

PREVALENCIA DE ENFERMEDADES DE CAMARÓN BLANCO (*Litopenaeus vannamei*) CULTIVADO EN OCHO REGIONES DE LATINOAMÉRICA

Prevalence of Diseases in Cultured *Litopenaeus vannamei* in Eight Regions of Latin America

María Soledad Morales-Covarrubias¹, Arturo Ruiz-Luna¹, Alitíene Pereira Moura-Lemus²,
Vilma Tomasa Solís Montiel³ y Gina Conroy⁴

¹Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A. C. Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental. Mazatlán, Sinaloa. México. ²Núcleo de Pesquisa em Pesca e Aqüicultura. Embrapa Meio-Norte. Brasil. ³Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, León. León, Nicaragua. ⁴AQUA-PHARM C.A. Maracay, Edo. Aragua, Venezuela.
Autor para correspondencia: E-mail: marisol@ciad.mx

RESUMEN

Se estudió la presencia de enfermedades que afectan a cultivos de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) en sistemas semi-intensivos e intensivos de ocho regiones costeras en siete países latinoamericanos, con litoral en el océano Pacífico, mar Caribe y océano Atlántico. Durante 2008 y 2009 se obtuvieron cuatro muestras por región, por año, para un total de 1.920 organismos, que fueron examinados para detectar signos clínicos característicos de enfermedades causadas por bacterias, hongos, protozoos y virus, confirmándose su presencia con análisis histológicos, bacteriológicos y moleculares. Se registraron 12 enfermedades con prevalencia variable que en promedio varió de 2,5 a 21,7% y con máximos observados de 40%, siendo en ambos casos la enfermedad de las manchas blancas la que registró los máximos. Por regiones, las diferencias fueron mínimas en términos del promedio de prevalencia, situándose en un intervalo de 10,3 a 13,4%, sin embargo, Venezuela y una de las dos regiones evaluadas en México (México1) registraron los máximos valores, con 31,3% para la enfermedad de necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHNV) y 30,0% para la enfermedad de las manchas blancas, respectivamente. Los resultados generales se analizaron estadísticamente para determinar posibles relaciones espacio – temporales de la presencia de enfermedades, aplicándose tablas de contingencia (χ^2) y Componentes Principales, concluyéndose que algunas diferencias dependieron de la

localización geográfica, fechas de muestreo y medidas sanitarias y de manejo. Dada la dinámica de las enfermedades y las posibles relaciones comerciales entre los países que formaron parte del presente estudio se recomienda incrementar el esfuerzo en los programas de monitoreo sanitario.

Palabras clave: Camaronicultura, enfermedades, *Litopenaeus vannamei*.

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the prevalence of diseases affecting the culture of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in semi-intensive and intensive farm systems of regions of seven Latin American countries along the coasts of the Pacific and Atlantic Oceans and the Caribbean Sea. Between 2008 and 2009, four yearly samples by region, containing a total of 1,920 organisms were examined by histological, bacteriological and molecular analysis to detect clinical characteristics of diseases caused by bacteria, fungus, protozoa and virus. Results show that 12 diseases were recorded with an average variable prevalence from 2.5 to 21.7% and observed maximum of 40%. In both years, the white spot disease recorded the highest. By region, the differences were minimal in terms of average prevalence, with a range of 10.3 to 13.4%, but Venezuela and one of the two regions evaluated in Mexico (Mexico1) recorded the highest values with 31.3% infectious hypodermal and hematopoietic necrosis disease (IHNV) and 30.0% for the white spot disease, respectively. Results were for the statistically analyzed to determine the possible spatial-

temporal relations, with the detected diseases, applying contingency tables (χ^2) and Principal Components Analysis (PCA). It was concluded that some differences are related with the geographical location, sampling dates and sanitary and management regulations regarding. The dynamic of diseases and the potential commercial relations among of different countries included in this study. It is recommended an effort increase in sanitary monitoring programs.

Key words: Shrimp culture, diseases, *Litopenaeus vannamei*.

INTRODUCCIÓN

La camaronicultura representa uno de los sectores de la acuicultura con más rápido crecimiento en Asia, América Latina y recientemente en África [21], aportando el 8% de la producción pesquera total y el 20,1% del valor total de la acuicultura en 2006 [21]. Destaca Tailandia como primer productor y exportador mundial de camarón cultivado, desde la década de 1.980, con producciones de 200.000 toneladas [21].

El cultivo de *Litopenaeus vannamei* "camarón blanco", constituye una industria exportadora en América Latina y actualmente existe más de una docena de países con experiencias diversas en este sector, destacando Ecuador, México, Honduras y Brasil, con alrededor de 180.000; 65.000; 27.500 y 20.000 hectáreas de estanquería, respectivamente [21]. De manera predominante, la producción en estas regiones está destinada a la exportación, principalmente al mercado de Estados Unidos de América, aunque la dirigida a las economías europea y japonesa se está incrementando [21]. La mayoría de los países productores de camarón satisfacen su propia demanda de consumo, pero México requiere de importaciones de camarón, principalmente procedente de Guatemala, Honduras y Nicaragua [1, 14].

Aunque la producción camaronera latinoamericana ha ido en aumento, en la última década se ha caracterizado por diversas restricciones en la producción, siendo la ocurrencia de enfermedades de origen viral la más importante. En 2008, Brock [9] reportó 20 enfermedades virales como patógenas para especies de camarón silvestre o de cultivo y actualmente la Oficina Internacional de Epizootias (OIE), considera a la enfermedad del Síndrome de Taura (TS), la enfermedad de las manchas blancas (WSS), la enfermedad de la cabeza amarilla (YH), la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHN), la mionecrosis infecciosa (IMN) y la Hepatopancreatitis necrotizante (NHP), como enfermedades de declaración obligatoria [59].

Debido a que existen antecedentes que indican que, el movimiento de organismos vivos refrigerados y congelados ha propiciado la introducción y propagación de patógenos exóticos en diversos lugares [6, 7, 14, 16, 33] y que también el deterioro ambiental de los ecosistemas acuáticos costeros favorece el desarrollo de patógenos [53], conviene investigar cuáles enfermedades se encuentran presentes en sistemas y ca-

marones de cultivo de cada zona de interés que pudieran tener repercusión a mayor escala.

Por lo expuesto y conociendo que entre los países latinoamericanos productores de camarón de cultivo existe, en menor o mayor medida intercambio, se investigó en este trabajo la prevalencia de enfermedades en granjas camaronícolas de ocho regiones productoras de camarón en siete países de Latinoamérica, con el fin de determinar cuáles están presentes y cuáles pudieran ser las posibles relaciones entre su presencia y la zona de origen.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El presente estudio se realizó en Guatemala, Honduras, Belice, Nicaragua, México, Brasil y Venezuela durante los años 2008 y 2009, en ocho regiones que se caracterizan por su desarrollo acuícola. En cada región se seleccionaron zonas productoras de camarón que agrupan un mínimo de cuatro y máximo de diez granjas, con sistemas de cultivo semi-intensivo e intensivo, con densidades de siembra de 10 a 120 organismos/m². Para la selección de las zonas de muestreo se consideró la presencia de enfermedades en al menos tres de las granjas de cada región con prevalencias del 15 al 30%, grados de severidad 1 y 2 [32, 41] y mortalidades del 10 al 20%. Para dicha selección se tomó como base los reportes de enfermedades de 2003 [34], 2004 [36] y 2006 [27, 44, 58] y los resultados de un muestreo exploratorio realizado en el año 2007 [41].

La mayoría de las zonas de muestreo se localizaron en la franja costera del Pacífico, situadas respectivamente en México (con dos regiones de estudio, referidas como México1 y México2), Guatemala, Honduras y Nicaragua. Otra de las regiones productoras se localiza en el mar Caribe (Belice) y dos más en la franja costera del Atlántico, en Venezuela y Brasil. La localización geográfica aproximada de las zonas de muestreo y sus principales características climatológicas (valores medios anuales de temperatura y precipitación total) se presentan en la TABLA I.

