-03	CO-RI-BR	IND	-	35,496	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 731	Fecha Informe 04-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-07-2017	Fecha Análisis	03-08-2017
Fecha Recepción	03-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21508	XX01-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	21,679	DR
21510	XX01-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	25,427	FR
21512	XX01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,441	DR
21514	XX01-4	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,002	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	731 HPR0	Fecha Informe	-

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-07-2017	Fecha Análisis	03-08-2017
Fecha Recepción	03-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

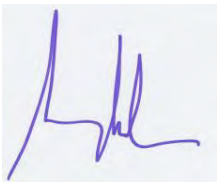
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21508	XX01-1	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21510	XX01-2	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21512	XX01-3	CO-RI-BR	IND	-	36,368	NEGATIVO
21514	XX01-4	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 732	Fecha Informe 04-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-07-2017	Fecha Análisis	04-08-2017
Fecha Recepción	04-08-2017	Hora Recepción Muestras	10:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21516	M1	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	13,462	DR
21518	M2	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	13,456	DR
21520	M3	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	16,094	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 733	Fecha Informe 08-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	02-08-2017	Fecha Análisis	07-08-2017
Fecha Recepción	07-08-2017	Hora Recepción Muestras	15:10
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21522	AC13-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,575	DR
21524	AC13-2	CO-RI-BR	IND	21,032	POSITIVO	15,541	DR
21526	AC13-3	CO-RI-BR	IND	27,809	POSITIVO	17,423	DR
21528	AC13-4	CO-RI-BR	IND	30,173	POSITIVO	14,126	DR
21530	AC13-5	CO-RI-BR	IND	23,717	POSITIVO	13,959	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

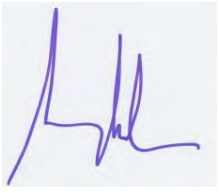
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen		Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1		Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System		Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	733 HPR0	Fecha Informe	08-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	02-08-2017	Fecha Análisis	07-08-2017
Fecha Recepción	07-08-2017	Hora Recepción Muestras	15:10
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21522	AC13-1	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21524	AC13-2	CO-RI-BR	IND	21,032	21,849	POSITIVO
21526	AC13-3	CO-RI-BR	IND	27,809	26,8	POSITIVO
21528	AC13-4	CO-RI-BR	IND	30,173	30,239	POSITIVO
21530	AC13-5	CO-RI-BR	IND	23,717	23,925	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

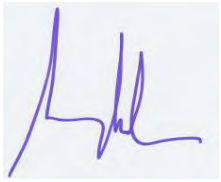
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	55	Nº de informe al que pertenece	733

INFORMACIÓN CLIENTE

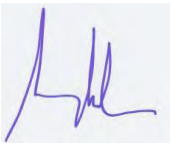
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	02-08-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	07-08-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:10	
		Fecha de análisis	07-08-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	08-08-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	08-08-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			13-12-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
AC13-2	21524	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
AC13-2	21524	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNTNQVEQPATSVLSNIFISMGVA	HPR0



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 734	Fecha Informe 10-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-08-2017	Fecha Análisis	10-08-2017
Fecha Recepción	09-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21532	MM1	CO-RI-BR	IND	26,275	POSITIVO	15,441	DR
21534	MM2	CO-RI-BR	IND	35,404	POSITIVO	15,541	DR
21536	MM3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,078	DR
21538	MM4	CO-RI-BR	IND	33,384	POSITIVO	17,156	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	734 HPR0	Fecha Informe	10-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-08-2017	Fecha Análisis	10-08-2017
Fecha Recepción	09-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21532	MM1	CO-RI-BR	IND	26,275	25,761	POSITIVO
21534	MM2	CO-RI-BR	IND	35,404	-	NEGATIVO
21536	MM3	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21538	MM4	CO-RI-BR	IND	33,384	34,059	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

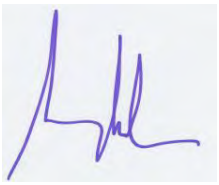
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 735	Fecha Informe 10-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-08-2017	Fecha Análisis	10-08-2017
Fecha Recepción	09-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21540	WD01	CO-RI-BR	IND	27,55	POSITIVO	16,115	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	735 HPR0	Fecha Informe	10-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-08-2017	Fecha Análisis	10-08-2017
Fecha Recepción	09-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21540	WD01	CO-RI-BR	IND	27,55	27,452	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

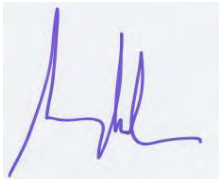
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 736	Fecha Informe 10-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	02-08-2017	Fecha Análisis	10-08-2017
Fecha Recepción	09-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21542	HF01-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,878	DR
21544	HF01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,602	DR
21546	HF01-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,113	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 737	Fecha Informe 10-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	19-07-2017	Fecha Análisis	10-08-2017
Fecha Recepción	09-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21548	PP55-1	CO-RI-BR	IND	22,611	POSITIVO	13,211	DR
21550	PP55-2	CO-RI-BR	IND	23,244	POSITIVO	14,534	DR
21552	PP55-3	CO-RI-BR	IND	24,249	POSITIVO	13,982	DR
21554	PP55-4	OTRO	IND	34,587	POSITIVO	20,078	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 737 HPR0	Fecha Informe 10-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	19-07-2017	Fecha Análisis	10-08-2017
Fecha Recepción	09-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	7
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21548	PP55-1	CO-RI-BR	IND	22,611	22,209	POSITIVO
21550	PP55-2	CO-RI-BR	IND	23,244	24,247	POSITIVO
21552	PP55-3	CO-RI-BR	IND	24,249	23,557	POSITIVO
21554	PP55-4	OTRO	IND	34,587	30,84	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

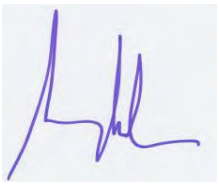
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 738	Fecha Informe 21-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	10-08-2017	Fecha Análisis	21-08-2017
Fecha Recepción	17-08-2017	Hora Recepción Muestras	16:50
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21556	TK20.8-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,485	DR
21558	TK20.8-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,334	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

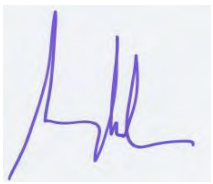
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 739	Fecha Informe 25-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-08-2017	Fecha Análisis	24-08-2017
Fecha Recepción	23-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21560	MM01-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,596	DR
21562	MM01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,541	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

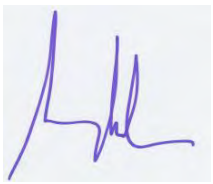
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 740	Fecha Informe 25-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	10-08-2017	Fecha Análisis	24-08-2017
Fecha Recepción	23-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21564	BB01-1	CO-RI-BR	IND	35,66	NEGATIVO	14,773	DR
21566	BB01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,322	DR
21568	BB01-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,955	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 741	Fecha Informe 25-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-08-2017	Fecha Análisis	24-08-2017
Fecha Recepción	23-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21570	HC00-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,061	DR
21572	HC00-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,355	DR
21574	HC00-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,675	DR
21576	HC00-4	CO-RI-BR	IND	29,697	POSITIVO	13,934	DR
21578	HC00-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,644	DR
21580	HC00-6	CO-RI-BR	IND	34,573	POSITIVO	15,7	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

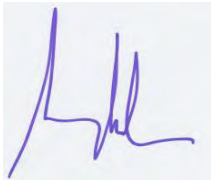
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	741 HPR0	Fecha Informe	25-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-08-2017	Fecha Análisis	24-08-2017
Fecha Recepción	23-08-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

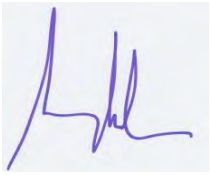
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21576	HC00-4	CO-RI-BR	IND	29,7	30,473	POSITIVO
21580	HC00-6	CO-RI-BR	IND	34,57	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 742	Fecha Informe 28-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	21-08-2017	Fecha Análisis	25-08-2017
Fecha Recepción	24-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:20
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21582	RR01-1	CO-RI-BR	IND	26,562	POSITIVO	13,775	DR
21584	RR01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,814	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

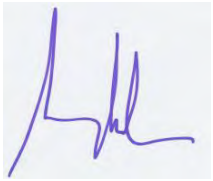
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	742 HPR0	Fecha Informe	28-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	21-08-2017	Fecha Análisis	25-08-2017
Fecha Recepción	24-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:20
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

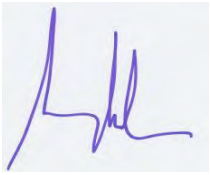
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21582	RR01-1	CO-RI-BR	IND	26,562	28,523	POSITIVO
21584	RR01-3	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	53	Nº de informe al que pertenece	742

INFORMACIÓN CLIENTE

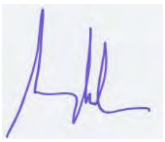
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	21-08-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	24-08-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	17:20	
		Fecha de análisis	25-08-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	28-08-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	28-08-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			26-09-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
RR01-1	21582	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
RR01-1	21582	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNTNQVEQPATSVLSNIFISMGVA	HPR0



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 743	Fecha Informe 28-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-08-2017	Fecha Análisis	25-08-2017
Fecha Recepción	24-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:20
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21586	MM01-1	CO-RI-BR	IND	33,685	POSITIVO	15,107	DR
21588	MM01-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,027	DR
21590	MM01-3	CO-RI-BR	IND	31,72	POSITIVO	14	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

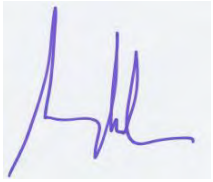
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	743 HPR0	Fecha Informe

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-08-2017	Fecha Análisis	00-01-1900
Fecha Recepción	24-08-2017	Hora Recepción Muestras	17:20
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21586	MM01-1	CO-RI-BR	IND	33,685	-	NEGATIVO
21588	MM01-2	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21590	MM01-3	CO-RI-BR	IND	31,72	32,57	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

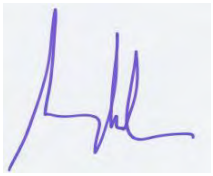
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 744	Fecha Informe 31-08-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	23-08-2017	Fecha Análisis	30-08-2017
Fecha Recepción	30-08-2017	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21592	WW01-1	CO-RI-R	IND	-	NEGATIVO	15,46	DR
21594	WW01-3	CO-RI-R	IND	-	NEGATIVO	16,28	DR
21596	WW01-5	CO-RI-R	IND	-	NEGATIVO	16,47	DR
21598	WW01-7	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	28,68	FR
21600	WW01-8	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	18,40	DR
21602	WW01-9	ALEVIN	IND	-	NEGATIVO	17,04	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

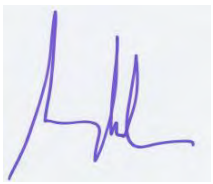
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Muestra 21598 presenta valor de Ct de ELF-1α fuera de rango, lo que probablemente esté relacionado con una mala eficiencia del kit de extracción considerando que la matriz era un pez completo, lo que puede generar presencia de inhibidores o taponamiento de la columna de extracción.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 745	Fecha Informe 04-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-08-2017	Fecha Análisis	01-09-2017
Fecha Recepción	01-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21616	HR-511-1	CO-RI-BR	IND	37,542	NEGATIVO	14,371	DR
21618	HR-511-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,162	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

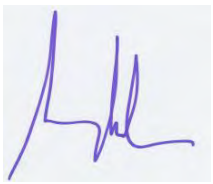
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 746	Fecha Informe 05-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-08-2017	Fecha Análisis	01-04-1997
Fecha Recepción	01-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	*P. salmonis*	
				CT	Resultado
21604	HR-510-1	MUSCULO	IND	22,891	POSITIVO
21606	HR-510-2	HI-CE	IND	24,001	POSITIVO
21608	HR-510-3	MUSCULO	IND	23,440	POSITIVO
21610	HR-510-4	HI-CE	IND	24,492	POSITIVO
21612	HR-510-5	MUSCULO	IND	27,482	POSITIVO
21614	HR-510-6	HI-CE	IND	17,895	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango	NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia de *Piscirickettsia salmonis* en las muestras analizadas.

Metodologias			
RT-PCR SRS en Tiempo Real	Metodo modificado de Marshall et al,1998 - Química Syber Green		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.3	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y curva de Melting

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 747	Fecha Informe 05-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-08-2017	Fecha Análisis	05-09-2017
Fecha Recepción	04-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21620	ER-512 11133 ISA 2	CO-RI-BR	IND	27,328	POSITIVO	14,63	DR
21622	ER-512 11134 ISA 4	CO-RI-BR	IND	32,751	POSITIVO	15,119	DR
21624	ER-512 11135 ISA 7	CO-RI-BR	IND	25,048	POSITIVO	15,396	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

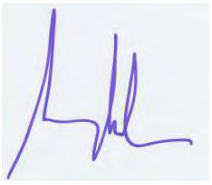
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	747 HPR0	Fecha Informe

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-08-2017	Fecha Análisis	00-01-1900
Fecha Recepción	04-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

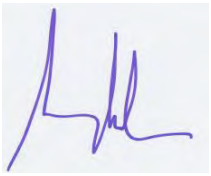
Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21620	ER-512 11133 ISA 2	CO-RI-BR	IND	27,33	-	NEGATIVO
21622	ER-512 11134 ISA 4	CO-RI-BR	IND	32,751	35,464	POSITIVO
21624	ER-512 11135 ISA 7	CO-RI-BR	IND	25,048	25,488	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@pucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	54	Nº de informe al que pertenece	747

INFORMACIÓN CLIENTE

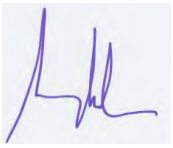
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	OTRO	**Fecha de Muestreo**	24-08-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	04-09-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	16:00	
		Fecha de análisis	05-09-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	05-09-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	05-09-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			13-12-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
ER-512 11133 ISA 2	21620	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
ER-512 11133 ISA 2	21620	TDVKIRVDAIPPQLNMGVA	No Reportado



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 748	Fecha Informe 08-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-09-2017	Fecha Análisis	07-09-2017
Fecha Recepción	06-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21626	CM-01-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,283	DR
21628	CM-01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,836	DR
21630	CM-01-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,229	DR
21632	CM-01-7	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,607	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

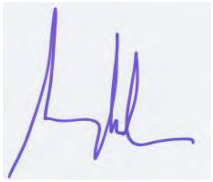
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 749	Fecha Informe 08-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-09-2017	Fecha Análisis	07-09-2017
Fecha Recepción	06-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	7	Numero de Análisis	7
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21634	LP01-1	CO-RI-BR	IND	36,969	NEGATIVO	14,688	DR
21636	LP01-2	RI	IND	-	NEGATIVO	16,488	DR
21638	LP01-3	CO-RI-BR	IND	38,922	NEGATIVO	17,949	DR
21640	LP01-4	RI	IND	-	NEGATIVO	12,464	DR
21642	LP01-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,544	DR
21644	LP01-6	RI	IND	-	NEGATIVO	14,341	DR
21646	LP01-7	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,562	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 750	Fecha Informe 08-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-08-2017	Fecha Análisis	07-09-2017
Fecha Recepción	06-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21648	LI77-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,02	DR
21650	LI77-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,05	DR
21652	LI77-4	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,729	DR
21654	LI77-6	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,175	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

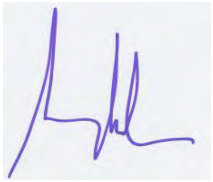
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 751	Fecha Informe 08-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	01-09-2017	Fecha Análisis	07-09-2017
Fecha Recepción	06-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21656	ZZ01-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,495	DR
21658	ZZ01-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,913	DR
21660	ZZ01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,486	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 752	Fecha Informe 08-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-08-2017	Fecha Análisis	08-09-2017
Fecha Recepción	07-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	13	Numero de Análisis	13
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21662	SS22-1	CO-RI-BR	IND	25,006	POSITIVO	14,399	DR
21664	SS22-2	CO-RI-BR	IND	22,235	POSITIVO	15,957	DR
21666	SS22-3	CO-RI-BR	IND	20,335	POSITIVO	13,417	DR
21668	SS22-4	CO-RI-BR	IND	21,423	POSITIVO	13,989	DR
21670	SS22-5	CO-RI-BR	IND	23,339	POSITIVO	16,828	DR
21672	SS22-6	CO-RI-BR	IND	26,668	POSITIVO	14,446	DR
21674	SS22-7	CO-RI-BR	IND	23,712	POSITIVO	15,425	DR
21676	SS22-8	CO-RI-BR	IND	25,388	POSITIVO	14,686	DR
21678	SS22-9	CO-RI-BR	IND	21,071	POSITIVO	14,139	DR
21680	SS22-10	CO-RI-BR	IND	24,886	POSITIVO	15,773	DR
21682	SS22-11	CO-RI-BR	IND	23,488	POSITIVO	13,884	DR
21684	SS22-12	CO-RI-BR	IND	24,437	POSITIVO	14,646	DR
21686	SS22-13	CO-RI-BR	IND	22,31	POSITIVO	14,643	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	752 HPR0	Fecha Informe	12-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-08-2017	Fecha Análisis	11-09-2017
Fecha Recepción	07-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	13	Numero de Análisis	13
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21662	SS22-1	CO-RI-BR	IND	26,528	27,607	POSITIVO
21664	SS22-2	CO-RI-BR	IND	23,452	22,647	POSITIVO
21666	SS22-3	CO-RI-BR	IND	20,944	21,204	POSITIVO
21668	SS22-4	CO-RI-BR	IND	22,526	22,254	POSITIVO
21670	SS22-5	CO-RI-BR	IND	24,413	23,77	POSITIVO
21672	SS22-6	CO-RI-BR	IND	25,017	24,706	POSITIVO
21674	SS22-7	CO-RI-BR	IND	24,762	24,851	POSITIVO
21676	SS22-8	CO-RI-BR	IND	26,165	25,264	POSITIVO
21678	SS22-9	CO-RI-BR	IND	22,512	21,372	POSITIVO
21680	SS22-10	CO-RI-BR	IND	26,555	24,889	POSITIVO
21682	SS22-11	CO-RI-BR	IND	24,531	23,451	POSITIVO
21684	SS22-12	CO-RI-BR	IND	25,48	24,752	POSITIVO
21686	SS22-13	CO-RI-BR	IND	22,904	21,813	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

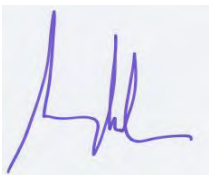
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 753	Fecha Informe 08-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-09-2017	Fecha Análisis	08-09-2017
Fecha Recepción	08-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	10	Numero de Análisis	10
Preservante	TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21688	ER-513-1	CO-RI-BR	IND	35,302	POSITIVO	15,868	DR
21690	ER-513-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,703	DR
21692	ER-513-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,196	DR
21694	ER-513-4	CO-RI-BR	IND	31,926	POSITIVO	14,136	DR
21696	ER-513-5	CO-RI-BR	IND	34,969	POSITIVO	15,871	DR
21698	ER-513-6	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,551	DR
21700	ER-513-7	CO-RI-BR	IND	19,685	POSITIVO	14,76	DR
21702	ER-513-8	CO-RI-BR	IND	35,758	POSITIVO	15,03	DR
21704	ER-513-9	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,291	DR
21706	ER-513-10	CO-RI-BR	IND	26,774	POSITIVO	14,307	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 753 HPR0	Fecha Informe 12-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-09-2017	Fecha Análisis	11-09-2017
Fecha Recepción	08-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	10	Numero de Análisis	6
Preservante	TRK	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21688	ER-513-1	CO-RI-BR	IND	35,572	-	NEGATIVO
21694	ER-513-4	CO-RI-BR	IND	31,93	-	NEGATIVO
21696	ER-513-5	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21700	ER-513-7	CO-RI-BR	IND	20,795	19,792	POSITIVO
21702	ER-513-8	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21706	ER-513-10	CO-RI-BR	IND	27,476	25,58	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 754	Fecha Informe 12-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	11-09-2017
Fecha Recepción	07-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21708	MP-514-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,719	DR
21710	MP-514-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,705	DR
21712	MP-514-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,404	DR
21714	MP-514-4	CO-RI-BR	IND	24,44	POSITIVO	12,587	DR
21716	MP-514-5	CO-RI-BR	IND	27,491	POSITIVO	13,381	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

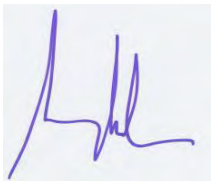
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 754 HPR0	Fecha Informe 12-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	11-09-2017
Fecha Recepción	07-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

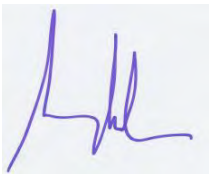
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21708	MP-514-1	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21710	MP-514-2	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21712	MP-514-3	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21714	MP-514-4	CO-RI-BR	IND	24,44	23,762	POSITIVO
21716	MP-514-5	CO-RI-BR	IND	27,491	27,434	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 755	Fecha Informe 08-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	08-09-2017
Fecha Recepción	08-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21718	PA-518-1	CO-RI-BR	IND	24,984	POSITIVO	13,309	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

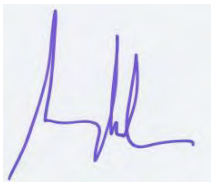
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 755 HPR0	Fecha Informe 12-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	11-09-2017
Fecha Recepción	08-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21718	PA-518-1	CO-RI-BR	IND	25,766	24,602	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 756	Fecha Informe 12-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	11-09-2017
Fecha Recepción	11-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21720	FV88-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	18,183	DR
21722	FV88-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,628	DR
21724	FV88-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,17	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

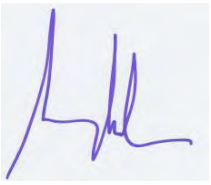
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 757	Fecha Informe 13-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-09-2017	Fecha Análisis	12-09-2017
Fecha Recepción	12-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21726	AZ-520-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,418	DR
21728	AZ-520-2	CO-RI-BR	IND	38,614	NEGATIVO	12,597	DR
21730	AZ-520-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,967	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

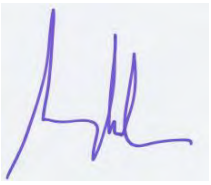
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 758	Fecha Informe 14-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	13-09-2017
Fecha Recepción	12-09-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21732	CJ04-1	CO-RI-BR	IND	40,802	NEGATIVO	11,737	DR
21734	CJ04-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,795	DR
21736	CJ04-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,524	DR

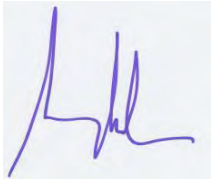
SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 759	Fecha Informe 14-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	13-09-2017
Fecha Recepción	12-09-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21738	AR09-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,045	DR
21740	AR09-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,08	DR
21742	AR09-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,043	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

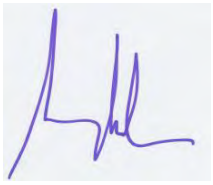
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 760	Fecha Informe 14-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-09-2017	Fecha Análisis	13-09-2017
Fecha Recepción	13-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21744	AN12-1	CO-RI-BR	IND	41,255	NEGATIVO	11,946	DR
21746	AN12-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,432	DR
21748	AN12-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,046	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 761	Fecha Informe 14-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-09-2017	Fecha Análisis	14-09-2017
Fecha Recepción	14-09-2017	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21750	1-016	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,236	DR
21752	2-016	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,365	DR
21754	3-016	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,034	DR
21756	4-016	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,219	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

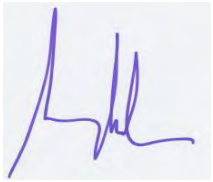
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 762	Fecha Informe 14-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-09-2017	Fecha Análisis	14-09-2017
Fecha Recepción	14-09-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21758	JE-521-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,646	DR
21760	JE-521-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,079	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

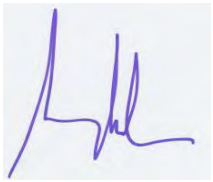
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen		Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1		Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System		Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 763	Fecha Informe 21-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-09-2017	Fecha Análisis	20-09-2017
Fecha Recepción	15-09-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21762	PP77-1	CO-RI-BR	IND	23,953	POSITIVO	13,69	DR
21764	PP77-2	CO-RI-BR	IND	28,739	POSITIVO	15,978	DR
21766	PP77-3	CO-RI-BR	IND	30,14	POSITIVO	15,516	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

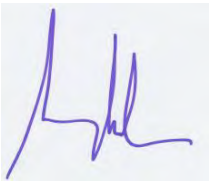
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 763 HPR0	Fecha Informe 21-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-09-2017	Fecha Análisis	20-09-2017
Fecha Recepción	15-09-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

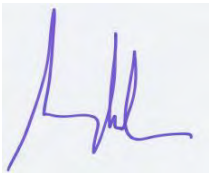
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21762	PP77-1	CO-RI-BR	IND	23,953	23,159	POSITIVO
21764	PP77-2	CO-RI-BR	IND	28,739	28,332	POSITIVO
21766	PP77-3	CO-RI-BR	IND	30,14	28,854	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 764	Fecha Informe 21-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-08-2017	Fecha Análisis	20-09-2017
Fecha Recepción	15-09-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	O.MIKYSS

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21768	SS01-1	BR	IND	-	NEGATIVO	14,475	DR
21770	SS01-2	BR	IND	-	NEGATIVO	14,181	DR
21772	SS01-3	BR	IND	-	NEGATIVO	15,079	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

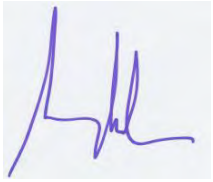
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 765	Fecha Informe 21-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-09-2017	Fecha Análisis	20-09-2017
Fecha Recepción	15-09-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21774	MM01-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,032	DR
21776	MM01-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,718	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

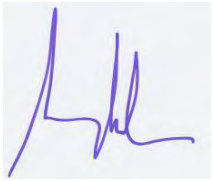
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 766	Fecha Informe 21-09-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-09-2017	Fecha Análisis	20-09-2017
Fecha Recepción	15-09-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21778	VV01-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,222	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

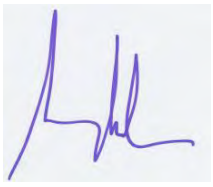
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 767	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	26-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21890	JE-523-1	CO-RI-BR	IND	26,352	POSITIVO	12,336	DR
21892	JE-523-2	CO-RI-BR	IND	27,723	POSITIVO	11,559	DR
21894	JE-523-3	CO-RI-BR	IND	27,753	POSITIVO	12,28	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	767 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	26-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21890	JE-523-1	CO-RI-BR	IND	28,009	27,644	POSITIVO
21892	JE-523-2	CO-RI-BR	IND	28,659	29,092	POSITIVO
21894	JE-523-3	CO-RI-BR	IND	30,712	30,919	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

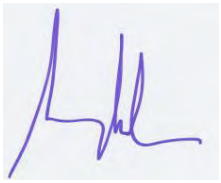
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 768	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	26-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21896	HR-528-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,348	DR
21898	HR-528-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,969	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 769	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	21-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	26-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21900	HR-527-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,863	DR
21902	HR-527-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,905	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 770	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	21-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	26-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21904	PA-526-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,349	DR
21906	PA-526-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	10,64	DR
21908	PA-526-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,273	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 771	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	26-09-2017	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21910	PA-525-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,8	DR
21912	PA-525-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	10,842	DR
21914	PA-525-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,339	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 772	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21916	PX01-1	CO-RI-BR	IND	34,849	POSITIVO	13,408	DR
21918	PX01-2	CO-RI-BR	IND	29,273	POSITIVO	11,652	DR
21920	PX01-3	CO-RI-BR	IND	30,346	POSITIVO	11,783	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

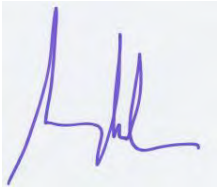
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	772 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

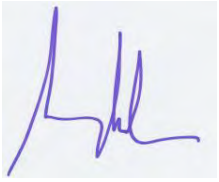
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21916	PX01-1	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21918	PX01-2	CO-RI-BR	IND	30,359	-	NEGATIVO
21920	PX01-3	CO-RI-BR	IND	31,445	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 773	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21922	VR01-1	CO-RI-BR	IND	29,511	POSITIVO	13,579	DR
21924	VR01-2	CO-RI-BR	IND	34,411	NEGATIVO	12,774	DR
21926	VR01-3	CO-RI-BR	IND	28,36	POSITIVO	10,776	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	773 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21922	VR01-1	CO-RI-BR	IND	30,376	31,66	POSITIVO
21926	VR01-3	CO-RI-BR	IND	28,91	28,36	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 774	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21928	CS08-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,689	DR
21930	CS08-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,097	DR
21932	CS08-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,536	DR
21934	CS08-4	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,851	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 775	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21936	CS10-1	CO-RI-BR	IND	26,648	POSITIVO	12,154	DR
21938	CS10-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,103	DR
21940	CS10-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,305	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

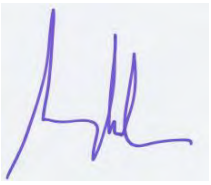
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	775 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	12-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

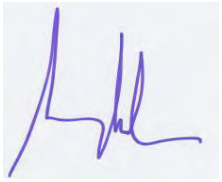
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21936	CS10-1	CO-RI-BR	IND	26,867	27,388	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 776	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21942	KF01-1	CO-RI-BR	IND	26,737	POSITIVO	14,093	DR
21944	KF01-2	CO-RI-BR	IND	38,821	NEGATIVO	14,168	DR
21946	KF01-3	CO-RI-BR	IND	33,414	NEGATIVO	15,008	DR

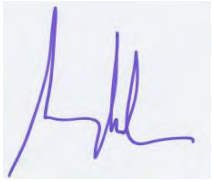
SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 776 HPR0	Fecha Informe 13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21942	KF01-1	CO-RI-BR	IND	26,036	26,354	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

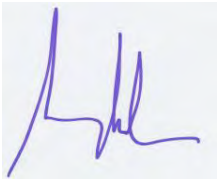
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 777	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21948	SC11-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,132	DR
21950	SC11-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,665	DR
21952	SC11-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,136	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 778	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21954	CS12-1	CO-RI-BR	IND	26,929	POSITIVO	13,738	DR
21956	CS12-2	CO-RI-BR	IND	28,671	POSITIVO	13,8	DR
21958	CS12-3	CO-RI-BR	IND	29,575	POSITIVO	14,221	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

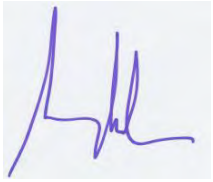
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	778 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

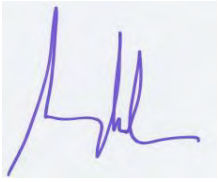
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21954	CS12-1	CO-RI-BR	IND	28,425	27,687	POSITIVO
21956	CS12-2	CO-RI-BR	IND	28,586	27,824	POSITIVO
21958	CS12-3	CO-RI-BR	IND	30,451	30,451	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 779	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21960	SC09-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,564	DR
21962	SC09-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,997	DR
21964	SC09-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,284	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

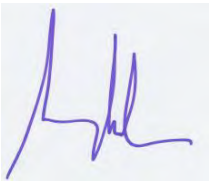
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 780	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-08-2017	Fecha Análisis	11-1017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21966	JC78-01	CO-RI-BR	IND	35,407	POSITIVO	22,621	DR
21968	JC78-02	CO-RI-BR	IND	34,151	POSITIVO	21,264	DR
21970	JC78-03	CO-RI-BR	IND	32,441	POSITIVO	21,88	DR
21972	JC78-04	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	22,195	DR
21974	JC78-05	CO-RI-BR	IND	35,006	POSITIVO	25,544	FR
21976	JC78-06	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	20,879	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

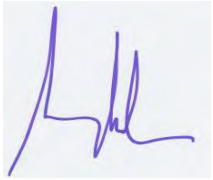
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 780 HPR0	Fecha Informe 13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-08-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	4
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21966	JC78-01	CO-RI-BR	IND	35,206	34,936	POSITIVO
21968	JC78-02	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
21970	JC78-03	CO-RI-BR	IND	34,076	-	NEGATIVO
21974	JC78-05	CO-RI-BR	IND	35,476	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

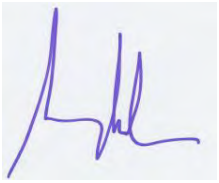
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 781	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21978	NJ98-01	CO-RI-BR	IND	31,814	POSITIVO	21,553	DR
21980	NJ98-02	CO-RI-BR	IND	22,94	POSITIVO	20,283	DR
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado	

Conclusión

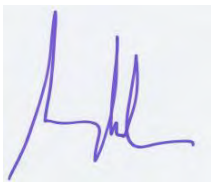
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	781 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	OTRO	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

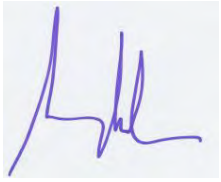
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21978	NJ98-01	CO-RI-BR	IND	30,046	28,201	POSITIVO
21980	NJ98-02	CO-RI-BR	IND	22,289	20,455	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 782	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-09-2017	Fecha Análisis	11 y 12 -10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	11	Numero de Análisis	11
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
21982	JN63-01	CO-RI-BR	POOL	34,948	POSITIVO	13,069	DR
21984	JN63-01	CO-RI-BR	POOL	35,479	POSITIVO	14,651	DR
21986	JN63-01	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,416	DR
21988	JN63-02	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,375	DR
21990	JN63-02	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	12,933	DR
21992	JN63-03	CO-RI-BR	POOL	30,885	POSITIVO	12,956	DR
21994	JN63-04	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,6	DR
21996	JN63-04	CO-RI-BR	POOL	33,652	POSITIVO	13,402	DR
21998	JN63-05	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	14,305	DR
22000	JN63-05	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	12,971	DR
22002	JN63-06	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,918	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

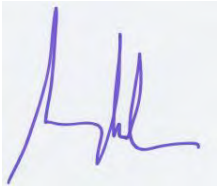
Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

