

# Escrutinio molecular de IHHNV y WSSV mediante PCR punto final en postlarvas de *Penaeus vannamei* como herramienta diagnóstica del estatus sanitario

## PROBLEMA

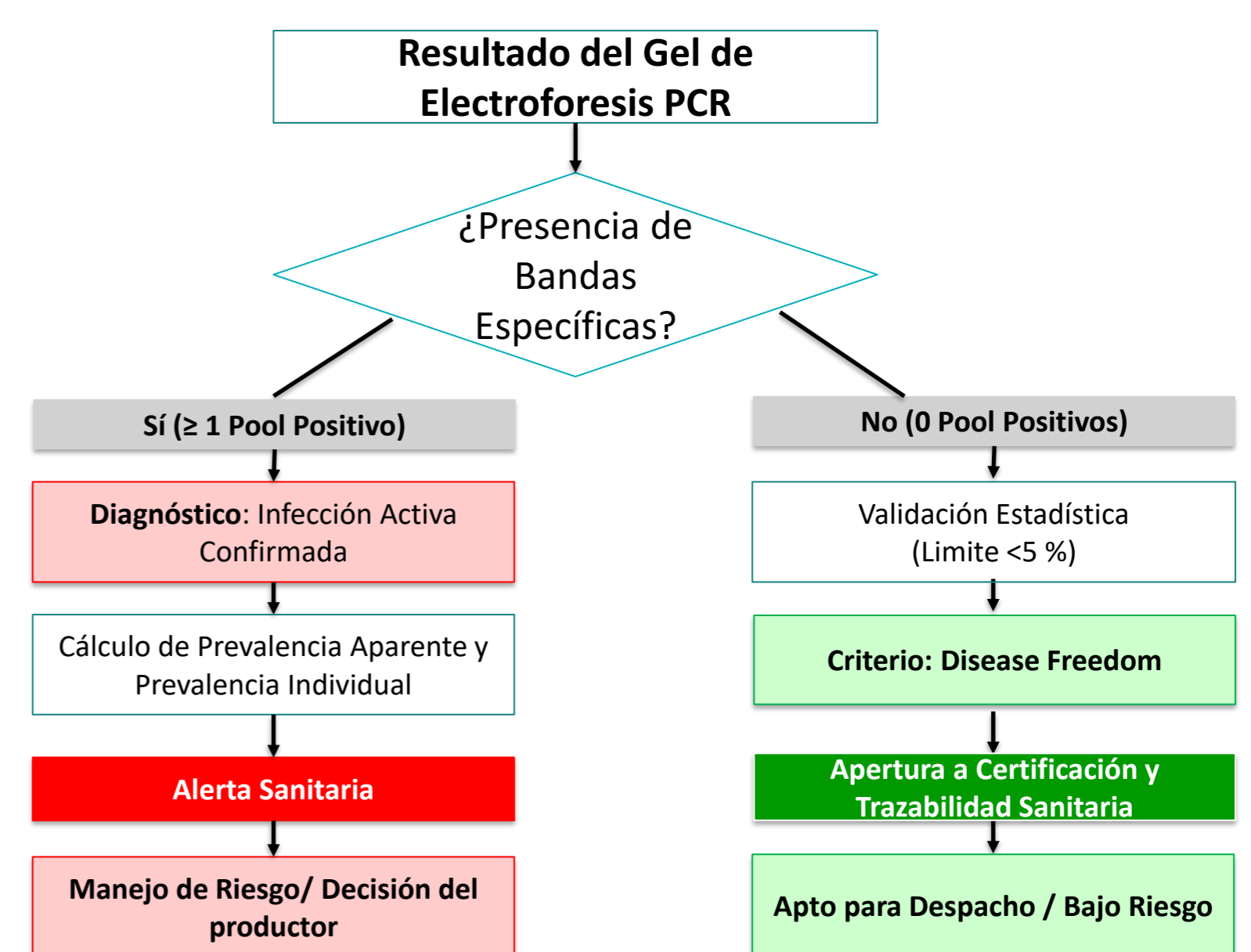
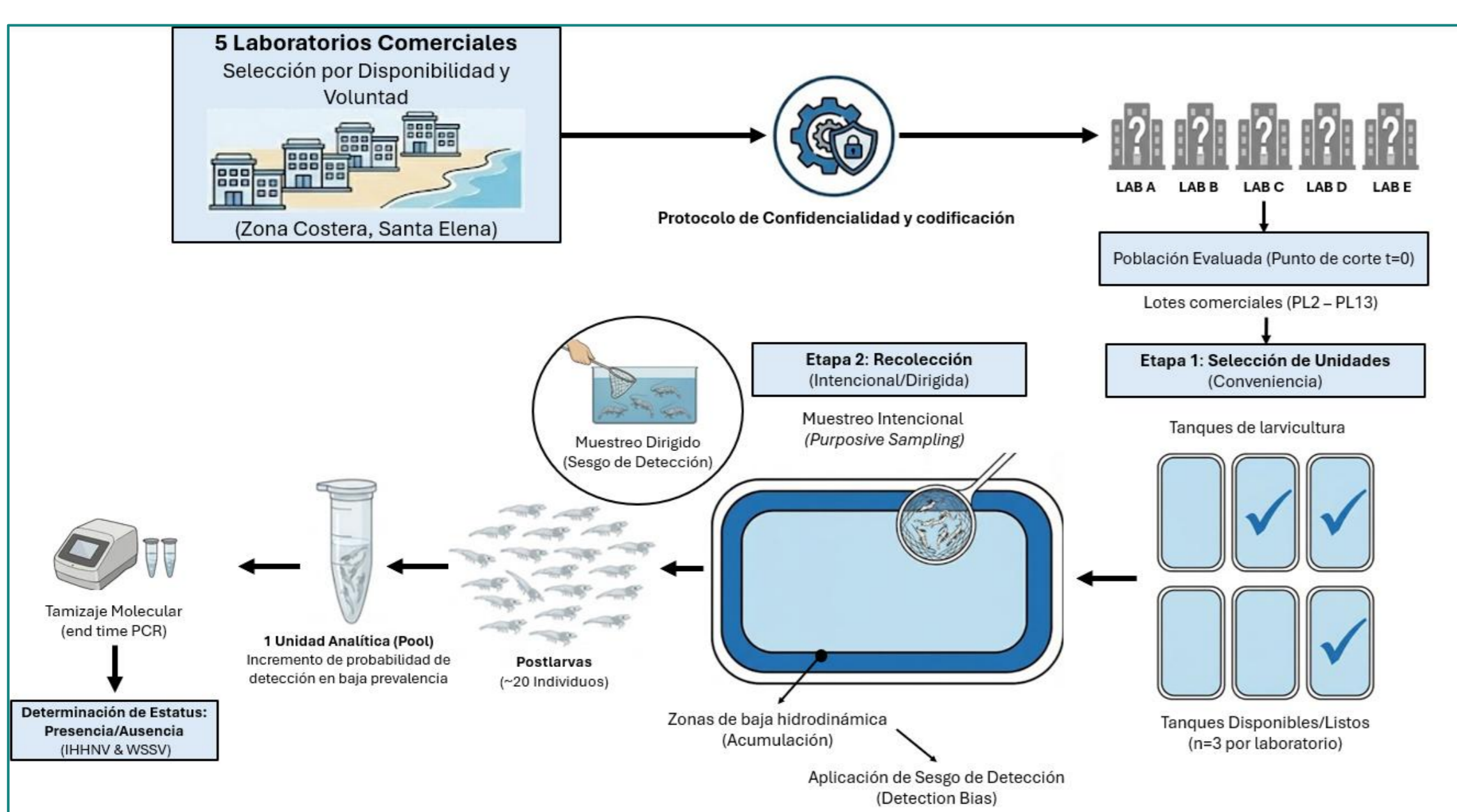
La coexistencia con WSSV e IHHNV mediante tolerancia genética **no elimina los costos ocultos** de la infección latente. La presencia viral en postlarvas, sumada a factores ambientales estresantes, comprometen la supervivencia y el rendimiento, causa disparidad de tallas y aumenta **el riesgo de brotes en engorde**. Actualmente, la falta de certificación sensible obliga al productor a asumir este riesgo desde **la siembra**. Este estudio estandariza un protocolo de PCR punto final para garantizar lotes libres de carga viral detectable, permitiendo transicionar de una estrategia de supervivencia a una de aseguramiento de calidad sanitaria.