Colecta de organismos

Se realizaron dos muestreos por año, seleccionando una granja por región y fecha y colectando al azar 60 camarones por granja (16 granjas por año), totalizando así 1.920 organismos. Dependiendo de la región, los muestreos se realizaron entre abril y mayo y posteriormente entre agosto y septiembre. Para la captura se efectuaron lances con atarraya de 2 m de diámetro, en cuatro diferentes puntos del estanque, independientes de las compuertas de entrada y salida. Los camarones colectados se depositaron en contenedores de plástico con agua del estanque y aireación para su proceso inmediato. Los individuos fueron revisados físicamente para detectar posibles alteraciones externas, tales como melanización, deformacio-

TABLA I
PAÍSES Y UBICACIÓN DE LAS ZONAS DE MUESTREO DE CAMARÓN DE CULTIVO EN LATINOAMÉRICA

País	Litoral	Ubicación geográfica	TPA (°C)	PMA (mm)	Sistema de cultivo
México (Región 2)	Pacífico	27° 07' 41" N 110° 03' 55" O	30	100 a 200	Semi-intensivo e intensivo
México (Región 1)	Pacífico	25° 21' 00" N 108° 37' 10" O	42	400 a 500	Semi-intensivo e intensivo
Belice	Caribe	16° 29' 48" N 88° 25' 36" O	26	1.800	Intensivo
Guatemala	Pacífico	14° 18' 27" N 91° 55' 12" O	24	1.300	Intensivo
Honduras	Pacífico	13° 18' 50" N 87° 24' 26" O	30	1.680	Semi-intensivo
Nicaragua	Pacífico	12° 51' 12" N 87° 07' 12" O	27	1.500	Semi-intensivo e intensivo
Venezuela	Atlántico	10° 47' 57" N 71° 24' 35" O	32	513	Semi-intensivo e intensivo
Brasil	Atlántico	2° 56' 33" S 41° 26' 17" O	25	2.500	Intensivo

Se indica el valor medio anual de temperatura (tpa) y precipitación (pma) y el sistema de cultivo.

nes y necrosis de cutícula o apéndices, indicadoras de patologías. Para los análisis bacteriológicos se extrajo hemolinfa del seno ventral, cerca del primer par de pleópodos, con una jeringa para insulina. Finalmente, los organismos fueron sacrificados para tomar cuatro muestras de hepatopáncreas para los análisis histológicos, bacteriológicos, en fresco y análisis molecular, respectivamente. También se tomaron muestras de músculo, branquias, epitelio del estómago y cordón nervioso ventral para análisis molecular.

Preservación y procesamiento de muestras para histología

La porción del hepatopáncreas, así como organismos sin hepatopáncreas se inyectaron con solución Davidson (Alcohol-Formaldehído-Acido acético; AFA) [32] y se depositaron en frascos de 250 y 500 mL, manteniéndose en inmersión por 48 y 72 horas. Posteriormente se enjuagaron con agua corriente y se conservaron en alcohol etílico al 70% para su análisis histológico usando la metodología de Bell y Lightner [4] y Lightner [32]. El diagnóstico histopatológico general para detectar alteraciones en los diferentes órganos y tejidos de los organismos se realizó con base en los protocolos descritos por Bell y Lightner [4], Lightner [32] y Morales-Covarrubias [42]. El análisis de hibridación *in situ* para IHNV, WSSV, TSV y NHP-B, se realizó únicamente para la confirmación de cuerpos de inclusión de difícil detección y para diferenciar NHP-S de NHP-B. Se utilizó un microscopio de luz (Olympus BX 60-Japón), utilizando los objetivos de 4x, 10x, 40x, 60x y 100x. Las fotografías fueron tomadas con una cámara digital Infinity 5.0-Olympus-Japón, adaptada al microscopio.

Para el análisis de hibridación *in situ* se utilizaron sondas marcadas con digoxigenina para los virus IHNV, TSV y WSSV, posteriormente se hicieron cortes de 5 micras y se colocaron en portaobjetos cargados positivamente para luego ser procesadas según la metodología de Lightner [32].

Basado en las determinaciones anteriores se estimó la prevalencia de enfermedades de acuerdo a la propuesta de Bush y col. [13], donde:

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No. hospederos con patógenos, parásito o epibionte}}{\text{No. total hospederos}} * 100$$

El grado de severidad de las enfermedades de origen viral, bacteriano (*Vibrio*) y protozoarios se determinó de acuerdo a lo propuesto por Lightner [32] y Morales-Covarrubias [42] para intracelular bacteriano.

Análisis bacteriológicos

Las muestras de hemolinfa y hepatopáncreas fueron sembradas en agar tiosulfato – citrato – sales biliares – sacarosa (TCBS-Merck) selectivo para vibrios, AM (agar marino-DIFCO) no selectivo, agar soya tripticasa (TSA-DIFCO) no selectivo y agar sangre (AS- DIBICO) enriquecido no selectivo, utilizando la metodología descrita por Lightner [32] y la interpretación de resultados para cuenta total y *Vibrio* se realizó con base en lo publicado por Gómez-Gil [23].

Procesamiento de muestras por análisis en fresco

Las observaciones en fresco se realizaron siguiendo los procedimientos descritos por Lightner [32] y Morales-Covarrubias [42].

Procesamiento de muestras para análisis molecular

Se utilizó el kit IQ2000™ (Farming IntelliGene Corporation Technology) siguiendo la metodología descrita por el fabricante para la detección de IMNV, IHNV, NHP-B y TSV, tomando a cada organismo una muestra de 25 mg de músculo, branquias, hepatopáncreas, epitelio del estómago y cordón nervioso ventral, en pequeños trozos para realizar el macera-

do. Para la detección de WSSV se realizó la extracción de ADN utilizando la metodología recomendada por Qiagen, (DNeasy Tissue Kit Cat. 69504), tomando una muestra de 25 mg de branquias, epitelio del estómago y cordón nervioso ventral en pequeños trozos para realizar el macerado.

Para verificar la calidad e integridad del ADN se recurrió a la técnica de la reacción en cadena de polimerasa conocida como PCR por sus siglas en inglés (*Polymerase Chain Reaction*), utilizando los oligos 18SrRNA-F 5' GTT AAT TCC AGC TCC AAT AGC GTA 3' y 18SrRNA-R 5' GAA CTA CGA CGG TAT CTG ATC GTC 3' que amplifican la subunidad 18S-ribosomal con un producto final de 457 pb. Las condiciones de amplificación fueron: 1 ciclo a 94°C, 5 minutos; 35 ciclos a 94°C 1,0 minuto; 57°C, 1 minuto y 72°C, 1 minuto. El análisis de los fragmentos de ADN, se realizó en un gel de agarosa al 2% en buffer tris-acetato (TAE) en una cámara de electroforesis (Fisher-Bio-tech, FB-SB-710-EUA) con voltaje de 88 por 30 minutos.

Para confirmar la presencia de ADN de WSSV en las muestras se utilizaron los oligos específicos para WSSV (WS1-F 5' CAC CAT GGA TAT TTC AAA TAA G 3' y WS1-R 5' ACT TGC AGA GAA TAC GAA GC 3), que amplifican una región de 200 pb del genoma viral, con las siguientes condiciones de amplificación para PCR: 1 ciclo a 94°C, 5 minutos; 42 ciclos a 94°C, 1,0 minuto; 57°C, 1 minuto y 72°C, 1 minuto. 1 ciclo con temperatura a 72°C, 10 minutos. El análisis de los fragmentos de ADN se realizó en un gel de agarosa al 2% en buffer tris-acetato (TAE) en una cámara de electroforesis con voltaje de 88 por 30 minutos.

Análisis estadístico

La relación de la prevalencia de las enfermedades con el sitio de muestreo se determinó usando tablas de contingencia construidas con las frecuencias observadas de enfermedades por sitio y fecha de muestreo de acuerdo a lo descrito por Zar [60], con un nivel de confianza determinado ($\alpha = 0,05$). Solo se incluyeron las enfermedades que al menos representaron el 5% de prevalencia en el total de muestras. La hipótesis nula implica que los factores (sitios y enfermedades) son independientes y se probó usando el estadístico Ji-cuadrado, siguiendo el método propuesto por Graf y col. [25], que permite reemplazar celdas nulas en la matriz (frecuencia igual a cero) con valores estimados cuya contribución a la χ^2 resultante es nula.

Debido a que se realizaron dos muestreos por año se evaluó el efecto del tiempo utilizando un análisis similar al anterior con tablas de contingencia tridimensionales, para determinar si existe o no dependencia entre las variables contenidas en las matrices [60]. Para determinar las frecuencias esperadas se utilizó el estadístico Ji-cuadrado con una tercera variable y un mayor número de interacciones.

$$E_{ijn} = R_i C_j T_n / N^2$$

El cálculo de χ^2 sigue el procedimiento usual, pero el número de grados de libertad se calcula como la suma de los

grados de libertad para todas las interacciones, de acuerdo al siguiente modelo:

$$\nu = rct - r - c - t + 2$$

Se determinó el valor de χ^2 de tablas, para un nivel de confianza $\alpha = 0,05$ y se contrasta con el valor estimado. Una vez que se probó la posible existencia de dependencia entre variables se procedió a ordenar a los sitios en función de la frecuencia de enfermedades, aplicando para ello el método de Componentes Principales. Se utilizó el programa Multi-Variate Statistical package (MVSP Versión 2 [25]), con una matriz de datos de tamaño 8 x 32, al incluirse las frecuencias de los cuatro periodos de muestreo. A partir de los resultados se determinó el peso de los tres principales componentes y se efectuó el análisis de los resultados para determinar las características de los distintos componentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de 1.920 organismos analizados, el 85% aparecieron con características externas de animales aparentemente sanos y 15% con necrosis multifocal en cutícula, coloración rojiza, cutícula suave, opacidad muscular y deformación del *rostrum*, determinándose en éstos la presencia de 12 enfermedades con prevalencia variable por zona y etapa de muestreo. En la TABLA II se presentan los datos más relevantes sobre la presencia y prevalencia de estas enfermedades en los distintos países y regiones, indicándose a continuación sus signos clínicos, siguiendo un orden decreciente en cuanto al valor medio de prevalencia:

a) Necrosis del hepatopáncreas séptico (NHP-S), detectada en las ocho regiones con prevalencia promedio de 19,05%. Los organismos que presentaron esta enfermedad estuvieron asociados con una o dos especies de bacterias en hemolinfa y hepatopáncreas (1×10^5 UFC), observándose *Vibrio campbellii*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio brasiliensis* y *Streptococcus* spp., con infiltración de hemocitos, nódulos hemocíticos con cúmulos de bacterias en el centro, hipertrofia del lumen, melanización, necrosis, atrofia (de moderada a severa) de los túbulos del hepatopáncreas y desprendimiento celular (FIG. 1A). La infiltración de hemocitos y la formación de nódulos hemocíticos con presencia de colonias de bacterias se apreciaron también en corazón, branquias, órgano linfoide, tejido conectivo, músculo y ciegos hepáticos, alcanzando en general una prevalencia de 10,3% con grados de severidad 2 y 3.

