

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar



CASO DE ESTUDIO:

**“ANÁLISIS DE LA FRECUENCIA DE POSITIVOS IHHNV Y
WSV EN LOS ÚLTIMOS 10 AÑOS”. CASO ECUADOR**

EXAMEN COMPLEXIVO

FASE ORAL

Previa a la obtención del Título de:

ACUICULTOR

Presentado por:

MIGUEL ENRIQUE MACKLIFF PEÑA

Guayaquil – Ecuador

2015

AGRADECIMIENTO

Agradezco ante todo a Dios,

A ese inmenso amor de mi Grandiosa Familia,

A la ayuda de compañeros de estudio,

Al apoyo de profesores y autoridades de la ESPOL.

DEDICATORIA

DEDICADO A:

MIS SACRIFICADOS PADRES,
MI AMADA ESPOSA,
MIS PRECIOSOS HIJOS,
MIS LUCHADORES HERMANOS.

TRIBUNAL DE GRADO

Marco Álvarez Gálvez Ph.D.
EVALUADOR

Jerry Landívar Zambrano M.Sc.
EVALUADOR

Jerry Landívar Zambrano M.Sc.
PROFESOR GUÍA

Análisis de la frecuencia de positivos IHHNV y WSV en los últimos 10 años.

Caso Ecuador

Miguel Enrique Mackliff Peña

M.Sc. Jerry Landívar Zambrano

Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar Acuicultura

Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL)

Campus Gustavo Galindo, Km 30.5 vía Perimetral

Apartado 09-01-5863. Guayaquil-Ecuador

mmackliffpea@gmail.com

landivar@espol.edu.ec

Resumen

*En el presente trabajo, se inicia con una breve reseña de la importancia de enfermedades virales del camarón, tomando a IHHNV y WSV como referencias, de los cuales se expone sus primeros reportes e incidencias mundial y en particular de Ecuador, se cita de estos virus la biología, infección, sintomatología y método de medición en camarones. Se expone en este caso de Ecuador, el análisis de cerca de 6000 datos de mediciones en larvas de camarón *Litopenaeus vannamei* por PCR, a lo largo de los últimos 10 años, con objetivo de analizar la frecuencia de positivos que me permitan obtener tendencias y recomendaciones que aporten al sector camaronero. Los resultados obtenidos son los siguientes: para frecuencias positivas WSV inicia con el valor más alto de 8,9 % , desciende por 4 años hasta 0% al 2008, de allí casi se mantuvo el 0% por los 6 años siguientes hasta 2014; para frecuencias positivas IHHNV también inicia con el valor más alto de 24,2% al 2004, que en el 2005 baja al 2%, luego se mantiene 2 años siguientes con 1,9% y 2,3%, de allí parte una clara curva de ascenso tal que en esos siguientes 4 años llega a un valor máximo de 14,9% el 2011, luego continúa una curva de descenso por 3 años que llega al 2014 con 0,3%. Se exponen conclusiones y recomendaciones.*

Palabras Claves: enfermedades virales, IHHNV, WSSV, PCR, larvas, *Litopenaeus vannamei*, analizar, frecuencia de positivos.

Abstract

*In this paper, begins with a brief overview of the importance of viral diseases of shrimp, IHHNV and WSSV taking as references, of which the first report and global incident exposed and particularly Ecuador, is cited biology of these viruses, infections, symptoms and method of measurement shrimp. It is presented in this case of Ecuador, analysis of nearly 6,000 measurement data in *Litopenaeus vannamei* shrimp larvae by PCR over the past 10 years, with aim of analyzing the frequency of positive trends that allow me to get and recommendations that contribute to the shrimp sector. The results obtained are as follows : for positive frequencies WSV starts with the highest value of 8.9 % , down from 4 years to 0 % to 2008 , there remained almost 0% for the next six years until 2014; for positive frequencies IHHNV also starts with the highest value of 24.2% at 2004 , 2005 lower than 2% , then maintained following 2 years with 1.9 % and 2.3% , there is a clear part upward curve such that in these next four years reaches a maximum value of 14.9 % in 2011 , then continued decline curve for three years to reach the 2014 with 0.3 % . Conclusions and recommendations are presented.*

Keywords: viral diseases, IHHNV, WSSV, PCR, *Litopenaeus vannamei*, analyzing, frequency of positive.