- Muestras proporcionadas por el cliente.
- Debido a un error involuntario, las muestras fueron analizadas e informadas en forma individual
- El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 782 HPR0	Fecha Informe 13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	25-09-2017	Hora Recepción Muestras	16:00
Numero de Muestras	11	Numero de Análisis	4
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
21982	JN63-01	CO-RI-BR	POOL	-	-	NEGATIVO
21984	JN63-01	CO-RI-BR	POOL	-	-	NEGATIVO
21992	JN63-03	CO-RI-BR	POOL	30,91	28,653	POSITIVO
21996	JN63-04	CO-RI-BR	POOL	32,442	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

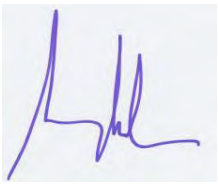
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 783	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22004	HM04-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	23,497	DR
22006	HM04-3	CO-RI-BR	IND	21,579	POSITIVO	13,998	DR
22008	HM04-5	CO-RI-BR	IND	22,621	POSITIVO	12,477	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	783 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22006	HM04-3	CO-RI-BR	IND	22,438	19,521	POSITIVO
22008	HM04-5	CO-RI-BR	IND	22,11	21,934	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

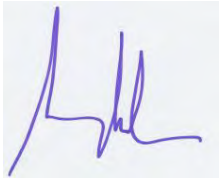
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 784	Fecha Informe 11-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	26-09-2017	Fecha Análisis	11-10-2012
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22010	XX22-1	OVA	IND	-	NEGATIVO	11,26	DR
22012	XX22-3	OVA	IND	-	NEGATIVO	13,13	DR
22014	XX22-5	OVA	IND	-	NEGATIVO	12,71	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 785	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-09-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22016	KK55-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,798	DR
22018	KK55-2	CO-RI-BR	IND	35,492	POSITIVO	14,074	DR
22020	KK55-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,556	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	785 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	29-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22018	KK55-2	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

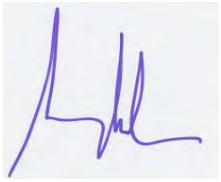
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 786	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-09-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22022	WW11-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,067	DR
22024	WW11-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,241	DR
22026	WW11-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,975	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

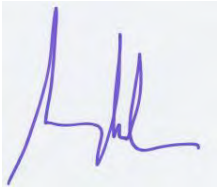
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 787	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	26-09-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22028	WW22-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,466	DR
22030	WW22-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,21	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 788	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-09-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22032	EE33-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,222	DR
22034	EE33-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,98	DR
22036	EE33-3	CO-RI-BR	IND	24,23	POSITIVO	12,98	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 788 HPR0	Fecha Informe 13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	04-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

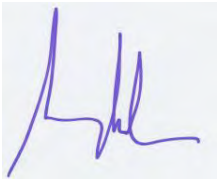
Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22036	EE33-3	CO-RI-BR	IND	22,706	24,526	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 789	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	05-10-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	06-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22038	32-1	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	13,03	DR
22042	32-3	CO-RI-BR	POOL	-	NEGATIVO	12,72	DR
22046	32-5	CO-RI-BR	POOL	32,89	POSITIVO	13,11	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	789 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	05-10-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	06-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

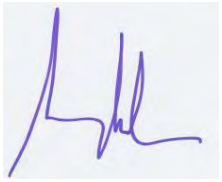
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22046	32-5	CO-RI-BR	POOL	32,518	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° REP 789	Fecha Informe 19-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	05-10-2017	Fecha Análisis	19-10-2017
Fecha Recepción	06-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22046	32-1	CO-RI-BR	POOL	34,624	POSITIVO	13,03	DR
22046	32-2	CO-RI-BR	POOL	32,835	POSITIVO	13,03	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

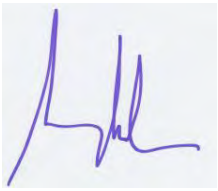
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 790	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-09-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	06-10-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	S/I	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22046	32-1	CO-RI-BR	POOL	34,624	38,338	NEGATIVO
22046	32-2	CO-RI-BR	POOL	32,835	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
Si bien los resultados ISAV HPR0 son negativos se observa amplificacion por debajo del umbral de fluorescencia.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 790	Fecha Informe 12-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-09-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	06-10-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	S/I	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22050	AA55-1	CO-RI-BR	POOL	32,32	POSITIVO	26,37	FR
22052	AA55-2	CO-RI-BR	POOL	29,8	POSITIVO	24,33	DR
22054	AA55-3	CO-RI-BR	POOL	28,73	POSITIVO	22,33	DR
22056	AA55-4	CO-RI-BR	POOL	29,04	POSITIVO	24,86	DR
22058	AA55-5	CO-RI-BR	POOL	29,82	POSITIVO	23,45	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

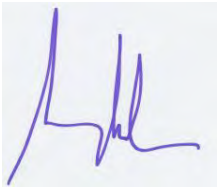
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	790 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	06-10-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	S/I	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

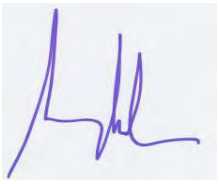
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22050	AA55-1	CO-RI-BR	POOL	29,83	23,261	POSITIVO
22052	AA55-2	CO-RI-BR	POOL	29,301	24,57	POSITIVO
22054	AA55-3	CO-RI-BR	POOL	26,697	22,225	POSITIVO
22056	AA55-4	CO-RI-BR	POOL	26,853	20,35	POSITIVO
22058	AA55-5	CO-RI-BR	POOL	27,913	23,78	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 791	Fecha Informe 13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-09-2017	Fecha Análisis	12-10-2017
Fecha Recepción	12-10-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22060	JE-533-1	CO-RI-BR	IND	33,21	POSITIVO	13,769	DR
22062	JE-533-2	CO-RI-BR	IND	25,704	POSITIVO	13,232	DR
22064	JE-533-3	CO-RI-BR	IND	29,889	POSITIVO	14,874	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	791 HPR0	Fecha Informe	13-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	28-09-2017	Fecha Análisis	13-10-2017
Fecha Recepción	12-10-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22060	JE-533-1	CO-RI-BR	IND	32,002	-	NEGATIVO
22062	JE-533-2	CO-RI-BR	IND	24,59	26,802	POSITIVO
22064	JE-533-3	CO-RI-BR	IND	28,053	27,959	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

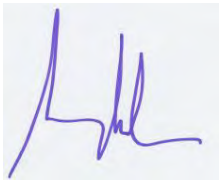
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 792	Fecha Informe 19-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-09-2017	Fecha Análisis	19-10-2017
Fecha Recepción	29-09-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22066	SD02-1	CO-RI-BR	IND	35,218	POSITIVO	13,472	DR
22068	SD02-2	CO-RI-BR	IND	34,95	POSITIVO	16,976	DR
22070	SD02-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,996	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	792 HPR0	Fecha Informe	25-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-09-2017	Fecha Análisis	23-10-2017
Fecha Recepción	29-09-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22066	SD02-1	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
22068	SD02-2	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 793	Fecha Informe 19-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	11-10-2017	Fecha Análisis	19-10-2017
Fecha Recepción	18-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22072	HH55-01	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,897	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

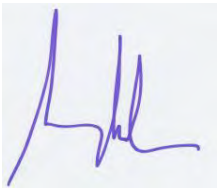
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 794	Fecha Informe 19-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-10-2017	Fecha Análisis	19-10-2017
Fecha Recepción	18-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22074	FH84-1	CO-RI-BR	IND	25,697	POSITIVO	15,272	DR
22076	FH84-3	CO-RI-BR	IND	34,152	POSITIVO	18,189	DR
22078	FH84-5	CO-RI-BR	IND	35,565	POSITIVO	14,718	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	794 HPR0	Fecha Informe	25-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-10-2017	Fecha Análisis	23-10-2017
Fecha Recepción	18-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22074	FH84-1	CO-RI-BR	IND	28,512	-	NEGATIVO
22076	FH84-3	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
22078	FH84-5	CO-RI-BR	IND	-	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

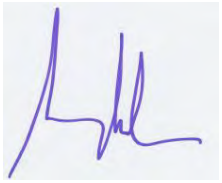
Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Muestra 22074 presenta una amplificación en el ensayo HPR0, sin emabrago, la curva se encuentra desplazada con respecto a la del segmento 8 y además la intensidad de fluorescencia no atraviesa el umbral.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	56	Nº de informe al que pertenece	794

INFORMACIÓN CLIENTE

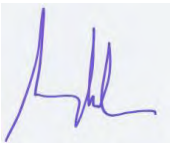
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Miguel Jarpa

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	RNALATER	**Fecha de Muestreo**	16-10-2017	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	18-10-2017	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	11:00	
		Fecha de análisis	23-10-2017	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	25-10-2017	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	25-10-2017	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			13-12-2017	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
FH84-1	22074	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
FH84-1	22074	TDVKIRVDAIPPQLNQTFNTNQVEQPATSVLSNIFISMGVA	HPR0



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 795	Fecha Informe 19-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-10-2017	Fecha Análisis	19-10-2017
Fecha Recepción	18-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22080	RR01-1	CO-RI-BR	IND	22,163	POSITIVO	14,688	DR
22082	RR01-3	CO-RI-BR	IND	18,633	POSITIVO	18,414	DR
22084	RR01-5	CO-RI-BR	IND	15,364	POSITIVO	15,767	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	795 HPR0	Fecha Informe	25-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-10-2017	Fecha Análisis	23-10-2017
Fecha Recepción	18-10-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22080	RR01-1	CO-RI-BR	IND	24,625	29,45	POSITIVO
22082	RR01-3	CO-RI-BR	IND	21,689	22,415	POSITIVO
22084	RR01-5	CO-RI-BR	IND	17,738	18,505	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 796	Fecha Informe 30-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-10-2017	Fecha Análisis	30-10-2017
Fecha Recepción	25-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22086	ÑÑ77-01	OVA	IND	-	NEGATIVO	12,51	DR
22088	ÑÑ77-02	OVA	IND	-	NEGATIVO	12,32	DR
22090	ÑÑ77-03	OVA	IND	-	NEGATIVO	14,25	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 797	Fecha Informe 30-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	20-10-2017	Fecha Análisis	30-10-2017
Fecha Recepción	25-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22092	MH02-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,63	DR
22094	MH02-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,08	DR
22096	MH02-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,44	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 798	Fecha Informe 30-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	19-10-2017	Fecha Análisis	30-10-2017
Fecha Recepción	25-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22098	MH01-1	CO-RI-BR	IND	36,68	NEGATIVO	14,4	DR
22100	MH01-2	CO-RI-BR	IND	36,04	NEGATIVO	13,69	DR
22102	MH01-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,96	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

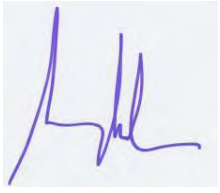
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 799	Fecha Informe 31-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	19-10-2017	Fecha Análisis	31-10-2017
Fecha Recepción	30-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22104	LÑ87-1	CO-RI-BR	IND	19,34	POSITIVO	14,8	DR
22106	LÑ87-2	CO-RI-BR	IND	19,85	POSITIVO	13,16	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	799 HPR0	Fecha Informe	31-10-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	19-10-2017	Fecha Análisis	31-10-2017
Fecha Recepción	30-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22104	LÑ87-1	CO-RI-BR	IND	19,34	20,4	POSITIVO
22106	LÑ87-2	CO-RI-BR	IND	19,85	20,29	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

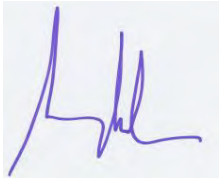
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 800	Fecha Informe 03-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-10-2017	Fecha Análisis	03-11-2017
Fecha Recepción	31-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:50
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22108	ISAPL01	CO-RI-BR	IND	27,216	POSITIVO	13,676	DR
22110	ISAPL02	CO-RI-BR	IND	26,283	POSITIVO	13,254	DR
22112	ISAPL03	CO-RI-BR	IND	25,600	POSITIVO	13,395	DR
22114	ISAPL04	CO-RI-BR	IND	22,860	POSITIVO	13,125	DR
22116	ISAPL05	CO-RI-BR	IND	25,468	POSITIVO	13,300	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

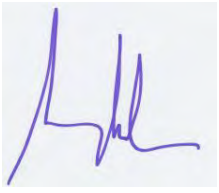
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	800 HPR0	Fecha Informe	03-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-10-2017	Fecha Análisis	03-11-2017
Fecha Recepción	31-10-2017	Hora Recepción Muestras	17:50
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22108	ISAPL01	CO-RI-BR	IND	27,216	27,707	POSITIVO
22110	ISAPL02	CO-RI-BR	IND	26,283	25,847	POSITIVO
22112	ISAPL03	CO-RI-BR	IND	25,6	26,106	POSITIVO
22114	ISAPL04	CO-RI-BR	IND	22,86	22,641	POSITIVO
22116	ISAPL05	CO-RI-BR	IND	25,468	25,25	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

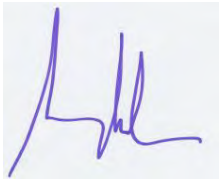
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 801	Fecha Informe 08-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-10-2017	Fecha Análisis	07-11-2017
Fecha Recepción	03-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22118	HM04-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,52	DR
22120	HM04-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,502	DR
22122	HM04-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,091	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 802	Fecha Informe 08-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-10-2017	Fecha Análisis	07-11-2017
Fecha Recepción	03-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22124	ZL01-01	CO-RI-BR	IND	39,28	NEGATIVO	13,065	DR
22126	ZL01-02	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,134	DR
22128	ZL01-03	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,215	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

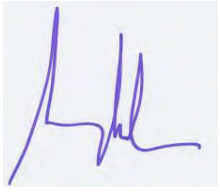
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 803	Fecha Informe 10-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-10-2017	Fecha Análisis	10-11-2017
Fecha Recepción	07-11-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	S/I	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22130	TCMA2	CO-RI-BR	IND	18,353	POSITIVO	14,55	DR
22132	TCMA4	CO-RI-BR	IND	18,719	POSITIVO	14,021	DR
22134	TCMA9	CO-RI-BR	IND	24,387	POSITIVO	15,551	DR
22136	TCMA10	CO-RI-BR	IND	16,773	POSITIVO	14,153	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	803 HPR0	Fecha Informe	13-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-10-2017	Fecha Análisis	13-11-2017
Fecha Recepción	07-11-2017	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	4	Numero de Análisis	4
Preservante	S/I	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22130	TCMA2	CO-RI-BR	IND	17,51	18,03	POSITIVO
22132	TCMA4	CO-RI-BR	IND	16,61	16,76	POSITIVO
22134	TCMA9	CO-RI-BR	IND	22,37	22,65	POSITIVO
22136	TCMA10	CO-RI-BR	IND	15,79	16,99	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

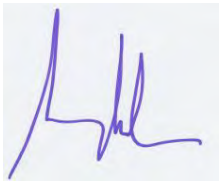
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 804	Fecha Informe 10-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-10-2017	Fecha Análisis	10-11-2017
Fecha Recepción	09-11-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22138	VI10	CO-RI-BR	IND	20,551	POSITIVO	14,117	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 804 HPR0	Fecha Informe 13-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-10-2017	Fecha Análisis	13-11-2017
Fecha Recepción	09-11-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

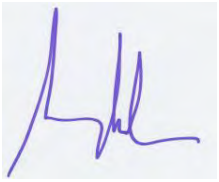
Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22138	VI10	CO-RI-BR	IND	18,76	18,5	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 805	Fecha Informe 10-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-10-2017	Fecha Análisis	10-11-2017
Fecha Recepción	09-11-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22140	OC20-1	CO-RI-BR	IND	23,058	POSITIVO	14,889	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	805 HPR0	Fecha Informe	13-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	25-10-2017	Fecha Análisis	13-11-2017
Fecha Recepción	09-11-2017	Hora Recepción Muestras	11:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22140	OC20-1	CO-RI-BR	IND	22,37	24,27	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

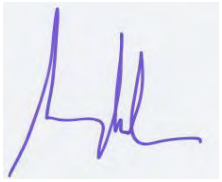
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 806	Fecha Informe 10-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-11-2017	Fecha Análisis	10-11-2017
Fecha Recepción	10-11-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22142	516-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,566	DR
22144	117-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,557	DR
22146	117-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,913	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 807	Fecha Informe 16-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	10-11-2017	Fecha Análisis	16-11-2017
Fecha Recepción	15-11-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22172	ISAUS01	CO-RI-BR	IND	24,531	POSITIVO	14,172	DR
22174	ISAUS02	CO-RI-BR	IND	25,954	POSITIVO	15,948	DR
22176	ISAUS03	CO-RI-BR	IND	21,485	POSITIVO	12,333	DR
22178	ISAUS04	CO-RI-BR	IND	36,019	NEGATIVO	17,163	DR
22180	ISAUS05	CO-RI-BR	IND	32,01	POSITIVO	14,96	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

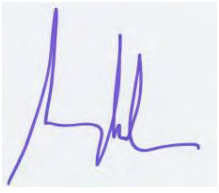
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	807 HPR0	Fecha Informe	16-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	10-11-2017	Fecha Análisis	16-11-2017
Fecha Recepción	15-11-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

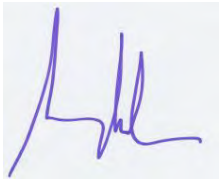
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22172	ISAUS01	CO-RI-BR	IND	24,531	23,728	POSITIVO
22174	ISAUS02	CO-RI-BR	IND	25,954	26,194	POSITIVO
22176	ISAUS03	CO-RI-BR	IND	21,485	20,979	POSITIVO
22178	ISAUS04	CO-RI-BR	IND	36,019	-	NEGATIVO
22180	ISAUS05	CO-RI-BR	IND	32,01	31,211	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 808	Fecha Informe 16-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-11-2017	Fecha Análisis	16-11-2017
Fecha Recepción	15-11-2017	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22182	M1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,812	DR
22184	M2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	16,329	DR
22186	M3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	18,593	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

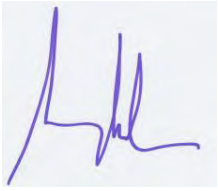
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 809	Fecha Informe 20-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	14-11-2017	Fecha Análisis	17-11-2017
Fecha Recepción	16-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	6
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22188	JE-544-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,95	DR
22190	JE-544-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	17,34	DR
22192	JE-544-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,38	DR
22194	JE-544-4	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,03	DR
22196	JE-544-5	CO-RI-BR	IND	33,4	POSITIVO	12,66	DR
22198	JE-544-6	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,09	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

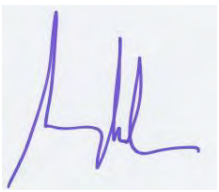
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	809 HPR0	Fecha Informe	20-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	14-11-2017	Fecha Análisis	20-11-2017
Fecha Recepción	16-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	6	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

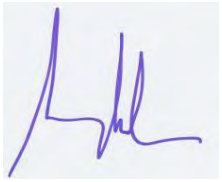
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22196	JE-544-5	CO-RI-BR	IND	33,4	33,76	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 810	Fecha Informe 20-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	10-11-2017	Fecha Análisis	17-11-2017
Fecha Recepción	16-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22200	PC01-1	CO-RI-BR	IND	33,27	POSITIVO	13,08	DR
22202	PC01-2	CO-RI-BR	IND	33,29	POSITIVO	13,51	DR
22204	PC01-3	CO-RI-BR	IND	32,81	POSITIVO	15,3	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	810 HPR0	Fecha Informe	20-11-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	10-11-2017	Fecha Análisis	20-11-2017
Fecha Recepción	16-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

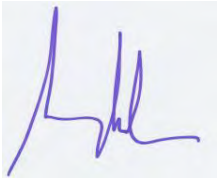
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22200	PC01-1	CO-RI-BR	IND	33,27	32,43	POSITIVO
22202	PC01-2	CO-RI-BR	IND	33,29	29,89	POSITIVO
22204	PC01-3	CO-RI-BR	IND	32,81	33,25	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 811	Fecha Informe 01-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-11-2017	Fecha Análisis	01-12-2017
Fecha Recepción	29-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22206	XX11-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,008	DR
22208	XX11-3	CO-RI-BR	IND	30,311	POSITIVO	13,774	DR
22210	XX11-5	CO-RI-BR	IND	29,409	POSITIVO	12,41	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	811 HPR0	Fecha Informe	01-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-11-2017	Fecha Análisis	01-12-2017
Fecha Recepción	29-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22208	XX11-3	CO-RI-BR	IND	30,311	29,409	POSITIVO
22210	XX11-5	CO-RI-BR	IND	29,409	29,201	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 812	Fecha Informe 01-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-11-2017	Fecha Análisis	01-12-2017
Fecha Recepción	29-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22212	MM98-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,46	DR
22214	MM98-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,72	DR
22216	MM98-5	CO-RI-BR	IND	33,78	POSITIVO	12,91	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 812 HPR0	Fecha Informe 01-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-11-2017	Fecha Análisis	01-12-2017
Fecha Recepción	29-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22216	MM98-5	CO-RI-BR	IND	33,78	33,9	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

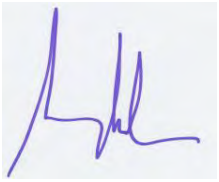
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 813	Fecha Informe 01-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	09-11-2017	Fecha Análisis	01-12-2017
Fecha Recepción	29-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22218	SS88-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	19,5	DR
22220	SS88-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,83	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 814	Fecha Informe 02-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-11-2017	Fecha Análisis	01-12-2017
Fecha Recepción	30-11-2017	Hora Recepción Muestras	17:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22222	GH11-1	CO-RI-BR	IND	35,62	Negativo	17,17	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 815	Fecha Informe 27-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	24-11-2017	Fecha Análisis	27-12-2017
Fecha Recepción	26-12-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22224	SSII-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,947	DR
22226	SSII-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,674	DR
22228	SSII-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	14,968	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 816	Fecha Informe 27-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	14-11-2017	Fecha Análisis	27-12-2017
Fecha Recepción	26-12-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22230	SD11-01	CO-RI-BR	IND	31,109	POSITIVO	14,752	DR
22232	SD11-02	CO-RI-BR	IND	42,149	NEGATIVO	14,541	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 816 HPR0	Fecha Informe 27-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	14-11-2017	Fecha Análisis	27-12-2017
Fecha Recepción	26-12-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22230	SD11-01	CO-RI-BR	IND	31,109	30,073	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

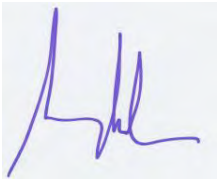
Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 817	Fecha Informe 27-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-11-2017	Fecha Análisis	27-12-2017
Fecha Recepción	26-12-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22234	ZZ11-1	CO-RI-BR	IND	24,835	POSITIVO	15,442	DR
22236	ZZ11-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,387	DR
22238	ZZ11-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,077	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	817 HPR0	Fecha Informe	27-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	08-11-2017	Fecha Análisis	27-12-2017
Fecha Recepción	26-12-2017	Hora Recepción Muestras	12:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

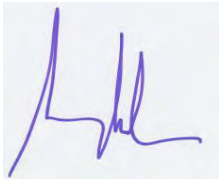
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22234	ZZ11-1	CO-RI-BR	IND	24,835	21,897	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 818	Fecha Informe 29-12-2017

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	20-12-2017	Fecha Análisis	29-12-2017
Fecha Recepción	29-12-2017	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22240	M1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,55	DR
22242	M2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	18,8	DR
22244	M3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	15,95	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 819	Fecha Informe 19-01-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	17-01-2018	Fecha Análisis	19-01-2018
Fecha Recepción	19-01-2018	Hora Recepción Muestras	S/I
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22246	M1	RI-CO-BR	IND	-	NEGATIVO	12,13	DR
22248	M2	RI-CO-BR	IND	-	NEGATIVO	13,11	DR
22250	M3	RI-CO-BR	IND	-	NEGATIVO	13,82	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 820	Fecha Informe 30-01-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-01-2018	Fecha Análisis	29-01-2018
Fecha Recepción	28-01-2018	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22252	AP09-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	12,18	DR
22254	AP09-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	11,87	DR
22256	AP09-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	13,23	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 821	Fecha Informe 06-08-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-07-2018	Fecha Análisis	03-08-2018
Fecha Recepción	03-08-2018	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22258	KK-613	CO-RI-BR	IND	17,36	POSITIVO	14,38	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	821 HPR0	Fecha Informe	06-08-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-07-2018	Fecha Análisis	03-08-2018
Fecha Recepción	03-08-2018	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22258	KK-613	CO-RI-BR	IND	17,36	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

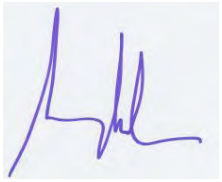
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universiada Católica de Valparaíso - Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	57	Nº de informe al que pertenece	821

INFORMACIÓN CLIENTE

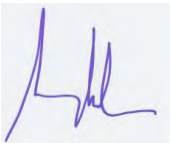
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Patricio Medina H.

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	ETANOL	**Fecha de Muestreo**	31-07-2018	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	03-08-2018	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:00	
		Fecha de análisis	03-08-2018	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	17-08-2018	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	17-08-2018	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			17-08-2018	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
KK-613	22258	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
KK-613	22258	TDVKTSVLSN**T**FISMGVAGF	HPR7a



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 822	Fecha Informe 06-08-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-07-2018	Fecha Análisis	03-08-2018
Fecha Recepción	03-08-2018	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado
22260	KK-614-1	CALIGUS	IND	35,71	POSITIVO	16,31	DR
22262	KK-614-2	CALIGUS	IND	18,94	POSITIVO	18,68	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias				
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real		Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 822 HPR0	Fecha Informe 06-08-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	31-07-2018	Fecha Análisis	03-08-2018
Fecha Recepción	03-08-2018	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	ETANOL	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22260	KK-614-1	CALIGUS	IND	35,71	-	NEGATIVO
22262	KK-614-2	CALIGUS	IND	18,94	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

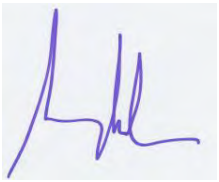
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
LABORATORIO DE REFERENCIA OIE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Pontificia Universidad Católica de Valparaiso-NBC
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas
Avenidad Universidad Nº330, Curauma, Vaparaíso
Fono: 56-32-2274828
e-mail:diagnostico@ucv.cl

Informe de Secuenciación

N ° de informe secuenciación	58	Nº de informe al que pertenece	822

INFORMACIÓN CLIENTE

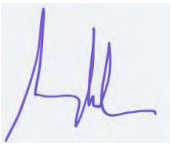
Entidad Solicitante	Servicio Nacional de Pesca	**Fono/Fax**	(032) 2819282 / 2819280
Dirección	Victoria 2832, Valparaíso	**Contacto**	Patricio Medina H.

INFORMACIÓN DE la MUESTRA

Preservante	ETANOL	**Fecha de Muestreo**	31-07-2018	
Nº de Muestras a secuenciar	1	**Fecha de Recepción de muestras**	03-08-2018	
Jefe de Laboratorio; Sergio Marshall		**Hora de Recepción de muestras**	15:00	
		Fecha de análisis	03-08-2018	
		Hora de inicio y témino de análisis	-----	-----
		Fecha de emisión de informe	17-08-2018	
Entidad que secuencia	Macrogen	**Fecha envío a Sernapesca**	17-08-2018	
Fecha envío a Sernapesca Informe de secuenciación			17-08-2018	

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 5 (aa266)	INSERTO
KK-614-2	22262	QHGWSKYNF**N**L**R**AFPGEEFIKCCGFTL	No inserto

Rótulo del Tubo	Codificación de la muestra	Secuencia Segmento 6	TIPO DE HPR
KK-614-2	22262	TDVKTSVLSN**T**FISMGVAGF	HPR7a



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

OBS:

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 823	Fecha Informe	22-11-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	16-11-2018	Fecha Análisis	21-11-2018
Fecha Recepción	21-11-2018	Hora Recepción Muestras	13:30
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22264	DW-01	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	13,71	DR
22266	DW-02	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	13,19	DR
22268	DW-03	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	14,31	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 824	Fecha Informe	22-11-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	15-11-2018	Fecha Análisis	21-11-2018
Fecha Recepción	21-11-2018	Hora Recepción Muestras	13:30
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22270	AK-660-1	BR-CO-RI	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	16,29	DR
22272	AK-660-2	BR-CO-RI	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	13,79	DR
22274	AK-660-3	BR-CO-RI	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	14,65	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

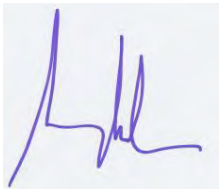
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA		Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 825	Fecha Informe	22-11-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	13-11-2018	Fecha Análisis	22-11-2018
Fecha Recepción	21-11-2018	Hora Recepción Muestras	13:30
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22276	MA36-01	BR-CO-RI	IND	34,45	NEGATIVO	36,58	NEGATIVO	13,17	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1	
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos	
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT	

Observaciones

Muestra repetida en duplicado para confirmacion de resultados

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 826	Fecha Informe 10-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-11-2018	Fecha Análisis	10-12-2018
Fecha Recepción	06-12-2018	Hora Recepción Muestras	15:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	*P. salmonis*			
				CT	Resultado	CT	Resultado
22278	HPG 01	CE-HI	IND	-	NEGATIVO	12,16	DR
22280	HPG 02	CE-HI	IND	-	NEGATIVO	13,87	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia de *Piscirickettsia salmonis* en las muestras analizadas.

Metodologias			
RT-PCR SRS en Tiempo Real	Metodo modificado de Marshall et al,1998 - Química Syber Green		
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.3	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y curva de Melting

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 827	Fecha Informe	10-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-11-2018	Fecha Análisis	07-12-2018
Fecha Recepción	06-12-2018	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22282	EP-671-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	12,08	DR
22284	EP-671-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	11,93	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

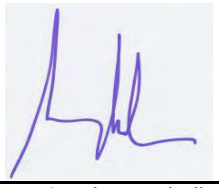
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.			
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1	
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos	
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT	

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 828	Fecha Informe	10-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-11-2018	Fecha Análisis	07-12-2018
Fecha Recepción	06-12-2018	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22286	EP-667-1	CO-RI-BR	IND	24,52	POSITIVO	25,61	POSITIVO	14,09	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

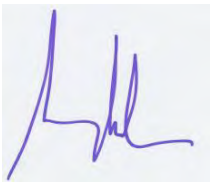
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 828 HPR0	Fecha Informe 10-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	22-11-2018	Fecha Análisis	07-12-2018
Fecha Recepción	06-12-2018	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	1	Numero de Análisis	1
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

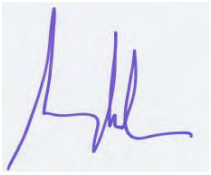
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22286	EP-667-1	CO-RI-BR	IND	24,52	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 829	Fecha Informe	10-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-11-2018	Fecha Análisis	07-12-2018
Fecha Recepción	07-12-2018	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22288	FF33-01	CO-RI-BR	IND	24,20	POSITIVO	26,64	POSITIVO	13,54	DR
22290	FF33-02	CO-RI-BR	IND	25,40	POSITIVO	26,80	POSITIVO	15,62	DR
22292	FF33-03	CO-RI-BR	IND	24,38	POSITIVO	25,33	POSITIVO	15,77	DR
22294	FF33-04	CO-RI-BR	IND	25,31	POSITIVO	26,92	POSITIVO	15,10	DR
22296	FF33-05	CO-RI-BR	IND	26,31	POSITIVO	28,72	POSITIVO	15,57	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.

Extracción de RNA	Rneasy Mini Kit Qiagen	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas

Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 829 HPR0	Fecha Informe 10-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Miguel Jarpa	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	30-11-2018	Fecha Análisis	07-10-2018
Fecha Recepción	07-12-2018	Hora Recepción Muestras	09:00
Numero de Muestras	5	Numero de Análisis	5
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

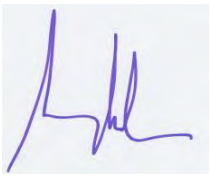
Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22288	FF33-01	CO-RI-BR	IND	24,20	27,40	POSITIVO
22290	FF33-02	CO-RI-BR	IND	25,40	26,87	POSITIVO
22292	FF33-03	CO-RI-BR	IND	24,38	25,81	POSITIVO
22294	FF33-04	CO-RI-BR	IND	25,31	27,08	POSITIVO
22296	FF33-05	CO-RI-BR	IND	26,31	28,04	POSITIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias			
Extracción de RNA	E.Z.N.A. KIT	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.1	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT

Observaciones
Muestras proporcionadas por el cliente.
El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 830	Fecha Informe	13-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	04-12-2018	Fecha Análisis	12-12-2018
Fecha Recepción	11-12-2018	Hora Recepción Muestras	18:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22298	ER43-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	12,45	DR
22300	ER43-3	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	12,07	DR
22302	ER43-5	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	43,48	NEGATIVO	12,55	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

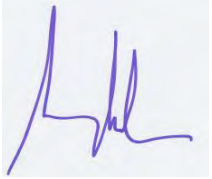
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.3	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y forma de curva

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 831	Fecha Informe	13-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	07-12-2018	Fecha Análisis	12-12-2018
Fecha Recepción	12-12-2018	Hora Recepción Muestras	10:30
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22304	TR22-01	CO-RI-BR	IND	39,91	NEGATIVO	-	NEGATIVO	12,63	DR
22306	TR22-02	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	12,1	DR
22308	TR22-03	CO-RI-BR	IND	36,14	NEGATIVO	42,79	NEGATIVO	11,54	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

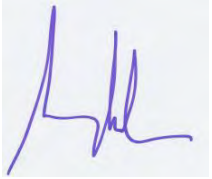
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.3	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y forma de curva

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 832	Fecha Informe	13-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-12-2018	Fecha Análisis	12-12-2018
Fecha Recepción	12-12-2018	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22310	EP-690-1	CO-RI-BR	IND	21,91	POSITIVO	23,64	POSITIVO	14,43	DR
22312	EP-690-2	CO-RI-BR	IND	16,72	POSITIVO	16,96	POSITIVO	12,19	DR
22314	EP-690-3	CO-RI-BR	IND	35,07	POSITIVO	36,05	POSITIVO	11,89	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

Se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

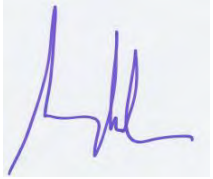
Metodologias

RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.3	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y forma de curva

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N°	832 HPR0	Fecha Informe	13-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-12-2018	Fecha Análisis	12-12-2018
Fecha Recepción	12-12-2018	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	3	Numero de Análisis	3
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv		Interpretación HPR0
				CT Snow	CT HPR0	
22310	EP-690-1	CO-RI-BR	IND	21,91	-	NEGATIVO
22312	EP-690-2	CO-RI-BR	IND	16,72	-	NEGATIVO
22314	EP-690-3	CO-RI-BR	IND	35,07	-	NEGATIVO
SI: Sin Información		DR: Dentro de Rango		FR: Fuera de Rango		NR: No Realizado

Conclusión

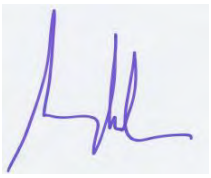
No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón HPR0 en las muestras analizadas

Metodologias				
Extracción de RNA		E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos		StepOne Software v2.3	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR		StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y forma de curva

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo de RT-PCR específico para virus ISA HPR0 se realiza con sondas y primers diseñados por nuestro laboratorio y su interpretacion considera el valor de Ct, la forma de la curva y la comparacion con el valor de Ct del Seg 8.



Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Informe de Análisis de Laboratorio

Informe N° 833	Fecha Informe	13-12-2018

Información Cliente			
Empresa	Sernapesca	Dirección	Av. Victoria 2832, Valparaíso
Contacto	Patricio Medina H.	Fono/Fax	56-32-2819282 / 2819280

Información de las Muestras			
Fecha Muestreo	06-12-2018	Fecha Análisis	12-12-2018
Fecha Recepción	12-12-2018	Hora Recepción Muestras	14:00
Numero de Muestras	2	Numero de Análisis	2
Preservante	RNALATER	Especie	S.SALAR

Resultados RT-PCR en Tiempo Real

Rótulo del Tubo	Código de Muestra	Tipo de Muestra	Individual o pool	ISAv Snow		ISAv GIM		ELF-1α	
				CT	Resultado	CT	Resultado	CT	Resultado
22316	EP-692-1	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	11,61	DR
22318	EP-692-2	CO-RI-BR	IND	-	NEGATIVO	-	NEGATIVO	12,50	DR

SI: Sin Información | DR: Dentro de Rango | FR: Fuera de Rango | NR: No Realizado

Conclusión

No se detectó la presencia del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón en las muestras analizadas

Metodologias			
RT-PCR ISAv en Tiempo Real RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real	Snow M, McKay P, McBeath A.J, Black J, Doig F, Kerr R, Cunningham C.O, Nylund A and Devold M. 2006. Deveolpment application and validation of a Taqman real- time RT-PCR assay for the detection of infectious Salmon anemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (Salmo salar). Dev.Biol. (Basel) 126, 133- 145; discussion 325-6.		
Extracción de RNA	E.Z.N.A.® Total RNA Kit I	Muestreo	LABD-NT1
Software análisis de datos	StepOne Software v2.3	Ciclos de amplificación	45 Ciclos
Equipo Real Time PCR	StepOne Plus Real-Time PCR System	Interpretación	Basada en CT y forma de curva

Observaciones

Muestras proporcionadas por el cliente.

El ensayo RT-PCR ELF-1α en Tiempo Real fue modificado para evaluar mayor variedad de especies salmonídeas



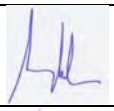
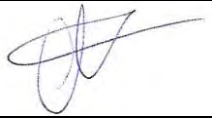
Dr. Sergio Marshall
Director de Laboratorio

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso
Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

ACTA REUNIÓN COORDINACIÓN PROYECTO FIPA N°2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"

10 de noviembre de 2015

I. ASISTENTES

Nombre	Organización	Firma
Michel Dapremontt	FIPA	
Eugenio Zamorano	Subpesca	
Alejandro Barrientos	Subpesca	
Alicia Gallardo L.	Sernapesca	
Carla Anguita	Sernapesca	
Dr. Sergio Marshall G	Laboratorio Patógenos Acuícolas – NBC PUCV	
Alvaro Labra M.	Laboratorio Patógenos Acuícolas – NBC PUCV	
Macarena Jiménez J.	Laboratorio Patógenos Acuícolas – NBC PUCV	
Dannia Giménez C.	Laboratorio Patógenos Acuícolas – NBC PUCV	

II. TABLA DE LA REUNIÓN

- Validación de contactos relacionados con el proyecto.
- Revisión de objetivos específicos, actividades y metodologías propuestas en el proyecto FIPA N°2015-12 “Investigación de factores epidemiológicos, de patogenicidad, desarrollo, validación y control de técnicas de diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmón”.
- Revisión de fechas propuestas para reuniones y entrega de informes.

III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Objetivo 1: Efectuar una revisión bibliográfica nacional e internacional respecto el estado del arte en relación al conocimiento de los patógenos PS e ISAv y las enfermedades que provocan.
De acuerdo a lo planteado en éste objetivo, se prepararan fichas técnicas para cada en enfermedad en cuestión basadas en las fichas técnicas de OIE y actualizadas al año 2015.
SERNAPESCA solicita que estas fichas puedan ser parte del proyecto de centro de enfermedades.

Objetivo 2: Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por PS.
Objetivo 3: Evaluar el rol epidemiológico del parásito Caligus rogercresseyi en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAv.
La PUCV da a conocer un estudio científico publicado recientemente que abarca gran parte del objetivo 3 y propone concentrar los recursos asignados a ambos objetivos solo en el objetivo 2 replicando la metodología del estudio.
SERNAPESCA Y SUBPESCA señalan que el recurso sea invertido en cubrir aspectos del objetivo 3 que hayan quedado sin resolver en el estudio.

Objetivo 4: Evaluar métodos de diagnóstico para los patógenos ISAV y PS utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico del Servicio y por entidades de investigación en caso de ser requerido, en especial para la cepa HPR-0.

La PUCV propone realizar 3 ring test durante el periodo del proyecto, cuyos objetivos deben ser discutidos y acordados entre Subpesca, Sernapesca y PUCV, ya que de ello dependerá el diseño de cada ensayo. Asimismo se propone realizar 1 ring test por semestre y a costo de los laboratorios participantes.

Objetivo 5: Evaluar y desarrollar técnicas de aislamiento, propagación y mantención de cepa HPR0 de ISAv en cultivos celulares y realizar investigación para mejorar resultados

Para la obtención de cepas virus ISA HPR0, SERNAPESCA apoyará la gestión para conseguir dicha cepa e indica que el servicio puede realizar los muestreos correspondientes. Por otra parte PUCV, señala que se debe recurrir a laboratorios privados, solicitando las contra-muestras que ellos posean

de muestras positivas a virus ISA HPR0. Para ello se plantea solicitar los permisos correspondientes a las empresas, que son dueñas de éstas contra-muestras.

SERNAPESCA Y SUBPESCA indican que se debe preparar una carta solicitando el material, que debe ser firmada por el mandante y la entidad ejecutiva.

Objetivo 6: Analizar muestras en laboratorio para el diagnóstico de ISAv y PS, de acuerdo a necesidad de la Autoridad sectorial.

PUCV plantea que el costo del análisis de las muestras, es limitante para la realización de las mismas. Para ello SERNAPESCA indica que se debe preparar una carta informando dicho costo y el total de ellos implicados en éste objetivo. Dicha documento debe ser enviado por PUCV.

A raíz de lo anterior FIPA, agrega que si fuera necesario inyectar más recursos económicos a éste ítem, se podría hacer de dos maneras:

- Solicitando los recursos mediante una carta al comité FIPA
- Traspasando recursos del objetivo 3.

Objetivo 7: Realizar una capacitación de profesionales en diagnóstico clínico o molecular de la enfermedad ISA y PS.

La PUCV indica que se realizará un programa de capacitación teórico-práctica dirigida a funcionarios Sernapesca y Subpesca que abarque el diagnóstico molecular de ISAv y *P. salmonis*. De acuerdo a esto SERNAPESCA agrega indica que las actividades relacionadas con capacitación, deben ser incluidas en el reporte anual que se entrega a OIE.

Reuniones:
Lugar a definir, pudiendo ser en Subpesca, Sernapesca o campus Curauma de la PUCV. Las fechas serán acordadas en la reunión anterior.

Informes:
PUCV indica dudas con respecto a la entrega de informes, al ítem relacionado con planificaciones futuras. FIPA informa que este aspecto tiene que ver con las modificaciones que se propongan a las actividades y que deben ser comunicadas en los respectivos informes de avance.

Respecto al pre-informe final que se debe entregar al mes 18 la PUCV indica que en los siguientes 5 meses no se realizará nada por el proyecto. A ello FIPA aclara que éste pre-informe corresponde al informe final. Por su parte FIPA, aclara que así es, pero de todas formas debe enviar un mail, consultando las inquietudes.

El contrato indica que la revisión y aprobación de los informes por parte de FIPA tendrá un plazo de 90 días hábiles (5 meses) y la PUCV hace ver que los plazos se superponen con la entrega del informe siguiente. FIPA indica que la revisión y aprobación no demora más de 1 mes y que el plazo del contrato no es válido.

Otros:

PUCV, señala que en cláusula sexta del contrato se menciona la existencia de un CD que contiene información anexa a dicho contrato y que éste elemento no fue entregado. FIPA indica que esto es un error de tipeo en la resolución y no existe CD asociado.

Subpesca hace hincapié en que se debe entregar como resultado del proyecto al menos un documento borrador de un artículo científico que haya emanado del proyecto.

IV. ACUERDOS

Interlocutores y contactos:

PUCV	Sergio Marshall	sergio.marshall@pucv.cl	032-2274866
	Alvaro Labra	alvaro.labra@pucv.cl	032-2274828
FIPA	Michell Dapremontt	mdapremontt@subpesca.cl	
Subpesca	Alejandro Barrientos	abarrientos@subpesca.cl	032-2502780
	Maureen Alcayaga	malcayaga@subpesca.cl	032-2502858
Sernapesca	Karen Montecinos	kmontecinos@sernapesca.cl	032-2819291
	Carla Anguita	canguita@sernapesca.cl	032-2819206

Objetivo 1:

- La PUCV enviará las fichas técnicas de las enfermedades a la brevedad posible.
- Las fichas técnicas serán parte del proyecto de centro de enfermedades.

Objetivos 2 y 3:

- Se empleará la misma metodología del estudio presentado de ISAV para evaluar el rol del Caligus en piscirickettsiosis.
- Para el caso de ISAV la PUCV diseñará una propuesta de investigación que cubra aspectos no abordados por el estudio presentado.

Objetivo 4:

- Se realizarán 3 ring test en el periodo, uno para *P. salmonis*, uno para ISAV y uno específico para ISAV HPR0.
- Se realizaran distribuidos durante el primer y segundo semestre del 2016 y el tercero el primer semestre del 2017.
- Los costos de estos ensayos deberán ser cubiertos por los laboratorios participantes.
- Los objetivos serán consensuados entre Subpesca, Sernapesca y PUCV y de acuerdo a ello la PUCV diseñará los ensayos.
- La primera reunión para la definición de objetivos será en marzo de 2016.

Objetivo 5:

- Las 3 metodologías propuestas son aceptadas (modificaciones nutricionales, regulación catalítica y uso de nuevas líneas celulares).
- PUCV debe preparar y enviar a Sernapesca y Subpesca una solicitud formal de muestras positivas a ISAv HPR0 indicando las condiciones en las que deben ser enviadas las muestras.
- Con esta solicitud tanto Sernapesca como Subpesca gestionarán con la industria, Intesal y laboratorios de diagnóstico privados el envío de muestras que cumplan con las características solicitadas (ISAV HPR0 positivas).

Objetivo 6:

- El esquema de análisis propuesto es aceptado.
- La PUCV enviará una planilla de costos de cada uno de los análisis en diferentes escenarios para hacer una estimación del número de muestras que se podrán analizar y estudiar las posibilidades para aumentar ese número.

Objetivo 7:

- El programa de capacitación propuesto es aceptado.
- La PUCV deberá enviar los detalles del programa con anticipación para coordinar las fechas y números de alumnos.

Reuniones:

- Próxima reunión se establece para el día 21 de diciembre del 2015 a las 9:30 horas en las dependencias SUBPESCA.
- Se debe escribir a Michel Dapremont**.**

Informes:

- El ítem planificación de futuras actividades en los informes solo se incluye cuando hay modificaciones de la planificación original.
- Michell Dapremontt realizará las averiguaciones pertinentes para evaluar la realización de actividades entre el mes 18 y 21.

- La evaluación y aprobación de los informes de avance demoran alrededor de 1 mes y el plazo de 90 días hábiles que aparece en el contrato no es correcto.

Otros:

- El CD que se hace mención en la cláusula sexta del contrato no existe y se trata de un error de tipeo.
- Al término del proyecto, PUCV debe entregará al menos un borrador de una publicación científica.
- Cualquier duda que exista, debe ser aclarada vía mail, con copia a todos los integrantes del SERNSPESCA Y SUBPESCA.

Lunes 16 de noviembre de 2015

Sra. Alicia Gallardo Lagno
Subdirectora de Acuicultura
Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura
Presente:

De mi mayor consideración,

En mi calidad de Director de los Laboratorios de Patógenos Acuícolas del Núcleo de Biotecnología Curauma, Laboratorio de Referencia OIE para la Anemia Infecciosa del Salmon y del de Genética e Inmunología Molecular del Instituto de Biología de la Facultad de Ciencias, Referencia Nacional para Piscirickettsiosis, ambos en dependencias de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, me dirijo a Ud. con el fin de plantear la siguiente situación:

Los laboratorios de la referencia inician la realización del **"INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS**", adjudicado por el FIPA mediante licitación pública y que tiene una duración de 21 meses a contar del 7 de Octubre de 2015..

Dicho proyecto incluye entre sus objetivos mejorar los actuales resultados del cultivo y aislamiento del virus ISAV- HPR0 para lo cual hemos diseñado una serie de ensayos para cumplirlo que requieren en forma imperiosa y constante, la consecución de muestras de órganos de peces positivos a ISAV-HPR0 en condiciones de ser cultivadas, material con el que no contamos y necesitamos su compromiso oficial para que se nos provea.

Dado lo anteriormente expuesto, solicito a Ud. nos ayude a gestionar la obtención de un flujo constante y cuantitativamente significativo de muestras (idealmente peces completos), y me atrevo a sugerir se haga no solo por la intermediación de los oficiales de Sernapesca, sino también se involucre en esta misión de tanta relevancia a instituciones que se verán beneficiados por los resultados de este estudio, como Intesal, las industrias, los laboratorios de diagnóstico e investigación y/o a quienes Ud. estime conveniente.

Esperando que esta tenga una buena acogida y que podamos oficializar el compromiso solicitado con los pares que Ud. estime para poder concretar la entrega de muestras,

Atentamente,



Sergio Marshall G. Ph.D. (Harvard/81)
Laboratorios de Patógenos Acuícolas y
de Genética e Inmunología Molecular
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Lunes 16 de noviembre de 2015

Sr. Eugenio Zamorano Villalobos
Jefe de la División de Acuicultura
Subsecretaria de Pesca y Acuicultura
Presente:

De mi mayor consideración,

En mi calidad de Director de los Laboratorios de Patógenos Acuícolas del Núcleo de Biotecnología Curauma, Laboratorio de Referencia OIE para la Anemia Infecciosa del Salmon y del de Genética e Inmunología Molecular del Instituto de Biología de la Facultad de Ciencias, Referencia Nacional para Piscirickettsiosis, ambos en dependencias de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, me dirijo a Ud. con el fin de plantear la siguiente situación:

Los laboratorios de la referencia inician la realización del **"INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS**", adjudicado por el FIPA mediante licitación pública y que tiene una duración de 21 meses a contar del 7 de Octubre de 2015..

Dicho proyecto incluye entre sus objetivos mejorar los actuales resultados del cultivo y aislamiento del virus ISAV- HPR0 para lo cual hemos diseñado una serie de ensayos para cumplirlo que requieren en forma imperiosa y constante, la consecución de muestras de órganos de peces positivos a ISAV-HPR0 en condiciones de ser cultivadas, material con el que no contamos y necesitamos su compromiso oficial para que se nos provea.

Dado lo anteriormente expuesto, solicito a Ud. nos ayude a gestionar la obtención de un flujo constante y cuantitativamente significativo de muestras (idealmente peces completos), y me atrevo a sugerir se haga no solo a nivel de centros de cultivo, sino también se involucre en esta misión de tanta relevancia a instituciones que se verán beneficiados por los resultados de este estudio, como Intesal, las industrias, los laboratorios de diagnóstico e investigación y/o a quienes Uds. estimen conveniente.

Esperando que esta tenga una buena acogida y que podamos oficializar el compromiso solicitado con los pares que Ud. estime para poder concretar la entrega de muestras,

Atentamente,



Sergio Marshall G. Ph.D. (Harvard/81)
Laboratorios de Patógenos Acuícolas y
de Genética e Inmunología Molecular
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Reunión de Coordinación Proyecto FIPA-2015
SUBPESCA – SERNAPESCA – PUCV

INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMON Y PISCIRICKETTSIOSIS.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO
10 de Noviembre de 2015

Tabla de la Reunión

- Interlocutores y contactos
- Revisión de objetivos
- Revisión de actividades por objetivo
- Revisión de metodologías propuestas por actividades
- Plazos establecidos
- Preguntas varias

Interlocutores y Contactos

PUCV	Sergio Marshall	sergio.marshall@pucv.cl	032-2274866
	Alvaro Labra	alvaro.labra@pucv.cl	032-2274828
FIPA	Luis Carroza	lclarrondo@subpesca.cl	032-2502825
	Malu Zavando	maluz@subpesca.cl	032-2502843
Subpesca	Alejandro Barrientos	abarrientos@subpesca.cl	032-2502780
	Maureen Alcayaga	malcayaga@subpesca.cl	032-2502858
Sernapesca	Marcela Lara	mlara@sernapesca.cl	032-2819282
	Mariana Leal	mleal@sernapesca.cl	032-2819282
	Karen Montecinos	kmontecinos@sernapesca.cl	032-2819291

Objetivos

- **General:** Investigar la transmisión horizontal y vertical y evaluar las técnicas de diagnóstico para el virus de la anemia infecciosa del salmón (ISAV) y de *Piscirickettsia salmonis* (PS).

- **Específicos:**

1. Efectuar una revisión bibliográfica nacional e internacional respecto el estado del arte en relación al conocimiento de los patógenos PS e ISAv y las enfermedades que provocan.
2. Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por PS.
3. Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAv.
4. Evaluar métodos de diagnóstico para los patógenos ISAV y PS utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico del Servicio y por entidades de investigación en caso de ser requerido, en especial para la cepa HPR-0.
5. Evaluar y desarrollar técnicas de aislamiento, propagación y mantención de cepa HPR0 de ISAv en cultivos celulares y realizar investigación para mejorar resultados.
6. Analizar muestras en laboratorio para el diagnóstico de ISAv y PS, de acuerdo a necesidad de la Autoridad sectorial.
7. Realizar una capacitación de profesionales en diagnóstico clínico o molecular de la enfermedad ISA y PS.



Actividad / Mes	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Revisión bibliográfica: estado del arte de PS e ISAv y las enfermedades que provocan																					
Búsqueda de Documentos nacionales																					
Búsqueda de documentos internacionales																					
Búsqueda de actas de congresos																					
Revisión de Información																					
Desarrollo de Ficha técnica de cada enfermedad																					
Diseño y validación de alternativas de diagnóstico de ISAV y *P. salmonis* desde Caligus																					
Evaluar alternativas de extracción de material genético desde Caligus																					
Evaluar alternativas de diagnóstico a partir del RNA recuperado para ISAV y PS																					
Evaluar variaciones necesarias por estados de desarrollo																					
Validación de técnicas																					
Evaluación de la infección o contaminación de caligus con virus ISA																					
Aclimatación e infección de peces																					
Infestación de peces con Caligus																					
Muestreo de Caligus																					
Evaluación de Caligus																					
Evaluación de la infección o contaminación de caligus con *P.salmonis*																					
Aclimatación e infección de peces																					
Infestación de peces con Caligus																					
Muestreo de Caligus																					
Evaluación de Caligus																					
Evaluación de la infectividad de ISAV y *P. salmonis* recuperado de Caligus infectados																					
Selección de muestras																					
Preparación de las muestras																					
Infección de cultivos																					
Monitoreo y evaluación de cultivos																					
Evaluación de presencia y expresión de ISAV y *P. salmonis* en etapas de vida libre de Caligus																					
Muestreo																					
Análisis de muestras																					
Evaluación de métodos diagnósticos para ISAV y *P. salmonis*																					
Definición de objetivos																					
Diseño del ensayo																					
Preparación y evaluación preliminar de muestras																					
Preparación y evaluación definitivas de muestras																					
Diseño de instrucciones de análisis y Envío de muestras																					
Recepción y análisis de resultados																					
Informe de resultados																					
Aislamiento ISAv HPR0																					
Diseño de un estudio para el aislamiento de ISAv HPR0																					
Aplicación de la o las metodologías para el aislamiento de ISAv HPR0																					
Análisis de Muestras																					
Definición de metodologías de análisis																					
Análisis de Muestras																					
Capacitación de Profesionales en Diagnóstico Molecular de ISA y *P. salmonis*																					
Diseño y propuesta de un programa de capacitación																					
Elaboración de nómina de alumnos																					
Elaboración y selección del material de apoyo																					
Desarrollo de la actividad teórica																					
desarrollo de la actividad practica																					
Evaluación																					
Informes																					
Primer informe de avance																					
Segundo informe de avance																					
Pre-informe final																					
Informe final																					
Talleres, Reuniones y Difusion																					
Reunion inicial de coordinacion																					
Reuniones de avance de proyecto																					
Reuniones internas																					
Taller de difusion de resultados																					

Objetivo Específico 1

Actividades:

Búsqueda de Documentos nacionales
Búsqueda de documentos internacionales
Búsqueda de actas de congresos
Revisión de Información
Desarrollo de Ficha técnica de cada enfermedad

Resultados:

Ficha técnica de enfermedades ISA y Piscirickettsiosis

Inicio Octubre de 2015 → Termino Enero de 2016

Objetivo Específico 2 y 3

Aquaculture 420–421 (2014) 126–132

Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aqua-online

Caligus rogercresseyi as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile

Karin Oelckers [a], Siri Vike [b,*], Henrik Duesund [b], Javier Gonzalez [a], Simon Wadsworth [a], Are Nylund [c]

[a] EWOS Innovation Chile, Camino a Pargua Km 57, Colaco Km 5, Calbuco, Chile
[b] Cermaq ASA, Grev Wedelsplass 5, N-0105 Oslo, Norway
[c] Department of Biology, University of Bergen, Thormøhlensgt 55, N-5020 Bergen, Norway

Propuesta de modificación de objetivos 2 y 3

Inicio Noviembre 2015 → Termino Febrero 2017

Objetivo Específico 4

- Ring Test ISAV.
  - Definir objetivos
  - cDNA o Tejidos → infectar peces (Semi-cuantitativo)

- Ring Test ISAV HPR0
  - Objetivo: discriminar entre ISAV HPR0 y "otros HPR" sin importar la carga viral de las muestras
  - Hasta ahora → Solo segmento 6
  - Ideal Seg 6 y Seg 8 → necesario Gblock

- Ring Test *P. salmonis*
  - Definir objetivos
  - Medio de cultivo o Peces infectados
  - Solo PCR o incluir IFAT

Inicio Septiembre 2016 → Termino Marzo 2017



Objetivo Específico 5

Modificaciones Nutricionales de cultivos.
Las modificaciones en términos nutricionales, están referidas a la disminución en la cantidad de suero presente en el medio previo o posterior a la infección. El rango de las modificaciones incluirá la eliminación del suero desde el medio.

Regulación catalítica.
Los ensayos de infección con regulación catalítica, comprenden la regulación de enzimas específicas del virus y/o la célula, utilizando compuestos químicos específicamente diseñados con estos fines. En términos generales, la disminución de actividad enzimática en el virus y el aumento de la misma en la célula, podría favorecer la infección

Uso de nuevas líneas celulares.

Stock de ISAV HPR0's?

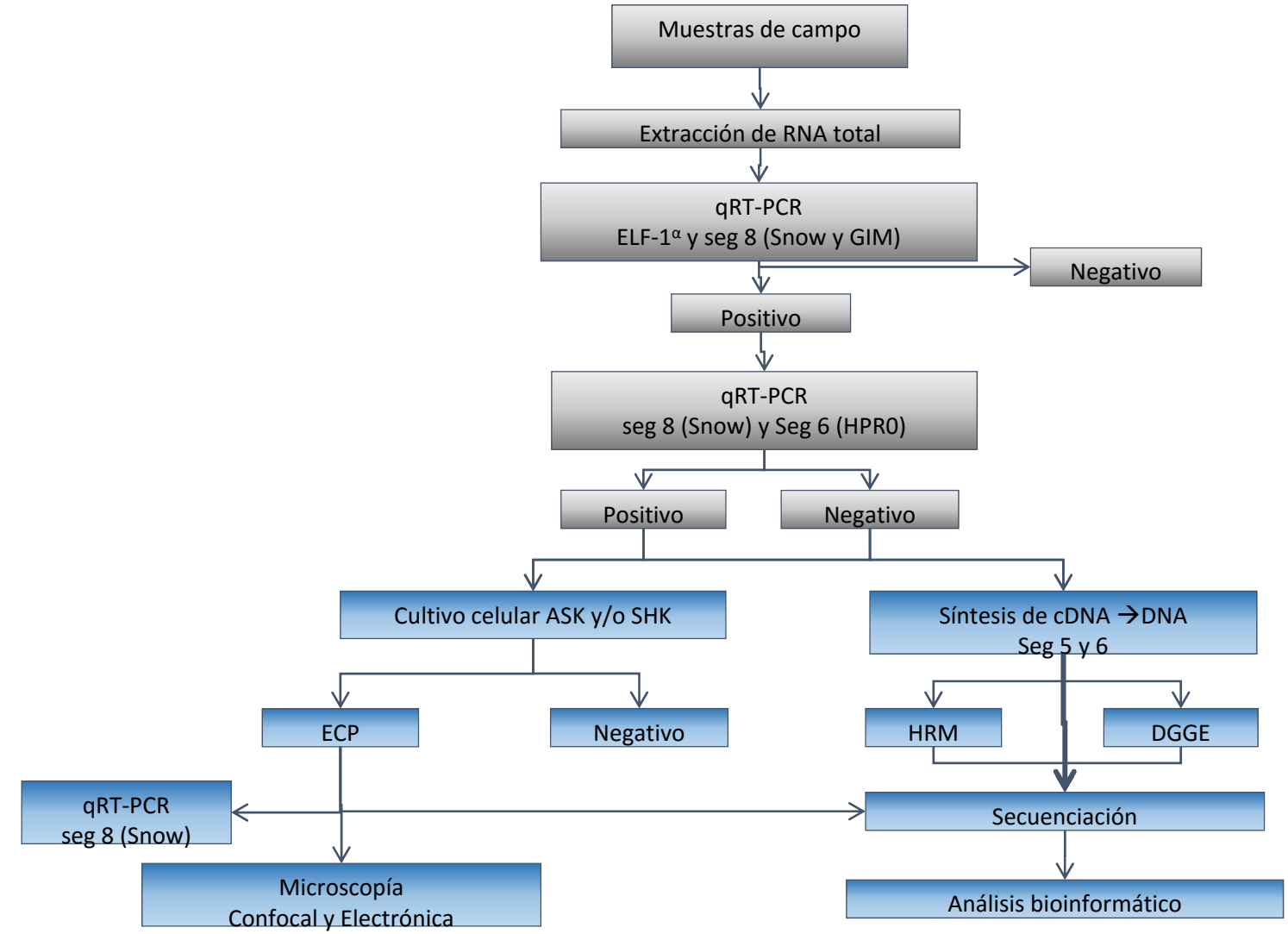
Inicio Noviembre 2015 → Marzo 2017



Objetivo Específico 6

* Todo el periodo o hasta agotar presupuesto

Esquema 1. Análisis para ISAV PUCV



Objetivo Específico 7

Programa de capacitación y entrenamiento dirigido a funcionarios Sernapesca - Subpesca

- fecha a convenir al menos 6 meses antes de la entrega del informe final
- objetivo general: curso teórico práctico de formación para profesionales en el área del diagnóstico molecular de ambos patógenos.
- Duración total de 48 horas lectivas
- Responsable: Dr. Sergio Marshall G.,
- Colaboradores: Alvaro Labra M., Srta. Dannia Gimenez, Srta. Macarena Jiménez y Sr. Cristian Muñoz.
- Dos modalidades:
  - Teórica, de 16 horas
    - aspectos básicos de la biología de virus y bacterias, manteniendo el foco en ISAV y PS,
    - aspectos básicos de los diagnósticos moleculares para estos microorganismos.
  - Practica, de 24 horas
    - Extracción y amplificación de material genético
    - Cultivos bacterianos y virales
    - Tinciones e inmunomarcación
    - Entre otras.
    - Lectura, interpretación y discusión de resultados
    - Evaluación escrita.

Inicio Junio 2016 → Termino Diciembre 2016



Reuniones y taller de difusión

1. Reunión de coordinación → Martes 10 de Noviembre 2015

2. Reuniones trimestrales de avance → Lugar, horario y fechas.
   - Diciembre 2015 → Necesaria?
   - Marzo 2016
   - Junio 2016
   - Septiembre 2016
   - Diciembre 2016
   - Marzo 2017
   - Junio 2017

3. Reuniones internas cada dos meses → Minutas

4. Taller de difusión final →
   - Marzo 2017
   - Puerto Montt

Entrega de Informes

1. Primer Informe de Avance → Marzo 2016
   - Plan definitivo
   - Actividades realizadas
   - Resultados preliminares
   - Planificación de futuras actividades (en caso de cambios?)

2. Segundo Informe de Avance → Agosto 2016
   - Correcciones del Primer Informe de Avance → plazo de corrección no calza
   - Observaciones de las reuniones trimestrales
   - Actividades realizadas
   - Resultados preliminares
   - Planificación de futuras actividades (en caso de cambios?)

1. Pre-Informe Final → Enero 2017 → plazo de corrección no calza
   - Resultados del proyecto
   - Bases de datos

3. Informe Final → Abril de 2017
   - Observaciones del pre-informe



Preguntas Varias

- En la clausula sexta del contrato de investigación se nombra un CD anexo, el cual no formaba parte de los documentos que se recibieron.

Aquaculture 420–421 (2014) 126–132

Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aqua-online

Caligus rogercresseyi as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile

Karin Oelckers [a], Siri Vike [b,*], Henrik Duesund [b], Javier Gonzalez [a], Simon Wadsworth [a], Are Nylund [c]

[a] EWOS Innovation Chile, Camino a Pargua Km 57, Colaco Km 5, Calbuco, Chile
[b] Cermaq ASA, Grev Wedelsplass 5, N-0105 Oslo, Norway
[c] Department of Biology, University of Bergen, Thormøhlensgt 55, N-5020 Bergen, Norway

ARTICLE INFO

Article history:
Received 19 August 2013
Received in revised form 14 October 2013
Accepted 15 October 2013
Available online 23 October 2013

Keywords:
Infectious salmon anaemia (ISA) virus
Caligus rogercresseyi
Atlantic salmon (*Salmo salar*)
Transmission
Vector
Sea lice

ABSTRACT

The sea louse *Caligus rogercresseyi* is the most serious ectoparasite on farmed salmonids in Chile, mainly affecting Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). In 2007 the highest infestation ever recorded for this sea louse struck the aquaculture industry. In the same year a serious epizootic due to the Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus (*Isavirus*, family *Orthomyxoviridae*) also occurred.

This study shows that *C. rogercresseyi* is capable of being a mechanical vector for ISA virus. The findings indicate that even after 48 hours away from its host *C. rogercresseyi* can still transmit ISA virus to naïve Atlantic salmon, which was confirmed by sequencing of the virus. Both the amount and prevalence of ISA virus RNA were decreasing the longer *C. rogercresseyi* was away from its host. This indicates that ISA virus is not replicating in the lice and hence, it is not likely that *C. rogercresseyi* could be a biological vector.

ISA virus positive *Caligus* sp. nauplius larvae or copepodids were neither detected inside nor outside the Atlantic salmon farming cage experiencing ISA outbreaks. Nor was it possible to detect ISA virus RNA in nauplius larvae or copepodids retained in the lab, even if they were the offspring of ISA virus positive *C. rogercresseyi* population. This indicates that ISA virus is not vertically transmitted from adult *C. rogercresseyi* to nauplii. Based on these results it is not very likely that *Caligus* sp. nauplius larvae or copepodids are vectors for ISA viruses.

For the salmonid industry this means that a co-infection with ISA virus and *C. rogercresseyi* increases the risk of transmission of ISA virus within the site and also to other sites in the same hydrographical area.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Sea lice (*Lepeophtheirus* Nordmann 1832 and *Caligus* Müller 1785) are the major pathogens of farmed salmonids and have a significant impact on many areas of production (Pike and Wadsworth, 2000). Economic impact has been estimated at €0.1 to €0.2 kg^{-1} salmon produced, with total losses of €300 million per annum (Costello, 2009). *Lepeophtheirus salmonis* is the main sea louse species affecting farming operations in the Northern hemisphere, whilst *Caligus rogercresseyi* (Boxshall and Bravo, 2000) exerts the greatest influence in the Southern hemisphere (Bravo, 2003; Bravo et al., 2009; Gonzalez and Carvajal, 2003). *C. rogercresseyi* was characterised as a new species in 2000 (Boxshall and Bravo, 2000), but was registered as a potential problem in salmon culture as early as in 1997. This fish parasite belongs to the family Caligidae in the order Siphonostomatoida (Boxshall and Bravo, 2000).