Los resultados concuerdan con lo referido por Lightner [32] quien indica que, diferentes *Vibrio* se encuentran presentes en todos los crustáceos marinos y que se convierten en patógenos oportunistas cuando los mecanismos de defensa natural del hospedero están suprimidos. Los miembros del género *Vibrio* han sido asociados con la mortalidad de camarones peneidos en diferentes países del mundo, siendo *V. har-*

TABLA II
PREVALENCIA DE ENFERMEDADES DE CAMARÓN CULTIVADO EN OCHO REGIONES DE LATINOAMÉRICA.
VALOR PROMEDIO, MÁXIMO (INCLUYE REGIÓN CON EL MÁXIMO REGISTRO Y PERIODO DE MUESTREO) Y MÍNIMO

Enfermedad	Agente patógeno	Regiones afectadas	promedio	Prevalencia (%)	
				máximo	mínimo
Hepatopancreatitis necrotizante séptico (NHP-S)	<i>Vibrios</i>	Todas	19,1	35 (Belice, 2009-1)	5
Necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHN)	Virus de la Necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV)	Todas	13,4	45 (Venezuela, 2008-2)	3
Epicomensales	Ectoparásitos	Todas	13,1	32 (México2, 2008-1)	5
Hepatopancreatitis necrotizante (NHP)	Hepatopancreatitis necrotizante bacteriano (NHP-B)	Todas	11,2	25 (México2, 2008-2)	5
Gregarinas	<i>Nematopsis</i> spp, <i>Nematopsis penaei</i>	Todas	8,3	20 (México2, 2008-1)	5
Enteritis Hemocítica	Cianobacterias y bacterias filamentosas	Todas	7,4	20 (Guatemala, 2008-1; Venezuela, 2008-2)	5
Enfermedad de las manchas blancas (WSS)	Virus de las manchas blancas (WSSV)	Todas excepto Venezuela y Brasil	21,7	40 (Honduras, 2008-1)	5
Mionecrosis infecciosa (IMN)	Virus de la mionecrosis infecciosa (IMNV)	Brasil	7,5	10 (08-1; 2008-2)	5
Síndrome de taura (TS)	virus del síndrome de taura (TSV)	Venezuela	6,3	10 (2008-1)	5
Estreptococos	<i>Streptococcus</i> spp	Guatemala	5,0	10 (2009-1; 2009-2)	5
Baculovirus Penaei (BP)	<i>Baculovirus Penaei</i> (BP)	Nicaragua	3,8	5 (08-1; 2008-2; 2009-1)	5
<i>Litopenaeus vannamei</i> nodavirus (LvNV)	<i>Litopenaeus vannamei</i> nodavirus (LvNV)	Belice	2,5	5 (2008-1; 2009-1)	5

vey, *V. alginolyticu*, *V. parahaemolyticus*, y *V. mimicus* algunas de las especies reportadas en asociación con importantes daños en todas las fases de cultivo del camarón [3, 49, 51, 56]. Por su parte Gomez-Gil y col. [24] encontraron *Vibrio harveyi*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio* spp en hemolinfa de camarones aparentemente sanos, siendo común una carga inferior de 1×10^3 UFC, sin tener mortalidad.

b) La necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa estuvo presente en todas las granjas con prevalencia promedio de 13,37%, observándose al virus necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV) formando cuerpos de inclusión Cowdry Tipo A (CAI's) en núcleos hipertrofiados eosinofílicos de las células del tejido nervioso (FIG. 1B) y epitelio cuticular con grados de severidad 1 y 2. Debido a que el IHHNV y el virus de las manchas blancas (WSSV) desarrollan cuerpos de inclusión Cowdry tipo A, para diferenciarlos se realizó una hibridación *in situ* y análisis molecular para los dos virus (FIG. 1C y 1D).

La presencia de IHHNV en las zonas estudiadas se asocia con un grado de severidad leve, sin comprometer la salud de los camarones afectados y descartándose la asociación directa con mortalidades. Con respecto a la prevalencia de esta

enfermedad observada en este estudio, menor que la reportada por Lightner y col. [37], probablemente se deba a un mayor control sanitario en los laboratorios productores de larvas, donde los análisis de virus llegan a practicarse en la totalidad de los reproductores, sin que ésta sea una práctica generalizada. Se presume entonces que pese al esfuerzo observado, la presencia del IHHNV en todas las zonas procede de los laboratorios de las larvas, lo que implica que se requieren mayores esfuerzos sanitarios dado que IHHNV puede transmitirse de forma vertical [43] y también a través de otros vectores que pueden generarse por la proximidad con proyectos acuícolas vecinos o por contacto con camarones silvestres, en donde el virus ocurre de forma natural [43, 55].

c) Las enfermedades asociadas con presencia de Epicomensales detectados en branquias fueron registradas en las ocho regiones, con grado de severidad 1 y 2 y con prevalencia promedio de 13,1%. Su presencia es una condición frecuente reportada para estanques de camarón [12, 15, 17, 19, 29, 42, 45, 56] y se asocia con necrosis y melanosis [15, 32], particularmente en camarones cultivados en estanques con exceso de materia orgánica [45].

