

AÑO 2018

EMERGENCIA DEL VIRUS DEL LAGO DE LA TILAPIA (TiLV), EN GRANJAS PISCICOLAS DEL DEPARTAMENTO DE CORDOBA, COLOMBIA 2016-2017.

Autor: Hector Contreras Martinez

RESUMEN

Introducción. Tilapia virus (TiLV) es un virus emergente que ha sido asociado a altas mortalidades en cultivos de tilapia en Israel, Tailandia, Ecuador, Egipto, India, Malasia y Colombia generando grandes pérdidas económicas a los productores acuícolas. **Objetivo.** Describir algunos aspectos epidemiológicos y moleculares de la infección por TiLV en granjas piscícolas del Departamento de Córdoba, Colombia. **Métodos.** Debido a los episodios de mortalidad en fincas del Departamento de Córdoba, entre julio de 2016 y diciembre de 2017 se llevó a cabo un estudio descriptivo prospectivo en diez granjas piscícolas, mediante muestreo no aleatorio de 89 peces vivos con y sin signos clínicos de enfermedad. El examen clínico macroscópico de los órganos externos e internos se realizó in situ. De cada animal se extrajo de manera aséptica el hígado, bazo y encéfalo, los cuales fueron colocados en RNA Later®, para su transporte al instituto de investigaciones biológicas de la Universidad de Córdoba, Colombiano. A cada órgano se le realizó extracción de ARN con Trizol® siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó retrotranscripción con primers random y retrotranscriptasa M-MLV (Promega), el cDNA obtenido se almacenó a -40°C hasta su uso. Posteriormente se realizó una PCR usando primers específicos propuestos por Eynigor et al. (2014), que amplificaron una región del segmento 3 de 491 pb. Los productos de PCR fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5% w/v y Sybr safe al 4% v/v. Los amplicones se secuenciaron mediante el método de Sanger, se analizaron usando el programa MEGA 6.0 y se alinearon con secuencias anotadas en Genbank. Se realizó una prueba de Irwin-Fisher, regresión logística para determinar significancia de signos clínicos usando el programa Infostat para determinar dependencia de los datos. **Resultados.** Se detectó TiLV en el 42,85% (3/7) de las granjas muestreadas y en el 20,2% (18/ 89) del total de los peces analizados. De otro lado, en el 33,33% (1/3) de las granjas el virus se presentó tanto en animales con signos clínicos como en aquellos aparentemente sanos. Considerando solo aquellas granjas positivas para TiLV, las infecciones de tejido encefálico representaron el 64,3% (18/28), de los cuales 22,2% (4/18), eran animales aparentemente sanos y 77,7% (14/18) de animales con algún signo clínico evidente. Las infecciones en el bazo se presentaron en un 61,9% (13/21), de las cuales 15,38% (2/13) fueron animales aparentemente sanos y 84,6% (11) eran de animales con algún signo clínico. La infección hepática fue de un 35,7% (10/28), estas solo se detectaron en animales con algún signo clínico. El análisis estadístico demostró que signos clínicos como encefalomegalia y esplenomegalia fueron altamente significativos ($p < 0,0001$) en animales positivos para TiLV. El análisis de secuencias demostró identidad del 97% con cepas de Israel. **Conclusiones.** Este es el primer estudio en el Departamento de Córdoba que confirma la detección molecular de TiLV, es el primero en Colombia que reporta al GenBank secuencias nucleotídicas de las cepas circulantes de TiLV. Los análisis de homología nucleotídica, arrojaron que las cepas circulantes detectadas en el presente

estudio presentan un 97% de identidad con la cepa israelí (GenBank KU751816.1), lo que sugiere que llegó a Colombia por la importación de alevinos infectados. Este trabajo es el primero que registra proporciones de mortalidad en peces, las lesiones encefálicas fueron las más comunes y prevalentes en peces infectados, las lesiones hepáticas esplenomegalia, aletas erosionadas también fueron altamente significativas ($p < 0,05$). El hallazgo de TiLV representa un riesgo económico para el sector acuícola por las altas mortalidades.

Palabras clave: Fish disease, animal viruses, *Oreochromis niloticus*, orthomyxovirus infection surveillance, epidemiology, and end results program,

ABSTRACT

Introduction. Tilapia virus (TiLV) is an emerging virus that has been associated with high mortalities in tilapia cultures in Israel, Thailand, Ecuador, Egypt, India, Malaysia and Colombia generating great economic losses to aquaculture producers. **Objective.** To describe some epidemiological and molecular aspects of the infection by TiLV in fish farms of the department of Córdoba, Colombia. **Methods.** Due to the episodes of mortality in farms of the department of Córdoba, between July 2016 and December 2017 a prospective descriptive study was carried out in ten fish farms, by non-random sampling of 89 live fish with and without clinical signs of disease. The macroscopic clinical examination of the external and internal organs was performed in situ. The liver, spleen and brain were extracted aseptically from each animal, which were placed in RNA Later®, for transport to the biological research institute of the University of Córdoba, Colombia. Each organ was extracted RNA with Trizol® following the manufacturer's instructions. A retrotranscription was performed with random primers and retrotranscriptase M-MLV (Promega, USA), the obtained cDNA was stored at -40°C until its use. Subsequently, a PCR was performed using specific primers proposed by Eyngor y col in 2014, which amplified a segment 3 region of 491 bp. The PCR products were visualized by electrophoresis in 1.5% w / v agarose gel and 4% v / v Sybr safe. The amplicons were sequenced using the Sanger method, analyzed using the MEGA 6.0 program and confronted with previous sequence annotations deposited in Genbank. An Irwin-Fisher test was performed, logistic regression to determine the significance of clinical signs using the Infostat program to determine the dependence of the data. **Results.** TiLV was detected in 42,85% (3/7) of the sampled farms and in 20.2% (18/89) of the total fish analyzed. On the other hand, in 33.33% (1/3) of the farms the virus appeared both in animals with clinical signs and in those apparently healthy. Considering only those farms positive for TiLV, brain tissue infections accounted for 64.3% (18/28), of which 22.2% (4/18) were apparently healthy animals and 77.7% (14 / 18) of animals with some obvious clinical signs. Infection in the spleen occurred in 61.9% (13/21), of which 15.38% (2/13) were apparently healthy animals and 84.6% (11) were of animals with some clinical sign . The liver infection was 35.7% (10/28), these were only detected in animals with some clinical sign. The statistical analysis showed that clinical signs such as encephalomegaly and splenomegaly were highly significant ($p < 0.0001$) in animals positive for TiLV. Sequence analysis showed 97% identity with strains from Israel. **Conclusions.** This is the first study in the department of Córdoba that confirms the molecular detection of TiLV, it is the first in Colombia that reports to GenBank nucleotide sequences of the circulating strains of TiLV. The analysis of

nucleotide homology, showed that the circulating strains detected in the present study have a 97% identity with the israeli strain (GenBank KU751816.1), which suggests that it arrived in Colombia by the importation of infected fingerlings. This work is the first that reports proportions of mortality in fish, brain injuries were the most common and prevalent in infected fish, liver lesions splenomegaly, eroded fins were also highly significant ($p < 0.05$). The finding of TiLV represents an economic risk for the aquaculture sector due to the high mortalities.

Words key: Fish disease, animal viruses, *Oreochromis niloticus*, orthomyxovirus infection surveillance, epidemiology, and end results program.