Caligus sp. are well documented for being generalist parasites and are found on over 80 fish species worldwide (Kabata, 2003). Despite a wide variety of hosts, some *Caligus* species have demonstrated a high degree of host-specificity. This adaptation is more common to parasites within areas where a particular host population is abundant. There is an indication that *C. rogercresseyi* has developed a high degree of host preference for farmed salmonids in Chile (Mordue and Birkett, 2009; Pino-Marambio et al., 2007). This has led to a continual re-infestation by lice in many farming areas (Bravo, 2010; Gonzalez and Carvajal, 2003). The most susceptible farmed species are considered to be Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) (Bravo, 2003).

Infestations with *C. rogercresseyi* can lead to reduced growth and compromised fish health (Bravo, 2003; Johnson et al., 2004). Sea lice release a series of secretory/excretory products (SEP) into the host tissue via their salivary glands. Prostaglandins (PGE_2), alkaline phosphatase and a range of trypsin-like proteases have been identified as sea lice SEP. It is thought that several additional unidentified factors such as phosphatase, apyrase and macrophage inhibition factor are also present (Fast et al., 2007; Kvamme et al., 2004; Wagner et al., 2008). The SEP released by *L. salmonis* have a significant immunosuppressive effect on a range of responses in Atlantic salmon. These include reduced

* Corresponding author. Tel.: +47 91 34 63 94; fax: +47 55 58 44 50.
E-mail addresses: siri.vike@cermaq.com (S. Vike), henrik.duesund@cermaq.com (H. Duesund), javier.gonzalez@ewos.com (J. Gonzalez), simon.wadsworth@ewos.com (S. Wadsworth), are.nylund@bio.uib.no (A. Nylund).

0044-8486/$ – see front matter © 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.aquaculture.2013.10.016

Table 1
Overview of the number *C. rogercresseyi* (different stages) and fish tissues collected and analysed from Atlantic salmon from two sites in Chile. The table shows the numbers of tissue and *C. rogercresseyi* analysed with three different methods: real-time RT-PCR, cultured in Atlantic salmon kidney (ASK) cells and a fish challenge. The time referred to is how long the lice have been without a host under laboratory conditions. N = number of *C. rogercresseyi* or tissue samples.

Species	Sample type	Site	rt RT-PCR N	ASK-cells, *N*	Fish challenge, *N*
Salmo salar	Heart	Neg	45		
	Heart	Pos	126	1	1
	Mucus	Pos	4		
C. Rogercresseyi	Nauplii/Copepodids - retained in lab	Neg	> 100		
	Nauplii/Copepodids - retained in lab	Pos	> 100		
	Nauplii/Copepodids - inside the cage	Neg	> 100		
	Nauplii/Copepodids - inside the cage	Pos	> 100		
	Nauplii/Copepodids - outside the cage	Neg	> 100		
	Nauplii/Copepodids - outside the cage	Pos	> 100		
	Chalimus Time 0	Neg	24		
	Chalimus Time 0 (not washed)	Pos	20		
	Chalimus Time 0	Pos	20		
	Adult Time 0	Pos	25	5	5
	Adult Time 6	Pos	11	5	5
	Adult Time 12	Pos	11	5	5
	Adult Time 18	Pos	12	5	5
	Adult Time 24	Neg	40		
	Adult Time 24	Pos	90	5	5
	Adult Time 48	Neg	40		
	Adult Time 48	Pos	90	5	5
	Adult Time 72	Neg	40		
	Adult Time 72	Pos	76		
	Adult Time 120	Neg	39		
	Adult Time 120	Pos	6		

respiratory burst, lower macrophage activity, increased apoptosis, necrosis, decreased numbers of mucosal cells and down-regulation of immune genes such as interleukin IL-1ß and MHC-1 (Fast et al., 2007; Firth et al., 2000; Nolan et al., 2000; Tadiso et al., 2011). Suppression occurs at localised attachment sites, although a more generalised effect may occur with higher levels of sea lice infestation. *Caligus* sp. have been found to possess a greater range and quantity of serine and non-serine proteases than *L. salmonis* (Ellis et al., 1990) and this may assist in defeating a greater range of immune responses from many different species. Compromised immunity as well as the physical damage associated with sea lice infestation may increase the infection risk of farmed salmon to pathogens such as infectious salmon anaemia (ISA) virus.

L. salmonis feeding on the skin, mucus and blood of salmon have the potential to act as mechanical vectors of viral diseases (Nylund et al., 1993) and pathogens such as the ISA virus (Dannevig et al., 1995; Hovland et al., 1994). The ISA virus has been detected in the blood and mucus of Atlantic salmon (Rolland and Nylund, 1998). ISA virus is an enveloped, negative single stranded segmented RNA virus that belongs to the genus *Isavirus*, family *Orthomyxoviridae* (King et al., 2012; Krossoy et al., 1999; Mjaaland et al., 1997). The virus has caused severe economic losses in many of the salmon producing regions including Chile, Norway, Scotland, Faeroes, Canada and USA (EFSA, 2012). The ISA disease results in severe anaemia, affecting many tissues including the spleen and kidney as well as the liver and heart (Evensen and Thorud, 1991). Levels of mortality are highly variable, but can be up to 90% (EFSA, 2012), which may cause catastrophic financial losses to commercial operations. Indirect evidence suggests an increased risk of contracting ISA with an increasing sea lice (both *L. salmonis* and *C. rogercresseyi*) infestation on salmon farms (Gustafson et al., 2007b; Hammell and Dohoo, 2005; McClure et al., 2005; Valdes-Donoso et al., 2013).

Based on the experience with *L. salmonis* from salmon farming in the North Atlantic, knowledge about the biology of *C. rogercresseyi* (adults can survive up to 6 days in the sea without a host), and the short distance between salmon farming sites in many areas, it cannot be excluded that these parasitic copepods played an important role in horizontal transmission of ISA virus during the devastating epizootic in Chile in 2007 (Bravo, 2010). There is no detailed knowledge about the factors that trigger adult lice to change host, but the search for a mate for sexual reproduction is one obvious reason and it is reasonable to assume that lice will leave dead salmon in an attempt to find new hosts — which might be the case during a ISA outbreak. Was it a coincidence that the highest level of *C. rogercresseyi* ever recognised came at the same time as an ISA epizootic struck the salmon industry in Chile? The present study examines the potential role of *C. rogercresseyi* as a possible vector for transmission of ISA viruses within and between salmon farms in Chile.

2. Materials and methods

C. rogercresseyi (see Table 1) were collected at two different sites in the Los Lagos region, Chile, during November 2008. The salmon at the first site, called positive site, was officially diagnosed with ISA (Sernapesca, National Fishing Service), while the salmon at the second site, called negative site, did not have the diagnosis. More positive lice were collected than negative since they were used in several parts of the study. Atlantic salmon at both sites were highly infested by *Caligus rogercresseyi.* Atlantic salmon at each site were randomly selected and different stages of *C. rogercresseyi* (chalimus and adults) were collected from these individuals. Heart tissue was also sampled from each salmon. This tissue was used for virus isolation and real-time RT-PCR screening (at Patogen Analyse AS, Norway) for the presence of ISA virus RNA. The tissue was either frozen in liquid nitrogen (−196 °C) and stored at −80 °C or conserved in RNA-later.

The adult *C. rogercresseyi* sampled were kept alive in sterile seawater for 120 hours. All the adult lice were placed in plastic containers with filtered (5.0 μm) UV-sterilised (70 W, 23.800 uW/cm^2) seawater (30–33 ppm) and brought to the laboratory at EWOS Innovation Research facility in Colaco, Los Lagos Region. The time from sampling to arrival at the laboratory was 4–8 hours. Here, the pools of lice were rinsed by washing them gently with sterile seawater while they were kept in a sieve. The lice were then distributed in similar numbers in three beakers with 2000 mL sterilised seawater. The beakers were placed in a culture chamber with a constant temperature of 14 °C and aerated by aquarium air pumps (Regent Calm Air Pump RC-004). Lice sampled at different time points after washing in the sterilised seawater were used in an

attempt to culture the virus in cell cultures (ASK-cells) and naive Atlantic salmon (intraperitoneal injection).

3. Screening for ISA virus

Sea lice and tissue samples (heart and mucus) were collected from 45 Atlantic salmon at the site that did not have an ISA diagnose and 126 salmon from the site with ISA diagnose. Twenty of the chalimus collected from the positive site were conserved directly in RNA-later while 40 chalimus from the same site were washed in sterile sea water before being stored in the fixative. Chalimus ($N = 24$) from the negative site were also washed in sterile sea water and stored in RNA-later (see Table 1). All Chalimus were screened for presence of ISA virus RNA using real-time RT-PCR.

The adult lice that were kept in the culture chamber with constant temperature were incubated in the beakers for 0, 6, 12, 18, 24, 48, 72 and 120 hours in addition to the transportation time. The seawater in each beaker was replaced every day.

Nauplii (> 100) that hatched from the egg strings of the adult lice in the beakers were collected after 48 hours. Approximately 100 larvae were obtained from lice that originated from the negative site and 200 from the ISA virus positive site, respectively. Nauplii and copepodids were also collected directly at the two sites using a zooplankton net. Approximately 200 larvae were collected both on the outside and inside of the cages at the negative site, and the double amount from the positive site (see Table 1). All these nauplii and copepodids were analysed by real-time RT-PCR.

A subsample of adult lice from both the ISA positive and the ISA negative site, collected from the beakers at different time points, were cut in half with a clean scalpel and conserved in RNA-later for detection of ISA virus RNA (Table 1). These lice samples were screened at two different laboratories: in Chile (EWOS Innovation Chile) and in Norway (PatoGen Analyse AS). Another subsample of adult lice was collected for testing of ISA virion infectivity in cell culture and naive Atlantic salmon (Table 1). This sample was stored in cell culture media (Lebovitz L-15), frozen at −20 °C, and shipped to Norway on dry ice.

4. Infectivity tests

The frozen lice samples from each time point were homogenised (pools of five), sterile filtered and used in an attempt to culture the virus in cell cultures (ASK-cells) and naive Atlantic salmon (intraperitoneal injection). Heart tissues from the Atlantic salmon at the positive site in Chile were used as a positive control in the two infectivity tests (see Table 1). All the filtered homogenates were tested by real-time RT-PCR before the infectivity tests were carried out.

The lice homogenates were made by gently forcing pools of five sea lice through a 100 μm nylon cell-strainer (Falcon), using cell-culture medium (see type under) to flush the strainer. These homogenates were subsequently centrifuged at 5000 rpm at 4 °C followed by filtration of the supernatant through two filters (0.45 and 0.2 μm). The same procedure was used on the heart tissue. A total of seven homogenates were made and used as inocula on cell culture and for injection into naive salmon (see Table 1).

Atlantic salmon kidney cells (ASK-cells) were incubated with 0.2 mL of homogenate in wells (96 wells Nunc plate) at 15 °C, according to standard protocols (Devold et al., 2000). The ASK-cells were cultured in a Lebovitz L-15 cell culture medium with 5% fetal calf serum at 15 °C for 7–8 days, until cytopathic effect (CPE) was seen. Once the CPE was observed the supernatant was removed and analysed by real-time RT-PCR.

The challenge experiment on naive Atlantic salmon was carried out at the Industrial- and Aquatic laboratory (ILAB), located in Bergen, Norway. The experiment was conducted at 12 °C in full seawater in two separate tanks. The Atlantic salmon were supplied by a local producer, had an average weight of 101 g, and were fed according to appetite during the experiment. The fish were anaesthetised by Metacaine MS-222 before intraperitoneal (i.p.) injection of 0.2 mL inoculum. The control fish were i.p. injected with 0.2 mL of saline. To distinguish between different fish groups in the same tank the fish were marked by fin clipping (Table 2).

Table 2
Tanks and numbers of naïve Atlantic salmon challenged with different inocula. The inocula were homogenates of *C. rogercresseyi* that had been away from an ISA virus positive fish for different lengths of time: 0, 6, 12, 18, 24 and 48 hours and heart tissue from an ISA diseased fish. A total of 7 different inocula were used. There were five control fish in each tank, given saline water. A total of 50 fish were distributed in two tanks, 40 in tank one and 10 in tank two. The same inocula used in the challenge experiment were also used to inoculate ASK-cells.

Tank	Inoculum (i.p.) — homogenate	*N* fish
1	*Salmo Salar* Heart tissue	5
	C. rogercresseyi Time 0	5
	C. rogercresseyi Time 6	5
	C. rogercresseyi Time 12	5
	C. rogercresseyi Time 18	5
	C. rogercresseyi Time 24	5
	C. rogercresseyi Time 48	5
	Saline water	5
	Total	40
2	*C. rogercresseyi* Time 48	5
	Saline water	5
	Total	10

The fish groups in tank one were sampled at two different times: a) three fish sampled four days after challenge, and b) two fish after seven days. The fish in tank two and the control fish were all sampled at day seven. The fish were killed with a blow to the head and examined for signs of ISA pathology. Tissue samples, including gills, heart, and kidney, were collected in duplicate from each fish in separate tubes (Nunc) for real-time RT-PCR. For re-isolation of the virus subsamples of kidney and heart were collected in Falcon tubes. Samples for both real-time RT-PCR and virus re-isolation were directly frozen at −80 °C.

5. *C. rogercresseyi* as vector for ISA virus

ISA virus positive *C. rogercresseyi* were produced experimentally on Atlantic salmon suffering from ISA (ISA virus inoculum was provided by Diagnotec, Puerto Montt, Chile) to determine if they could transmit the virus to healthy Atlantic salmon. The lice positive for ISA virus were produced at the Experimental Facility of Fundación Chile in Puerto Montt, Los Lagos Region, Chile.

The challenge experiment included seven tanks with 30 ISA virus negative Atlantic salmon in each tank (Table 3). Lice positive for ISA virus were added to six of the tanks, while the seventh tank constituted the control group where ISA virus negative lice were added. During the challenge of naive salmon with the ISA virus positive lice the water volume in the tank was reduced and the seawater flow was stopped for 8 hours. During this period, approximately 450 *C. rogercresseyi*

Table 3
Tank distribution for the challenge study with *C. rogercresseyi* positive for ISA virus. Fish were infested with *C. rogercresseyi* positive for ISA virus that had been away from a host for different lengths of time: 0, 12 and 48 hours. There were two parallel tanks per time point, giving a total of 60 fish per lice sample. The last tank was the control group and was infested with *C. rogercresseyi* negative to ISA virus.

Tank no	Inoculum, time point	No fish
1	ISA virus positive *C. rogercresseyi*, Time 0	30
2	ISA virus positive *C. rogercresseyi*, Time 0	30
3	ISA virus positive *C. rogercresseyi*, Time 12	30
4	ISA virus positive *C. rogercresseyi*, Time 12	30
5	ISA virus positive *C. rogercresseyi*, Time 48	30
6	ISA virus positive *C. rogercresseyi*, Time 48	30
7	ISA virus negative *C. rogercresseyi*	30
	Total	210

were added to each of the six tanks. The water flow was slowly restarted and normal flow restored after 2 hours. During the infestation period, oxygen concentration was measured in order to ensure that it was not lower than 85% saturation. The sea water temperature during the experimental period was maintained at 15 °C. The lice had been carefully washed with flowing sterile water in a sieve before being added to the tanks.

Lice were added to tanks one and two directly after removal from the ISA virus positive salmon. The lice added to tanks three and four were kept in sterile seawater for 12 hours, while the lice in tanks five and six were kept in sterile seawater for 48 hours before being added to these tanks, respectively. Two days after the first challenge this procedure was repeated by adding more lice following the protocol described above for all tanks.

Gill and heart tissues from the challenged salmon were collected from moribund or dead fish. These samples were stored in 70% ethanol and analysed by real-time RT-PCR at EWOS Innovation laboratory, Chile.

5.1. Real-time RT-PCR

All real-time RT PCR analyses of the RNA-later preserved stages of *C. rogercresseyi* and fish tissues collected from the two farming sites were analysed by PatoGen Analyse AS (www.patogen.no) for presence of ISA virus RNA. This laboratory is an accredited real-time RT-PCR diagnostic laboratory in Norway. The assay used was UNIseg8 (Snow et al., 2006) with a cut-off at cycle threshold (Ct) 37. However, Ct-values above this level are also included in the results from this study. The endogenous control for the heart tissues and mucus was the Atlantic salmon (*Salmo salar*) elongation factor, $EF1A_A$ assay (Olsvik et al., 2005).

Real-time RT-PCR analysis on the rest of the material was conducted both at the Department of Biology at University of Bergen, Norway and at EWOS Innovation in Chile.

In Norway the RNA extractions from the heart tissues and *C. rogercresseyi* were conducted using TRIzol® Reagent (Invitrogen) as described by Devold et al. (2000). The real-time RT-PCR assay ISAV7, targeting segment 7, was used for detection of ISA virus RNA (Plarre et al., 2005). The endogenous control was the Atlantic salmon (*Salmo salar*) elongation factor, $EF1A_A$ assay (Olsvik et al., 2005). Verso™ 1-step QRT-PCR ROX Kit was used for the real-time RT-PCR assays, using the following modification for each reaction: 6.25 μL 5× buffer, 0.625 μL RT-Enhancer, 0.125 μL Enzyme mix, 2.0 μL template and DEPC treated water up to the final volume of 12.5 μL. Non-template controls and positive controls were used in all runs. The primer and probe volumes were adjusted to the optimised concentration for the assay. All analyses were performed in an ABI 7500 sequence detection system (Applied Biosystems). The reaction parameters were 15 minutes at 50 °C (reverse transcription), 15 minutes at 95 °C (polymerase activation step) followed by 45 cycles of 95 °C for 15 seconds (DNA-dissociation) and 60 °C for 1 minute (annealing and elongation). The threshold was fixed at 0.1 for all runs. No cut-off was used in the analysis.

In Chile the RNA was extracted using a combination of TRIzol® Reagent (Invitrogen) method and MagMAX™-96 for Microarrays Total RNA Isolation Kit (Ambion®). The TRIzol protocol was used up to the removal of the aqueous phase, when this phase was transferred to a tube containing magnetic beads. The rest of the extraction followed the MagMAX protocol. Real-time RT-PCR was performed using the UNIseg8 assay as described by Snow et al. (2006) with no cut-off. The primer and probe volumes were adjusted to the optimised concentration for the assay. The AgPath-ID™ One-Step RT-PCR kit, following the protocol as described by the manufacturer (Applied Biosystems), was used for analysis. The analysis was performed with that same detection system as in Norway, but the reaction was run at 10 minutes at 45 °C (reverse transcription), 10 minutes at 95 °C (polymerase activation step) followed by 45 cycles of 95 °C for 15 seconds (DNA-dissociation) and 60 °C for 45 seconds (annealing and elongation). The same threshold and controls (positive, negative and endogenous) were used at both laboratories.

5.2. RT-PCR and sequencing

Segment six from ISA viruses collected from Atlantic salmon at the positive site in Chile, from i.p. challenged Atlantic salmon in Norway, as well as from the virus used in the vector transmission experiment in Chile was sequenced.

RT-PCR was performed using Qiagen One-step RT-PCR kit (Qiagen) according to manufacturer's protocol, with the following modifications in the amplification: 35 cycles of 94 °C for 30 sec, 52 °C for 45 s and 72 °C for 1 minute. The primers used for RT-PCR and sequencing were published by Devold et al. (2001), Cunningham et al. (2002) and Vike et al. (in press). Sequencing was performed using BigDye® Terminator

Table 4
Real-time RT-PCR results from the Atlantic salmon tissues and different states of *C. rogercresseyi* collected from negative and positive sea sites. The results are presented as number analysed (*N*) and percentage positive for ISA virus RNA.

Species	Sample type	Site	rt RT-PCR N	Positive %	Fish challenge, *N*	Positive %
Salmo salar	Heart	Neg	45	Neg		
	Heart	Pos	126	91%	1	1/1
	Mucus	Pos	4	100%		
C. rogercresseyi	Nauplii/Copepodids - retained in lab	Neg	> 100	Neg		
	Nauplii/Copepodids - retained in lab	Pos	> 100	Neg		
	Nauplii/Copepodids - inside the cage	Neg	> 100	Neg		
	Nauplii/Copepodids - inside the cage	Pos	> 100	Neg		
	Nauplii/Copepodids - outside the cage	Neg	> 100	Neg		
	Nauplii/Copepodids - outside the cage	Pos	> 100	Neg		
	Chalimus Time 0	Neg	24	Neg		
	Chalimus Time 0 (not washed)	Pos	20	100%		
	Chalimus Time 0	Pos	20	100%		
	Adult Time 0	Pos	25	95%	5	5/5
	Adult Time 6	Pos	11	50%	5	5/5
	Adult Time 12	Pos	11	33%	5	5/5
	Adult Time 18	Pos	12	17%	5	5/5
	Adult Time 24	Neg	90	Neg		
	Adult Time 24	Pos	40	15%	5	5/5
	Adult Time 48	Neg	40	Neg		
	Adult Time 48	Pos	90	1%	5	5/5
	Adult Time 72	Neg	40	Neg		
	Adult Time 72	Pos	76	Neg		
	Adult Time 1 20	Neg	39	Neg		
	Adult Time 1 20	Pos	6	Neg		

v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem). All PCR products were sequenced in both directions. PCR products were purified with EZNA PCR cycle pure (Omega Biotech) and Illustra™ ExoStar™ 1-Step (VWR). Sequencing was performed at the sequencing facility at the University of Bergen (http://seqlab.uib.no/). Sequence data were analysed and assembled using VectorNTI software (Invitrogen).

6. Results

6.1. ISA virus associated with C. rogercresseyi – farm site collection

All lice stages and heart tissue samples collected at the negative site were negative for presence of ISA virus RNA (Table 4).

A total of 91% of the heart tissues and all mucus samples collected from salmon at the positive site tested positive for ISA virus RNA.

The *Caligus* spp. larvae, nauplii and copepodids, collected inside and outside the farming cages at the positive site were all negative for ISA virus. The larvae that hatched in the laboratory from the eggstrings of a *C. rogercresseyi* population that were 95% ISA virus RNA positive, were all negative.

The chalimus collected from the ISA virus positive salmon were all positive at time 0, and washing of these larval stages in sterile sea water did not change the prevalence of ISA virus positive chalimus. However, the average Ct-value (of 20 chalimus) increased from Ct 23.7 (not washed) to Ct 25.5 (washed) suggesting that some ISA virus was removed from these chalimus.

The adult stages of *C. rogercresseyi* from the positive site, which were kept in sterile sea water without a host for 120 hours, were found positive for ISA virus RNA up to 48 hours. The prevalence in these adult stages dropped from 100% to 1.0% after 48 hours (Table 4).

7. Infectivity tests

Seven homogenates made from adult *C. rogercresseyi* collected at different times after removal from their hosts (0, 6, 12, 18, 24 and 48) and heart tissue (positive control) from the positive site, were tested in cell-culture (ASK-cells) and injected intraperitoneal into salmon smolts (see Table 5).

Infective ISA virions were present in all seven homogenates (both the lice and heart) shown by cytopathic effect in cell cultures and ISA virus positive salmon (Table 2). The presence of ISA viruses in the cell cultures was confirmed by real-time RT- PCR on supernatant of the cultures.

Three of five salmon injected with homogenate from lice collected 48 hours after removal from the host tested positive for ISA virus. The control fish in both tanks remained negative throughout the experimental period of seven days. None of the positive salmonids, tested using real-time RT-PCR, showed any clinical signs of ISA at the termination of the experimental period (7 days).

ISA virus segment six, obtained from heart tissue of an Atlantic salmon challenged with homogenate from *C. rogercresseyi* at the 48 hours time point, was sequenced and identified. The sequence was identical to the segment six sequence of ISA virus in heart tissue (Atlantic salmon) from the ISA outbreak at the positive site in Chile (Accession no: KC905164).

7.1. C. rogercresseyi as vector for ISA virus

After naïve Atlantic salmon were challenged with *C. rogercresseyi* positive for ISA virus, the fish started to die between five and seven days after infestation in all groups (T0, T12 and T48), and after 16 days in the control group. However, the fish did not show any signs of ISA and the reason for the mortality was not determined. The fish in all the tanks showed an abnormal, restless, jumping behaviour that could be caused by the high level of *C. rogercresseyi* in the tanks. Segment six from ISA virus present in one salmon in group T48 was sequenced and found to be identical to the ISA virus used to produce the ISA positive *C. rogercresseyi*. Based on the identical sequences it was concluded that the ISA virus (Diagnotec isolate) was transmitted to the naive salmon via *C. rogercresseyi* that had been away from its host for 48 hours.

8. Discussion

Horizontal transmission of pathogens may occur from fish to fish directly by passive drift in water or indirectly via vectors or fomites. Transmission of ISA virus between Atlantic salmon has been demonstrated in tanks and in cages and also suggested to be a major risk factor for the dissemination of the virus between sea sites (Aldrin et al., 2011; Gustafson et al., 2007a; Jarp and Karlsen, 1997; Jones and Groman, 2001; Lyngstad et al., 2008; Mardones et al., 2009; McClure et al., 2005; Thorud and Djupvik, 1988; Vagsholm et al., 1994). The mechanisms behind waterborne transmission of ISA virus are not documented.

In a study by Vike et al. (in press) it is suggested that infectivity of ISA virions in sea water under natural conditions at a marine farming site is limited. The result of this study showed that the infectivity of ISA virions is lost within three hours of exposure to natural seawater or sterile seawater with UV radiation (simulating sunlight). Hence, it is likely that there is another mechanism involved in horizontal transmission between farming sites, since passive water transport over long distances seems unlikely.

The main result of this study is that *C. rogercresseyi* is capable of being a mechanical vector for ISA virus, just as *L. salmonis* is suggested to be (Nylund et al., 1993). The results indicate that *C. rogercresseyi* that has been away from its host for 48 hours still can transmit ISA virus to naive Atlantic salmon. This is shown both by i.p. injection of lice homogenates and with a natural challenge model, and confirmed by sequencing of the virus. The infectivity was also shown by cell-culture. Both the amount and prevalence of ISA virus RNA were

Table 5
Summary of the results from the infectivity experiments: cell-culture and fish challenge. The inocula used for both tests were homogenates from adult *C. rogercresseyi* (pools of five lice) from different time points after removal from their hosts (0, 6, 12, 18, 24 and 48) and heart tissue from the host, Atlantic salmon. The real-time RT-PCR results shown in percentages are from the same lice batch as the homogenate, but not the same lice.

		rt RT-PCR	Cell-culture		Fish challenge tank 1		Fish challenge tank 2
Homogenate/Inoculum	Incubation time in lab/name	Chile lab	CPE	rt RT-PCR	Positive fish 4 days	Positive fish 7 days	Positive fish 7 days
Salmo salar	Heart	100%	yes	pos	3/3	2/2	
C. rogercresseyi	Adult Time 0	95%	yes	pos	2/3	2/2	
	Adult Time 6	50%	yes	pos	0/3	2/2	
	Adult Time 12	33%	yes	pos	1/3	2/2	
	Adult Time 18	17%	yes	pos	2/3	1/2	
	Adult Time 24	17%	yes	pos	3/3	2/2	
	Adult Time 48	0	yes	pos	1/4	0/1	3/5
Control		neg	no	neg		0/8	0/5

decreasing the longer *C. rogercresseyi* was away from its host. This indicates that ISA virus is not replicating in the lice and hence, it is not likely that *C. rogercresseyi* is a biological vector.

It was not possible to detect any ISA virus positive *Caligus sp.* nauplius larvae or copepodids inside or outside the Atlantic salmon farming cage experiencing an ISA outbreak. Nor was it possible to detect ISA virus RNA in nauplii or copepodids retained in the lab, even if they were the offspring of an ISA virus positive *C. rogercresseyi* population. This indicates that ISA virus is not vertically transmitted from the adult *C. rogercresseyi* to nauplii. Based on these results it is not very likely that *Caligus* sp. nauplii or copepodids are vectors for ISA viruses.

As found by other authors (Nylund et al., 1994; Totland et al., 1996), mucus samples collected from ISA diseased Atlantic salmon were positive for ISA virus RNA, and it is likely that *C. rogercresseyi*, by feeding on this mucus, becomes a carrier of ISA virus. Washing of the *C. rogercresseyi* before real-time RT-PCR analysis increased the Ct-value by 2 on average, which is approximately equal to a 25% reduction. This indicates that the ISA virus is inside or somehow attached to the *C. rogercresseyi*.

In the present study we found that ISA virus can survive for at least 48 hours in *C. rogercresseyi* and be isolated from a naïve host. This gives the virus a potential for spreading between sites in the same current system/area. There is a great variability spatially and temporally in surface current speed (5 m deep) in salmon farming areas. Some areas have typical current speeds from 1 to 10 cm s^{-1}, while in more exposed sites the average current speed may exceed >40 cm s^{-1} (pers. com. Ingrid Ellingsen, SINTEF). Provided that the current is stable in one direction from one farming site to the next it will take a *C. rogercresseyi* approximately 48 hours at a speed of 10 cm s^{-1}, to cover a distance of 18.0 km.

For the salmonid industry this means that a co-infection with ISA virus and *C. rogercresseyi* increases the risk of transmission to neighbouring farms. During an ISA outbreak is it not unusual that only one cage becomes infected, and if this index cage is eliminated it is often possible to continue successful production in the remaining cages without any ISA symptoms. However, when *C. rogercresseyi* is present at the beginning of an ISA outbreak it is likely that the ISA virus will be spread faster to neighbouring cages and exacerbate the outbreak. In addition, it is likely that the host fish, Atlantic salmon, could be more susceptible to ISA virus due to the immunosuppressive effect of sea lice (Fast et al., 2004; Fast et al., 2007; Tadiso et al., 2011).

Acknowledgements

The authors want to thank PatoGen Analyse for helping with the real-time RT-PCR analysis, Heidun Plarre for assisting with sequencing, Lindsey Moore for proofreading the manuscript, Jorge Pino for real-time RT-PCR analysis and kindly sending samples to Norway and Diagnotec for supplying the ISA virus inocula for the challenge studies.

References

Aldrin, M., Lyngstad, T.M., Kristoffersen, A.B., Storvik, B., Borgan, O., Jansen, P.A., 2011. Modelling the spread of infectious salmon anaemia among salmon farms based on seaway distances between farms and genetic relationships between infectious salmon anaemia virus isolates. J. R. Soc. Interface. 8, 1346–1356.

Boxshall, G.A., Bravo, S., 2000. On the identity of the common Caligus (Copepoda: *Siphonostomatoida: Caligidae*) from salmonid netpen systems in southern Chile. Contrib. Zool. 69, 137–146.

Bravo, S., 2003. Sea lice in Chilean salmon farms. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 23, 197–200.

Bravo, S., 2010. Caligidae ectoparasites on farmed salmonids in Chile: classification, distribution, biology, control and resistance development, 65. Universidad Austral de Chile and Norwegian School of Veterinary Science.

Bravo, S., Erranz, F., Lagos, C., 2009. A comparison of sea lice, *Caligus rogercresseyi*, fecundity in four areas in southern Chile. J. Fish Dis. 32, 107–113.

Costello, M.J., 2009. The global economic cost of sea lice to the salmonid farming industry. J. Fish Dis. 32, 115–118.

Cunningham, C.O., Gregory, A., Black, J., Simpson, I., Raynard, R.S., 2002. A novel variant of the infectious salmon anaemia virus (ISAV) haemagglutinin gene suggests mechanisms for virus diversity. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 22, 366–374.

Dannevig, B.H., Falk, K., Namork, E., 1995. Isolation of the causal virus of infectious salmon anemia (ISA) in a long-term cellline from Atlantic salmon head kidney. J. Gen. Virol. 76, 1353–1359.

Devold, M., Krossoy, B., Aspehaug, V., Nylund, A., 2000. Use of RT-PCR for diagnosis of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in carrier sea trout *Salmo trutta* after experimental infection. Dis. Aquat. Org. 40, 9–18.

Devold, M., Falk, K., Dale, O.B., Krossoy, B., Biering, E., Aspehaug, V., Nilsen, F., Nylund, A., 2001. Strain variation, based on the hemagglutinin gene, in Norwegian ISA virus isolates collected from 1987 to 2001: indications of recombination. Dis. Aquat. Org. 47, 119–128.

EFSA, 2012. Panel on Animal Health and Welfare (AHAW); Scientific Opinion on infectious salmon anaemia. EFSA J. 10 (11), 2971. http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2971 (22 pp., http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/2971.pdf).

Ellis, A.E., Masson, N., Munro, A.L.S., 1990. A comparison of proteases extracted from *Caligus-elonggatus* (Nordmann, 1832) and lepophtheirus-salmonis (Krøyer, 1838). J. Fish Dis. 13, 163–165.

Evensen, Ø., Thorud, K.E., 1991. A morphological study of the gross and light microscopic lesions of infectious anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Res. Vet. Sci. 51, 215–222.

Fast, M.D., Ross, N.W., Craft, C.A., Locke, S.J., MacKinnon, S.L., Johnson, S.C., 2004. *Lepeophtheirus salmonis*: characterization of prostaglandin E-2 in secretory products of the salmon louse by RP-HPLC and mass spectrometry. Exp. Parasitol. 107, 5–13.

Fast, M.D., Johnson, S.C., Eddy, T.D., Pinto, D., Ross, N.W., 2007. *Lepeophtheirus salmonis* secretory/excretory products and their effects on Atlantic salmon immune gene regulation. Parasite Immunol. 29, 179–189.