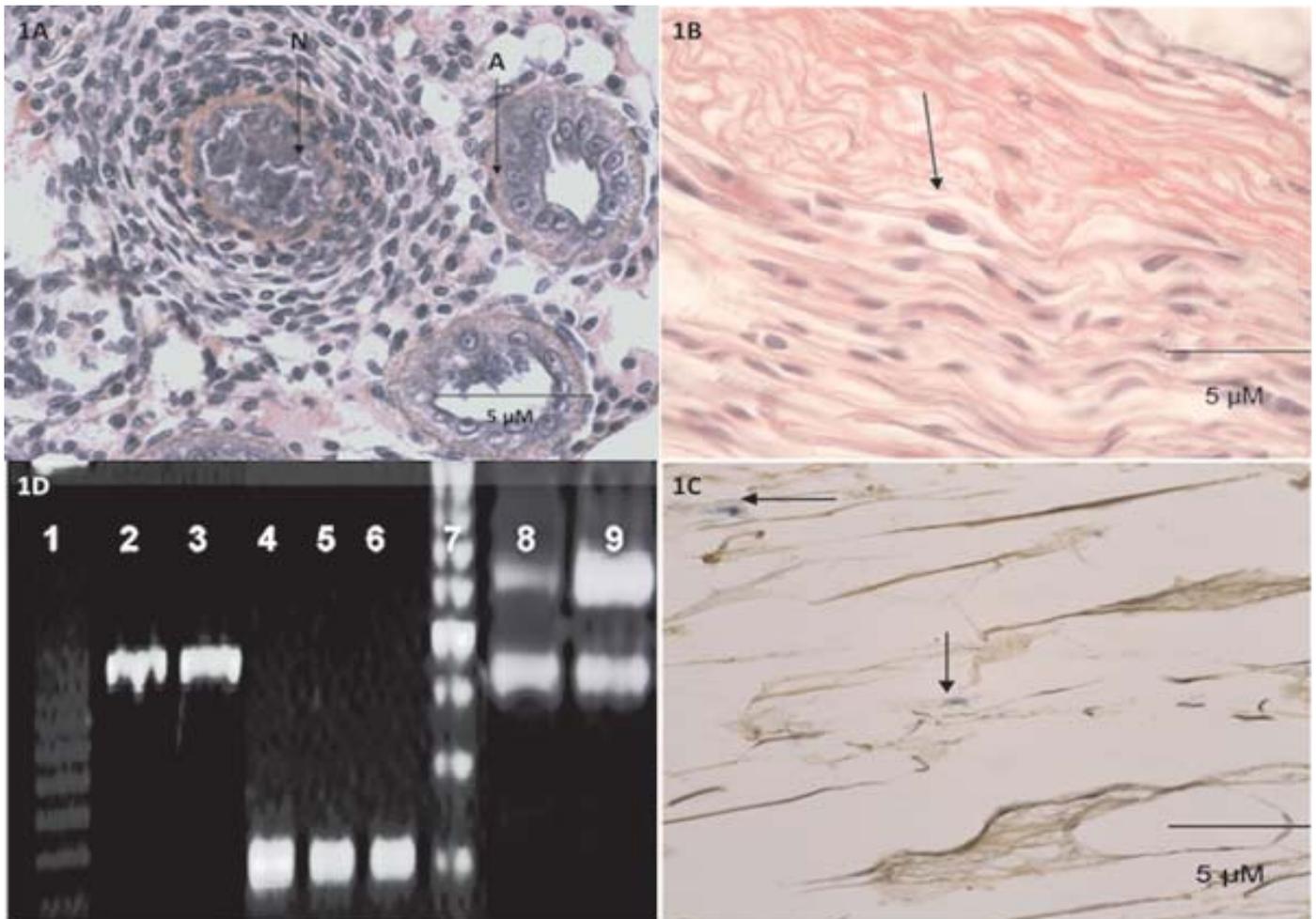


FIGURA 1. PATRONES DE BANDA DE LA ELECTROFESIS DE WSSV E IHHNV Y CORTES HISTOLÓGICOS DE TEJIDOS DE *Litopenaeus vannamei* QUE MUESTRAN CAMBIOS MODERADOS A SEVEROS CON DIFERENTES INFECCIONES. A) HEPATOPÁNCREAS DE *Litopenaeus vannamei* CON HEPATOPANCREATITIS NECROTIZANTE SÉPTICO (NHP-S) CON NÓDULOS HEMOCÍTICOS MELANIZADOS (N), INFILTRACIÓN HEMOCÍTICA Y ATROFIA TUBULAR (A). B). CORDÓN NERVIOSO DE *Litopenaeus vannamei* CON VIRUS DE LA NECROSIS HIPODÉRMICA Y HEMATOPOYÉTICA INFECCIOSA (IHHNV) MOSTRANDO CUERPOS DE INCLUSIÓN COWDRY TIPO A (FLECHA). C) CORDÓN NERVIOSO DE *Litopenaeus vannamei* MOSTRANDO SEÑAL POSITIVA EN LAS CÉLULAS INFECTADAS CON IHHNV (FLECHAS) USANDO UNA Sonda ESPECÍFICA DE ADN MARCADA CON DIGOXIGENINA (ANÁLISIS DE HIBRIDACIÓN *IN SITU*). C) GEL DE AGAROSA AL 2% TEÑIDO CON BROMURO DE ETIDIO. LÍNEAS 1 (50 PB) Y 7 (100 PB) MARCADORES DE PESO MOLECULAR, LÍNEAS 2 Y 3 AMPLIFICACIÓN DEL GEN 18S RNA EN CAMARÓN (457 PB); LÍNEAS 4, 5 Y 6 CAMARONES POSITIVOS A WSSV (200 PB) Y LÍNEAS 8 Y 9 CAMARONES POSITIVOS A IHHNV (8644 Y 438 PB).

d) La Hepatopancreatitis necrotizante (NHP) fue otra enfermedad detectada en las ocho regiones, con prevalencia promedio de 11,2% y que fue reconocida por la presencia de deformación tubular, melanización, necrosis, bacterias intracelulares (Hepatopancreatitis necrotizante bacteriano =NHP-B), desprendimiento celular y encapsulación hemocítica alrededor de túbulos atrofiados, con severidad en grado 1 y 3 (FIG. 2A). Las infecciones causadas por organismos rickettsiales o similares en camarón silvestre o cultivado han sido descritas [10], sin embargo, las patologías severas o epizootias asociadas específicamente a NHP-B, se encuentran documentadas en Estados Unidos de América, México, Centro y Sudamérica desde 1.986 hasta años recientes [8, 10, 22, 32, 38, 40]. El de-

sarrollo de epizootias por NHP-B se ha reportado en Texas B (EUA), Perú, Venezuela, Ecuador, Costa Rica, México, Honduras, Nicaragua, Brasil y Panamá, cuando se tienen periodos prolongados de temperaturas elevadas (>29 –30°C), aunados a altas salinidades (20–40 gL⁻¹). Dada su continua presencia es necesario implementar programas de monitoreos sanitarios y diagnósticos confirmatorios por PCR [8, 44], ya que esta enfermedad puede pasar desapercibida por días y repentinamente convertirse en un evento fuera de control [10, 12, 22, 32, 38, 40, 41, 44].

e) Otra de las enfermedades registradas en todas las regiones es la causada por presencia de gregarinas, parásitos que se encuentran presentes en diversas especies de cama-

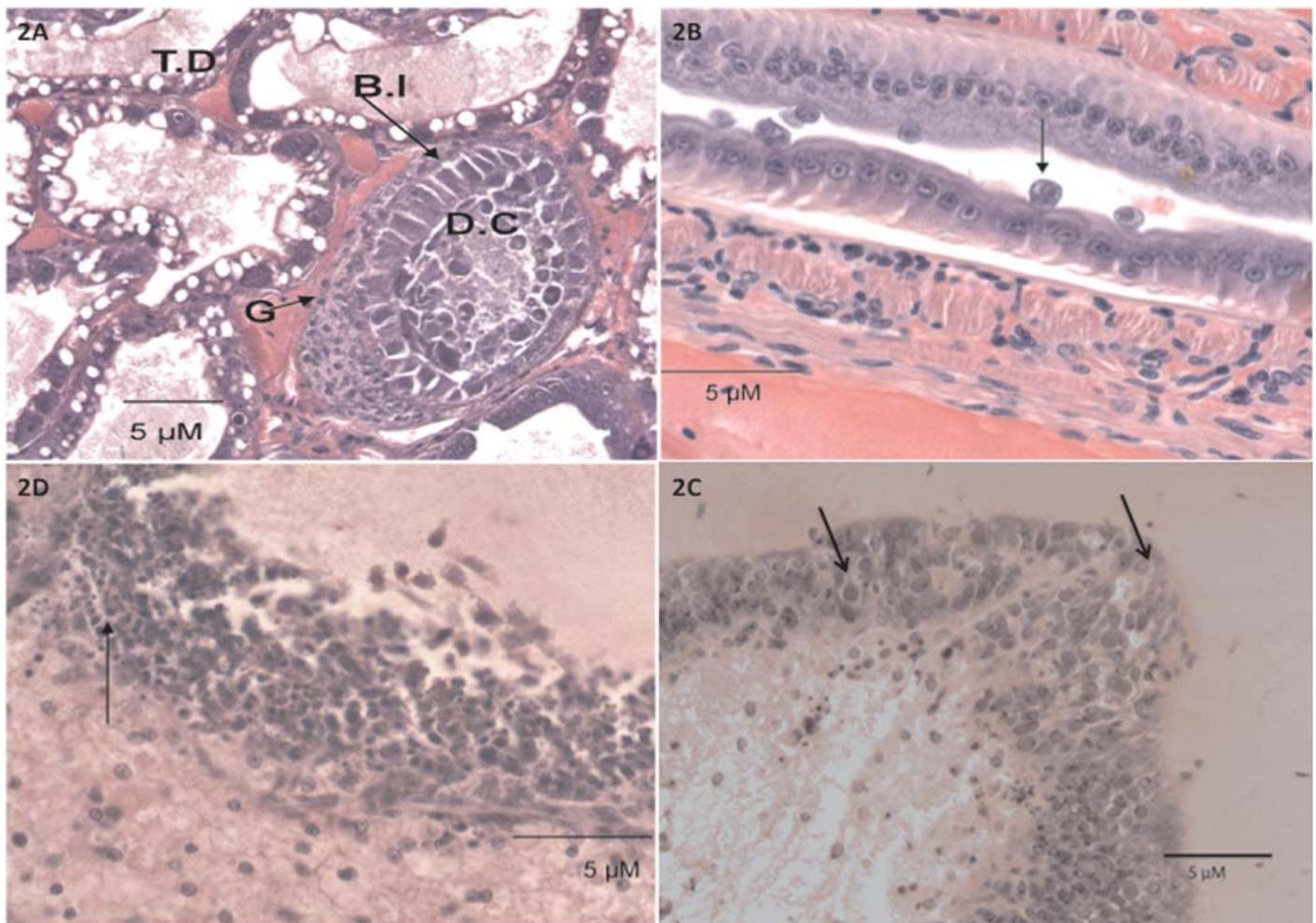


FIGURA 2. CORTES HISTOLÓGICOS DE TEJIDOS DE *Litopenaeus vannamei* QUE MUESTRAN CAMBIOS MODERADOS A SEVEROS EN CAMARÓN CON DIFERENTES INFECCIONES. A) HEPATOPÁNCREAS DE *Litopenaeus vannamei* CON NECROSIS DEL HEPATOPÁNCRETITIS NECROTIZANTE BACTERIANO (NHP-B) CAUSADO POR BACTERIAS INTRACELULARES (B.I) CON ENCAPSULACIÓN HEMOCÍTICA ALREDEDOR DE TÚBULOS ATROFIADOS (G), DESCAMACIÓN CELULAR (D.C) Y TÚBULOS DEFORMES (T.D). B) INTESTINO MEDIO DE *Litopenaeus vannamei* CON HIPERPLASIA, FORMACIÓN VELLOSIDADES-COMO PLIEGUES Y TROFOZOÍTOS SOLITARIOS ADHERIDOS A LAS CELULAS DEL EPITELIO A TRAVÉS DEL PROTOMERITO (FLECHA). C) EPITELIO DEL ESTÓMAGO DE *Litopenaeus vannamei* CON CUERPOS DE INCLUSIÓN DEL VIRUS DE LAS MANCHAS BLANCAS (WSSV) TOTALMENTE DESARROLLADOS (FLECHAS). D) EPITELIO DEL ESTÓMAGO DE *Litopenaeus vannamei* EN FASE AGUDA DEL SÍNDROME DE TAURA, CON NECROSIS FOCAL, CUERPOS DE INCLUSIÓN CITOPASMÁTICOS EN FORMA ESFÉRICA DEL VIRUS DEL SÍNDROME DE TAURA (TSV) Y NÚCLEOS PICNÓTICOS Y CARIORREXICOS.