## OBJETIVO GENERAL

Estandarizar un protocolo de muestreo y PCR punto final para la detección de IHHNV y WSSV en lotes de postlarvas, orientado a la clasificación sanitaria y a la gestión de riesgo previa al despacho.

## PROPUESTA



## Protocolo Analítico

**Unidad analítica:** pool de 20 postlarvas (estandarizado para minimizar efecto de dilución)

**Extracción de ADN:** protocolo Fenol-Cloroformo (Alta pureza)

**Detección viral:**

- **IHHNV:** PCR Punto final (Cebadores 309F/R)
- **WSSV:** Nested-PCR, (Cebadores IK1-IK2 (Externa) / IK3-IK4 (Interna)) (Lo et al., 1996)

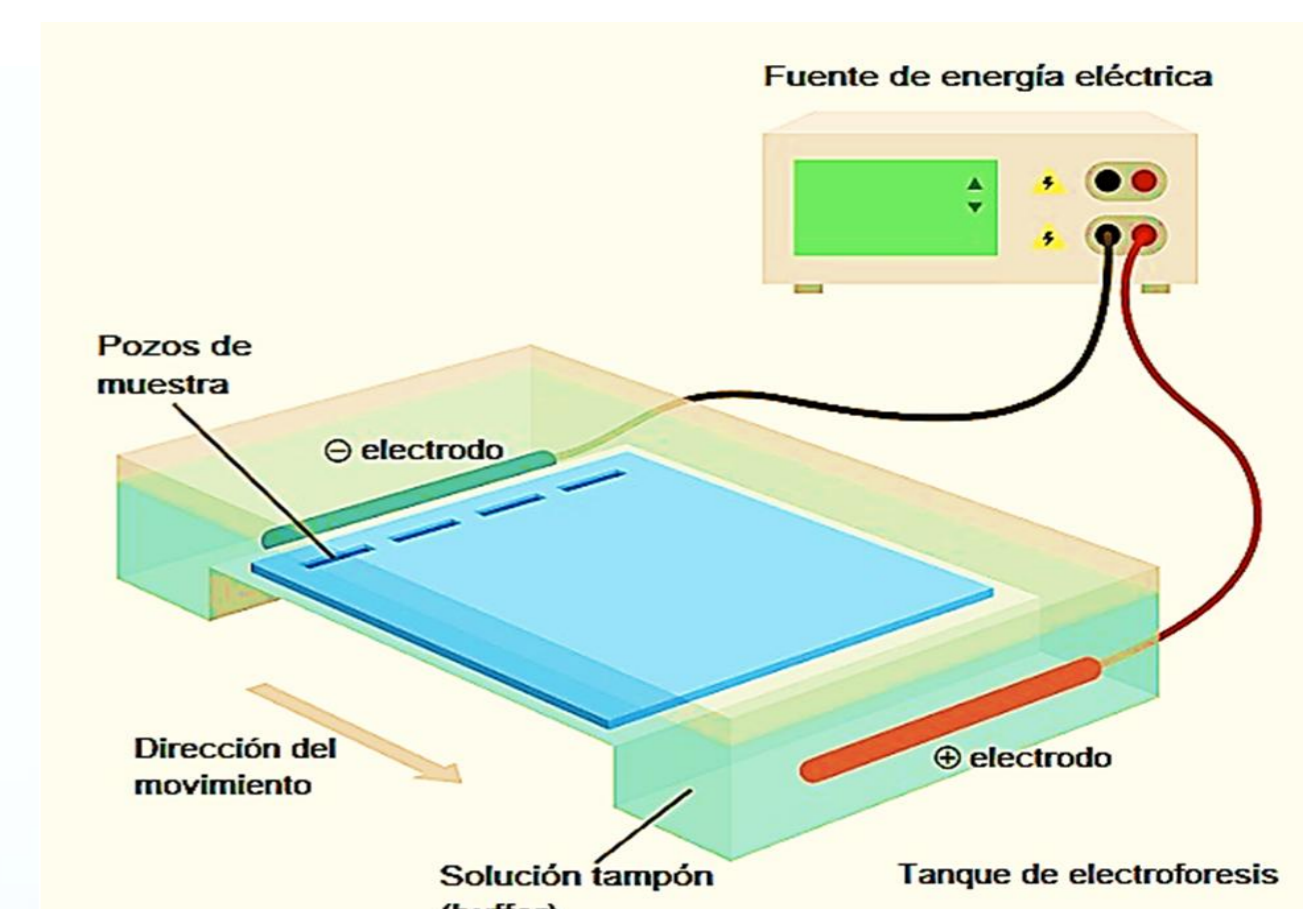
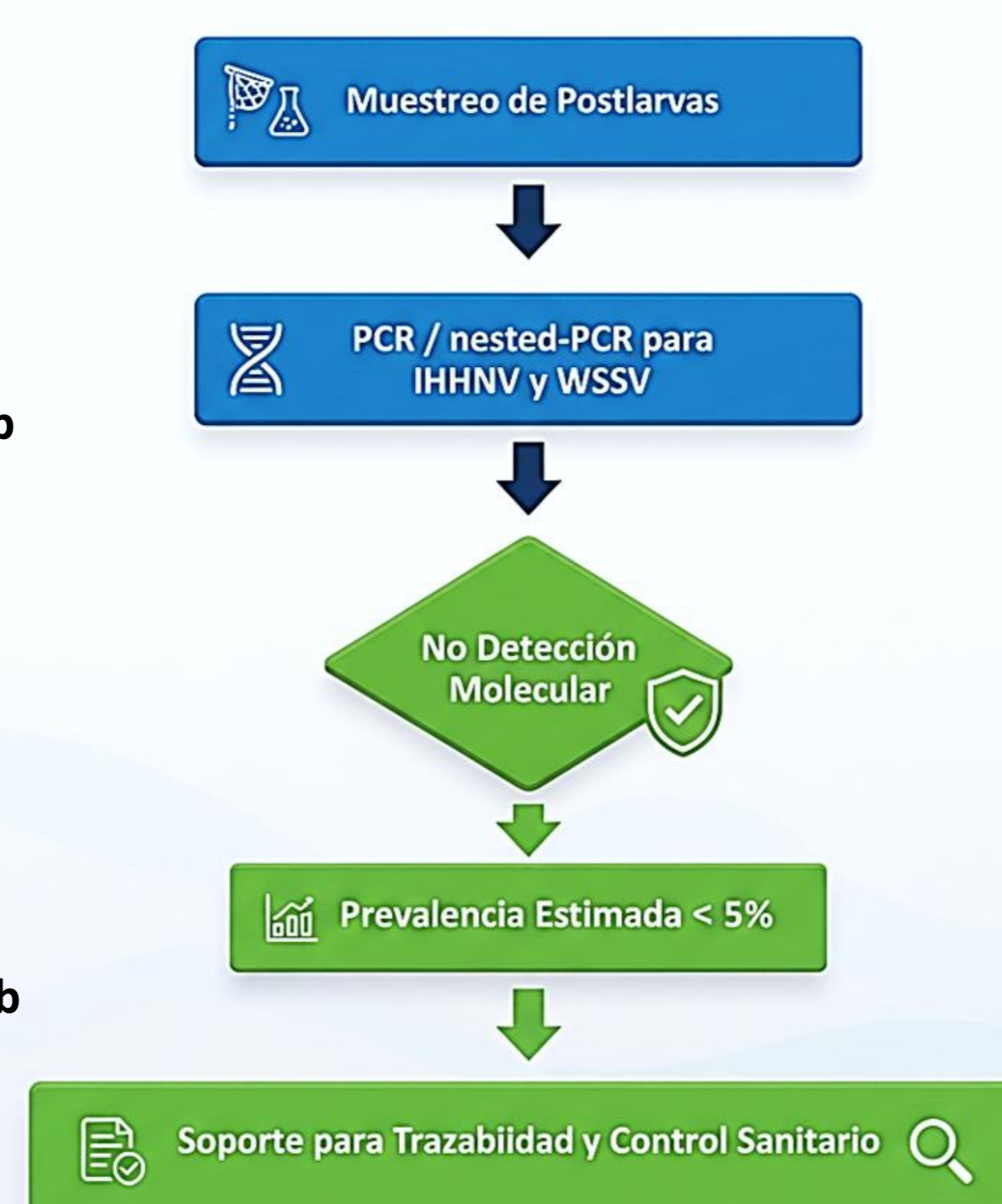
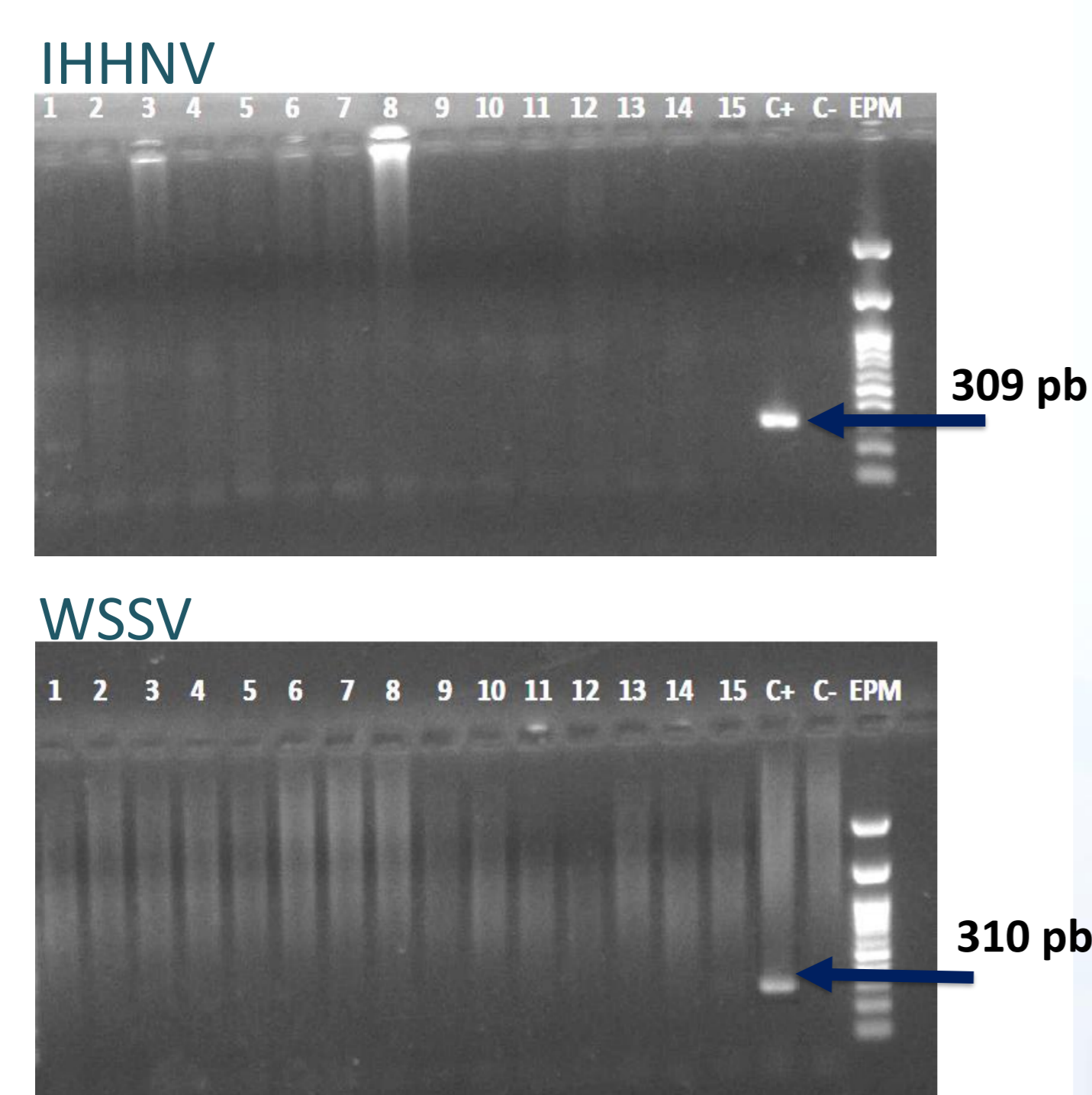
### Análisis de datos:

- Cálculo de Prevalencia Aparente (Corsin & De Blas, 2010)
- Ajuste de Prevalencia Individual por modelo de Kline et al. (1989)
- Validación: Criterio de Disease Freedom (NPV)

$$P_{ind} = \left[ 1 - \left( 1 - \frac{\text{pools positivos}}{\text{pools negativos}} \right)^{\frac{1}{\text{tamaño del pool}}} \right] \times 100$$

$$AP = \left( \frac{N^{\circ} \text{ de Pools Positivos}}{\text{Total de Pools Analizados (N)}} \right) \times 100$$

## RESULTADOS



Código Lab.	Muestras (Carriles)	IHHNV	WSSV	Estatus del Lote
Lab A	1-3	(-) Negativo	(-) Negativo	No Detectado
Lab B	4-6	(-) Negativo	(-) Negativo	No Detectado
Lab C	7-9	(-) Negativo	(-) Negativo	No Detectado
Lab D	10-12	(-) Negativo	(-) Negativo	No Detectado
Lab E	13-15	(-) Negativo	(-) Negativo	No Detectado

## CONCLUSIONES



La no detección de IHHNV y WSSV en las postlarvas analizadas respalda la aplicación de la PCR como un mecanismo de control sanitario previo a la comercialización.

- El protocolo estandarizado de muestreo y PCR (punto final/nested) demostró ser robusto y libre de contaminación cruzada, validándose como un filtro de bioseguridad eficaz para la detección temprana de patógenos en estadios PL
- La ausencia de detección de WSSV e IHHNV confirma la eficacia de los cercos de bioseguridad en los laboratorios evaluados, garantizando lotes con una prevalencia viral detectable nula (<5% conf. estadística)
- Más que un requisito, este esquema de verificación sanitaria constituye una herramienta estratégica de trazabilidad y "debida diligencia", fortaleciendo la confianza entre proveedor y productor al delimitar responsabilidades sanitarias desde el origen