Firth, K.J., Johnson, S.C., Ross, N.W., 2000. Characterization of proteases in the skin mucus of Atlantic salmon (*Salmo salar*) infected with the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) and in whole-body louse homogenate. J. Parasitol. 86, 1199–1205.

Gonzalez, L., Carvajal, J., 2003. Life cycle of *Caligus rogercresseyi*, (Copepoda: *Caligidae*) parasite of Chilean reared salmonids. Aquaculture 220, 101–117.

Gustafson, L., Ellis, S., Robinson, T., Marenghi, F., Merrill, P., Hawkins, L., Giray, C., Wagner, B., 2007a. Spatial and non-spatial risk factors associated with cage-level distribution of infectious salmon anaemia at three Atlantic salmon, *Salmo salar* L., farms in Maine, USA. J. Fish Dis. 30, 101–109.

Gustafson, L.L., Ellis, S.K., Beattie, M.J., Chang, B.D., Dickey, D.A., Robinson, T.L., Marenghi, F.P., Moffett, P.J., Page, F.H., 2007b. Hydrographics and the timing of infectious salmon anemia outbreaks among Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) farms in the Quoddy region of Maine, USA and New Brunswick, Canada. Prev. Vet. Med. 78, 35–56.

Hammell, K.L., Dohoo, I.R., 2005. Mortality patterns in infectious salmon anaemia virus outbreaks in New Brunswick, Canada. J. Fish Dis. 28, 639–650.

Hovland, T., Nylund, A., Watanabe, K., Endresen, C., 1994. Observation of infectious salmon anenia virus in Atalantic salmon, *Salmo Salar* L. J. Fish Dis. 17, 291–296.

Jarp, J., Karlsen, E., 1997. Infectious salmon anaemia (ISA) risk factors in sea-cultured Atlantic salmon *Salmo salar*. Dis. Aquat. Org. 28, 79–86.

Johnson, S.C., Treasurer, J.W., Bravo, S., Nagasawa, K., Kabata, Z., 2004. A review of the impact of parasitic copepods on marine aquaculture. Zool. Stud. 43, 229–243.

Jones, S.R.M., Groman, D.B., 2001. Cohabitation transmission of infectious salmon anemia virus among freshwater-reared Atlantic salmon. J. Aquat. Anim. Health 13, 340–346.

Kabata, Z., 2003. Copepods parasitic on fishes. Keys and notes for the identification of British species. Synopses of the British Fauna New Series, 47 i-viii 1–274.

King, A.M.Q., Adams, M.J., Carstens, E.B., Lefkowitz, E.J., 2012. Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Virus. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Virus. Elsevier Academic Press Inc., USA.

Krossoy, B., Hordvik, I., Nilsen, F., Nylund, A., Endresen, C., 1999. The putative polymerase sequence of infectious salmon anemia virus suggests a new genus within the Orthomyxoviridae. J. Virol. 73, 2136–2142.

Kvamme, B.O., Frost, P., Nilsen, F., 2004. The cloning and characterisation of full-length trypsins from the salmon louse *Lepeophtheirus salmonis*. Mol. Biochem. Parasitol. 136, 303–307.

Lyngstad, T.M., Jansen, P.A., Sindre, H., Jonassen, C.M., Hjortaas, M.J., Johnsen, S., Brun, E., 2008. Epidemiological investigation of infectious salmon anaemia (ISA) outbreaks in Norway 2003–2005. Prev. Vet. Med. 84, 213–227.

Mardones, F.O., Perez, A.M., Carpenter, T.E., 2009. Epidemiologic investigation of the re-emergence of infectious salmon anemia virus in Chile. Dis. Aquat. Org. 84, 105–114.

McClure, C., Hammell, K., Dohoo, I., 2005. Risk factors for outbreaks of infectious salmon anemia in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar*. Prev. Vet. Med. 72, 263–280.

Mjaaland, S., Rimstad, E., Falk, K., Dannevig, B.H., 1997. Genomic characterization of the virus causing infectious salmon anemia in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): an orthomyxo-like virus in a teleost. J. Virol. 71, 7681–7686.

Mordue, A.J., Birkett, M.A., 2009. A review of host finding behaviour in the parasitic sea louse, *Lepeophtheirus salmonis* (Caligidae: Copepoda). J. Fish Dis. 32, 3–13.

Nolan, D.T., Ruane, N.M., van der Heijden, Y., Quabius, E.S., Costelloe, J., Bonga, S.E.W., 2000. Juvenile *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer) affect the skin and gills of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and the host response to a handling procedure. Aquac. Res. 31, 823–833.

Nylund, A., Wallace, C., Hovland, T., 1993. The possible role of *Lepeophtheirus salmonis* (Kroyer) in the transmission of infectious salmon anaemia. In: Boxshall, G.A., Defaye, D. (Eds.), Pathogens of Wild and Farmed Fish: Sea Lice. Ellis Horwood Limited, UK.

Nylund, A., Hovland, T., Hodneland, K., Nilsen, F., Lovik, P., 1994. Mechanisms for transmission of infectitous salmon anemia (ISA). Dis. Aquat. Org. 19, 95–100.

Olsvik, P.A., Lie, K.K., Jordal, A.E.O., Nilsen, T.O., Hordvik, I., 2005. Evaluation of potential reference genes in real-time RT-PCR studies of Atlantic salmon. BMC Mol. Biol. 6.

Pike, A.W., Wadsworth, S.L., 2000. Sealice on salmonids: their biology and control. In: Baker, J.R., Muller, R., Rollinson, D. (Eds.), Advances in Parasitology, vol. 44, pp. 233–337.

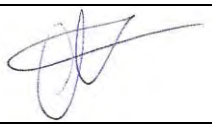
Pino-Marambio, J., Mordue, A.J., Birkett, M., Carvajal, J., Asencio, G., Mellado, A., Quiroz, A., 2007. Behavioural studies of host, non-host and mate location by the Sea Louse,

Caligus rogercresseyi Boxshall & Bravo, 2000 (Copepoda: Caligidae). Aquaculture 271, 70–76.
Plarre, H., Devold, M., Snow, M., Nylund, A., 2005. Prevalence of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in wild salmonids in western Norway. Dis. Aquat. Org. 66, 71–79.
Rolland, J.B., Nylund, A., 1998. Infectiousness on organic materials originating in ISA-infected fish and transmission of the disease via salmon lice (*Lepeophtheirus salmonis*). Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 18, 173–180.
Snow, M., McKay, P., McBeath, A.J., Black, J., Doig, F., Kerr, R., Cunningham, C.O., Nylund, A., Devold, M., 2006. Development, application and validation of a Taqman real-time RT-PCR assay for the detection of infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Atlantic salmon (*Salmo salar*). Dev. Biol. 126, 133–145.
Tadiso, T.M., Krasnov, A., Skugor, S., Afanasyev, S., Hordvik, I., Nilsen, F., 2011. Gene expression analyses of immune responses in Atlantic salmon during early stages of infection by salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*) revealed bi-phasic responses coinciding with the copepod-chalimus transition. BMC Genomics 12.
Thorud, K., Djupvik, H.O., 1988. Infectious anaemia in Atlantic salmon (*Salmo Salar* L.). Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol. 8, 109–111.
Totland, G.K., Hjeltnes, B.K., Flood, P.R., 1996. Transmission of infectious salmon anaemia (ISA) through natural secretions and excretions from infected smelts of Atlantic salmon *Salmo salar* during their presymptomatic phase. Dis. Aquat. Org. 26, 25–31.
Vagsholm, I., Djupvik, H.O., Willumsen, F.V., Tveit, A.M., Tangen, K., 1994. Infectious salmon anemia (ISA) epidemiology in Norway. Prev. Vet. Med. 19, 277–290.
Valdes-Donoso, P., Mardones, F.O., Jarpa, M., Ulloa, M., Carpenter, T.E., Perez, A.M., 2013. Co-infection patterns of infectious salmon anaemia and sea lice in farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* L., in southern Chile (2007–2009). J. Fish Dis. 36, 353–360.
Vike, Oelckers, Duesund, Erga, Gonzalez, Hamre, Frete, Nylund, 2013. Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus — infectivity in seawater under different physical conditions. J. Aquat. Anim. Health (in press).
Wagner, G.N., Fast, M.D., Johnson, S.C., 2008. Physiology and immunology of *Lepeophtheirus salmonis* infections of salmonids. Trends Parasitol. 24, 176–183.

ACTA REUNIÓN COORDINACIÓN PROYECTO FIPA N°2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"

21 de diciembre de 2015

I. ASISTENTES

Nombre	Organización	Firma
Michel Dapremontt	FIPA	
Maureen Alcayaga	Subpesca	
Carla Anguita	Sernapesca	
Karen Montecinos	Sernapesca	
Dr. Sergio Marshall G	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	
Alvaro Labra M.	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	
Macarena Jiménez J.	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	
Dannia Giménez C.	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	

II. TABLA DE LA REUNIÓN

- Revisión de minuta reunión anterior y acuerdos emanados de esta.
- Revisión de fechas propuestas para reuniones.
- Varios

III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Objetivo 1: Efectuar una revisión bibliográfica nacional e internacional respecto el estado del arte en relación al conocimiento de los patógenos *P. salmonis* e ISAV y las enfermedades que provocan. De acuerdo a lo planteado en éste objetivo, PUCV envió ambas fichas técnicas en sus versiones preliminares por correo electrónico el día 18 de diciembre 2015 para eventuales comentarios y/u observaciones, sin embargo, tanto SERNAPESCA como SUBPESCA solicitaron una semana de plazo para enviar comentarios.

Objetivo 2: Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por PS.
La PUCV plantea que el primer presupuesto solicitado a Fundación Chile escapa de las posibilidades del proyecto (60 millones de pesos). Dado lo anterior se tomó contacto con Sandra Bravo (Universidad Austral de Chile) para pedir una nueva cotización y se espera respuesta.
Por otra parte, SUBPESCA señala que otra alternativa que se puede considerar es Gladys Asencio (Centro I-Mar).
FIPA señala que existe la posibilidad que siendo debidamente fundado podría aumentarse el presupuesto. Además pregunta sobre plan de contingencia en caso de que todos los presupuestos superen los montos con que se dispone para este objetivo.
PUCV indica que si no se puede aumentar presupuesto, se hará una reducción del número de análisis, sin comprometer el cumplimiento de los objetivos.

Objetivo 3: Evaluar el rol epidemiológico del parásito Caligus rogercresseyi en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAv.
PUCV expone la propuesta de investigación "Impacto potencia del azametifos en la prevalencia de ISAV en poblaciones de peces en cultivo". Por su parte SUBPESCA Y SERNAPESCA indican que estudiarán dicho planteamiento e informarán su decisión con respecto de incluir o rechazar la idea.
Por otro lado PUCV solicita información a SERNAPESCA de centros que hayan tratado con azametifos y se hayan presentado virus ISA y/o virus ISAV HPR0. La entrega de esta información deberá ser solicitada mediante carta formal y la entrega de esta información será evaluada por el Servicio e informada.
FIPA insiste que si se debe aumentar presupuesto para éste ítem (objetivo 2 y 3), se solicite mediante carta formal acompañada de un mail.

Objetivo 4: Evaluar métodos de diagnóstico para los patógenos ISAV y PS utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico del Servicio y por entidades de investigación en caso de ser requerido, en especial para la cepa HPR-0.
SERNAPESCA solicita fechas y costos de realización de ring test establecidos. A ello PUCV indica:

- 1er. Ring Test se realizará en junio 2016, para *P.salmonis.*
- 2do. Ring Test se realizará noviembre 2016, para ISAV.
- 3er. Ring Test se realizará marzo 2017, para ISAv HPR0.

Asimismo respecto a los costos se señala que están directamente relacionadas con los objetivos de cada uno de estos, por lo que es necesario definirlos en la reunión acordada en marzo.
FIPA, indica que se puede solicitar modificación de plazos a través de carta formal.

Objetivo 5: Evaluar y desarrollar técnicas de aislamiento, propagación y mantención de cepa HPR0 de ISAv en cultivos celulares y realizar investigación para mejorar resultados
PUCV da a conocer el "Diseño de estrategia para cultivo de ISAv HPR0" y a su vez plantea la falta de muestras para la realización de éstas actividades.
Sernapesca indica que si bien hay centros positivos a HPR0, las muestras tomadas por el Servicio a fin de ser enviadas a la PUCV para efectos de este estudio, han resultado negativas. y que no cuenta con los recursos necesarios para la realización de muestreos y posterior envío de tejidos a PUCV en este momento del año. Además solicita el envío de material de muestreo a las oficinas regionales. Al mismo tiempo que solicita revisar el presupuesto del proyecto para analizar la posibilidad de contar con un CCS para los muestreos.
Por otro lado FIPA indica que si existe un atraso de los resultados por falta de muestras, se puede aplazar todo el proyecto, siempre y cuando se haga llegar carta formal explicando lo sucedido.
PUCV señala que no ha tenido respuesta a las cartas enviadas para solicitar formalmente las muestras, las que fueron enviadas el día 16 de noviembre pasado.

Objetivo 6: Analizar muestras en laboratorio para el diagnóstico de ISAv y PS, de acuerdo a necesidad de la Autoridad sectorial.
PUCV da a conocer cantidades de muestras que se pueden analizar según presupuesto entregado a éste objetivo.
Las cantidades son tanto para ISAV como para *P. salmonis* un mínimo 10 y un máximo 30 muestras.
Los análisis considerados son:

- ISAV Dx + qRT-PCR HPR0 + SEC (Seg6 y Seg5)
- *P. salmonis* Dx + qPCR (ChaPs) + Cultivo + SEC

Objetivo 7: Realizar una capacitación de profesionales en diagnóstico clínico o molecular de la enfermedad ISA y PS.
La PUCV indica que se realizará un programa de capacitación en el segundo semestre de 2016 y propone a SERNAPESCA que se realice en la misma fecha en que se desarrolla el Taller de Acuicultura. Lo anterior para aprovechar que los profesionales de las distintas regiones, se encuentran reunidos.

Varios

PUCV solicita a FIPA, comprobante de depósito escaneado con timbre del banco.
PUCV indica que las cartas enviadas no han sido respondidas. FIPA señala una vez se reúna el consejo, se darán las respuestas necesarias.

IV. ACUERDOS

Objetivo 1:

- La autoridad sectorial enviará comentarios y observaciones de las fichas técnicas enviadas por PUCV. Estas observaciones se enviarán en la semana de 4 de enero 2016.

Objetivos 2 y 3:

- SERNAPESCA y SUBPESCA deben responder sobre la aceptación o rechazo de la propuesta "Impacto potencia del azametifos en la prevalencia de ISAv en poblaciones de peces en cultivo", expuesta por PUCV.
- De ser aceptada la propuesta la PUCV deberá solicitar mediante carta formal la información necesaria para realizar el estudio.

Objetivo 4:

- Se realizarán 3 Ring Test en las siguientes fechas:
    - 1er. Ring Test se realizará en junio 2016, para *P.salmonis*.
    - 2do. Ring Test se realizará noviembre 2016, para ISAV.
    - 3er. Ring Test se realizará marzo 2017, para ISAV HPR0.

Objetivo 5:

- PUCV debe enviar lo antes posible material de muestro para ISAV y *P. salmonis* a SERNAPESCA. (bolsas tipo ziploc y bloques refrigerantes).

Objetivo 6:

- No hay observaciones al número de muestras propuesto.

Objetivo 7:

- El programa de capacitación se realizará el segundo semestre 2016 y la propuesta con contenidos será entregada para la reunión de marzo de 2016**.**

Reuniones:

- Próxima reunión se establece para el día 21 de marzo del 2016 a las 9:30 horas en las dependencias SUBPESCA.

2da Reunión de Coordinación Proyecto FIPA-2015 SUBPESCA – SERNAPESCA – PUCV

INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMON Y PISCIRICKETTSIOSIS.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

21 de Diciembre de 2015

Tabla de la Reunión

- Revisión acuerdos de reunión anterior
- Avances Carta Gantt
- Varios

Revisión acuerdos de reunión anterior

Acuerdos:

- **Objetivo 1:**
- La PUCV envió las fichas técnicas de las enfermedades → Comentario versiones de trabajo
- Las fichas técnicas serán parte del proyecto de centro de enfermedades.

- **Objetivos 2 y 3:**
- Se empleará la misma metodología del estudio presentado de ISAV para evaluar el rol del Caligus en piscirickettsiosis. → Cotización por 60 millones de pesos → evaluando otras alternativas (Sandra Bravo)
- Para el caso de ISAV la PUCV diseñará una propuesta de investigación que cubra aspectos no abordados por el estudio presentado. → propuesta "Impacto potencia del **azametifos** en la prevalencia de ISAV en poblaciones de peces en cultivo"
    - Información de gabinete → Sernapesca
    - Prueban "*in vitro*" → PUCV

- **Objetivo 4:**
- Se realizarán 3 ring test en el periodo, uno para *P. salmonis*, uno para ISAV y uno específico para ISAV HPR0.
- Se realizaran distribuidos durante el primer y segundo semestre del 2016 y el tercero el primer semestre del 2017.
- Los costos de estos ensayos deberán ser cubiertos por los laboratorios participantes.
- Los objetivos serán consensuados entre Subpesca, Sernapesca y PUCV y de acuerdo a ello la PUCV diseñará los ensayos.
- La primera reunión para la definición de objetivos será en marzo de 2016.

Revisión acuerdos de reunión anterior

Acuerdos:

- **Objetivo 5:**
- Las 3 metodologías propuestas son aceptadas (modificaciones nutricionales, regulación catalítica y uso de nuevas líneas celulares). → Propuesta
- PUCV debe preparar y enviar a Sernapesca y Subpesca una solicitud formal de muestras positivas a ISAv HPR0 indicando las condiciones en las que deben ser enviadas las muestras. → enviadas el día 16 de noviembre y sin respuesta
- Con esta solicitud tanto Sernapesca como Subpesca gestionarán con la industria, Intesal y laboratorios de diagnóstico privados el envío de muestras que cumplan con las características solicitadas (ISAV HPR0 positivas).

- **Objetivo 6:**
- El esquema de análisis propuesto es aceptado.
- La PUCV enviará una planilla de costos de cada uno de los análisis en diferentes escenarios para hacer una estimación del número de muestras que se podrán analizar y estudiar las posibilidades para aumentar ese número. → Planilla de costos con diversos escenarios

- **Objetivo 7:**
- El programa de capacitación propuesto es aceptado → segundo semestre 2016
- La PUCV deberá enviar los detalles del programa con anticipación para coordinar las fechas y números de alumnos.

Revisión acuerdos de reunión anterior

Acuerdos:

- **Reuniones:**
- Próxima reunión se establece para el día 21 de diciembre del 2015 a las 9:30 horas en las dependencias SUBPESCA. → Próxima reunión Marzo 2016

- **Informes:**
- El ítem planificación de futuras actividades en los informes solo se incluye cuando hay modificaciones de la planificación original.
- Michell Dapremontt realizará las averiguaciones pertinentes para evaluar la realización de actividades entre el mes 18 y 21.
- La evaluación y aprobación de los informes de avance demoran alrededor de 1 mes y el plazo de 90 días hábiles que aparece en el contrato no es correcto.

- **Otros:**
- El CD que se hace mención en la cláusula sexta del contrato no existe y se trata de un error de tipeo.
- Al término del proyecto, PUCV debe entregará al menos un borrador de una publicación científica.
- Cualquier duda que exista, debe ser aclarada vía mail, con copia a todos los integrantes del SERNSPESCA Y SUBPESCA.

Actividad / Mes	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Sep	Oct	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Revisión bibliográfica: estado del arte de PS e ISAv y las enfermedades que provocan																					
Búsqueda de Documentos nacionales																					
Búsqueda de documentos internacionales																					
Búsqueda de actas de congresos																					
Revisión de Información																					
Desarrollo de Ficha técnica de cada enfermedad																					
Diseño y validación de alternativas de diagnóstico de ISAV y *P. salmonis* desde Caligus																					
Evaluar alternativas de extracción de material genético desde Caligus																					
Evaluar alternativas de diagnóstico a partir del RNA recuperado para ISAV y PS																					
Evaluar variaciones necesarias por estados de desarrollo																					
Validación de técnicas																					
Evaluación de la infección o contaminación de caligus con virus ISA																					
Aclimatación e infección de peces																					
Infestación de peces con Caligus																					
Muestreo de Caligus																					
Evaluación de Caligus																					
Evaluación de la infección o contaminación de caligus con *P.salmonis*																					
Aclimatación e infección de peces																					
Infestación de peces con Caligus																					
Muestreo de Caligus																					
Evaluación de Caligus																					
Evaluación de la infectividad de ISAV y *P. salmonis* recuperado de Caligus infectados																					
Selección de muestras																					
Preparación de las muestras																					
Infección de cultivos																					
Monitoreo y evaluación de cultivos																					
Evaluación de presencia y expresión de ISAV y *P. salmonis* en etapas de vida libre de Caligus																					
Muestreo																					
Análisis de muestras																					
Evaluación de métodos diagnósticos para ISAV y *P. salmonis*																					
Definición de objetivos																					
Diseño del ensayo																					
Preparación y evaluación preliminar de muestras																					
Preparación y evaluación definitivas de muestras																					
Diseño de instrucciones de análisis y Envío de muestras																					
Recepción y análisis de resultados																					
Informe de resultados																					
Aislamiento ISAv HPR0																					
Diseño de un estudio para el aislamiento de ISAv HPR0																					
Aplicación de la o las metodologías para el aislamiento de ISAv HPR0																					
Análisis de Muestras																					
Definición de metodologías de análisis																					
Análisis de Muestras																					
Capacitación de Profesionales en Diagnóstico Molecular de ISA y *P. salmonis*																					
Diseño y propuesta de un programa de capacitación																					
Elaboración de nómina de alumnos																					
Elaboración y selección del material de apoyo																					
Desarrollo de la actividad teórica																					
desarrollo de la actividad practica																					
Evaluación																					
Informes																					
Primer informe de avance																					
Segundo informe de avance																					
Pre-informe final																					
Informe final																					
Talleres, Reuniones y Difusion																					
Reunion inicial de coordinacion																					
Reuniones de avance de proyecto																					
Reuniones internas																					
Taller de difusion de resultados																					

Diseño de estrategia para cultivo de ISAV HPR0

- **Objetivo general:** Establecimiento y mantención "*in vitro*" la Infección con ISAV variante HPR0.
- **Objetivos específicos:**
  - Evaluación la capacidad infectiva *in vitro* de distintas variantes de ISAV, bajo condiciones de limitación nutricional.
  - Evaluación la capacidad infectiva *in vitro* de distintas variantesde ISAV, bajo condiciones de regulación catalítica.
  - Evaluación la capacidad infectiva *in vitro* de HPR0, utilizando nuevas alternativas de líneas celulares.

Diseño de estrategia para cultivo de ISAV HPR0

Marco teórico:

- Nuestras investigaciones demuestran que algunos componentes virales diferentes al HPR afectan la capacidad del sistema infectivo en sistemas heterólogos → modificando algunas condiciones especificas del cultivo se podría lograr una mejor eficiencia de infección con ISAV HPR0

Diseño de estrategia para cultivo de ISAV HPR0

Metodología:

- **Experimento 1:**
  - Aislamiento y purificación de ISAV HPR0 a partir de muestras de campo
  - Infección de células ASK-1 condiciones estándar
  - Cada 15 días se realizará un pasaje celular y se testeará el cultivo por qRT-PCR y secuenciación.

- **Experimento 2:**
  - Infección de células en condiciones estándar pero modificando la cantidad de suero presente en el medio de cultivo en forma previa y/o posterior a la infección. Los rangos de modificación incluirán desde la eliminación hasta varias veces la cantidad normal.
  - Evaluación cinética mediante qRT-PCR utilizando el método de $(2^{-\Delta\Delta ct})$
  - En caso de resultados que lo permitan se realizará secuenciación de material genético.

Diseño de estrategia para cultivo de ISAV HPR0

Metodología:

- **Experimento 3:**
  - Infección de células en condiciones estándar pero modificando enzimas especificas del virus y/o la célula, usando compuestos químicos diseñados específicamente con estos fines.
  - Evaluación cinética mediante qRT-PCR utilizando el método de (2-ΔΔct)
  - En caso de resultados que lo permitan se realizará secuenciación de material genético.

- **Experimento 4:**
  - Infección de nuevas líneas celulares en condiciones adecuadas para el desarrollo de las células y además para el crecimiento del virus.
  - Evaluación mediante qRT-PCR y aparición de ECP.
  - En caso de resultados que lo permitan se realizará secuenciación de material genético.

Numero de Análisis de Muestras Incluidos en el Proyecto

- ISAV y *P. salmonis* → mínimo 10, máximo 30.

- Análisis considerados:

  - ISAV → Dx + qRT-PCR HPR0 + SEC (Seg 6 y Seg 5)

  - *P. salmonis* → Dx + qPCR (ChaPs) + Cultivo + SEC

Varios

- Comprobantes de Transferencias de Fondos
- No hay respuesta de las cartas para conseguir muestras y no hay muestras

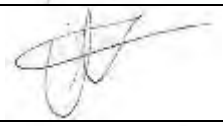
ACTA 3° REUNIÓN COORDINACIÓN PROYECTO FIPA N°2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"

Reunión no realizada dado que la fecha propuesta se pospuso en tres ocasiones debido a la contingencia sanitaria/ambiental vivida a causa de las Floraciones de Algas Nocivas (FAN).

ACTA REUNIÓN COORDINACIÓN PROYECTO FIPA N°2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"

16 de Junio de 2016

I. ASISTENTES

Nombre	Organización	Firma
Michel Dapremontt	FIPA	
Morín Alcayaga	Subpesca	
Marcela Lara	Sernapesca	
Carla Anguita	Sernapesca	
Karen Montecinos	Sernapesca	
Dr. Sergio Marshall G	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	
Alvaro Labra M.	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	
Macarena Jiménez J.	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	
Dannia Giménez C.	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	

II. TABLA DE LA REUNIÓN

- Revisión de minuta reunión anterior y acuerdos emanados de esta.
- Avances del proyecto (carta Gantt)
- Nuevas propuestas
- Calificación Técnica Informe de Avance
- Otros

III. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

REVISIÓN DE MINUTA REUNIÓN ANTERIOR Y ACUERDOS EMANADOS DE ÉSTA.

Objetivo 1 Efectuar una revisión bibliográfica nacional e internacional respecto el estado del arte en relación al conocimiento de los patógenos PS e ISAv y las enfermedades que provocan.
ACUERDO: La autoridad sectorial enviará comentarios y observaciones de las fichas técnicas enviadas por PUCV. Estas observaciones se enviarán en la semana de 4 de enero 2016.
PUCV indica que las fichas técnicas propuestas fueron enviadas a las contrapartes técnicas (Sernapesca y Subpesca) en los plazos establecidos y no se recibieron comentarios ni observaciones al respecto, por lo que se subentiende que había acuerdo con lo propuesto. (Calificación del informe de avance dice lo contrario). Al respecto el Departamento de Acuicultura señala que la opinión de ellos forma la contraparte técnica, pero su opinión acerca de algún tópico no es reflejo de la opinión del evaluador externo.
SUBPESCA, apoya dicha postura señalando que “que la contra-parte técnica esté de acuerdo no quiere decir que el evaluador externo lo esté”.
Además FIPA señala que todas las observaciones que se hagan en reunión, sean incluidas en el informe de avance del proyecto. En ésta misma línea, indica que el Consejo FIPA reprueba el 1er Informe de Avance basado en los argumentos expuestos por el evaluador externo.

Objetivo 2: Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por PS.
Objetivo 3: Evaluar el rol epidemiológico del parásito Caligus rogercresseyi en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAv.
ACUERDOS: SERNAPESCA y SUBPESCA deben responder sobre la aceptación o rechazo de la propuesta “Impacto potencia del azametifos en la prevalencia de ISAv en poblaciones de peces en cultivo”, expuesta por PUCV.
De ser aceptada la propuesta la PUCV deberá solicitar mediante carta formal la información necesaria para realizar el estudio.
PUCV señala que SERNAPESCA rechazó la propuesta indicando que es un tema delicado para ser abordado tan superficialmente como lo permitirían los fondos.

FIPA recalca la importancia de entregar carta formal por parte de la PUCV para proponer modificaciones del proyecto, sobre el objetivo N°2 y N°3. Además indica que hoy jueves 16 se debe enviar carta junto con e-mail a FIPA, solicitando modificación del objetivo N°3, comprometiendo a entregarla al comité la próxima vez que se reúnan.

SUBPESCA indica que en la carta se debe incluir un cuadro comparativo, con sus respectivos resultados, de la metodología propuesta y la metodología ya aprobada en el proyecto. Además FIPA indica que el cambio propuesto se debe justificar muy bien desde el punto de vista científico.

Objetivo 4: Evaluar métodos de diagnóstico para los patógenos ISAV y PS utilizados por la red de laboratorios de diagnóstico del Servicio y por entidades de investigación en caso de ser requerido, en especial para la cepa HPR-0.
ACUERDO PUCV indica que según conversaciones de la reunión anterior, las fechas de los Ring Test sería la siguiente:

- 1er. Ring Test se realizará en junio 2016, para P.salmonis.
- 2do. Ring Test se realizará noviembre 2016, para ISAV.
- 3er. Ring Test se realizará marzo 2017, para ISAV HPR0

A raíz de lo anterior, SERNAPESCA propone cambio de fechas y orden de cada uno de los ensayos de inter-comparación. Este cambio lo propone en base a los costos que deberán asumir los laboratorios de la red al obligarlos a participar, por una parte en Ring Test a cargo del proyecto PUCV y por otro lado a Ring Test organizados en otros proyectos. A ello indica:

- 1er. Ring Test se realizará en abril 2017, para *P.salmonis.*
- 2do. Ring Test se realizará en julio 2016, para ISAV.
- 3er. Ring Test se realizará marzo 2017, para ISAv HPR0.

Asimismo respecto a la realización del Ring Test para *P.salmonis*, propone eliminarlo.

A lo anterior, FIPA y SUBPESCA indican que esto último es muy complejo, ya que se debería reestructurar el proyecto en términos presupuestarios, y ese tipo de cambios es difícil que el comité los acoja.

SERNAPESCA refuerza que el calendario propuesto anteriormente para la realización de las actividades de Ring Test está bien e indica que no es necesario aplazar los ring test ya que se entregara el calendario con anticipación a los laboratorios de la red.

PUCV plantea que tal vez el 3er Ring Test, para *P.salmonis*, se realice entre el mes 18 y 21 del proyecto. A esto FIPA indica que si producto de ello, se aplazará el proyecto, no habría problemas siempre y cuando estén dentro del tiempo reglamentado. A su vez PUCV indica que el

aplazamiento involucra 2 o 3 meses que no se encuentran cubiertos
con los recursos entregados, por tanto sería difícil poder pagar sueldos. FIPA sostiene que el recurso para cubrir los meses de aplazamiento debe ser asumido por PUCV.

Objetivo 5: Evaluar y desarrollar técnicas de aislamiento, propagación y mantención de cepa HPR0 de ISAv en cultivos celulares y realizar investigación para mejorar resultados.
ACUERDO PUCV debe enviar lo antes posible material de muestro para ISAV y P. salmonis a SERNAPESCA. (bolsas tipo ziploc y bloques refrigerantes).
PUCV indica que éste material fue enviado el día 6 de enero 2016 y menciona el déficit de muestras.
Sernapesca indica que se tomaron muestras y no fueron enviadas dado que resultaron negativas a ISAv, según lo acordado en reuniones anteriores.
Con respecto a esto se indica que se entiende la priorización de recursos a actividades relacionadas con la contingencia FAN durante el primer semestre del año. A su vez pregunta ¿Qué se puede hacer ante la posibilidad de seguir obteniendo resultados negativos en las muestras? A ello PUCV responde que si las muestras se detectan negativas, de igual manera esto forma parte de los resultados obtenidos. Por otro lado SUBPESCA apoya ésta postura.
De lo anterior, SERNAPESCA se compromete a enviar todas las muestras obtenidas, no importando si éstas salen resultan negativas a HPR0.

Objetivo 6: Analizar muestras en laboratorio para el diagnóstico de ISAv y PS, de acuerdo a necesidad de la Autoridad sectorial.
ACUERDO No hay observaciones al número de muestras propuesto.
PUCV indica que se han realizado e informado los análisis según lo propuesto.
FIPA, SUBPESCA Y SERNAPESCA no objetan dicha observación.

Objetivo 7: Realizar una capacitación de profesionales en diagnóstico clínico o molecular de la enfermedad ISA y PS.
ACUERDO El programa de capacitación se realizará el segundo semestre 2016 y la propuesta con contenidos será entregada para la reunión de marzo de 2016.
PUCV señala que el programa de capacitación fue incluido en el informe de avance.

SERNAPESCA indica que el programa de capacitación planificado en el proyecto ya no se podrá realizar en la capacitación organizada por ellos. Queda pendiente definir fecha de capacitación.

FIPA y SUBPESCA no tienen comentarios al respecto.

Varios

FIPA plantea la posibilidad de que la consultora mediante envío de carta formal solicite una reunión con jefatura para tratar todas las modificaciones que se proponen.

Además se indica que debido al retraso que significa la reprobación del primer informe de avance (incluida su evaluación), es probable que se modifiquen los plazos para la entrega del informe siguiente, lo que será debidamente informado por FIPA.

También plantea que para entregar el 2do. Informe de Avance, se deber aprobar el 1ero. con las correcciones involucradas. En base a lo anterior se indica que FIPA debe entregar una nueva fecha para entregar el 2do. Informe de Avance. Esta fecha será enviada a PUCV a través de carta formal.

IV. ACUERDOS

Objetivo 1:

- No hay acuerdos.

Objetivos 2 y 3:

- PUCV enviará lo antes posible carta formal a FIPA proponiendo los cambios para el objetivo N°3.