rón, habiéndose reportado *Nematopsis vannamei* y *N. sino-loensis* en *L. vannamei* en México y *N. brasiliensis* en *P. brasiliensis* en Florida (EUA), con prevalencia en el 21% de los ejemplares analizados [19, 20]. Para Venezuela, también se tiene registro de *Nematopsis* spp. en juveniles de *P. schmitti* del golfo de Cariaco, con valores promedio de prevalencia de 82,3% pero no reportan daños en intestino [2]. Solamente *N. penaei* ha sido reportada como la única que causa daño en *Penaeus aztecus*, *P. duorarum* y *P. setiferus*, en diferentes localidades de Estados Unidos [20, 32]. En el presente estudio se observó hiperplasia con formación de pliegues en intestino medio y daños en epitelio del estomago en grados 1 y 2 (FIG. 2B). Estos daños son similares a los reportados por la

presencia de *N. penaei* en camarones del golfo de México [29, 32] y de *Nematopsis* spp. en especies del Pacífico [20, 32].

f) La prevalencia de enteritis hemocítica en este trabajo probablemente se deba a la proliferación de cianobacterias en los estanques de cultivo. Al respecto Lightner [32] y Pérez-Linares y col. [46] mencionan que se necesita que los camarones se alimenten con *Schizothrix calcicola* [46], *Leucothrix mucor* y especialmente de cianobacterias (*Chroococcus*, *Anabaena* spp, *merismopedia*) en concentraciones por arriba de 500.000 cc/mL para que se presente enteritis hemocítica, ya que sus toxinas son las que dañan las células que recubren el intestino produciendo una inflamación intensa, por lo que se le denomina enteritis hemocítica o inflamación hemocítica del intestino.

g) La enfermedad de manchas blancas se presentó en la mayoría de las muestras, excepto en Brasil y Venezuela donde no fue detectada, registrando los valores más altos de prevalencia con un promedio de 21,7%. En los organismos positivos al virus de las manchas blancas (WSSV) se observaron prominentes cuerpos de inclusión color rosado dentro de los núcleos hipertrofiados de las células del tejido conectivo, branquias y epitelio del estomago (FIG. 2C), en grados de severidad 1 y 3, coincidiendo con Lightner [32, 34, 35], quien además ha encontrado prevalencias variables (15 al 100%) en México, Guatemala, Nicaragua, Honduras, Costa Rica, Panamá, Ecuador, Colombia, Perú, Brasil y Belice.

e) Otras enfermedades detectadas solo a nivel regional y con baja prevalencia (2,5 a 7,5%), fueron mionecrosis infecciosa (IMN) en Brasil, síndrome de Taura (TS) en Venezuela, estreptococosis en Guatemala, *Litopenaeus vannamei* nodavirus (LvNV) en Belice y *Baculovirus penaei* (BP) en Nicaragua, concordando en lo general con la literatura reportada para estas enfermedades en Latinoamérica [5, 9, 11, 18, 26, 31, 32, 35, 36, 52].

La enfermedad de IMN fue detectada en Brasil, con prevalencia de 7,5%, con presencia de necrosis coagulativa en las fibras musculares estriadas, edema, infiltración hemocítica, coincidiendo con lo reportado por Lightner y col. [35, 36], además de cuerpos de inclusión citoplasmáticos basofílicos del virus de la mionecrosis infecciosa (IMNV) en las células del músculo en grados 1 y 2. Actualmente, la prevalencia de IMNV en el noreste de Brasil se encuentra entre el 3 al 8% [58], similares a los reportados en este trabajo.

La enfermedad TS se detectó en organismos procedentes de Venezuela con prevalencia promedio de 6,3%, identificándose cuerpos de inclusión citoplasmáticos de forma esférica característicos del virus del síndrome de taura (TSV) en células del epitelio del estómago y epitelio cuticular (FIG. 2D), en grados 1 y 2, con presencia de núcleos picnóticos y cariorexis. Respecto de esta enfermedad se asume que, la mortalidad por TSV en granjas camaronerías aledañas al lago de Maracaibo parece estar controlada [18], aunque Fajardo y col. [18] encontraron individuos asintomáticos de *L. schmitti* infectados con TSV (18,7% de prevalencia), lo que posiblemente explique la baja prevalencia observada en este trabajo.

Con relación a los estreptococos, solo fueron detectados en Guatemala, por medio de análisis molecular, observándose infiltración de hemolinfa, desprendimiento celular, necrosis tubular y nódulos hemocíticos en hepatopáncreas en grados 1 y 2. También se observó infiltración de hemocitos, necrosis linfofagocítica y presencia de masas de bacterias en músculo. Por bacteriología se obtuvieron en hemolinfa 10^4 UFC/mL y en hepatopáncreas 10^6 UFC/g, cultivadas en agar sangre. Hasson y col. [26], mencionan que, al utilizar la caracterización bioquímica, oligos universales de estreptococos para PCR, el kit API 20 y el sistema Biolog para la identificación del agente patógeno causante de mortalidades en una granja en Centroamérica,

se obtuvieron identificaciones conflictivas entre *Streptococcus uberis* y *parauberis* por lo que se mantuvo a nivel de género (*Streptococcus* spp.).

La ocurrencia de BP en Nicaragua, con prevalencia media de 3,8% se detectó por la presencia de cuerpos de inclusión polihédricos restringida a los estadios post-larvales. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Leblanc y Overstreet [31], quienes indican que las partículas polihédricas de BP son eliminadas al medio a través del intestino; sin embargo, la virulencia de BP es cada vez menor a medida que el camarón crece en el estanque [31]. En el análisis de las muestras se evidenció la presencia de células hepatopancreáticas presentando núcleos hipertrofiados y eosinofílicos aunque no se encontraron cuerpos de inclusión polihédricos en ejemplares examinados. La determinación de BP se basó en la presencia de cuerpos de inclusión tetraédricos de diferentes tamaños, que han sido referidos como característicos de este virus [5, 31, 32, 35], en grados de severidad 1 y 2 en el lumen de los túbulos e intestino y dentro de las células epiteliales de los túbulos del hepatopáncreas. Pese a que solo fue detectado en Nicaragua se tienen reportes de su presencia en cultivos de camarón de Estados Unidos, Honduras, Costa Rica, Panamá, Colombia, Ecuador, Perú, México y Brasil [32, 35].

Para *L. vannamei* nodavirus (LvNV) detectado en Belice se encontraron cuerpos de inclusión citoplasmáticos basofílicos en las células del músculo y áreas con necrosis coagulativa de las fibras musculares estriadas. Los resultados de este trabajo concuerdan con el rango geográfico, especie afectada y cuadro histopatológico descritos por Tang y col. [54].

Análisis estadístico

Los resultados de los análisis de tablas de contingencia a las muestras obtenidas en 2008 (valores calculados de $\chi^2_{(0,05)}$), fueron superiores a 105 en ambos casos, con 41 y 36 grados de libertad (g.l.), mientras que para las muestras obtenidas en 2009, el valor estimado de χ^2 fue menor al de las tablas, con 40 y 42 g.l., respectivamente. Derivado de estos resultados se encontró que, para estos muestreos la presencia de enfermedades fue independiente del sitio. Al incorporar el tiempo como variable adicional para el análisis de tablas de contingencia, para los muestreos del año 2008 se calculó un valor de $\chi^2 = 328,4$ en tanto que el valor crítico de $\chi^2_{(0,05, 112)} = 137,7$ y para el 2009, el resultado fue similar con $\chi^2 = 282,9$ también superior al valor crítico de $\chi^2_{(0,05, 112)}$, por lo que se rechaza H_0 que indica independencia de la presencia de enfermedades por sitio y fecha de muestreo.

El análisis de componentes principales demostró que existe un patrón y por lo tanto dependencia entre la presencia de enfermedades, los sitios y fechas de muestreo, lo que pudiera asociarse con las prácticas de manejo y comercialización. En términos generales, Venezuela y Brasil se separan claramente del resto de las regiones, aunque al igual que la mayoría de los países donde se realizaron muestreos, el nú-

mero de enfermedades detectadas fue de siete de las doce diagnosticadas, solo superado por Belice (9) y Nicaragua (8). Este patrón se repitió de manera consistente cuando se analizó muestreo por muestreo o el conjunto de datos (FIG. 3). De igual manera se percibe algún tipo de respuesta común entre la región México1 y Guatemala, que registró el máximo valor para el coeficiente de correlación (0,87), seguido por Nicaragua y Honduras (0,82), quedando Belice y México2 como las dos entidades que mostraron una mayor independencia con relación a las otras regiones.