1. Introducción

Actualmente el cultivo de camarón es una de las industrias de mayor importancia en el mercado internacional de productos de mar, en los informes SOFIA 2008 publicado por la FAO[1] se manifiesta que los países latinoamericanos y caribeños registraron entre 1970 y 2006 la mayor tasa media de crecimiento anual en acuicultura, concretamente 22% al año, comparado al promedio mundial de 8,8 % , para tomar un ejemplo China ha tenido esta tasa en 11,2%. Latinoamérica cuenta también con un mayor

potencial en términos de superficie disponible para futura expansión de esta actividad.

En países como Ecuador, México, Brasil, el sector se ha centrado fundamentalmente en la producción de langostinos. La camaronicultura inicia en América del Sur en 1968 y la especie más producida es el *Litopenaeus vannamei*.

En Ecuador según dato de la FAO 2007[2] se produjo la mayor cantidad de camarón de América Latina 150.000 TM para ese año, casi la totalidad es Exportada a estados Unidos, Europa y Oriente.

Según la CNA en Ecuador (Cámara Nacional de Acuicultura) en el 2014[3] reporta que en los últimos 7 años la industria del camarón en Ecuador ha registrado un crecimiento sostenido en sus ventas externas, en volumen en un promedio anual del 10%. Como cifra ejemplo el año 2012 se venden 449 millones de libras que produjeron \$ 1100 millones de dólares.

Las muy buenas cifras que expone la producción en la actualidad dan estabilidad a este gran sector de la producción, se puede suponer que varios serían los factores que están acompañando este éxito: buenos precios de exportación, buenas sobrevivencias, intensificación de la producción, BPM (Buenas Prácticas de Manejo), tecnificación de manejo, selección y control desde reproductores, larva certificada, prevención y control de enfermedades. En el último punto que nombré hagamos un alto, en "prevención y control de enfermedades", porque ya vivimos hace 16 años la amarga experiencia de la epidemia desatada por un tipo de enfermedad del camarón, que son los "nefastos" virus, en esa ocasión el virus de la Mancha Blanca, y allí los cultivadores creíamos que hacíamos la "prevención y control de enfermedades".

Quienes hemos vivido la acuicultura estamos en toda la capacidad de aportar con información relevante y análisis, siempre que encontremos situaciones y una oportunidades para ese aporte.

En este trabajo, con cerca de 6000 datos de mediciones por PCR en postlarvas de camarón recopilados por 10 años para determinar presencia o no de 2 virus específicos IHNV y WSV, virus que afectan la producción del camarón, se va a determinar y analizar la frecuencia de positivos a lo largo de este periodo, lo cual permita obtener conclusiones y recomendaciones en este campo de prevención y control de enfermedades.

2. Información general.

2.1. Importancia de las enfermedades infecciosas del camarón.

Las enfermedades virales y bacterianas desde la década de los 90s hasta la fecha se constituyen en un factor de riesgo significativo en la producción comercial, desarrollo y sustentabilidad de la industria camaronera.

La primera infección viral documentada para un invertebrado acuático fue reportada por Vago 1966 en el cangrejo braquiuro *Macropipus depurator* (Kinne, 1990)[4]. El primer virus detectado en camarones peneidos fue el virus del síndrome de la nucleosis poliédrica de *pennaeus vannamei* (Pv SNPV), antes conocido como *Baculovirus penaei* (BP), desde allí se han ido detectando 15 virus infecciosos más alrededor del mundo (Lighthner, 1998)[5].

Hoy se estima que los virus son la forma de vida más abundante en los océanos. Las infecciones virales frecuentemente han provocado elevadas mortalidades y prácticamente grandes pérdidas económicas (Browdy et al., 1998)[6]. El 60 % de las pérdidas por patógenos, en las producciones, son atribuidas a virus, contra un 20% atribuida a enfermedades bacteriales (Flegel et al., 2008)[7].

Existen 4 virus que se encuentran dentro de los más importantes en virtud a su frecuencia de aparición, su amplia distribución y su capacidad de provocar severas epizootias, las cuales provocan altas mortalidades y fuertes pérdidas económicas en los cultivos. Estos son: el virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHNV), el virus del síndrome de Taura (TSV), el virus del síndrome de la cabeza amarilla (YHV) y el virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV) (Bonami, 1997)[8].



Fuente: Estadísticas Cia. Ltda.

Figura 1. Exportaciones ecuatorianas de camarón

Año 2014 (Revista Acuicultura. Ed.105. Dic.14)[9]

2.2 Enfermedades virales y producción del camarón en Ecuador.

En Ecuador, empieza la producción camaronera en 1968, en la provincia de El Oro, en década de los 80s tuvo gran crecimiento, así en 1987 llegó a ser el primer productor de camarón a nivel mundial. Pero es la década siguiente en que sufrimos las mayores pérdidas en el sector debido a infecciones virales y la peor desde 1999 que fue atribuida a WSSV.