Objetivo 4:

- PUCV realizará 3 Ring Test en las siguientes fechas, cambiando el orden propuesto
    - 1er. Ring Test se realizará en abril 2017, para *P.salmonis*.
    - 2do. Ring Test se realizará en julio 2016, para ISAV.
    - 3er. Ring Test se realizará marzo 2017, para ISAV HPR0.
- SERNAPESCA entregará con anticipación la calendarización de la realización de Ring Test a los laboratorios de la red.

Objetivo 5:

- PUCV debe enviar a SERNAPESCA lo antes posible material de muestro solicitado para muestreo de caligus.

Objetivo 6:

- No hay observaciones al número de muestras propuesto.

Objetivo 7:

- No hay acuerdos

Otros

- FIPA indica que mientras antes se entrega el 1er.Informe de Avance corregido por parte de la PUCV, antes se inicia el proceso de evaluación.

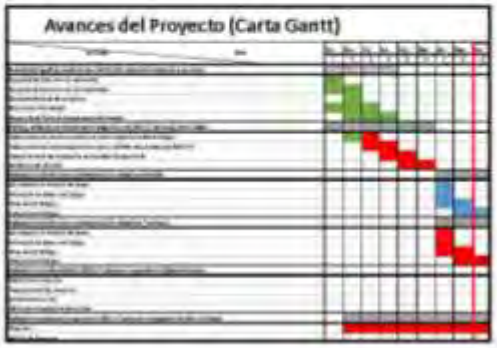
Anexos


4ª Reunión de Coordinación Proyecto FIPA-2015
SUBPESCA – SERNAPESCA – PUCV
INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMON Y PISCIRICKETTSIOSIS.


Tabla de la Reunión
Otros.


Acuerdos Reunión Anterior


Acuerdos Reunión Anterior


Avances del Proyecto (Carta Gantt)


Avances del Proyecto (Carta Gantt)

Avances del Proyecto (Carta Gantt)

- [illegible] extracción de RNA desde Caligus para kits y los muestras obtenidas llegar a la sección.
- [illegible] en conversaciones con Sanidad Animal para el cumplimiento del objetivo 2.
- No se han recibido muestras de Caligus en etapa de vida libre.
- Con los ingresos existe un pequeño retraso para optar en invierno.
- Cultivo de HPRD → no se han recibido muestras para se ha trabajado con material propio del laboratorio.
- Segundo informe de avance → no ha sido entregado ya que se atrasó de recibir (13 de junio) la calificación técnica correspondiente al primer informe de avance.

Nuevas Propuestas

Objetivos 2 y 3:

- No realizar el objetivo 3 y reasignar los recursos destinados a este para el cumplimiento del objetivo 2.

Objetivo 4.

Modificación de montos y fechas de testing final:

- ISAV → julio – agosto 2018
- ISAV HPRD → diciembre 2018
- IP. salmonis → Mayo 2018

Corrección de Informe de Avance 1.

- Entregar en el plazo el informe de avance 2 considerando las correcciones del 1.
- Entrega de los resultados

Calificación Técnica de Informe de Avance

Plazos de contenido:

- [illegible] (30 días hábiles) (artículo 15.1 letra a)
- En el contrato dice 90 días (durante el mismo año cada párrafo 1)
- Minuta de la primera reunión 3 meses (durante) Informes)
- Informe entregado 21 de marzo y la calificación recibida el 13 de junio (59 días hábiles)

Aspectos formales:

- Se exige un formato único para el informe, siendo que en el proyecto anterior se había consensuado con Subpesca hacer una modificación de ítem debido a la gran cantidad de objetivos y actividades.
- Se puede incluir información de gabinete contenida en la oferta técnica que se considere redundante.

Calificación Técnica de Informe de Avance

Aspectos de contenido:

a) Desarrollo del proyecto:
- Objetivo 1:
  - [illegible]
  - [illegible]
  - [illegible]
- Objetivo 2 y 3:
  - [illegible]

b) Plan de actividades:

c) Equipo de trabajo:
- Cumplimiento del equipo técnico [illegible]
- En el [illegible] del informe de avance (pág. 9) se entrega una tabla que indica el personal participante por cada una de las actividades y las horas establecidas en ella.

Calificación Técnica de Informe de Avance

Base de datos:

- La información generada no corresponde al avance en base de información del proyecto.

Informe de Calificación Técnica (D.A.L.) N° 202.

- Se exige un formato único para el informe, siendo que en el proyecto anterior se había consensuado con Subpesca hacer una modificación de ítem debido a la gran cantidad de objetivos y actividades.
- Se puede incluir información de gabinete contenida en la oferta técnica que se considere redundante.

Otros

1. Carta de presentación del proyecto (algo similar) [illegible] laboratorios y entidades de investigación.

2.

3.

ACTA REUNIÓN COORDINACIÓN PROYECTO FIPA N°2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"

09 de Abril de 2018

I. ASISTENTES

Nombre	Organización	Firma
Luis Carroza	Subpesca FIPA	
Malu Zavando	Subpesca FIPA	
Alejandro Barrientos	Subpesca División Acuicultura	
Maureen Alcayaga	Subpesca División Acuicultura	
Patricio Medina	Sernapesca Depto. Salud Animal	
Alvaro Labra M.	Laboratorio Patógenos Acuícolas –NBC PUCV	

II. TABLA DE LA REUNIÓN

- Revisión del documento de evaluación del Informe Final

III. ANÁLISIS, DISCUSIÓN Y ACUERDOS

1. Capacitación:

   1.1. Es necesario que las fechas, contenidos y duración del curso sean acordados con la contraparte técnica (Subpesca) y considerando la participación del personal de Sernapesca.

   1.2. Los contenidos del programa incluirán un capítulo teórico de ISAV, *P. salmonis* y técnicas de diagnóstico y practico sobre RT-qPCR para el diagnóstico de estos patógenos.

   1.3. La capacidad máxima será de 10 alumnos y debe considerarse que el personal Subpesca solo asistirá a las clases teóricas y no a las prácticas mientras que los profesionales de Sernapesca, asistirán a tanto a los módulos teóricos como prácticos.

   1.4. El curso debe realizarse en 2 días manteniendo las mañanas teóricas y las tardes prácticas. El consultor, indica que la disponibilidad son los días jueves y viernes.

   1.5. Las fechas deben ser modificadas para que tanto Subpesca como Sernapesca tengan disponibilidad y por tanto ellos en conjunto serán los que propongan una fecha.

   1.6. Entendiendo que la capacitación es un proceso paralelo a la realización de los Ring Test, se propone que ésta se planifique desde ya, independientemente de las fechas de realización de los ring test.

2. Ring Test:

   2.1. Para ambos es requisito indispensable que se recupere la acreditación ISO del Laboratorio.

   2.2. Ambos deben ser realizadas como actividades oficiales y por lo anterior contar con la coordinación previa del Servicio.

   2.3. En el caso del HPR0 debe realizarse utilizando para ello amplicones del Seg 8 más amplicones de la región HPR.

3. Las realizaciones de todas las actividades a excepción de la capacitación están supeditadas a la recuperación de la acreditación por parte del laboratorio.

4. Una vez recuperada la acreditación debemos coordinar una reunión (Subpesca - FIPA-Sernapesca - PUCV) para planificar y calendarizar las actividades.

5. El consultor debe responder, en la nueva versión del informe final, las observaciones de la evaluación que realizó la División de Acuicultura de Subpesca respecto al informe final del proyecto.

6. Se debe solicitar hoy formalmente (carta) una extensión del plazo del proyecto, hasta fin de año (31 de diciembre).

7. El FIPA enviará el contrato modificado, el que deberá ser tramitado antes de fin de mes.

8. El FIPA indicó que, independiente de la fecha de término del proyecto, no existe inconveniente en terminarlo antes, toda vez que se cumplan las actividades y condiciones contempladas en el mismo.

9. El workshop Final solo puede realizarse cuando estén todas las actividades realizadas y los resultados obtenidos. La fecha de esta actividad se definirá de mutuo acuerdo entre el consultor y la contraparte técnica de la Subpesca.

ACTA REUNIÓN COORDINACIÓN PROYECTO FIPA N°2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"

12 de Junio de 2018

I. ASISTENTES

Nombre	Organización	Firma
Maureen Alcayaga	Subpesca División de Acuicultura	
Patricio Medina	Sernapesca Depto. Salud Animal	
Carla Anguita B.	Sernapesca Depto. Salud Animal	
Alvaro Labra M.	PUCV - Laboratorio Patógenos Acuícolas	

II. TABLA DE LA REUNIÓN

- Programación de actividades pendientes.

III. ANÁLISIS, DISCUSIÓN Y ACUERDOS

1. Capacitación:
   1.1. Se realizará los días miércoles 25 y jueves 26 de julio.
   1.2. Se realizará en 2 días manteniendo las mañanas teóricas y las tardes prácticas.
   1.3. Se realizará una evaluación a los asistentes al final de la segunda jornada teórica.
   1.4. Sernapesca y Subpesca enviará un listado con los nombres completos, RUT, correo electrónico y teléfonos de los asistentes.
2. Ring Test:
   2.1. Ambos ring test (ISAV HPR0 y *P. salmonis*) se realizarán al mismo tiempo.
   2.2. Sernapesca programará una videoconferencia con los laboratorios participantes para el día 10 de septiembre de 2018, en la cual se discutirán aspectos técnicos de ambos ring test. Previo a esta reunión deberán haberse enviado los instructivos para cada uno.
   2.3. Las muestras serán enviadas el día lunes 1 de octubre y los resultados serán recibidos hasta el día viernes 5 de octubre.
   2.4. El informe de resultados será entregado el viernes 12 de octubre.
   2.5. Si es necesaria una segunda vuelta, los laboratorios deberán tramitarla (envío de análisis de causas, propuesta, implementación y evaluación de acciones correctivas) antes del 5 de noviembre, día que se enviarán las muestras correspondientes.
3. Taller de cierre:
   3.1. Debe realizarse una vez obtenidos todos los resultados, incluyendo los de la segunda vuelta de los ring test.
   3.2. Subpesca y Sernapesca enviarán un listado de los invitados de su interés (autoridades) con sus respectivos correos electrónicos.
   3.3. La PUCV enviará las invitaciones incluyendo a la plana técnica.
   3.4. Deberá comprender, al menos:
      3.4.1. Apertura por parte de Subpesca
      3.4.2. Introducción por parte de la PUCV en la cual se debe hacer una reseña a la iniciativa
      3.4.3.Presentación de resultados:
         3.4.3.1. Experimentos con caligus
         3.4.3.2. Cultivos HPR0
         3.4.3.3. Resultados Ring Test.

Año	2015	2016				2017				2018				Resp
Actividad	**Trim 3**	**Trim 1**	**Trim 2**	**Trim 3**	**Trim 4**	**Trim 1**	**Trim 2**	**Trim 3**	**Trim 4**	**Trim 1**	**Trim 2**	**Trim 3**	**Trim 4**	
Revisión bibliográfica: estado del arte de PS e ISAv y las enfermedades que provocan														
Búsqueda de Documentos nacionales														AL
Búsqueda de documentos internacionales														AL
Búsqueda de actas de congresos														AL
Revisión de Información														AL
Desarrollo de Ficha técnica de cada enfermedad														AL
Diseño y validación de alternativas de diagnóstico de ISAV y *P. salmonis* desde Caligus														
Evaluar alternativas de extracción de material genético desde Caligus														DG
Evaluar alternativas de diagnóstico a partir del RNA recuperado para ISAV y PS														DG
Evaluar variaciones necesarias por estados de desarrollo														DG
Validación de técnicas														AL
Etapa 1. Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con P. salmonis.														
Muestreo en centro de salmonidos con alta carga de caligus y negativo a P. salmonis														SB
Muestreo en centro de salmonidos con alta carga de caligus y positivo a P. salmonis														SB
Rotulacion, clasificación (adultos y chalimus) y preservación de muestras														SB
Extracción de larvas desde sacos ovigeros														SB
Mantención de Caligus adultos vivos por 120 horas (muestreos respectivos)														SB
Envío de muestras al GIM-PUCV														SB
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR														DG
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación														CB
Infeccion de cultivos celulares														CB
Infeccion de peces														CB
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR														DG
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación														AL
Etapa 2. Infección de peces susceptibles con parásitos infectados in vitro con P. salmonis y verificación de la capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos.														
Infeccion de 10 salmonidos con P. salmonis														SB
Infestacion de salmonidos con Caligus														SB
Extracción de caligus y órganos de los peces														SB
Infestacion de salmonidos sanos cn caligus positivos a P. salmonis														SB
Muestreo, rotulación, preservacion y envío de muestras al GIM-PUCV														SB
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR														DG
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación														AL
Evaluación de métodos diagnósticos para ISAV y *P. salmonis*														
Definición de objetivos														AL
Diseño del ensayo														AL
Preparación y evaluación preliminar de muestras														DG
Preparación y evaluación definitivas de muestras														DG
Diseño de instrucciones de análisis y Envío de muestras														AL
Recepción y análisis de resultados														AL
Informe de resultados														AL

Año	2015	2016				2017				2018				Resp
Actividad	**Trim 3**	**Trim 1**	**Trim 2**	**Trim 3**	**Trim 4**	**Trim 1**	**Trim 2**	**Trim 3**	**Trim 4**	**Trim 1**	**Trim 2**	**Trim 3**	**Trim 4**	
Aislamiento ISAv HPR0														
Diseño de un estudio para el aislamiento de ISAv HPR0														SM
Aplicación de la o las metodologías para el aislamiento de ISAv HPR0														CM
Análisis de Muestras														SM
Definición de metodologías de análisis														AL
Análisis de Muestras														DG
Capacitación de Profesionales en Diagnóstico Molecular de ISA y *P. salmonis*														
Diseño y propuesta de un programa de capacitación														SM
Elaboración de nómina de alumnos														Sernap
Elaboración y selección del material de apoyo														AL
Desarrollo de la actividad teórica														SM
desarrollo de la actividad practica														DG
Evaluación														AL
Informes														
Primer informe de avance														AL
Segundo informe de avance														AL
Pre-informe final														AL
Informe final														AL
Talleres, Reuniones y Difusion														
Reunion inicial de coordinacion														AL
Reuniones de avance de proyecto														AL
Reuniones internas														AL
Taller de difusion de resultados														AL

Anexo 5: Documentos de respaldo Modificación de Objetivos Específicos.

Carta PUCV N°2.

SISTEMA NACIONAL DE ACREDITACION
INN - CHILE
ACREDITADO POR INN, LE 1297
Gene FISH NBC-PUCV
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
OIE

Valparaíso, 16 de junio de 2016

Carta PUCV N° 2

Señor
Luis Carroza Larrondo
Director Ejecutivo
Fondo de Investigación Pesquera y de Acuicultura
Valparaíso

De mi consideración:

En relación al proyecto FIPA titulado **"INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"**, adjudicado mediante licitación pública con fecha 5 de junio de 2015, me permito indicar lo siguiente:

1. La Oferta técnica entregada por nuestro laboratorio propone como tercer objetivo especifico "Evaluar el rol epidemiológico del parásito Caligus rogercresseyi en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAV".
2. Posterior a la fecha de adjudicación del proyecto tuvimos acceso a la siguiente publicación científica en una revista indexada de alto impacto: "Oelckers, K., Vike, S., Duesund, H., Gonzalez, J., Wadsworth, S., & Nylund, A. (2014). Caligus rogercresseyi as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. Aquaculture, 420-421, 126–132. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.10.016", la cual responde a cabalidad el objetivo antes mencionado, más aun la información científica validada que se presenta sobrepasa con creces nuestra propuesta.
3. En consecuencia consideramos que la ejecución de este objetivo en el esquema propuesto no aporta información científica adicional y por ello que solicitamos que se considere dicho objetivo como cumplido.

Esperando que esta tenga una buena acogida y sin otro particular le saluda atentamente a Ud.

Sergio Marshall G. Ph.D. (Harvard/81)
Director Laboratorio de Patógenos Acuícolas y
De Genética e Inmunología Molecular
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

JUSTIFICACIÓN TÉCNICA PARA LA ELIMINACIÓN DEL OBJETIVO 2 DEL PROYECTO FIPA 2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS"

Antecedentes.

La Oferta técnica entregada por nuestro laboratorio a la Licitación mencionada propone como tercer objetivo específico "Evaluar el rol epidemiológico del parásito Caligus rogercresseyi en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAV" y para ello propuso una hipótesis que sería probada experimentalmente mediante una serie de actividades. Dichas actividades debieron ser diseñadas en forma acotada considerando todos los objetivos específicos incluidos en la licitación y el presupuesto disponible en esta para cumplir con todos ellos, lo que nos obligó a proponer experimentos a pequeña escala, como prueba piloto, que aportaría algo de información tendiente a responder la pregunta de fondo que plantea el objetivo y de esa manera fue aceptada la propuesta.

Posterior a la fecha de adjudicación del proyecto y debido a la extensa revisión bibliográfica que se hizo producto del primer objetivo del proyecto, tuvimos acceso a la siguiente publicación científica en una revista indexada de alto impacto: "Oelckers, K., Vike, S., Duesund, H., Gonzalez, J., Wadsworth, S., & Nylund, A. (2014). Caligus rogercresseyi as a potential vector for transmission of Infectious Salmon Anaemia (ISA) virus in Chile. Aquaculture, 420-421, 126–132. doi:10.1016/j.aquaculture.2013.10.016", en la cual se realizan una serie de experimentos y a mayor escala que los propuestos por nuestro laboratorio para responder la misma incógnita. Lo anterior considerando que fue utilizado para ello un presupuesto que supera con creces el nuestro, de alrededor de 60 millones de pesos (dato aportado por Dr. Mauricio Ríos de la Estación Experimental de Quillaipe de Fundación Chile).

En consecuencia consideramos que la ejecución de este objetivo en el esquema propuesto no aporta información científica adicional a la aportada por el estudio antes mencionado, sin embargo, significará un gasto de recursos innecesarios y por ello es que solicitamos se elimine dicho objetivo del proyecto y los recursos destinados a este sean inyectados al objetivo específico número dos, de tal manera que este pueda realizarse de una mejor manera, más completa y con experimentos comparables a los realizados para ISAV pero esta vez con el patógeno *P. salmonis*.

Cabe destacar que en el caso de ser aceptada nuestra propuesta para *P. salmonis* realizaríamos actividades experimentales comparables a las del estudio, las cuales serán adaptadas al patógeno y sus requerimientos especiales, como, por ejemplo: deberemos considerar la microbiota del parásito que hace imposible la detección de *P. salmonis* viable desde homogenizados del parásito mediante cultivo celular, ya que el crecimiento rápido de estas bacterias sobrepasa al de *P. salmonis*.

Lo anterior ofrece ventajas comparativas importantes respecto a lo propuesto inicialmente en el objetivo 2, las cuales dicen relación a las metodologías utilizadas, números de muestras (otorga más

confianza a las estadísticas), cantidad de experimentos y pruebas para confirmar los resultados obtenidos, por ejemplo: secuenciación. Esto generará sin lugar a dudas resultados de mayor calidad y confiabilidad, los cuales por si solos podrían dar origen a una publicación científica en una revista indexada y ser un aporte real y tangible tanto a la salmonicultura nacional como a la Autoridad Sectorial, ya que podrá ser incluida como antecedente en la actualización de los Programas Sanitarios Generales y Específicos.

Análisis de la propuesta de nuestro laboratorio versus lo publicado en trabajo antes mencionado.

A continuación, y a modo de informe técnico para justificar nuestra solicitud se presenta un cuadro comparativo, el cual entregará la información contenida en la oferta técnica original y de qué manera esta fue abordada por los autores de la publicación científica en cuestión, demostrando que todos los aspectos propuestos fueron cubiertos.

Cabe mencionar que algunos aspectos de los experimentos (etapa 1 y 3) serán abordados de igual manera dado que se realizara para *P. salmonis* y la información es transferible a ISAV, es por eso que no son considerados en el cuadro. Asimismo, la etapa 4 y 5 en el cuadro solo considera la información de ISAV dado que la parte de *P. salmonis* si será realizada.

Ítems	Propuesto Objetivo Específico 3	Realizado en el Paper
Hipótesis	El ectoparásito *Caligus rogercresseyi* tiene un papel en la transmisión de ISA entre Salmones del Atlántico.	El ectoparásito *Caligus Rogercresseyi* puede tener un papel importante como vector en la transmisión de ISAV dentro de un centro y entre diferentes centros de cultivo de Salmones del Atlántico en Chile.
Experimentos	**1. Etapa 2. Alimentar *Caligus rogercresseyi* con una variante agresiva del virus ISA (HPR7b) para determinar el eventual ingreso y amplificación del virus en el ectoparásito.** **1.1. En dos estanques se dispondrán 20 peces *Salmo salar* de aproximadamente 200 gramos, los cuales luego de un periodo de 10 días de aclimatación serán infectados vía intraperitoneal con una variante patogénica de virus ISA (HPR7b) cultivado en línea celular SHK-1 (GIM-SS-X-2009).** **1.2. A los 5 días se hará una confirmación de la infección se mediante qRT-PCR.** **1.3. Una vez confirmada la presencia del virus en los peces, se disminuirá el volumen de agua del estanque hasta lograr una densidad de (0,5 m3), manteniendo las condiciones de temperatura y salinidad y luego se agregará 20 Caligus adultos libres de virus por cada pez.** **1.4. Esta infestación será mantenida durante 8 horas en el estanque. Para evitar las pérdidas se utiliza una trampa en el efluente de la cual se recuperan los ejemplares y son devueltos al estanque.** **1.5. Los Caligus se muestrearan cada 3 días, evaluando tanto en la superficie como en el interior del parásito (aplicando lavados) la presencia del virus mediante qRT-PCR** **1.6. Se mantendrá el desafío por 35 días o hasta que se produzca un 100% de mortalidad, lo anterior debido a que la bibliografía indica que las mayores tasas de mortalidad ocurren en este periodo.**	1. Muestreo. 1.1. Se colectaron 45 peces de un centro ISA negativo y 126 peces de un centro ISA positivo. De cada pez se extrajo en forma individual y aséptica el corazón del pez y sus Caligus, separando estos últimos a su vez en dos grupos (Chalimus y adultos). 2. Confirmación de estatus (positivo y/o negativo). 2.1. Todos los corazones fueron analizados mediante qRT-PCR en búsqueda de ISAV (Snow et al., 2006). 3. Chalimus. 3.1. 20 Chalimus provenientes del centro positivo fueron depositados en RNAlater. 3.2. 40 Chalimus provenientes del centro positivo fueron lavados con agua de mar estéril y preservados en Fixative. 3.3. 24 Chalimus provenientes del centro negativo fueron lavados en agua de mar estéril y preservados en RNAlater 3.4. Todos los Chalimus fueron analizados mediante qRT-PCR en búsqueda de ISAV (Snow et al., 2006). 4. Larvas, Nauplii y Copepoditos. 4.1. Desde los adultos se obtuvieron 200 y 100 larvas o Nauplii del centro positivo y negativo respectivamente, en ambos casos mediante la compresión de los sacos ovigeros. 4.2. 200 y 400 Nauplii y Copepoditos fueron colectados directamente desde dentro y fuera de las jaulas de los dos centros de cultivo (positivos y negativo respectivamente) mediante el uso de redes para zooplancton. 4.3. Todos los Nauplii y Copepoditos fueron analizados mediante qRT-PCR en búsqueda de ISAV (Snow et al., 2006). 5. Adultos. 5.1. Todos los Caligus adultos fueron mantenidos con vida en vasos precipitados dentro de cámaras de cultivo con temperatura constante e incubados por 0, 6, 12, 18, 24, 48, 72 y 120 horas en agua de mar estéril que se cambió cada día. 5.2. Una submuestra de Caligus adultos (cortados por la mitad con bisturí) provenientes de centros positivos y negativos fue colectada de los vasos precipitados a los diferentes tiempos de incubación. 5.3. Una submuestra fue conservada en RNAlater para la detección de ISAV mediante qRT-PCR.

2. Etapa 4. Evaluar *in vitro* la infectividad del ISAv recuperado de los *Caligus rogercresseyi* infectados.

2.1. Se seleccionaran mediante su carga viral relativa según el valor obtenido de Ct algunas de las muestras evaluadas en la etapa anterior.

2.2. Estas se procesaran mediante homogenización con medio L-15 con 2% de antibióticos y carente de suero fetal bovino, luego se clarificaran mediante centrifugación durante 15 minutos a 3200 g a 4°C, por último se extraerá el sobrenadante en cual será usado para infectar cultivos celulares en línea SHK-1 y/o ASK-1.

2.3. Los cultivos de ISAv serán incubados a 17°C durante 21 días. Se realizará un monitoreo diario de los cultivos para evaluar la aparición de efecto citopático (ECP) y en el caso de presentarse, se realizará una evaluación mediante qRT-PCR para la confirmación del resultado y un segundo pasaje en células.

3. Etapa 5. Evaluar la presencia y expresión del virus ISA en las etapas de vida libre de *Caligus rogercresseyi* filtrando agua de mar en jaulas infectadas.

3.1. Se recolectarán, en centros de cultivos que presenten brotes de ISAv muestras de plancton mediante filtración de agua con mallas finas, con la finalidad de evaluar la presencia de ISAV en etapas planctónicas de *Cáligus rogercresseyi* (nauplios y copepoditos).

3.2. Estas muestras serán procesadas para extraer RNA y analizar mediate RT-PCR la presencia de ISAv y de Factor de elongación 1 alpha con la finalidad de evaluar la expresión del virus (Métodos, que seguirán con las modificaciones Jakob et al. 2012).

3.3. Cabe destacar que los muestreos serán realizados por personal de Sernapesca y en

5.4. La otra submuestra fue conservada en medio Lebovitz (L-15) para verificar la infectividad del virus en cultivo celular y además en un desafío de salmones susceptibles.

6. Prueba de infectividad en cultivos celulares.

6.1. Se hicieron un total de 7 pooles de 5 individuos de las muestras de cada tiempo de incubación y se homogenizaron, filtraron usando filtros estériles para producir los inóculos.

6.2. Cada homogenizado se analizó mediante qRT-PCR antes de realizar la infección.

6.3. Se infectaron cultivos de células ASK-1 usando como control positivo tejido de corazón de peces recolectados en el centro positivo.

6.4. Los cultivos fueron incubados con 0,2 mL de homogenizados en placas de 96 pocillos a 15°C, de acuerdo con lo publicado por Devold et al,.2000. Las células ASK se cultivaron en L-15 con 5% de suero fetal bovino a 15°C. por 7 – 8 días o hasta que el ECP se manifestara. Una vez que aparecía ECP se colectaba el sobrenadante y se analizaba por qRT-PCR.

7. Prueba de infectividad en Peces.

7.1. Se hicieron un total de 7 pooles de 5 individuos de las muestras de cada tiempo de incubación y se homogenizaron, filtraron usando filtros estériles para producir los inóculos.

7.2. Cada homogenizado se analizó mediante qRT-PCR antes de realizar la infección.

7.3. Se infectaron salmones del Atlántico de 101 gramos promedio, mantenidos en 2 estanques a 12°C y alimentados de acuerdo al apetito durante el experimento, usando como control positivo tejido de corazón de peces recolectados en el centro positivo.

7.4. Los peces se anestesiaron con metacaina y se inyectó intraperitonealmente 0,2 mL de inoculo. Los peces fueron marcados con un recorte de aleta.

7.5. Los peces del estanque 1 fueron muestreados a 2 diferentes tiempos: a) tres peces a los 4 días post infección y b) dos peces a los 7 días post infección.

7.6. Los peces del estanque 2 y del estanque control fueron muestreados el día 7.

7.7. Los peces sacrificados fueron necropsiados y además se les extrajo muestras de branquias, corazón y riñón en duplicado, una para qRT-PCR y otra para re-aislar el virus.

8. Infestación de peces sanos con Caligus ISAV positivos

8.1. Se produjeron experimentalmente Caligus ISAV positivos en salmones del atlántico infectados con ISA para determinar si estos pueden transmitir el virus a salmones del atlántico sanos.

8.2. Se infestaron con Caligus positivos a ISA 6 de 7 estanques con 30 peces cada uno, todos negativos a ISAV y el séptimo se infesto con Caligus negativos a ISA.

	forma previa a la realización de los muestreos se desarrollara un instructivo de muestreo, con el cual se capacitará a los responsables de los muestreos para asegurar la correcta manipulación, mantención y traslado de las muestras.	8.3. Para realizar la infestación de los peces el volumen de agua de los estanques fue reducido y el flujo de agua de mar se detuvo durante 8 horas y en estas se agregaron un total de 450 Caligus a cada estanque. Luego lentamente se restableció el flujo de agua. Durante la infestación la saturación de oxigeno fue monitoreada para que no disminuyera de un 85% y la temperatura fue mantenida a 15°C. 8.4. Los Caligus fueron gentilmente lavados con agua estéril antes de ser agregados a los estanques. 8.5. Caligus inmediatamente después de ser removidos de salmones positivos a ISA fueron agregados a los estanques 1 y 2. 8.6. Caligus mantenidos 12 horas en agua de mar estéril después de ser removidos de salmones positivos a ISA fueron agregados a los estanques 3 y 4. 8.7. Caligus mantenidos 48 horas en agua de mar estéril después de ser removidos de salmones positivos a ISA fueron agregados a los estanques 5 y 6. 8.8. Dos días después del primer desafío el procedimiento fue repetido para todos los estanques. 8.9. Branquias y corazón de los peces desafiados fueron colectadas para ser analizadas por qRT-PCR.
Resultados: **Esperados en el caso de nuestra propuesta y obtenidos en el caso del paper.** **Los resultados esperados son solo estimaciones y serían unos u otros no todos**	Etapa 2: • Todos los peces infectados serán positivos al qRT-PCR • Si los Caligus se infectan a partir de los peces los resultados del qRT-PCR serán positivos. • Si los Caligus no se infectan a partir de los peces los resultados del qRT-PCR serán negativos. • Si los Caligus se infectan a partir de los peces y solo son vectores mecánicos los resultados del qRT-PCR en el caso de los sin lavar serán positivos y los lavados negativos o con mayores valores de Ct. • Si los Caligus se infectan a partir de los peces y son vectores biológicos los resultados del qRT-PCR serán positivos tanto en los lavados como en los sin lavar. • Todos los peces infectados debiesen morir en un periodo de 35 días y en todos ellos debiese confirmarse tanto en necropsia como en qRT-PCR la presencia de ISA. Etapa 4	Muestreo. • Se obtuvieron 45 peces del centro negativo y 126 peces del centro positivo a ISAV. • Se obtuvieron 171 corazones de peces en total. • Se obtuvieron 60 Chalimus del centro positivo y 24 del centro negativo a ISAV. • Se obtuvieron 321 Caligus adultos del centro positivo y 159 del centro negativo a ISAV • Se obtuvieron > 100 larvas desde los adultos del centro negativo y > 200 del Positivo a ISAV. • Se obtuvieron 200 Nauplii y Copepoditos desde dentro y fuera de las jaulas del centro negativo y 400 desde el positivo a ISAV. Confirmación de estatus (positivo y/o negativo). • Todos los corazones obtenidos desde el centro negativo resultaron negativos y todos los colectados del centro positivo fueron positivos al qRT-PCR para ISAV según (Snow et al., 2006). Chalimus. • Los 20 Chalimus presevados en RNAlater del centro positivo fueron positivos. • Los 40 Chalimus lavados y preservados en Fixative del centro positivo fueron positivos con valores de CT levemente mayores que los sin lavar. • Los 24 Chalimus lavados y preservados en RNAlater del centro negativo fueron negativos a ISAV. Larvas, Nauplii y Copepoditos.

	• Es posible que los cultivos celulares se contaminen dada la flora bacteriana normal del tracto digestivo del Caligus, no obteniendo resultados de esta etapa. • Si los Caligus logran mantener el virus de forma infecciosa y los cultivos no se contaminan debiésemos observar ECP en los cultivos celulares en forma similar a los controles infectados con ISAV y los resultados de los qRT-PCR serán positivos. • Si los Caligus no logran mantener el ISAV infectivo no se presentará ECP en los cultivos celulares. Etapa 5 • Esta etapa solo se podrá realizar si se presenta un brote de ISAV en el periodo del proyecto, el que hasta el momento no se ha presentado y además el Servicio tiene disponibilidad para realizar los muestreos. • Si las etapas planctónicas de *Cáligus rogercresseyi* (nauplios y copepoditos) son capaces de transmitir al ISAV los qRT-PCR serán positivos. • Si las etapas planctónicas de *Cáligus rogercresseyi* (nauplios y copepoditos) no son capaces de transmitir al ISAV los qRT-PCR serán negativos.	• Las 200 larvas obtenidas desde los adultos del centro positivo y las 100 obtenidas del centro negativo fueron negativas a ISAV. • Los 200 y 400 Nauplii y Copepoditos colectados directamente desde dentro y fuera de las jaulas de los dos centros de cultivo fueron negativos a ISAV. Adultos. • Los adultos hasta las 48 horas resultan consistentemente positivos a ISAV. • Los adultos después de las 48 horas comienzan a disminuir la prevalencia de positivos. • Todas las muestras infectadas en cultivos celulares presentaron ECP y se confirmó la presencia de ISAV mediante qRT-PCR y secuenciación, presentando secuencias idénticas con el virus inicial. • Todas las muestras infectadas en peces fueron positivos por qRT-PCR hasta las 48 horas e incluso algunos con posterioridad a ese tiempo, sin embargo ninguno de los peces presentó signología de la enfermedad. La secuenciación del virus obtenido de los peces mostro nuevamente una secuencia idéntica a la del virus del inicio. Prueba de infectividad en cultivos celulares. • Los 7 pooles de corazón fueron positivos al cultivo evidenciando ECP y confirmado por qRT-PCR del sobrenadante del cultivo. • Los 7 pooles de Caligus fueron positivos al cultivo evidenciando ECP y confirmado por qRT-PCR del sobrenadante del cultivo. Prueba de infectividad en Peces. • Los peces controles de ambos estanques permanecieron negativos. • 3 de 5 peces inyectados con homogenizados de Caligus colectados a las 48 horas después de haber sido removidos del huésped resultaron positivos. • Ninguno de los peces positivos al qRT-PCR evidenció signos clínicos en el periodo de 7 días del experimento. • La secuenciación del segmento 6 del virus obtenido de los peces fue idéntico al virus del inicio de la infección. Infestación de peces sanos con Caligus ISAV positivos • Los peces de todos los estanques infectados comenzaron a morir el día 7. • Los peces del estanque control infestados con Caligus negativos comenzaron a morir el día 16. • Ningún pez evidenció signos clínicos de ISA y la razón de muerte no pudo ser determinada. • Los peces en todos los estanques mostraron un comportamiento anormal, inquieto, saltando, lo que podría ser causados por el alto nivel de C. rogercresseyi en los estanques. • La secuenciación del segmento 6 del virus obtenido de los peces fue idéntico al virus del inicio de la infección.