Dentro de estas consideraciones, WSSV presentó mayor prevalencia pero no fue el de mayor presencia en la zona de estudio ya que no fue detectado en Brasil y Venezuela, pero resultó particularmente importante en la región México1, donde alcanzó un promedio general del 30% y en los países de Centroamérica, con excepción de Belice, donde la prevalencia promedio se mantuvo arriba de 25% (TABLA III). Considerando su virulencia, los países donde no fue reportado o donde la prevalencia es relativamente baja deberán incrementar sus medidas sanitarias para evitar la introducción de este patógeno que infecta más de 50 especies de crustáceos de agua dulce o marinos [34, 35] tiene una gran capacidad de dispersión [7, 16, 27, 57] y es causa de importantes pérdidas económicas.

Por otro lado, se presenta NHP-S, IHHNV y NHP-B con presencia generalizada y prevalencias entre 11,2 y 19,1%, que requieren de la capacitación técnica para su pronta identificación ya que por la similitud de sus signos clínicos pueden afectar a camarones de cultivos comerciales con el riesgo de ser confundidos e inclusive pasar inadvertidos [42]. Por ello es recomendable vigilar las condiciones de cultivo ya que las bacte-

rias del genero *Vibrio*, bacterias intracelulares (tipo rickettsias), virus y protozoarios, proliferan en ambientes artificiales [28, 30, 39], en tanto que camarones sometidos a estrés puede verse afectado o suprimido su sistema inmune, facilitando la introducción de estos patógenos, afectando significativamente la producción y provocando mortalidad masiva en muchos casos [53].

Pese a las diferencias observadas en cuanto a la ocurrencia y prevalencia de las distintas enfermedades diagnosticadas, cuyo número varió de siete a nueve por región, los valores promedio de prevalencia fluctuaron ligeramente entre 10,3 y 13,4%, destacando una enfermedad (raramente dos) con valores por arriba del 20%. Solo Brasil fue el único país en el que todas las enfermedades detectadas se encontraron con valores de prevalencia $\geq 10\%$, excepto IMN que solamente fue detectada en esta zona. Para el resto de los países, los altos valores de una enfermedad contrastaron con valores de prevalencia inferiores a 10% en dos o más casos, lo que puede considerarse como un indicador de diferencias en el manejo y en las medidas sanitarias, ya que si bien las diferencias ambientales podrían explicar en parte la asociación de regiones como es el caso de Venezuela y Brasil en el Atlántico, no explican las diferencias encontradas entre dos regiones muy cercanas como es el caso de Honduras y Nicaragua o las dos regiones evaluadas en México.

De igual manera se puede interpretar la presencia de IMNV y LvPV en Brasil y Belice, donde la prevalencia resultó baja probablemente por el control sanitario en laboratorios productores de larvas y en granjas de engorda de camarón, que se iniciaron después de haber tenido altas mortalidades. Con respecto a la zona de Brasil es posible que, las medidas de bioseguridad que iniciaron a partir del 2007, incluidas la aplicación de tratamiento a los suelos después de cada ciclo y verificación por análisis molecular de las postlarvas estén ayudando a bajar la tasa de prevalencia de enfermedades en los camarones de cultivo.

Otro ejemplo de la posible influencia de buenas prácticas de manejo puede observarse en los resultados del análisis de componentes principales, donde para el Eje 1 existe una relación cercana entre Belice y México 2, que pese a diferencias geográficas se caracterizan por una tendencia a la aplicación de sistemas de cultivo intensivo, con secado sanitario de los estanques de cultivo y campañas de control sanitario aplicadas como los análisis de virus que actualmente se realizan al total de los reproductores.

Finalmente, las diferencias entre la prevalencia de algunas enfermedades como las causadas por epicomensales y cianobacterias, no estuvieron relacionados con la distribución geográfica. Los resultados obtenidos en la presente investigación sobre camarones positivos a enfermedades son importantes para tomar medidas preventivas, y con ellas disminuir el nivel de riesgo de dispersión de enfermedades hacia otras zonas camaronícolas y a las poblaciones silvestres, para prevenir mortalidades elevadas con un impacto económico serio,

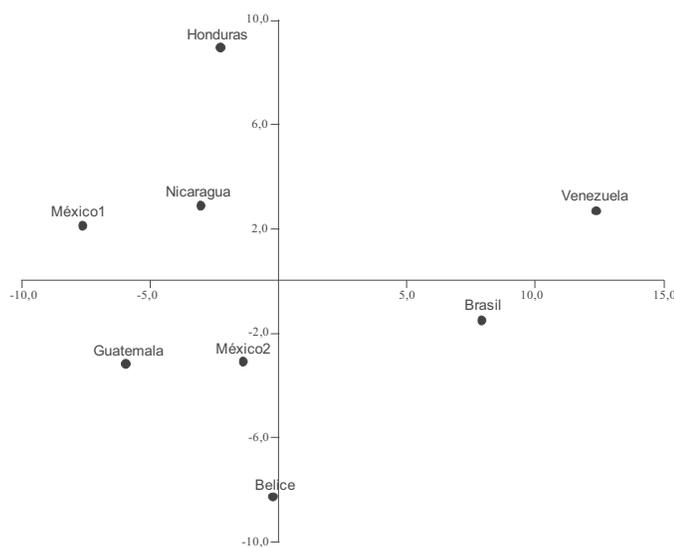


FIGURA 3. ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES PARA VALORES OBSERVADOS DE PREVALENCIA ($\geq 5\%$) DE ENFERMEDADES DE *Litopenaeus vannamei* EN OCHO ZONAS DE LATINOAMÉRICA.

TABLA III
PREVALENCIA DE ENFERMEDADES DE CAMARÓN CULTIVADO POR REGIÓN, EN SIETE PAÍSES DE LATINOAMÉRICA Y VALORES PROMEDIO DE TEMPERATURA (°C), SALINIDAD (UPS) Y OXÍGENO DISUELTO (O₂ mg/L) OBTENIDOS DE CUATRO MUESTREOS REALIZADOS EN 2008 Y 2009

Región/ Enfermedad	Méx1	Méx2	Guate.	Belice	Hond.	Nicar.	Venez.	Brasil	Promedio
WSS	30,0	12,5	25,0	11,3	25,0	26,3			21,7
NHP-S	18,8	15,8	23,8	26,8	18,8	15,0	17,5	16,3	19,1
IHHN	10,0	5,8	7,5	10,0	15,0	11,3	31,3	16,3	13,4
EPICOMENSALES	8,8	23,0	11,3	15,8	11,3	10,8	11,3	12,5	13,1
NHP	8,8	11,3	7,5	8,8	13,8	18,0	8,8	12,5	11,2
IMN								7,5	7,5
ENTERITIS HEMOCÍTICA	4,3	8,8	10,0	6,3	3,8	2,5	10,0	13,8	7,4
GREGARINAS	7,0	11,8	2,5	1,3	5,0	3,8	8,8	10,0	6,3
TS							6,3		6,3
ESTREPTOCOCOS				5,0					5,0
BP						3,8			3,8
LvNV				2,5					2,5
Promedio	12,5	12,7	12,5	10,3	13,2	11,4	13,4	12,7	
Salinidad (ups)	41,5	42,5	38,3	38,5	38,0	38,8	38,0	41,3	
Temp °C	22,0	23,0	26,3	26,8	27,0	27,0	27,3	27,3	
Oxígeno disuelto (mg/L)	4,3	4,6	5,0	4,9	4,4	4,4	3,7	4,3	

como lo que ocurrió en la acuicultura de Asia y América [7, 35, 36, 43, 55]. En los camarones de las zonas analizadas se encontraron los virus: IHHNV, WSSV, TSV e IMNV y la bacteria NHP-B, patógenos que la OIE, tiene en la lista de enfermedades notificables debido a la severidad de los brotes generados y/o la enfermedad puede llegar y afectar a poblaciones silvestres acuáticas, las cuales merecen protección por motivos económicos y o ecológicos. Debido a que las enfermedades en animales acuáticos cultivados tienen numerosos orígenes [47, 48, 50] es necesario la realización de una evaluación integral que abarque la totalidad de los factores que intervienen en todo el sistema de producción (mapa epidemiológico de la región, clima, manejo de la granja, aguas y laboratorios), para determinar las causas de las enfermedades, así como también se requiere de programas integrales de sanidad con monitoreo permanente del país, zona, región y de las granjas donde se cultivan organismos acuáticos para poder prevenir brotes y frenar la dispersión de patógenos.

CONCLUSIONES

A partir de muestreos realizados en ocho regiones representativas de la actividad camaronícola en Latinoamérica se detectó la presencia de 12 enfermedades, que incluye cinco causadas por patógenos, que la OIE tiene en la lista de enfermedades notificables. Tanto en su distribución y ocurrencia como con relación a la prevalencia y grados de severidad se detectó

un alto nivel de variabilidad en función de las zonas y períodos de muestreo.

Tanto WSS como NHP-S se destacaron por su mayor prevalencia, aunque a diferencia de la primera, NHP-S se registró en todos los muestreos efectuados entre 2008 y 2009 y WSS no.