De datos de Estadísticas Cia. Ltda. se presenta un gráfico (Figura 1) donde se aprecia desde año 2000 al 2014 la producción de camarón ecuatoriano en libras, desde año más bajo por mortalidad por WSV que significaron grandes pérdidas.

En Ecuador se producen 2 anomalías climáticas cíclicas cada cierto número de años conocidos como Fenómenos de El Niño y Fenómeno de La Niña. El Niño: con incrementos de temperaturas y épocas lluviosas; y La Niña: con bajas de temperatura y épocas de sequía. Ambos causan alteración al ecosistema y los parámetros ambientales de cultivos sufren con estas alteraciones, lo cual derivaría en stress de los animales en producción.



Fuente: Cámara Nacional de Acuicultura (Ecuador).
Figura 2: Efectos de enfermedades y fenómenos naturales en las exportaciones de camarón de Ecuador 1979-2000 (CNA)

Según datos de Cámara Nacional de Acuicultura (CNA) en la gráfica (Figura 2) se da una relación entre efectos de enfermedades y fenómenos naturales en las exportaciones de camarón, donde se aprecia claramente como afectaron la producción. El año 2000 recibe la mayor caída y pérdidas causado por ataque agresivo de la mancha blanca (WSSV).

2.3 Generalidades de 2 virus infecciosos del camarón.

Para el propósito de este trabajo, debido a que se cuenta con registros de datos de análisis PCR para IHHNV y para WSSV se toma en cuenta estos referentes, que de hecho han sido monitoreados

constantemente debido a sus incidencias en las producciones de camarón.

2.3.1 El virus de la infección hipodérmica y hematopoyética (IHHNV siglas en inglés).

Este virus fue uno de los primeros virus de camarón identificado en los 80s [12]. El virus tiene una disposición icosaédrica sin envoltura con tamaño de 22 nm (nanómetros) de diámetro, con ADN lineal monocatenario de 4,1kb(61). Basado en características de morfología y genética se clasifica dentro de la familia Parvoviridae (Mari J. et al., 1993)[11].

D. V. Lightner [17] en artículo de revista Panorama Acuícola en Mayo del 2011, se refiere a la enfermedad IHHN, y su agente causante IHHNV, fueron descritos por primera vez como la causa de epizootias agudas y mortalidades masivas (más de 90%) en *L. stylirostris* en sistemas intensivos en Hawái, al poco tiempo después se encontró el virus en *L. vannamei* cultivado en Hawái pero con poco efecto o asintomático. Es decir afecta mucho a *L. stylirostris*, sin embargo los camarones de ambas especies pueden ser sólo portadores asintomáticos del virus de por vida y transmitirlo a su progenie y a otras poblaciones por transmisión vertical y horizontal.

Pocos años después de detectar el IHHNV se encontró que era el causante de la enfermedad de enanismo y rostrum deforme (RDS siglas en inglés), estos camarones infectados presentan deformidades cuticulares y crecimiento irregular y reducido, y generalmente no se observa mortalidad. Sin embargo el impacto económico se da debido a crecimiento reducido e irregular que afectan al tamaño de cosecha, disparidad de tallas y aspecto físico. Una forma de mitigar este virus ha sido la selección de reproductores SPF (specific pathogen-free).

Los signos observables al avanzar este virus, causan mortalidad sobre todo en juveniles de *L. stylirostris*. No tiene signos específicos, pero los juveniles en etapa aguda de la enfermedad muestran marcada reducción en su alimentación, cambios en el comportamiento y en la apariencia. Se observa en tanques movimientos lentos hacia superficie, luego se quedan inmóviles y se voltean y se hunden con la parte ventral hacia arriba hasta el fondo, este comportamiento se repite por horas hasta que por debilidad ya van a morir o son devorados por los otros, característica final es musculatura color blanca. En *L. vannamei* la enfermedad crónica tiene como resultado el síndrome de enanismo (RDS siglas en inglés) en juveniles o adultos (Bell T., Lightner, D., 1984)[20], estos camarones pueden mostrar inclinación de cola de 45 a 90°, rostro deforme, 6° segmento abdominal deforme, anténula arrugadas, cutícula áspera, y otras deformidades cuticulares. (Figuras 3 y 4)



Figura 3. Se muestran varios ejemplos de rostro deformados en *L. vannamei* con IHHNV en fase crónica (síndrome de las deformaciones y el enanismo).