Conclusiones	En el caso de la propuesta no podemos aventurar conclusiones, dado que los experimentos no se han realizado.	• *C. rogercresseyi* es capaz de ser un vector mecánico del virus ISA. • *C. rogercresseyi* aun estando 48 horas lejos de un huésped positivo a ISAV todavía puede transmitir el virus a salmones sanos, lo que fue demostrado tanto por la inyección intraperitoneal de homogenizados de Caligus como en el modelo de infección natural y además confirmado mediante la secuenciación del virus. • La infectividad también fue demostrada en cultivo celular. • Tanto la cantidad como la prevalencia del material genético del virus (RNA) fue decreciendo en el Caligus a medida que pasaba el tiempo lejos del huésped positivo, lo que indica que el virus no replica en el Caligus y por lo tanto no es un vector biológico. • No fue posible detectar ISAV en ninguna muestra de larvas de Caligus (Nauplii y/o Copepoditos), ya sea dentro o fuera de las jaulas positivas a ISA. • Tampoco fue posible detectar ISAV en larvas de Caligus (Nauplii y/o Copepoditos) aunque estos fueran recolectados directamente desde Caligus adultos positivos a ISAV, lo que indica que el virus ISA no se transmite verticalmente desde el Caligus adulto a su descendencia. • Basado en los puntos anteriores es muy probable que las larvas de Caligus (Nauplii y/o Copepoditos) no puedan ser vectores del ISAV. • Es probable que el Caligus se infecte cuando se alimenta del mucus de peces infectados, sin embargo los lavados realizados a los ejemplares indican que si bien los valores de Ct aumentan, estos no desaparecen por lo que de alguna manera el ISAV se mantiene al interior del Caligus. • Basados en las idénticas secuencias obtenidas en el experimento de infestación de peces sanos con Caligus positivos a ISA, puede concluirse que *Caligus rogercresseyi* transmitió el virus ISA a Salmones del Atlántico sanos. • ISAV sobrevive y se mantiene infectivo en el Caligus al menos por 48 horas, lo que indica que el parasito puede diseminar el virus entre centros de cultivo que se encuentren en la misma área. Se estima que en 48 horas el Caligus podría moverse unos 18 kilómetros. • Para la industria del salmón esta información indica que las co-infecciones de ISAV y Caligus aumentan el riesgo de transmisión a los centros vecinos, además debe considerarse que los peces infestados pueden ser más susceptibles al Virus dada la inmunosupresión que produce el parásito.
Brechas	Como puede evidenciarse en el cuadro comparativo no existen brechas entre lo propuesto por nosotros en el objetivo específico 3 “Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAV” y lo realizado por los investigadores en el estudio publicado, incluso este supera largamente en cantidad y profundidad de experimentos nuestra propuesta.	

NUEVA PROPUESTA TÉCNICA OBJETIVO N°2
PROYECTO FIPA 2015-12

Objetivo.

Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por y *Piscirickettsia salmonis* (*P. salmonis*).

Metodología.

Para cumplir con este objetivo se propone realizar una serie de actividades experimentales, para lo cual se contará con la valiosa ayuda y asesoría de la Dra. Sandra Bravo investigadora de vasta experiencia y renombre en el rubro.

Las actividades antes mencionadas pueden dividirse para efectos prácticos en dos etapas, las cuales serán realizadas a lo largo del proyecto. Los resultados de cada una de estas etapas serán un avance en la materia, sin embargo, en su conjunto aportarán la información necesaria para definir de una vez cual es el papel que juega el ectoparásito como vector de la piscirickettsiosis.

Etapa 1. Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con *P. salmonis.*

Para dar cumplimiento a esta etapa se realizarán las siguientes actividades:

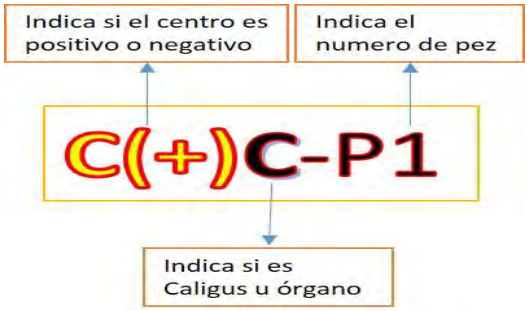
1. Muestreo:

a. Se realizarán 2 muestreos específicos, el primero en un centro de salmonidos en categoría T3 con alta carga de Caligus y negativo a *P. salmonis* y el segundo en un centro T3 con alta carga de Caligus y brote de *P. salmonis*.

b. En cada uno de estos centros se extraerá un mínimo de 10 peces desde los cuales se sacarán todos los Caligus de cada pez (mínimo 10) y se depositaran, por pez, en un tubo eppendorf con agua de mar estéril, además se extraerá un trozo de riñón e hígado que, por pez, se depositará en un tubo con RNAlater.

c. En cada uno de estos centros desde dentro y fuera de las jaulas de cultivo se colectarán larvas y copepoditos mediante el uso de redes para zooplancton, las que deberán ser depositadas en tubos con agua de mar estéril y enviadas al GIM-PUCV.

d. Las muestras deberán ser rotuladas de manera tal que se pueda correlacionar que Caligus pertenecen a que pez y a qué centro corresponde idealmente se deberá usar el siguiente código:



e. Una vez rotuladas las muestras deberán ser enviadas inmediatamente en un contenedor isotérmico con bloques refrigerantes al laboratorio de la siguiente forma:

   i. Las muestras de órganos al Laboratorio de Patógenos Acuícolas, Edificio NBC 1, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Avenida Universidad 330, Curauma, Valparaíso. A nombre de Macarena Jiménez (diagnostico@pucv.cl; Fono: (32) 2274828) y Álvaro Labra M. (alvaro.labra@pucv.cl) Fono: (09) 920 77 954.

ii. Las muestras con Caligus al Laboratorio dirigido por la Dra. Sandra Bravo ubicado en la Sede de Puerto Montt del Instituto de Acuicultura de la Universidad Austral de Chile a nombre de Sandra Bravo (sbravo@uach.cl).

2. Clasificación y Confirmación del diagnóstico:

a. En el GIM-PUCV las muestras de órganos serán analizadas mediante qPCR para presencia o ausencia de *P. salmonis* y una de las muestras proveniente del centro positivo será secuenciada para 16S e ITS.

b. En el laboratorio de la Dra. Bravo los Caligus serán diferenciados entre Chalimus y Adultos.

i. Los chalimus:

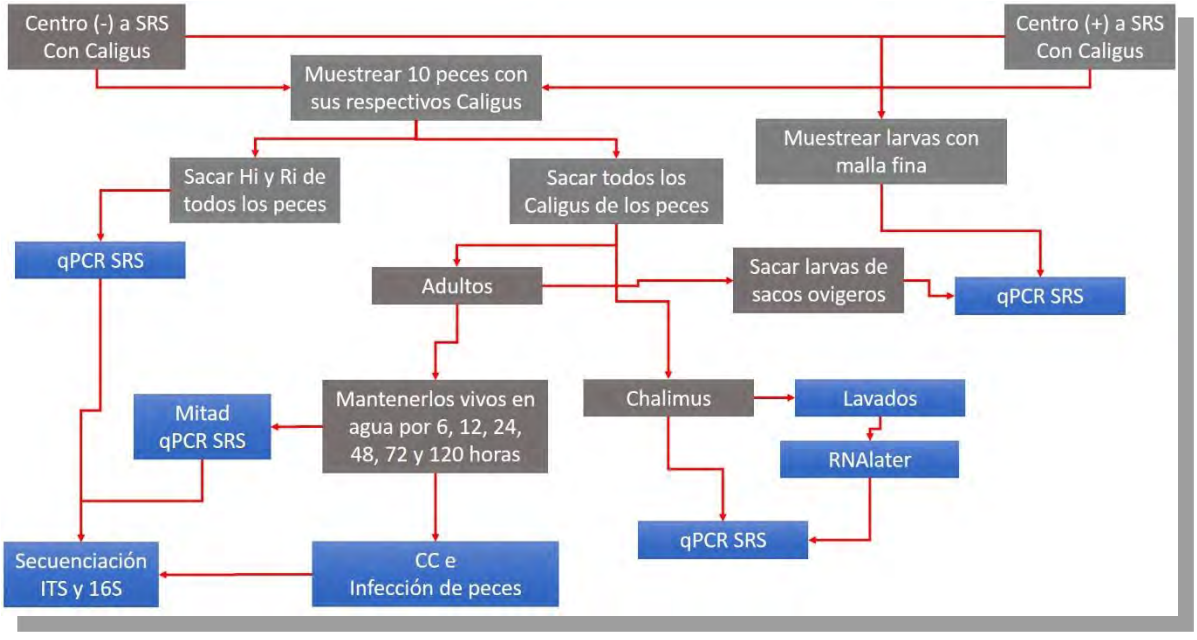
1. La mitad serán directamente depositados en tubos con RNAlater y la otra mitad serán lavados con agua de mar estéril y luego depositados en RNAlater.
2. Una vez en RNAlater serán enviados al GIM-PUCV donde se analizarán mediante qPCR para presencia o ausencia de *P. salmonis*.

ii. Los adultos:

1. Se mantendrán vivos en agua de mar estéril durante 120 horas, dentro de las cuales se muestrearán a las 6, 12, 24, 48, 72 y 120 horas. Para mantener a los parásitos se depositarán en contenedores plásticos dentro de una cámara de incubación con temperatura constante de 14°C y suministro de oxígeno a través de bombas.
2. Se extraerán directamente desde los sacos ovigeros por compresión larvas, las que se depositarán en tubos RNAlater y se enviarán al GIM-PUCV.
3. En cada punto de muestreo los Caligus extraídos se dividirán en dos grupos, el primero se depositará en un tubo con RNAlater y el segundo en un tubo vacío y ambas muestras se enviarán al GIM-PUCV.

4. Una vez en el GIM-PUCV las muestras en RNAlater serán analizadas mediante qPCR para presencia o ausencia de *P. salmonis* y una de las muestras positivas será secuenciada para 16S e ITS.
5. A las muestras sin medio se les agregará medio de cultivo y serán homogenizadas, purificadas y filtradas, luego divididas en dos y con una mitad se infectarán cultivos celulares de células SHK-1 y con la otra mitad se preparará un inoculo para infectar peces sanos de aproximadamente 40 gramos.
6. Una vez que los peces presenten signología clínica o directamente comiencen a morir se les extraerá riñón e hígado, lo mismo se hará con los cultivos celulares cuando presente ECP y se analizará por qPCR para presencia o ausencia de *P. salmonis* y una de las muestras positivas será secuenciada para 16S e ITS.

Figura 11. Esquema etapa 1.



* Color gris actividades Dra. Sandra Bravo

* Color azul actividades GIM-PUCV

Etapa 2. Infección de peces susceptibles con parásitos infectados *in vitro* con *P. salmonis* y verificación de la capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos.

Para dar cumplimiento a esta etapa se realizarán las siguientes actividades:

1. **Producción de Caligus infectados con *P. salmonis.***
    a. Se infectará un grupo de 10 peces con *P. salmonis* y se evaluará diariamente su comportamiento y signología.
    b. Cuando la signología sea evidente serán infestados con una gran cantidad de Caligus adultos (1000) los que luego de 7 días serán cuidadosamente extraídos, divididos en tres grupos y depositados en agua de mar estéril. Los peces serán sacrificados y se les extraerá una muestra de riñón e hígado que se depositará en RNAlater y se enviará al GIM-PUCV.

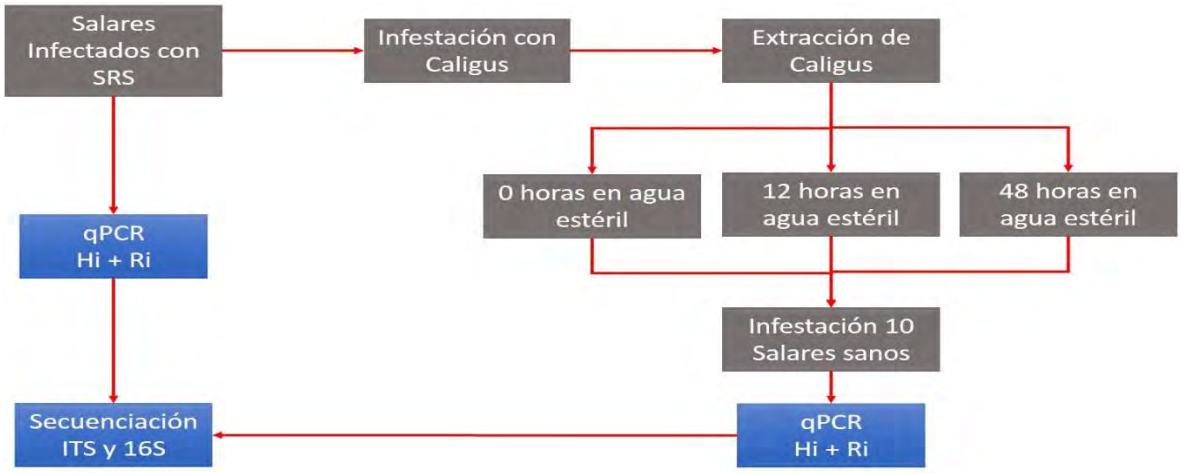
2. **Infestación de peces con los Caligus experimentalmente infectados.**
    a. Con el primer grupo se infestará un estanque con 10 peces sanos en forma inmediata.
    b. Con el segundo grupo se infestará un segundo estanque con 10 peces sanos, pero esta vez se realizará a las 12 horas de extraídos los Caligus y mantenidos en agua de mar estéril.
    c. Con el tercer grupo se infestará un tercer estanque con 10 peces sanos, pero esta vez se realizará a las 48 horas de extraídos los Caligus y mantenidos en agua de mar estéril.
    d. Un cuarto estanque será mantenido con 10 peces sanos infestados con Caligus libres de *P. salmonis* como control negativo.
        i. Para realizar la infestación de los peces el volumen de agua de los estanques será reducido y el flujo de agua de mar se detendrá durante 8 horas, en las cuales se agregarán un total de 300 Caligus a cada estanque. Luego lentamente se restablecerá el flujo de agua. Durante la infestación la saturación de oxigeno será monitoreada para que no disminuyera de un 85% y la temperatura será mantenida a 15°C.

e. En la medida que los peces comiencen a presentar signología clínica de la enfermedad o muerte se les extraerá muestras de riñón e hígado las que se depositarán en RNAlater y se enviarán al GIM-PUCV.

3. Confirmación del diagnóstico.

a. Las muestras extraídas junto con las de los órganos de los peces infectados inicialmente serán analizadas por qPCR para presencia o ausencia de *P. salmonis* y una de cada grupo de muestras positivas será secuenciada para 16S e ITS.

Figura 12. Esquema etapa 2.



* Color gris actividades Dra. Sandra Bravo

* Color azul actividades GIM-PUCV

Programa de Actividades.

A continuación, se presenta el detalle de cada una de las etapas en las que estará dividido el objetivo para su realización, sin embargo, es necesario indicar que esta programación podría estar sujeta a modificaciones en base a los resultados obtenidos u por otros motivos que no estén considerados en la propuesta como por ejemplo la disponibilidad de peces o de parásitos. Asimismo, el director

del proyecto podrá indicar de común acuerdo con Subpesca y Sernapesca otras personas responsables de cada actividad.

Etapa N°	1				
Objetivo(s) Especifico(s) Asociado(s) a la Etapa	Evaluar el rol epidemiológico del parásito Caligus rogercresseyi en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por y Piscirickettsia salmonis (P. salmonis).				
Nombre de la Etapa:	Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con P. salmonis.				
Duración:	6 meses				
Descripción de la actividad	**Hitos de la Actividad**	**Profesional Responsable**	**Entidad Responsable de Ejecutarla**	**N° Mes de Inicio y Termino (Correlativos)**	
Muestreos	Stock de muestras	Sandra Bravo	UACH	13	14
Clasificación de muestras	Muestras clasificadas por estadio de desarrollo del parásito	Sandra Bravo	UACH	13	14
Confirmación del diagnóstico	Informes de resultados	Alvaro Labra	GIM-PUCV	15	15
Infección de peces	Informes de resultados	Alvaro Labra	GIM-PUCV	17	18
Infección de Cultivos celulares	Informes de resultados	Alvaro Labra	GIM-PUCV	17	18

Etapa N°	2
Objetivo(s) Especifico(s) Asociado(s) a la Etapa	Evaluar el rol epidemiológico del parásito Caligus rogercresseyi en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por y Piscirickettsia salmonis (*P. salmonis*).
Nombre de la Etapa:	Infección de peces susceptibles con parásitos positivos y negativos a *P. salmonis* y verificación de la capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos.
Duración:	6 meses

Descripción de la actividad	Hitos de la Actividad	Profesional Responsable	Entidad Responsable de Ejecutarla	N° Mes de Inicio y Termino (Correlativos)	
Producción de Caligus positivos a P. salmonis	Caligus positivos a P. salmonis	Sandra Bravo	UACH	13	15
Infestación de peces con Caligus positivos a P. salmonis	Peces infestados	Sandra Bravo	UACH	15	18
Confirmación del diagnóstico	Informes de resultados	Alvaro Labra	GIM-PUCV	18	18

.

Carta Gantt.

Actividad	Año	2016												2017												Resp.
	Mes	10				11				12				1				2				3				
	Semana	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Etapa 1. Validación de la presencia, viabilidad e infectividad de la bacteria en muestras de campo del parásito provenientes de peces de centros de cultivos clínicamente infectados y no infectados con P. salmonis.																										
Muestreo en centro de salmonidos con alta carga de caligus y negativo a P. salmonis																										SB
Muestreo en centro de salmonidos con alta carga de caligus y positivo a P. salmonis																										SB
Rotulacion, clasificación (adultos y chalimus) y preservación de muestras																										SB
Extracción de larvas desde sacos ovigeros																										SB
Mantención de Caligus adultos vivos por 120 horas (muestreos respectivos)																										SB
Envío de muestras al GIM-PUCV																										SB
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR																										PUCV
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación																										PUCV
Infeccion de cultivos celulares																										PUCV
Infeccion de peces																										PUCV
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR																										PUCV
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación																										PUCV
Etapa 2. Infección de peces susceptibles con parásitos infectados *in vitro* con *P. salmonis* y verificación de la capacidad de transmisión de la bacteria a diferentes tiempos.																										
Infeccion de 10 salmonidos con P. salmonis																										PUCV
Infestacion de salmonidos con Caligus																										SB
Extracción de caligus y órganos de los peces																										SB
Infestacion de salmonidos sanos cn caligus positivos a P. salmonis																										SB
Muestreo, rotulación, preservacion y envío de muestras al GIM-PUCV																										SB
Confirmación de diagnóstico por qRT-PCR																										PUCV
Confirmación de diagnóstico por Seccuencuiación																										PUCV

Presupuesto:

Presupuesto Modificado con la eliminación del Objetivo 3 y la Modificación del objetivo 2		
Etapa 1	Muestreo	$ 1.500.000
	Clasificación y envío de muestras	$ 400.000
	Confirmación del diagnóstico qRT-PCR	$ 500.000
	Confirmación del diagnóstico Secuenciación	$ 300.000
	Infección de cultivos celulares	$ 500.000
	Infección de peces	$ 2.700.000
Etapa 2	Producción de Caligus Positivos a P. salmonis	$ 3.000.000
	Infestación de peces con Caligus positivos	$ 3.200.000
	Envío de muestras	$ 300.000
	Confirmación del diagnóstico qRT-PCR	$ 500.000
	Confirmación del diagnóstico Secuenciación	$ 300.000
Total		**$ 13.200.000**

Carta PUCV S/N.

GeneFISH NBC-PUCV

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE VALPARAISO
OIE

Viernes 04 de Noviembre 2016

Señor
Luis Carroza Larrondo
Director Ejecutivo
Fondo de Investigación Pesquera y de Acuicultura
Valparaíso

De mi consideración y en relación a la reunión sostenida el día lunes 24 de octubre, donde se acordó entregar un documento que reuniera los fundamentos de las modificaciones correspondientes a los objetivos específicos N°2 y N°3 del proyecto FIPA N°2015-12 "INVESTIGACIÓN EN FACTORES EPIDEMIOLÓGICOS, DE PATOGENICIDAD, DESARROLLO, VALIDACIÓN Y CONTROL DE TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN Y PISCIRICKETTSIOSIS", se hace entrega de los siguientes documentos:

- Actualización de Metodologías en la Consecución de los Objetivos 2 y 3.
- Desarrollo Bibliográfico del Objetivo Específico N°3: "Evaluar el rol epidemiológico del parásito *Caligus rogercresseyi* en la transmisión horizontal de la enfermedad producida por ISAV".

Los documentos antes mencionados se adjuntan en el presente correo electrónico, sin perjuicio de lo cual se ingresaran formalmente a la Subsecretaría por oficina de partes.

Se despide atentamente

Dr. Sergio Marshall G.
Director
Laboratorio de Patógenos Acuícolas
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

Pontificia Universidad Católica de Valparaíso-NBC Laboratorio de Patógenos Acuícolas Avenida Universidad N°330, Curauma, Valparaíso Fono: 56-32-2274828 - e-mail: diagnostico@ucv.cl

Carta FIP N° 950.

Fondo de Investigación Pesquera y Acuicultura
Ministerio de Economía, Fomento y Turismo
Gobierno de Chile

Valparaíso, 1 de diciembre del 2016

Carta FIP Nº 950

RECIBIDO
06 DIC. 2016
LAB. DE GENÉTIC

Señor
Sergio Marshall
Jefe de Proyecto
Pontificia Universidad Católica de Valparaíso
VALPARAISO

De mi consideración:

En relación a su carta del 04/11/16, comunico a Ud. que el Consejo de Investigación Pesquera y de Acuicultura en sesión N° 239 del 24/11/16, resolvió aceptar la modificaciones relacionadas con los objetivos específicos 2 y 3 del proyecto FIP 2015-12: "Investigación en factores epidemiológicos, de patogenicidad, desarrollo, validación y control de técnicas de diagnóstico para la Anemia Infecciosa del Salmón y Piscirickettsiosis", de acuerdo a las definiciones especificadas en su carta.

Sin perjuicio de lo anterior, el consultor deberá considerar y aclarar las siguientes observaciones realizadas por la Subsecretaría de Pesca:

1. Lo presentado en el documento enviado para el objetivo específico 3, corresponde a una traducción del paper, por lo que en el pre-informe final, el ejecutor deberá resaltar los hitos que dan cuenta que los resultados de la investigación hecha por terceros responde en buena parte el objetivo en particular.

2. Respecto la actualización metodológica, en cuanto a lo indicado en numeral 1, de la Sub etapa 3.2, se tiene las siguientes observaciones:

   a) El experimento considera realizar la experiencia con 10 peces, considerando que la signologia de SRS es evidente a través de necropsia, me queda la duda del momento en que se tendrá la seguridad de que los peces están cursando la enfermedad, pudiera ser que se den cuenta de esto cuando se inicie la mortalidad, y dado el "n" de la experiencia me quedan dudas si con la población definida lograrán parasitar los peces, y que estos estén parasitados y vivos el tiempo suficiente para la bacteria ingrese a los parásitos (igualmente el tiempo en que la bacteria detectable en un/os parasito pudiera ser determinado por esta experiencia). Tal vez se puede solucionar aumentado el "n", o bien parasitando los peces antes de que se inicie la sinología clínica/mortalidad.

Prueba

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

26 de julio de 2018

I = 27
II = 13
III = 3
16,7/24

Nombre: ANITA ESPINOSA G. **Nota:** 5,3

I-. EXPLIQUE BREVEMENTE LOS CONCEPTOS QUE A CONTINUACIÓN SE PRESENTAN. (significado, uso y/o función). 1 pto cada una.

1. Primer: El Primer es una secuencia corta de ácido nucleico que corresponde al punto de inicio para la replicación del ADN. 0,7
2. Sonda Taqman: Fragmento de ADN de longitud variable para detectar la presencia de secuencias de nucleótidos formando pares de bases complementarias y emitiendo fluorescencia. 0,5
3. Termociclador: Equipo utilizado durante la realización del PCR. Aplica ciclos de temperatura rápidos y continuos necesarios para una reacción en cadena de la polimerasa de amplificación del ADN. 1
4. Threshold: Corresponde a la fluorescencia basal de la reacción. 0,6
5. Valor de Ct: Corresponde a un punto en el cual la fluorescencia de la reacción sobrepasa la fluorescencia basal ("umbral" o threshold), y se considera como el punto en el cual la reacción de amplificación da comienzo. 0,5

II-. Desarrollo. 2 ptos cada una.

1. Explique brevemente cómo se organiza el genoma del virus ISA e indique ¿cómo se puede establecer la variabilidad de las cepas?
   Es un virus ISA es RNA segmentado, de replicación nuclear y que cuenta con factores de virulencia. La variabilidad de las cepas se puede establecer por mutación, hipermutación, recombinación re arreglos y segmentación (deleciones, transposiciones). 0,8

2. Explique brevemente la diferencia entre un PCR convencional y uno de tiempo real
   El PCR en tiempo real es más específico que el convencional ya que además de utilizar una sonda, esta tiene 3 sitios de unión haciéndolo 100 veces más sensible. 0,8

3. El orden de las etapas de cada ciclo del RT-PCR One-Step para el diagnóstico de virus ISA son:
   - Retrotranscripción de RNA a cDNA (48-55 °C)
   - Desnaturalización (96 °C): Se separan las cadenas de ADN
   - Templado (55 – 65°C): Primers se unen a secuencias complementarias en el molde de ADN de cadena sencilla.
   - Extensión (72°C): TAQ polimerasa extiende cebadores y sintetiza nuevas cadenas de ADN.

4. En una evaluación por RT-PCR hay una muestra (A) que tiene un Ct de 23 y otra muestra (B) que es la misma muestra A pero diluida 8 veces, ¿La muestra B teóricamente debiese tener un Ct más alto o más bajo? Explique.

   La muestra B (muestra A diluida) debería dar un valor de Ct más alto ya que al realizar la dilución la muestras tendrían menor cantidad del material genético a ser detectado (ej virus, bacteria)

5. Explique por qué se utiliza el Factor de Elongación 1 alpha (ELF1alpha) como rutina en el RT-PCR en el diagnóstico de virus ISA.

   El análisis del factor de elongación 1 alfa (ELF-1α) permite conocer el estado de degradación del material genético de la muestra.

6. Explique brevemente la diferencia entre bacteria Gram-negativa y bacteria Gram-positiva.

BACTERIA GRAM (+)	BACTERIA GRAM (-)
Envoltura celular compuesta por membrana citoplasmática y pared celular compuesta por una gruesa capa de peptidoglicanos, que es la que retiene la tinción Gram tiñéndolas de color azul oscuro o violeta.	Envoltura compuesta por una doble membrana celular (una externa y otra citoplasmática), por ésta característica no es capaz de retener la tinción gran, tiñéndose de color rosado pálido.

7. Explique brevemente como *Piscirickettsia salmonis* es capaz de invadir la célula huésped y multiplicarse en ella.

   Piscirickettsia salmonis es un parásito intracelular obligado, invade a la célula a través de factores de virulencia. La multiplicación intracelular de esta bacteria está dada por los efectores de virulencia, estos son proteínas que se inyectan a través de un sistema de secreción en el citoplasma de la célula infectada, generando con esto un efecto citopático.

8. *A la fecha no se ha logrado establecer como Piscirickettsia salmonis* se mantiene y persiste en el medio marino. En este contexto, cree usted que mediante la formación de biofilm o biopelículas la bacteria puede sobrevivir en el ambiente? Justifique su respuesta.

   La capacidad de generar biofilm significa una característica importante a la hora de permanecer en el medio ambiente, ya que éste les entrega protección frente a fluctuaciones ambientales de humedad, temperatura y pH, pero que a su vez, permite el flujo de agua, nutrientes y oxigeno incluso hasta las zonas más profundas del biofilm.

III-. Selección múltiple. 1 punto cada una.

RESPUESTAS DESTACADAS EN COLOR AMARILLO

1.- En relación a los virus, es correcto:

a) Son parásitos intracelulares obligados
b) No poseen enzimas para desarrollar su propio metabolismo
c) su función es transportar el ácido nucleico viral de una célula huésped a otra.
d) el virus extracelular con capacidad infectiva recibe el nombre de virión
e) Todas las anteriores son correctas

2.- ¿Cuál de las siguientes características no pertenece al virus ISA HPR0?

a) Solo crece en cultivos celulares
b) Se considera apatógeno
c) Los peces infectados no muestran sintomatología asociada
d) Algunos autores lo consideran el ancestro de todas las otras variantes virales
e) No tiene deleciones en la región altamente polimórfica

3.- ¿Cuál de las siguientes características pertenece a *Piscirickettsia salmonis*?

a) Gram positiva
b) Móvil por flagelos peritricos
c) Intracelular facultativa
d) presenta un tamaño estándar de 1um

20,6/24

Prueba

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

26 de julio de 2018

I = 5
II = 12,6
III = 3

5,9

Nombre: Carla Anguita Bohmwald **Nota:** _____

I-. EXPLIQUE BREVEMENTE LOS CONCEPTOS QUE A CONTINUACIÓN SE PRESENTAN. (significado, uso y/o función). 1 pto cada una.

1. Primer:

Es una cadena de ácido nucleico de RNA, que también puede ser DNA que sirve para definir el inicio de la replicación. Este es requerido en el PCR para que la polimerasa 3 pueda polimerizar.

2. Sonda TaqMan:

La sonda TaqMan es un fragmento de DNA de cadena simple, que está formada por un fluoróforo que emite fluorescencia y un desactivador de fluorescencia emitida por el fluoroforo (quencher). La sonda taqman es específica para la secuencia amplificada y emite fluorescencia solo cuando se une permitiendo una cuantificación fidedigna.

3. Termociclador:

Aparato que realiza los cambios de temperatura rápidamente, ejecutando los ciclos necesarios para llevar a cabo el PCR. Los pasos del termociclador son con 3 temperaturas y permiten 1) Temperatura de denaturación del DNA, 2) temperatura de alineamiento de los primers y 3)temperatura de polimerización.

4. Threshold:

Es la fluorescencia basal y se considera como el punto en el cual la reacción de amplificación da comienzo.

5. Valor de Ct:

Punto en el cual la fluorescencia de la reacción sobrepasa la fluorescencia basal (umbral o "threshold"). El valor de corte del CT es la cantidad de fluorescencia que hay entre una muestra positiva o negativa, es decir la mínima fluorescencia para considerar positiva una muestra.

II-. Desarrollo. 2 ptos cada una.

1. Explique brevemente cómo se organiza el genoma del virus ISA e indique ¿cómo se puede establecer la variabilidad de las cepas?

Es un virus de genoma RNA segmentado que tiene replicación nuclear y factores de virulencia. La variabilidad de las cepas se puede establecer por mutación, hipermutación, recombinación rearreglos y segmentación (deleciones, transposiciones).

2. Explique brevemente la diferencia entre un PCR convencional y uno de tiempo real

El PCR tiempo real es semicuantitativo ya que si bien no permite cuantificar el número de copias originales, si permite saber si hay menor o mayor cantidad de material genético. Esto es posible debido a que el termociclador para el PCR tiempo real tiene un sistema óptico para medir la fluorescencia del DNA a medida que amplifica. El PCR convencional se considera no cuantitativo, es decir que con la cantidad final de copia no se puede estimar la cantidad de copias del fragmento de DNA que había antes de amplificarlo.

En este sentido el PCR tiempo real es 100 veces más sensible que el PCR convencional.

3. El orden de las etapas de cada ciclo del RT-PCR One-Step para el diagnóstico de virus ISA son:

1) Retrotranscripción de RNA a cDNA (48-55 °C)

2)Denaturación del DNA (95°)

3) 45 ciclos de 95° para denaturación y 60° para alineamiento y extensión.

4. En una evaluación por RT-PCR hay una muestra (A) que tiene un Ct de 23 y otra muestra (B) que es la misma muestra A pero diluida 8 veces, ¿La muestra B teóricamente debiese tener un Ct más alto o más bajo? Explique.

La muestra B (misma muestra A diluida) debería dar un valor de ct mas alto ya que al realizar la dilución la muestras tendría menor cantidad del material genético a ser detectado (ej virus, bacteria)

5. Explique por qué se utiliza el Factor de Elongación 1 alpha (ELF1alpha) como rutina en el RT-PCR en el diagnóstico de virus ISA.

Se utiliza el ELF1alpha pues es un "house keeping gen" producido constitutivamente por el individuo, y constantemente corresponde a un porcentaje definido del RNA total extraído. Como es constante es comparable entre los resultados de distintos laboratorios.