De los resultados observados se desprende que algunas diferencias relacionadas con la prevalencia e incidencia de ciertas enfermedades dependieron de los factores bióticos y abióticos inherentes a cada región, su localización geográfica, fecha de muestreo, medidas sanitarias y de manejo. Sin embargo, las múltiples interacciones que se presentan entre huéspedes, simbiontes y ambiente dentro y fuera del estanque hacen difícil dar su peso real a cada componente, especialmente cuando se pretende relacionar el efecto de éstos con los resultados en la sobrevivencia o éxito en la producción, dado que hace falta considerar de manera específica el manejo que se proporciona a cada sistema de cultivo.

RECOMENDACIONES

Debido a que las enfermedades en animales acuáticos cultivados tienen numerosos agentes etiológicos y a posibles relaciones comerciales de camarón vivo, fresco, enhielado y congelado entre los países que formaron parte del presente estudio, se recomienda bajar los valores de prevalencia mos-

trados en este trabajo incrementando el esfuerzo en los programas de monitoreo sanitario a fin de disminuir la propagación de patógenos y sanear la zonas de cultivo de camarón.

AGRADECIMIENTO

Esta investigación ha sido parcialmente financiada por el proyecto interno CIAD-6250-3-Morales-Covarrubias, M.S.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABASCAL, Y.; MACIAS, R. Mercado para el camarón congelado en ciudad de México. **Estudio de mercado para el camarón congelado, caso zona metropolitana ciudad de México**. Consejo Mexicano del Camarón. Pp 1-224. 2009.
- [2] AGUADO-GARCÍA, N. Epibiontes parásitos de camarones. **Enfermedades y parásitos de camarones peneidos de interés comercial en la región oriental de Venezuela**. Fac. Cien. Vet. UCV, Maracay, Venezuela. Pp 1-250. 1990.
- [3] AGUIRRE-GUZMÁN, G.; VÁZQUEZ-JUÁREZ, R.; ASCENCIO, F. Differences in the susceptibility of American white shrimp larval substages (*Litopenaeus vannamei*) to four *Vibrio* species. **J. Invert. Pathol.** 78: 215-219. 2001.
- [4] BELL, T.A.; LIGHTNER, D.V. Fixation and normal penaeid histology. **A handbook of normal penaeid shrimp histology**. World Aquaculture. Society. Baton Rouge, USA. Pp 1-114. 1988.
- [5] BONAMI, J.R.; BRUCE, L.D.; POULOS, B.T.; MARI, J.; LIGHTNER, D.V. Partial characterization and cloning of the genome of PvSNPV (=BP-type virus) pathogenic for *Penaeus vannamei*. **Dis. Aquat. Org.** 23:59-66. 1995.
- [6] BONDAD-REANTASO, M.G.; SUBASINGHE, R.P.; ARTHUR, J.R.; OGAWA, K.; CHINABUT, S.; ADLARD, R.; TAN, Z.; SHARIFF, M. Disease and health management in Asian aquaculture. **Vet. Parasitol.** 132: 249-272. 2005.
- [7] BRIGGS, M.; FUNGE-SMITH, S.; SUBASINGHE, R.P.; PHILLIPS, M. Historia de introducciones de camarones peneidos. Introducciones y movimiento de dos especies de camarones peneidos en Asia y el Pacífico. FAO. Doc. Téc. Pesca. No. 476. Roma. Pp 1-86. 2005.
- [8] BRIÑEZ, B.; ARANGUREN, L.F.; SALAZAR, M. Fecal samples as DNA source for the diagnosis of necrotizing hepatopancreatitis (NHP) in *Penaeus vannamei* broodstock. **Dis. Aquat. Org.** 55:69-73. 2003.
- [9] BROCK, J.A. Special topic review: Taura syndrome, a disease important to shrimp farms in the Americas. **World J. Microbiol. Biotechnol.** 3: 415-418. 2008.
- [10] BROCK, J.A.; NAKAGAWA, L.K.; HAYASHI, T.; TERUYA, S.; VAN CAMPEN, H. Hepatopancreatic rickettsial infection of the penaeid shrimp, *Penaeus marginatus* (Randall) from Hawaii. **J. Fish Dis.** 9: 353-355. 1986.
- [11] BROCK, J.A.; GOSE, R.; LIGHTNER, D.V.; HASSON, K.W. An overview on Taura syndrome, an important disease of farmed *Penaeus vannamei*. In: **Swimming through troubled water. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming**. Browdy, C.L.; Hopkins, J.S. (Eds). World Aquaculture. Society. Baton Rouge, Louisiana, USA. Pp 84-94. 1995.
- [12] BROCK, J.A.; LIGHTNER, D. V. Diseases of Crustacea. Diseases caused by microorganisms. In: **Diseases of Marine Animals**. Volume III: Introduction, Cephalopoda, Annelida, Crustacea, Chaetognatha, Echinodermata, Urochordata. Kinne, O (Ed.) Biologische Anstalt Helgoland, Pp 305-309. 1990.
- [13] BUSH, A.O.; LAFFERTY, K.D.; LOTZ, J.M.; SHOSTAK, A.W. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.*, revisited. **J. Parasitol.** 83: 575-583. 1997.
- [14] CHAVEZ-SANCHEZ, M.C., MONTOYA, L. Peligros de introducción de patógenos en camarón importado. **Fundac. Produce**. Pp 7-34. 2009.
- [15] COUCH, J.A. Diseases caused by protozoa. In: **The Biology of Crustacea**. A. Provenzano, A.J. Jr. (Ed.). Pathology. Academic Press, New York. Pp 94-98. 1983.
- [16] DURAND, S.V.; TANG, K.F.; LIGHTNER, D.V. Frozen commodity shrimp: potencial avenue for introduction of white spot syndrome virus (WSSV) and yellow head virus (YHV). **J. Aquat. Anim. Health** 12:128-135. 2000.
- [17] EDGERTON, B.F.; EVANS, L.H.; STEPHENS, F.J.; OVERSTREET, R. M. Synopsis of freshwater crayfish diseases and commensal organisms. **Aquac.** 206: 57-135. 2002.
- [18] FAJARDO, C.; RUDOLFO, H.; DE DONATO, M.; MARRIQUE, R.; BOADA, M.; AGUADO, N. Detección molecular del virus del síndrome de taura en *Litopenaeus schmitti* silvestres del lago de Maracaibo y la laguna de Unare, Venezuela. **Rev. Cient. FCV-LUZ** XX (5):457-466. 2010.
- [19] FAJER-AVILA, E.; MORALES-COVARRUBIAS, M.S.; ABAD-ROSALES, S.; ROQUE, A.; MEZA-BOJORQUEZ, P.; HERNANDEZ-GONZALEZ, C. Effectiveness of oral Elancoban™ and Avimix-STTM against *Nematopsis* (Apicomplexa: Porosporidae) gametocysts infecting the shrimp *Litopenaeus vannamei*. **Aquac.** 244:11-18. 2005.
- [20] FEIGENBAUM, D. L. Parasites of the commercial shrimp, *Penaeus vannamei* Boone, and *Penaeus brasiliensis* Lateille. **Bull. Mar. Sci.** 25: 491-514. 1975.