Figura 4. Ejemplos de deformaciones corporales en *L. vannamei* a consecuencia de la enfermedad causada por IHHNV (síndrome de las deformaciones y el enanismo).

Fuente. (Para fig.3 y 4) Programa Cyted Panamá 2008, Guía Técnica – Patología e inmunología de camarones *Penaeidos*. [24]

2.3.2 El virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV siglas en inglés)

Es considerado como el principal patógeno en la actualidad (Kou et al., 1998)[22]; Lotz & Soto, 2002[14]).

Según la Organización Mundial de Salud Animal (Lo, 2012)[13] este virus es capaz de provocar mortalidades masivas en cortos periodos de tiempo.

Los primeros reportes de WSSV datan de 1991-1992 ocasionando fuertes mortalidades en los cultivos de camarones en Taiwán, extendiéndose a Japón y al resto de Asia, donde provocó drásticas reducciones en la producción.

El primer diagnóstico positivo de WSSV en América se da en Texas en 1995, posteriormente en Febrero de 1999 fue detectado en Ecuador y a fines de 1999 se comprobó su presencia en Centro América (Lighner & Pantoja, 2001[19]; Sanchez, 2010[15]), y siguió expandiéndose.

Los mecanismos de transmisión de esta enfermedad facilitan su dispersión y contagio, ya que puede ser horizontal, mediante vía oral por canibalismo de individuos muertos o por partículas del virus en el agua a través de las branquias (Lo, 2012), y vertical por vía transovárica (Lo, 2012)[13].

Se trata de un virus con genoma ADN bicatenario, asignado, por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus, a un nuevo género, *Whispovirus*, en la familia *Nimaviridae* (Lo et al., 2012)[13]. Los viriones poseen dimensiones de 80 a 120 nm por 250 a 380 nm; forma bacilar (Sánchez, 2010)[15].

Como ocurre con la mayoría de las enfermedades de crustáceos, este virus no posee capacidad para afectar la salud humana, incluso, no se ha demostrado la existencia de virus de camarones que posean capacidad zoonótica, debido a las marcadas diferencias entre los tejidos de éstos y los humanos (Pantoja et al., 2004)[10]. Por lo cual, su presencia no indica riesgos para el consumidor, pero puede facilitar la propagación de material infectado, y eventualmente, llegar a cuerpos de agua en los que estaba ausente mediante tejidos congelados (Bateman et al., 2012b)[18].

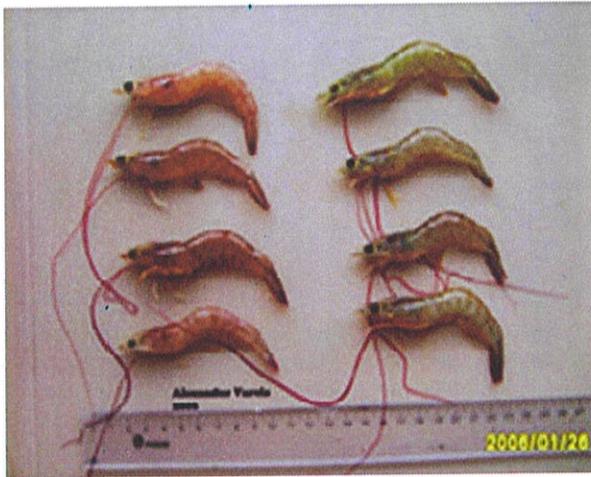
La supervivencia del virus fuera del hospedero es de al menos 30 días a 30°C en agua marina, y es viable en estanques de cultivo durante al menos 3 a 4 días. El virus se inactiva en 120 minutos a 50°C y en 1 minuto a 60°C y su ciclo de replicación dura unas 20 horas a 25°C (Lo, 2012).[13]

En eventos infecciosos de WSSV, los signos clínicos tienen etapas, inician con un corto período de latencia asintomático durante el cual se multiplica el virus en los tejidos blanco, causando eventualmente una infección sintomática aguda, la que puede progresar hasta causar la muerte del hospedero, también, es posible que algunos camarones con infecciones agudas sobrevivan, o sigan crónicas e incluso pueden recuperarse completamente de la infección (Lotz & Soto, 2002).[14]

Los camarones enfermos desarrollan anorexia, letargia y los característicos puntos blancos de 0.5 a 2 mm de diámetro, que son más visibles en la superficie interna del caparazón. Las manchas blancas presentan depósitos anormales de sales de calcio en la epidermis cuticular.