6. Explique brevemente la diferencia entre bacteria Gram-negativa y bacteria Gra-positiva.

BACTERIA GRAM (+)	BACTERIA GRAM (-)
Envoltura celular compuesta por membrana citoplasmática y pared celular compuesta por una gruesa capa de peptidoglicanos,	Envoltura compuesta por una doble membrana celular (una externa y otra citoplasmática). No tiene pared celular
Logra mantener la coloración del cristal violeta color azul oscuro o violeta, por su pared celular	Se tiñen color rosado pálido (no retiene la tinción)

7. Explique brevemente como *Piscirickettsia salmonis* es capaz de invadir la célula huésped y multiplicarse en ella.

Piscirickettsia salmonis ingresan en las celulas de los macrófagos a través de efectores de virulencia. Se ha estudiado el sistema dot/icm como posible mecanismo para la infección y proliferación en macrófagos. La multiplicación intracelular está dada por los efectores de virulencia, estos son proteínas que se inyectan a través de un sistema de secreción en el citoplasma de la célula infectada.

8. *A la fecha no se ha logrado establecer como Piscirickettsia salmonis* se mantiene y persiste en el medio marino. En este contexto, cree usted que mediante la formación de biofil o biopelículas la bacteria puede sobrevivir en el ambiente?? Justifique su respuesta.

Los biofilms son estrategias de supervivencia de las bacterias. Permite ventajas de protección frente a cambios medio ambientales como PH, temperatura humedad, también se facilita la eliminación de desechos, por lo tanto podría ser un medio para que *p. salmonis* persista en el medio ambiente.

III-. Selección múltiple. 1 punto cada una.

1.- En relación a los virus, es correcto:

a) Son parásitos intracelulares obligados
b) No poseen enzimas para desarrollar su propio metabolismo
c) su función es transportar el ácido nucleico viral de una célula huésped a otra.
d) el virus extracelular con capacidad infectiva recibe el nombre de virión
e) Todas las anteriores son correctas

2.- ¿Cuál de las siguientes características no pertenece al virus ISA HPR0?

a) Solo crece en cultivos celulares
b) Se considera apatógeno
c) Los peces infectados no muestran sintomatología asociada
d) Algunos autores lo consideran el ancestro de todas las otras variantes virales
e) No tiene deleciones en la región altamente polimórfica

3.- ¿Cuál de las siguientes características pertenece a *Piscirickettsia salmonis*?

a) Gram positiva
b) Móvil por flagelos peritricos
c) Intracelular facultativa
d) presenta un tamaño estándar de 1um

Prueba

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

26 de julio de 2018

20,3/24

I - 4
II - 13,3
III - 3

5,8

Nombre: _____Cyntia Barrera Gutierrez_____ **Nota:** _____

I-. EXPLIQUE BREVEMENTE LOS CONCEPTOS QUE A CONTINUACIÓN SE PRESENTAN. (significado, uso y/o función). 1 pto cada una.

1. **Primer:** o partidores, son porciones conocidas (secuenciadas) de material genético (complementarias) que se utilizan para identificar zonas especificas del material genético o segmento especifico de un organismo que se desea amplificar, los cuales establecen los limites o márgenes para que la polimerasa replique la porción deseada, ubicada entre ellos.

2. **Sonda TaqMan:** Es un fragmento de DNA de cadena simple que cuenta con un fluoróforo y un apagador o quencher, la cual se une a la hebra simple de DNA al igual que los primers, por complementariedad de bases y es especifico para una secuencia. Cuando la polimerasa pasa por el segmento en que está unida la sonda, rompe la unión y libera la fluorecencia que hasta ese momento está apagada por el quencher.

3. **Termociclador:** Equipo utilizado para la realización de PCR en tiempo real, el cual a través de ciclos de temperatura permite la amplificación de segmentos específicos de material genético y que va leyendo y graficando en cada ciclo la fluorescencia emitida o liberada durante el proceso (Desnaturaci{on-Aneeling-Polimerización).

4. **Threshold:** Es el umbral establecido de forma manual o automática que permite descartar el ruido o interferencia de la fluorescencia generada de forma inespecífica durante la amplificación, la cual puede estar dada por unión de primers u otros, y que no corresponde a la secuencia buscada. Se calcula con el ruido obtenido en los 10 primeros ciclos.

5. **Valor de Ct**: Es el valor dado por el numero de ciclos de necesarios para que la fluorescencia emitida alcance el umbral establecido o treshold.

II-. Desarrollo. 2 ptos cada una.

1. **Explique brevemente cómo se organiza el genoma del virus ISA e indique ¿cómo se puede establecer la variabilidad de las cepas?**

Se organiza en 8 segmentos de RNA de hebra simple y se puede establecer la variabilidad determinando las diferencias existentes en la región altamente polimórfica (HPR) presente en el segmento 6.

2. **Explique brevemente la diferencia entre un PCR convencional y uno de tiempo real**

La principal diferencia es que en el PCR de tiempo real se pueden obtener resultados más específicos y leer en cada ciclo de amplificación, basado en la fluorescencia emitida, en cambio el PCVR a tiempo real sólo se puede leer el resultado una vez que se realiza electroforesis en gel de agarosa, del resultado de la PCR, el cual separa las moléculas por carga y peso molecular. Esto se compara con un control de tamaño buscado y se utiliza un marcador de tamaño molecular.

EL PCR en tiempo real es 100 veces más sensible que el convencional, ya que este último depende del ojo del analista (subjetivo).

3. **El orden de las etapas de cada ciclo del RT-PCR One-Step para el diagnóstico de virus ISA son:**

- Retrotranscripción de RNA a cDNA (48-55°C)

-Desnaturación de DNA (95°C)

-45 ciclos: a 95°C para desnaturación y a 60°C para alineamiento y extensión, donde la misma enzima que hace la retrotranscriptasa posteriormente polimeriza.

4. **En una evaluación por RT-PCR hay una muestra (A) que tiene un Ct de 23 y otra muestra (B) que es la misma muestra A pero diluida 8 veces, ¿La muestra B teóricamente debiese tener un Ct más alto o más bajo? Explique.**

-LA muestra B debería tener un CT más alto, ya que por cada dilución 1 elevado a 10 aumenta 3,3 ct app. Lo cual se explica porque al diluir la muestra la carga viral o de material genético disminuye (o se diluye).

5. **Explique por qué se utiliza el Factor de Elongación 1 alpha (ELF1alpha) como rutina en el RT-PCR en el diagnóstico de virus ISA.**

Se utiliza como parámetro de comparación del procesamiento de la muestra y de la extracción de la muestra, además puede utilizarse como indicador de la calidad de la muestra obtenida debido a que es una constante y corresponde a un porcentaje definido del RNA extraído.

Así la cantidad de virus se dará en razón del RNA total extraído y así distintas eficiencias de extracción o PCRs serán compatibles.

Para el caso de ISAv, la razón con RNA total es 3 igual que para el caso del ELF1, a pesar de tener eficiencias y métodos diferentes, con lo cual es posible determinar la calidad de la muestra.

6. **Explique brevemente la diferencia entre bacteria Gram-negativa y bacteria Gra-positiva.**

Gram +: tienen una membrana plasmática y una pared celular simple de peptidoglicanos 10 veces más gruesa que las gram -. Se tiñe de coloración azul intenso.

Gram -: cuenta con una doble membrana lipidica compleja más delgada que las gram +. Se tiñe de color rosado.

7. **Explique brevemente como *Piscirickettsia salmonis* es capaz de invadir la célula huésped y multiplicarse en ella.**

EL principal actor es el sistema de secreción tipo IV-B (Dot /Icm) a través del cual puede exportar proteínas efectoras de virulencia, modificar la célula huésped a través de la desestabilización del citoesqueleto imitando proteínas de la célula y alternado la respuesta inmune.

8. ***A la fecha no se ha logrado establecer como Piscirickettsia salmonis* se mantiene y persiste en el medio marino. En este contexto, cree usted que mediante la formación de biofil o biopelículas la bacteria puede sobrevivir en el ambiente?? Justifique su respuesta.**

Creo que sí, al ser intracelular facultativa tiene la posibilidad de vivir fuera de la célula siempre que pueda permanecer en un ambiente adecuado (PH) y con los requerimientos necesarios (fierro).

III-. Selección múltiple. 1 punto cada una.

1.- En relación a los virus, es correcto:

a) Son parásitos intracelulares obligados
b) No poseen enzimas para desarrollar su propio metabolismo
c) su función es transportar el ácido nucleico viral de una célula huésped a otra.
d) el virus extracelular con capacidad infectiva recibe el nombre de virión
e) Todas las anteriores son correctas

2.- ¿Cuál de las siguientes características no pertenece al virus ISA HPR0?

a) Solo crece en cultivos celulares
b) Se considera apatógeno
c) Los peces infectados no muestran sintomatología asociada
d) Algunos autores lo consideran el ancestro de todas las otras variantes virales
e) No tiene deleciones en la región altamente polimórfica

3.- ¿Cuál de las siguientes características pertenece a *Piscirickettsia salmonis*?

a) Gram positiva
b) Móvil por flagelos peritricos
c) Intracelular facultativa
d) presenta un tamaño estándar de 1um

Prueba

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

26 de julio de 2018

I - 5p
II = 15 2p
II P = 4
III = 3p

Nombre: Ivonne Isabel Haro Jara **Nota:** 6,8

I-. EXPLIQUE BREVEMENTE LOS CONCEPTOS QUE A CONTINUACIÓN SE PRESENTAN. (significado, uso y/o función). 1 pto cada una.

1. **Primer:** es una cadena de ácido nucleico el cual sirve como punto de partida para la replicación del ADN, a partir de éste la ADN polimerasa es capaz de sintetizar una nueva cadena de ADN. (Adicionando nucleótidos en secuencias especificas de acuerdo al primer utilizado).
2. **Sonda TaqMan:** es un fragmento de DNA de cadena simple que emite fluorescencia ya que cuenta con fluoróforo que es el que emite la fluorescencia al ser estimulada y un quencher que apaga la fluorescencia emitida por el fluoróforo. Esta sonda es específica para el fragmento de DNA amplificado. De esta manera la fluorescencia es detectada por termociclador y se puede detectar la amplificación del gen que estamos buscando.
3. **Termociclador:** es un equipo usado en biología molecular utilizado para la técnica de PCR, la cual realiza ciclos en base a cambios en la temperatura, estos ciclos están compuestos calentamiento para separar la doble hebra de DNA, disminución de la temperatura para permitir la hibridación de los partidores a las hebras simples de DNA que sirven como templado, temperatura constante u aumentada para que actúen la DNA polimerasa y producir los amplicones y estos tres corresponden a un ciclo. Luego se realiza la lectura en base a generación de curvas y lecturas de éstas. Claramente se utiliza para diagnósticos.
4. **Threshold:** curva de amplificación representativa a partir de la cual es posible determinar el punto en el cual la fluorescencia de la reacción sobrepasa la fluorescencia basal y se considera como el punto en el cual la reacción sobrepasa la fluorescencia. El equipo puede traer definido es threshold pero también puede ser programado manualmente.
5. **Valor de Ct:** corresponde al número de ciclos en el que la fluorescencia de la muestra es significativamente superior a la de su línea base. Entre más DNA original exista, menos ciclos son requeridos para alcanzar este umbral y así el CT es más bajo. Con el CT podemos considerar la presencia del gen que andamos buscando y establecer más o menos si se encuentra en alta o baja cantidad.

II-. Desarrollo. 2 ptos cada una.

1. **Explique brevemente cómo se organiza el genoma del virus ISA e indique ¿cómo se puede establecer la variabilidad de las cepas?**

   - Se organiza en 8 segmentos de ARN monocatenario con polaridad negativa, de hebra simple tiene actividad hemoaglutinante, destructora de receptores y de fusión. Cada segmento genómico codifica al menos diez proteínas, se han identificado 4 proteínas estructurales, nucleoproteínas, proteína de la matriz, hemoaglutinina-estereasa y una glicoproteína de superficie (codificadas en segmentos genómico 3, 8, 6 y 5.) Los segmentos 1, 2 y 4 codifican las polimerasas vírales
   PB2, PB1 y PA. Los dos segmentos genómicos más pequeños, el 7 y el 8, contienen cada uno dos marcos abiertos de lectura (ORF). El ORF1 del segmento 7 codifica una proteína con propiedades de antagonización del interferón tipo I, mientras que se ha sugerido que el ORF2 codifica una proteína nuclear de exportación (NEP)
   Respecto de la variabilidad, el análisis de la secuencia de distintos segmentos de genes ha puesto de manifiesto diferencias entre cepas tanto dentro como entre zonas geográficas definidas, en función de estas diferencias en la secuencia de la región 5' del gen HE, las cepas del ISAV se han clasificado en dos grupos principales, el europeo y el norteamericano. En el gen HE, se ha identificado una pequeña región altamente variable o HPR, por sus siglas en inglés, cerca del dominio transmembrana. Esta región se caracteriza por la presencia de deleciones más que por sustituciones de un solo nucleótido. Estas deleciones dan origen a más de 35 variantes del virus que van desde el HPR0 que presenta la región completa hasta el HPR7b que presenta una deleción de 23 aminoácidos.

2. **Explique brevemente la diferencia entre un PCR convencional y uno de tiempo real**

   PCR Convencional

   - La medición se realiza al final del proceso
   - Resultado cualitativo (y a veces semi-cuantitativo)
   - Baja sensibilidad

   PCR Tiempo Real

   - La medición se realiza en la fase exponencial
   - Resultado cuantitativo
   - Alta sensibilidad

3. **El orden de las etapas de cada ciclo del RT-PCR One-Step para el diagnóstico de virus ISA son:**
   - Desnaturalización : calentamiento para separar la doble hebra de DNA
   - Anillación disminución de la temperatura para permitir la hibridación de los partidores a las hebras simples de DNA que sirven como templado.
   - Extensión: temperatura constante u aumentada para que actúen la DNA polimerasa y producir los amplicones.
   - Repetición del ciclo: 30 a 40 veces.

1,6

4. **En una evaluación por RT-PCR hay una muestra (A) que tiene un Ct de 23 y otra muestra (B) que es la misma muestra A pero diluida 8 veces, ¿La muestra B teóricamente debiese tener un Ct más alto o más bajo? Explique.**
   El CT debiese ser más alto es decir que la curva debiera tender a levantar mas a la derecha (desde 24, 25, 26 etc), esto porque la cantidad de material genético se iría disminuyendo por ende haciendo menos evidente o menos factible su replicación.

2

5. **Explique por qué se utiliza el Factor de Elongación 1 alpha (ELF1alpha) como rutina en el RT-PCR en el diagnóstico de virus ISA.**
   Corresponde a un gen de expresión constitutiva del pez, específico para las especie salmonideas, que permite controlar la calidad de la muestra y el proceso de extracción. Además se puede considerar un gen normalizador de los resultados entre laboratorios.

2

6. **Explique brevemente la diferencia entre bacteria Gram-negativa y bacteria Gra-positiva.**
   Gram positivo
   - Membrana citoplasmática no tiene membrana celular exterior.
   - Pared celular de peptidoglucano
   - Se tiñe de azul a la tinción de gran

1,8

   Gram negativa
   - Doble membrana celular una externa y citoplasmática
   - No se tiñe a la tinción de gran. roja

7. **Explique brevemente como *Piscirickettsia salmonis* es capaz de invadir la célula huésped y multiplicarse en ella.**

Replicación o multiplicación intracelular dirigida por efectores de virulencia, que son proteínas, las cuales son inyectadas en citoplasma de células infectadas, estas proteínas modula a la célula infectada. La bacteria se ancla al macrófago por medio del pili y al entrar en la célula en vez de ser destruida la bacteria libera sus factores de virulencia sistema de secreción DOT/ICM. Aumenta el nivel de expresión a PH acido, por ende mayor secreción, al parecer cambio de PH de la célula generaría la secreción del efecto de virulencia.

8. ***A la fecha no se ha logrado establecer como Piscirickettsia salmonis* se mantiene y persiste en el medio marino. En este contexto, cree usted que mediante la formación de biofil o biopelículas la bacteria puede sobrevivir en el ambiente ? Justifique su respuesta.**

Al tener la bacteria la capacidad de generar biofil es decir de adherirse a superficies excretando exopolisacaridos de tal forma que se vayan adhiriendo más bacterias y se vayan protegiendo entre ellas, es factible que se puedan mantener por un tiempo protegidas en el biofil de las jaulas.

III-. Selección múltiple. 1 punto cada una.

1.- En relación a los virus, es correcto:

a) Son parásitos intracelulares obligados
b) No poseen enzimas para desarrollar su propio metabolismo
c) su función es transportar el ácido nucleico viral de una célula huésped a otra.
d) el virus extracelular con capacidad infectiva recibe el nombre de virión
e) Todas las anteriores son correctas

2.- ¿Cuál de las siguientes características no pertenece al virus ISA HPR0?

a) Solo crece en cultivos celulares
b) Se considera apatógeno
c) Los peces infectados no muestran sintomatología asociada
d) Algunos autores lo consideran el ancestro de todas las otras variantes virales
e) No tiene deleciones en la región altamente polimórfica

3.- ¿Cuál de las siguientes características pertenece a *Piscirickettsia salmonis*?

a) Gram positiva
b) Móvil por flagelos peritricos
c) Intracelular facultativa
d) presenta un tamaño estándar de 1um

Prueba

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

26 de julio de 2018

Nombre: Laura Alejandra Díaz Zurita **Nota:** 6,6

I-. EXPLIQUE BREVEMENTE LOS CONCEPTOS QUE A CONTINUACIÓN SE PRESENTAN. (significado, uso y/o función). 1 pto cada una.

1. Primer: o cebador, son oligonucleótidos que sirven para replicar material genético, generalmente es una secuencia corta de nucleótidos (20 aproximadamente). Se necesitan para la amplificación dos tipos de primers, el forward y un reverse, uno para cada hebra molde (de 3 a 5 prima y de 5 a 3 prima). Estos partidores deben tener secuencias específicas según hebras de material genético que se quiera replicar.

2. Sonda TaqMan: es un fragmento de DNA de cadena simple que emite fluorescencia. Funciona como un primer, se une a una hebra simple de DNA por complementariedad de bases, por lo que la sonda debe ser específica para cada secuencia de DNA. La sonda tiene dos elementos de fluorescencia, un fluoróforo que permite la fluorescencia propiamente tal, y un quencher que apaga la fluorescencia emitida por un fluoróforo. El fluoróforo y el quencher están conjugados (adheridos), cada uno a un nucleótido de la sonda, generalmente a ambos extremos de esta. El sistema TaqMan tiene la capacidad de exonucleasas de la polimerasa, esto significa que al polimerizar, la exonucleasa saca nucleótidos que molestan. Se emite fluorescencia cuando la sonda que es específica se une a la secuencia en cuestión.

3. Termociclador: Un termociclador de tiempo real es un equipo, con un sistema óptico para medir fluorescencia del DNA a medida que se amplifica.

4. Threshold: Se trata de un cálculo logarítmico que realiza el equipo en cada ciclo para dejar los ruidos (amplificaciones) bajo esta línea. Es un promedio de los ruidos generados por análisis. Aunque el equipo realiza el cálculo, también se puede modificar de forma manual.

5. Valor de Ct: es el número de ciclos necesario, para que la fluorescencia alcance cierto umbral arbitrario. Es un valor de amplificación de tiempo real. En general este umbral se ubica al comienzo de la exponencial, sobre el nivel de ruido del sistema. Entre más DNA original existía, menos ciclos son requeridos para alcanzar este umbral, y así el CT es más

bajo. Con el Ct podemos considerar la presencia del gen que andamos buscando y establecer más o menos si se encuentra en alta o baja cantidad.

II-. Desarrollo. 2 ptos cada una.

1. Explique brevemente cómo se organiza el genoma del virus ISA e indique ¿cómo se puede establecer la variabilidad de las cepas?

El genoma se organiza en 8 segmentos de ARN monocatenario con polaridad negativa, de hebra simple que tiene actividad hemoaglutinante, destructora de receptores y de fusión. Cada segmento genómico codifica al menos 10 proteínas, se han identificado 4 proteínas estructurales, nucleoproteínas, proteínas de matriz, hemoaglutinina-estereasa y una glucoproteína de superficie (codificadas en segmentos genómicos 3, 8, 6 y 5). Los segmentos 1, 2 y 4 codifican las polimerasas virales PB2, PB1 y PA. Los dos segmentos genómicos más pequeños, el 7 y el 8, contienen cada uno dos marcos abiertos de lectura (ORF). El ORF1 del segmento 7 codifica una proteína con propiedades de antagonización del interferón tipo I, mientras que se ha sugerido que el ORF2 codifica una proteína nuclear de exportación (NEP).

Referente a la variabilidad el análisis de la secuencia de distintos segmentos de genes ha puesto de manifiesto diferencias entre cepas tanto dentro como entre zonas geográficas definidas. En función de estas diferencias en las secuencias de la región 5 prima del gen HE, las cepas del ISAv se han clasificado en 2 grupos principales, el europeo y el norteamericano. En el gen HE, se ha identificado una pequeña región altamente variable o HPR, por sus siglas en inglés, cerca del dominio transmembrana. Esta región se caracteriza por la presencia de deleciones más que por sustituciones de un solo nucleótido. Estas deleciones dan origen a más de 35 variantes del virus que van desde el HPR0 que presenta la región completa hasta el HPR7b que presenta una deleción de 23 aminoácidos.

2. Explique brevemente la diferencia entre un PCR convencional y uno de tiempo real

El PCR convencional, se considera no cuantitativo si no que cualitativo, es decir, dada la cantidad final de copias de un fragmento de DNA no se puede estimar la cantidad original de copias de el fragmento de DNA, que habían antes de amplificarlo. Tiene baja sensibilidad

El PCR en tiempo real, se utiliza un equipo llamado termociclador en tiempo real, este PCR es mucho más sensible que el convencional. Se utilizan Ct para medir amplificación. Es de alta sensibilidad, genera resultados cuantitativos, y la medición se realiza en la fase exponencial.

3. El orden de las etapas de cada ciclo del RT-PCR One-Step para el diagnóstico de virus ISA son:

RT-PCR

1- Desnaturalización: se produce en temperatura alta para separar hebras
2- Anillamiento (annealing): unión de primers a la hebra (disminución de temperatura)
3- Elongación o extensión: unión de enzima polimerasa para producir amplicones (temperatura constante o aumentada)

Usualmente los ciclos son 30 o 40. 16

4. En una evaluación por RT-PCR hay una muestra (A) que tiene un Ct de 23 y otra muestra (B) que es la misma muestra A pero diluida 8 veces, ¿La muestra B teóricamente debiese tener un Ct más alto o más bajo? Explique.

La muestra B debería tener un Ct mas alto debido a que la muestra al estar mas diluida presentaría una menor carga genética.

5. Explique por qué se utiliza el Factor de Elongación 1 alpha (ELF1alpha) como rutina en el RT-PCR en el diagnóstico de virus ISA.

Esto se basa en la propuesta por Snow et al 2006, donde se propone un sistema de 3 sondas, de las cuales 2 son contra el segmentos del virus ISA, y una contra el factor de elongación de *S. salar*. El factor de elongación es un Keeping Gene, producido constitutivamente por el organismo y es constante sin importar las condiciones. EF1 alpha es usado como parámetro del procesamiento de la muestra y la extracción de RNA (calidad de la muestra), porque constantemente corresponde a un porcentaje definido del RNA total extraído. De esta forma la cantidad de virus se dará en razón del RNA total extraído y así distintas eficiencias de extracción o PCRs serán compatibles.

6. Explique brevemente la diferencia entre bacteria Gram-negativa y bacteria Gra-positiva.

Gram positivas: pared celular de peptidoglucanos, membrana citoplasmática sin membrana exterior, y se tiñe de azul a la tinción gran, debido a que el cristal violeta no puede salir de la célula por los PG.

Gram negativas: presenta doble membrana celular, una externa y una citoplasmática. Al realizar tinción Gram y realizar lavados solo queda la safranina dentro y el cristal violeta sale por las membranas.

7. Explique brevemente como *Piscirickettsia salmonis* es capaz de invadir la célula huésped y multiplicarse en ella.

La bacteria se adhiere a través del pili al macrófago del pez. La membrana de la bacteria tiene un sistema de secreción de enzimas que desestabiliza el exoesqueleto de la célula fagocítica, estas proteínas que liberan evitan que sea eliminada la bacteria por el macrófago. Existen 16 de estas proteínas las cuales están asociadas a la exportación y a la colaboración con la ATPasa.

Una vez fagocitadas, ya dentro del fagosoma, aumenta la liberación de estas proteínas porque se acidifica el medio, favoreciendo su liberación.

También estas proteínas tienen la particularidad de imitar a algunas proteínas de la célula del pez. Por ejemplo ANK, desestabiliza fibras de keratina en citoesqueleto. Ryb1 que se asemeja a una toxina que desestabiliza el transporte de iones en membrana para favorecer captación de Fe para beneficio de la bacteria.

Además, cuando la bacteria es fagocitada hay un aumento de IL 10 que apaga respuesta inmune, bloqueando por ejemplo el Interferón. Esto se debe a que la bacteria presenta flagelina que aumenta la IL 10 (aunque no tenga flagelo).

También existe un sistema de secreción tipo I: donde se secreta hemolisina (proteína que lisa los glóbulos rojos para captar Fe de la hemoglobina para que la bacteria pueda subsistir.

Los órganos blancos más comunes de encontrar *P. salmonis* es riñón, hígado y cerebro.

8. *A la fecha no se ha logrado establecer como Piscirickettsia salmonis* se mantiene y persiste en el medio marino. En este contexto, cree usted que mediante la formación de biofil o biopelículas la bacteria puede sobrevivir en el ambiente?? Justifique su respuesta.

Al tener la bacteria la capacidad de generar biofilm es decir de adherirse a superficies excretando exopolisacaridos de tal forma que se vayan adhiriendo más bacterias y se vayan protegiendo entre ellas, es factible que se puedan mantener por un tiempo protegidas en el biofilm de las jaulas (mallas, redes, estructuras en general).

III-. Selección múltiple. 1 punto cada una.

1.- En relación a los virus, es correcto:

a) Son parásitos intracelulares obligados
b) No poseen enzimas para desarrollar su propio metabolismo
c) su función es transportar el ácido nucleico viral de una célula huésped a otra.
d) el virus extracelular con capacidad infectiva recibe el nombre de virión
e) Todas las anteriores son correctas

2.- ¿Cuál de las siguientes características no pertenece al virus ISA HPR0?

a) Solo crece en cultivos celulares
b) Se considera apatógeno
c) Los peces infectados no muestran sintomatología asociada
d) Algunos autores lo consideran el ancestro de todas las otras variantes virales
e) No tiene deleciones en la región altamente polimórfica

3.- ¿Cuál de las siguientes características pertenece a *Piscirickettsia salmonis*?

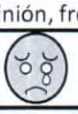
a) Gram positiva
b) Móvil por flagelos peritricos
c) Intracelular facultativa
d) presenta un tamaño estándar de 1um

Encuesta de Satisfacción

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

Tema de la Capacitación:	**Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis***
Nombre del Capacitador:	**Sergio Marshall, Fernando Gómez, Alvaro Labra**
Entidad / Empresa	**Sernapesca**

A continuación le solicitamos marcar con una **X** el nivel de la escala que mejor refleje su opinión, frente a cada criterio de evaluación.

TEMA				
Metodología				
Los objetivos de la capacitación fueron claros.				X
Los contenidos de la capacitación fueron suficientes para alcanzar los objetivos propuestos.				X
La capacitación fue relevante y útil.				X
Material				
Los materiales que recibió fueron acertados y suficientes.				X
Las presentaciones fueron claras y fáciles de seguir.				X
El contenido fue oportuno y de calidad.				X
La capacitación fue suficiente para implementar los conocimientos en su trabajo.				X
Expositores				
Los expositores dominan los temas tratados.				X
Los expositores tienen dominio de grupo.				X
Los expositores estimulan la participación e intercambio de ideas y experiencias.				X
Organización				
La organización del taller y el soporte logístico fueron apropiados.				X
La sesión o sesiones se cumplieron en el horario dispuesto.				X

¿Qué tema le gustaría profundizar?

SUGERENCIAS

Anita Espinoza González	
Nombre	**Firma**

Encuesta de Satisfacción

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

Tema de la Capacitación:	**Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis***
Nombre del Capacitador:	**Sergio Marshall, Fernando Gómez, Alvaro Labra**
Entidad / Empresa	**Sernapesca**

A continuación le solicitamos marcar con una **X** el nivel de la escala que mejor refleje su opinión, frente a cada criterio de evaluación.

TEMA				
Metodología				
Los objetivos de la capacitación fueron claros.				X
Los contenidos de la capacitación fueron suficientes para alcanzar los objetivos propuestos.				X
La capacitación fue relevante y útil.				X
Material				
Los materiales que recibió fueron acertados y suficientes.			X	
Las presentaciones fueron claras y fáciles de seguir.				X
El contenido fue oportuno y de calidad.				X
La capacitación fue suficiente para implementar los conocimientos en su trabajo.			X	
Expositores				
Los expositores dominan los temas tratados.				X
Los expositores tienen dominio de grupo.				X
Los expositores estimulan la participación e intercambio de ideas y experiencias.				X
Organización				
La organización del taller y el soporte logístico fueron apropiados.			X	
La sesión o sesiones se cumplieron en el horario dispuesto.				X

¿Qué tema le gustaría profundizar?

Interpretación de resultados de ~~PCR~~ PCR

SUGERENCIAS

Carla Argueta	
Nombre	**Firma**

Gene FISH GIM - PUCV
Laboratorio de Referencia de Patógenos Acuícolas

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS
OIE LABORATORIO DE REFERENCIA DE PARA EL VIRUS DE LA ANEMIA INFECCIOSA DEL SALMÓN

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Encuesta de Satisfacción

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

Tema de la Capacitación:	**Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis***
Nombre del Capacitador:	**Sergio Marshall, Fernando Gómez, Alvaro Labra**
Entidad / Empresa	**Sernapesca**

A continuación le solicitamos marcar con una **X** el nivel de la escala que mejor refleje su opinión, frente a cada criterio de evaluación.









TEMA				
Metodología				
Los objetivos de la capacitación fueron claros.			X	
Los contenidos de la capacitación fueron suficientes para alcanzar los objetivos propuestos.			X	
La capacitación fue relevante y útil.				X
Material				
Los materiales que recibió fueron acertados y suficientes.				X
Las presentaciones fueron claras y fáciles de seguir.				X
El contenido fue oportuno y de calidad.				X
La capacitación fue suficiente para implementar los conocimientos en su trabajo.				X
Expositores				
Los expositores dominan los temas tratados.				X
Los expositores tienen dominio de grupo.				X
Los expositores estimulan la participación e intercambio de ideas y experiencias.				X
Organización				
La organización del taller y el soporte logístico fueron apropiados.				X
La sesión o sesiones se cumplieron en el horario dispuesto.				X

¿Qué tema le gustaría profundizar?

Me gustaría poder profundizar temas técnicos de la técnica PCR.

SUGERENCIAS

Cynthia Bonema Gutiérrez	[signature]
Nombre	**Firma**

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Encuesta de Satisfacción

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

Tema de la Capacitación:	**Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis***
Nombre del Capacitador:	Sergio **Marshall, Fernando** Gómez, **Alvaro Labra**
Entidad / Empresa	Sernapesca

A continuación le solicitamos marcar con una **X** el nivel de la escala que mejor refleje su opinión, frente a cada criterio de evaluación.

TEMA				
Metodología				
Los objetivos de la capacitación fueron claros.			X	
Los contenidos de la capacitación fueron suficientes para alcanzar los objetivos propuestos.			X	
La capacitación fue relevante y útil.				X
Material				
Los materiales que recibió fueron acertados y suficientes.			X	
Las presentaciones fueron claras y fáciles de seguir.				X
El contenido fue oportuno y de calidad.			X	
La capacitación fue suficiente para implementar los conocimientos en su trabajo.		X		
Expositores				
Los expositores dominan los temas tratados.				X
Los expositores tienen dominio de grupo.				X
Los expositores estimulan la participación e intercambio de ideas y experiencias.				X
Organización				
La organización del taller y el soporte logístico fueron apropiados.			X	
La sesión o sesiones se cumplieron en el horario dispuesto.				X

¿Qué tema le gustaría profundizar?

Dominio a cabalidad de los Softwares utilizados en Biología Molecular.

SUGERENCIAS

Sin observaciones.

Laura Díaz Zuñeta	
Nombre	Firma

LABORATORIO DE PATÓGENOS ACUÍCOLAS

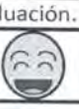
PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

Encuesta de Satisfacción

Programa de Capacitación y Entrenamiento "Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis*"

Tema de la Capacitación:	**Biología Celular, Molecular y Diagnóstico del Virus de la Anemia Infecciosa del Salmón y *Piscirickettsia salmonis***
Nombre del Capacitador:	**Sergio Marshall, Fernando Gómez, Alvaro Labra**
Entidad / Empresa	**Sernapesca**

A continuación le solicitamos marcar con una **X** el nivel de la escala que mejor refleje su opinión, frente a cada criterio de evaluación.

TEMA				
Metodología				
Los objetivos de la capacitación fueron claros.				X
Los contenidos de la capacitación fueron suficientes para alcanzar los objetivos propuestos.				X
La capacitación fue relevante y útil.		X		
Material				
Los materiales que recibió fueron acertados y suficientes.				X
Las presentaciones fueron claras y fáciles de seguir.			X	
El contenido fue oportuno y de calidad.			X	
La capacitación fue suficiente para implementar los conocimientos en su trabajo.				
Expositores				
Los expositores dominan los temas tratados.				X
Los expositores tienen dominio de grupo.				X
Los expositores estimulan la participación e intercambio de ideas y experiencias.				X
Organización				
La organización del taller y el soporte logístico fueron apropiados.		X		
La sesión o sesiones se cumplieron en el horario dispuesto.			X	

¿Qué tema le gustaría profundizar?

- Distintos equipos y programas en cuanto a conocerlos mejor.
- Norma 17025

SUGERENCIAS

Respecto del tema ISAv no se trató el tema mas que en otros cursos, no hubo nada nuevo.

IVONNE HANO	
Nombre	**Firma**