- [21] FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. Estado mundial de la pesca y la acuicultura. Departamento de Pesca y Acuicultura de la FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Roma. SOFIA. Pp 20-125. 2010.
- [22] FRELIER, P.F.; SIS, R.F.; BELL, T.A.; LEWIS, D.H. Microscope and ultrastructural studies of necrotizing hepatopancreatitis in Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*) cultured in Texas. **Vet. Pathol.** 29:269-277. 1992.
- [23] GÓMEZ-GIL, B. Técnicas de bacteriología y tablas de rangos. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo. Manual de curso de bacteriología. 3-8 Pp. 2005.
- [24] GÓMEZ-GIL, B.; TRON-MAYEN, L.; ROQUE, A.; TURNBULL, J.F.; INGLIS, V.; GUERRA-FLORES, A.L. Species of *Vibrio* isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juveniles *Litopenaeus vannamei*. **Aquac.** 163:1-9. 1998.
- [25] GRAF, R.G.; ALF, E.F.; WILLIAMS, S., OKOLO, I. A Visual Basic Program for Estimating Missing Cell Frequencies in Chi Square Tests for Association. 1997. **Interstat: Statistics on the internet.** On Line: <http://interstat.stat-journals.net/INDEX/Aug97.html>. 09-07-2009.
- [26] HASSON, KW.; WYLD, E.M.; YAPING, F.; LINGSWEILER, S.W.; WEAVER, J.CH.; VARNER, P.W. Streptococcosis in farmed *Litopenaeus vannamei*: a new emerging bacterial disease of penaeid shrimp. **J. Dis. Aquac Organ.** 86:93-106. 2009.
- [27] HASSON, K.W.; FAN, Y.; REISINGER, T.; VENUTI, J.; VARNER, P.W. White-spot syndrome virus (WSSV) introduction into the Gulf of Mexico and Texas freshwater systems through imported, frozen bait-shrimp. **J. Dis. Aquat. Org.** 71:91-100. 2006.
- [28] HUTTON, R.F.; SOGANDARES-BERNAL, F.; ELDRED, B.; INGLE, R. M.; WOODBURN, K. D. Investigations on the parasites and diseases of saltwater shrimp (Penaeidae) of sports and commercial importance to Florida. Florida, St. Bd. Conservs. Mar. Lab. Tech. Series No 26. Pp 1-35 . 1959.
- [29] KRUSE, D. N. Parasites of the commercial shrimps *Penaeus aztecus* Ives, *P. duorarum* Burkenroad and *P. setiferus*. **Tulane Zool.** 7:123-144. 1959.
- [30] LAFFERTY, D. K.; KURIS, A.M. How environmental stress affect the impacts of parasites. **Limnol. and Oceanogr.** 44:925-931. 1997.
- [31] LE BLANC, B.D.; OVERSTREET, R.M. Prevalence of *Baculovirus penaei* in experimentally infected white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) relative to age. **Aquac.** 87:237-242. 1990.
- [32] LIGHTNER, D. V. Diagnostic procedures for diseases in shrimp. **A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp.** World Aquaculture. Society. Baton Rouge. Pp 1-220. 1996a.
- [33] LIGHTNER, D.V. Epizootiology, distribution and impact on international trade of two penaeid shrimp viruses in the Americas. **Rev. Sci. Tech. Office Int. Epiz.** 15:579-601. 1996b.
- [34] LIGHTNER, D.V. The penaeid shrimp viral pandemics due to IHHNV, WSSV, TSV and YHV: history in the Americas and current status. In: **Proceedings of the 32nd Joint UJNR Aquacult. Panel Symposium**, Davis and Santa Barbara, November 17-18th and 20th. California, USA. Pp 17-20. 2003.
- [35] LIGHTNER, D.V. Virus diseases of farmed shrimp in the western Hemisphere (the Americas): A review. **J. Inverteb. Pathol.** 106:110-130. 2011.
- [36] LIGHTNER, D.V.; PANTOJA, C.R.; POULOS, B.T.; TANG, K.F.J.; REDMAN, R.M.; PASOS DE A. T.; BONAMI, J.R. Infectious myonecrosis: new disease in Pacific white shrimp. **Magz. Global Aquac. Adv.** Pp 7-85. 2004.
- [37] LIGHTNER, D.V.; REDMAN, R.M. Penaeid virus diseases of the shrimp culture industry of the Americas. In: A.W. Fast and L.J. Lester (Eds). **Culture of Marine Shrimp: Principles and Practices.** Elsevier, Ámsterdam. Pp 569-588. 1992.
- [38] LIU, K. Histopathological study of the bacterial induced hepatopancreatitis of cultured shrimp (*penaeus monodon* Fabricius). **Fish. Dis. Res.** 9:34-41. 1989.
- [39] LÓPEZ-TÉLLEZ, N.A.; VIDAL-MARTÍNEZ, V.M.; OVERSTREET, R.M. Seasonal variation of ectosymbiotic ciliates on farmed and wild shrimps from coastal Yucatan, Mexico. **Aquac.** 287:271-277. 2009.
- [40] LOY, J.K.; DEWHIRST, F.E.; WEBER, W.; FRELIER, P.F.; TEMPLETON, J.W. Molecular phylogeny and in situ detection of the etiologic agent of necrotizing hepatopancreatitis in shrimp. **Appl. Environ. Microbiol.** 62:3439-3445. 1996.
- [41] MORALES-COVARRUBIAS, M. S. Informe técnico final muestreo exploratorio para la detección de enfermedades infecciosas y no infecciosas de camarones en América latina. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo-Mazatlán, Sin. Pp 1-20. 2008.
- [42] MORALES-COVARRUBIAS, M. S. Detección mediante análisis en fresco e histopatología. **Enfermedades del camarón.** Editorial Trillas, SA de CV., 2da Ed. Pp 1-130. 2010.
- [43] MORALES-COVARRUBIAS, M.S.; NUNAN, L.M.; LIGHTNER, D.V.; MOTA-URBINA, J.C.; GARZA-AGUIRRE, M.C.; CHAVEZ-SANCHEZ, M.C. Prevalence

- of IHNV in wild broodstock of *Penaeus stylirostris* from the upper Gulf of California, Mexico. **J. Aquat. Anim. Health.** 11:296-301. 1999.
- [44] MORALES-COVARRUBIAS, M.S.; OSUNA-DUARTE, A.G.; GARCIA-GASCA, A.; LIGHTNER, D.V.; MOTA-URBINA, J.C. Prevalence of necrotizing hepatopancreatitis in female broodstock of *Penaeus vannamei* with unilateral eyestalk ablation and hormone injection. **J. Aquat. Anim. Health.** 18:19-25. 2006.
- [45] OVERSTREET, R. M. Parasites of some penaeid shrimp with emphasis on reared hosts. **Aquac.** 2: 105-140. 1973.
- [46] PEREZ-LINARES, J.; CADENA, M.; RANGEL, C.; UNZUETA-BUSTAMANTE, M.L.; OCHOA, J.L. Effect of *Schizothrix calcicola* on white shrimp *Litopenaeus vannamei* (*Penaeus vannamei*) postlarvae. **Aquac.** 218:55-65. 2003.
- [47] PILLARD, D. A.; DUFRESNE, D.A.; MICKLEY, M. C. Development and validation of models predicting the toxicity of major seawater ions to the mysid shrimp, *Americamysis bahia*. **Environm. Toxicol. Chem.** 10: 21-31. 2002.
- [48] RAHMAN, S.U.; JAIN, A.K.; REDDY, A.K.; KUMAR, G.; KOYYA, D. R. Ionic manipulation of inland saline groundwater for enhancing survival and growth of *Litopenaeus monodon* (Fabricius). **Aquac. Res.** 36:1149-1156. 2005.
- [49] ROBERTSON, P.A.; CALDERON, W.J.; CARRERA, L.; STARK, J.R.; ZHERDMANT, M.; Austin, B. Experimental *Vibrio harveyi* infections in *Penaeus vannamei* larvae. **Dis. Aquat. Org.** 32: 151-155. 1998.
- [50] ROY, L. A.; DAVIS, D. A.; SAUND, I.P.; HENRY, R. P. Supplementation of potassium, magnesium and sodium chloride in practical diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters. **Aquac. Nutr.** 13:104-113. 2007.
- [51] SCHUWERACK, P. M.; LEWIS, J.W.; JONES, P.W. Pathological and physiological changes in the South African freshwater cray *Potamonautes warreni* calman induced by microbial gill infestations. **J. Inverteb. Pathol.** 774:269-79. 2001.
- [52] SILVA, V.A.; DOS SANTOS, F.L.; BEZERRA, S.S.; PEDROSA, V.F.; MENDES, P.D.; MENDES, E.S. A multi-season survey for infectious myonecrosis in farmed shrimp, *Litopenaeus vannamei*, in Pernambuco, Brazil. **J. Inverteb. Pathol.** 104:161-165. 2010.
- [53] SNIESZCO, S.F. The effect of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. **J. Fish.Biol.** 6:197-208. 1974.
- [54] TANG, K.F.; PANTOJA, C.R.; POULOS, B.T.; REDMAN, R.M.; LIGHTNER, D.V. In situ hybridization demonstrates that *Litopenaeus vannamei*, *L. stylirostris* and *Penaeus monodon* are susceptible to experimental infection with infectious myonecrosis virus (IMNV). **Dis Aquat Organ.** 63:261-265. 2005.
- [55] UNZUETA-BUSTAMANTE, M.L.; HOLTSCHMIT, K.H.; OLIVAS-VALDEZ, J.A.; MARTINEZ-CORDOVA, L.R.; PORCHAS-CORNEJO, M.A.; IZARRAGA-PARTIDA, M. L. Infections Hypodermal and Hematopoyetic Necrosis Virus (IHNV) in Wild Parent Stocks of Blue Shrimp, *Penaeus stylirostris* (Stimpson), In Guaymas Bay, Sonora, México. **Sci. Mar.** 24:491-498. 1998.
- [56] VANDERBERGH, J., VERDONCH, L.; ROBLES-AROZAMENA, R.; RIVERA, G. Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock and hatchery probionts. **Applied Environ. Microbiol.** 65: 2592-2597. 1999.
- [57] VANPATTEN, K.A.; NUNAN, L.M.; LIGHTNER, D.V. Seabirds as potential vectors of penaeid shrimp viruses and the development of a surrogate laboratory model utilizing domestic chickens. **Aquac.** 241:31-46. 2004.
- [58] VIEIRA, R.H.S.F.; MENEZES, F.G.R.; LIMA, A.S.; ARAGÃO, J.S.; SOUSA, O.V.; GESTEIRA, T.C.V.; HOFER, E. Prevalence of *Vibrio* spp. in infectious myonecrosis virus (IMNV) infected shrimp *Litopenaeus vannamei* cultivated in Brazilian Northeast. **Indian. J. Comp. Microbiol. Immunol. and Infect. Dis.** 27:1-10. 2006.
- [59] WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH. Código sanitario para los animales acuáticos. 78ª Sesión General. Paris. Pp 5-98. 2010.
- [60] ZAR, J.H. Contingency tables. **Biostatistical analysis.** 4th Ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. Pp 490-510. 1999.