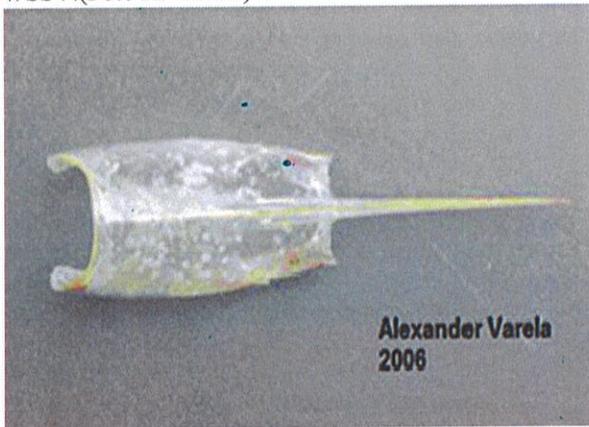
Los animales moribundos pueden presentar, además, una coloración rosa a rojiza por expansión de cromatóforos y una drástica reducción en los niveles de consumo de alimento (Gómez, 2001[16]; Varela, 2007[12]).

Se presenta, ocasionalmente, un oscurecimiento en el color de la hemolinfa (Maldonado et al., 2004)[21], los camarones infectados presentan nado errático cerca de los bordes de los estanques; finalmente, se van al fondo y mueren (Bustillo et al., 2009)[23].



Fuente: A. Varela, N. Peña, 2013

Figura 5. Animales de la izquierda presentan coloración rojiza causada por la presencia de WSSV. (Foto A. Varela).



Fuente: A. Varela, N. Peña, 2013

Figura 6. Caparazón del camarón *L. vannamei* mostrando las concreciones calcáreas que dan nombre a la enfermedad.

2.4. Métodos de detección de agentes virales.

Hoy en día son varios los métodos de detección de agentes virales, de los cuales se va a nombrar varios:

- Métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR simple, Nested PCR, PCR in situ).
- Métodos basados en la hibridación de ácidos nucleicos (Dotblot, southernblot, hibridación in situ)
- Inmunodetección. (Ensayo de inmunoabsorción ligado a una enzima ELISA, Western blot, Inmunohistoquímica)
- Histopatología.

3. Materiales y Métodos.

3.1. Historial de mediciones por PCR

El CSA Centro de Servicios para la Acuicultura de la ESPOL con sede en Guayaquil, ha prestado, por más de 10 años, sus servicios de análisis y asesoría en varios campos de la acuicultura ecuatoriana, uno de ellos y muy requeridos son los análisis para patologías de camarones determinados por PCR, que miden la presencia (positivos) o no presencia (negativos) de virus.

Los resultados que dieron los PCR en camarones y postlarvas, están en archivos junto a otros parámetros como calidad de agua, plancton, etc., en su mayoría del sector productivo acuícola, en periodo que va desde año 2004 hasta 2014.

Año 2004 ha sido el inicio de la recuperación y reactivación de las producciones en Ecuador (Figura 1), por lo que es buen punto de partida para poder comparar el comportamiento de las frecuencias de positivos con respecto a datos de producción anuales.

La primera labor consistió en separar todos los datos de PCR en camarones, de los que se encuentran análisis en postlarvas, en juveniles, en adultos, en reproductores, en producto de empacadora.

Es debido a las altas cantidades de muestras anuales en postlarvas y raceways (Figura 7) (entre 148 a 1000 por año) que se toman a estas muestras como representativas para el propósito de este trabajo que es ver la frecuencia en animales presumiblemente sanos.

Muestras de camarones y juveniles mostraban 2 inconvenientes: la no selección al azar, sino una tendencia a llevar a analizar los enfermos; y las bajas cantidades de muestras que se revisaron sobre todo desde 2008 en adelante (en el 2014 solo 1 por mes).

Otro dato que debió ser tomado en cuenta es que más del 85% de las muestras de postlarvas son del sector de La Península de Santa Elena (zona de alta concentración de laboratorios de larvas), el resto son principalmente de la Provincia del Guayas, estimando un 5% de otras regiones, así los resultados se van a asumir como sectorizados para estas 2 provincias.

Alrededor de 6000 datos corresponden a mediciones por PCR de muestras de postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei*, constituyeron la base de la información a analizar. Los datos se hallaban en hojas individuales por clientes con el resultado diagnóstico de cada una, como positivos o negativos para IHNV y para WSSV.

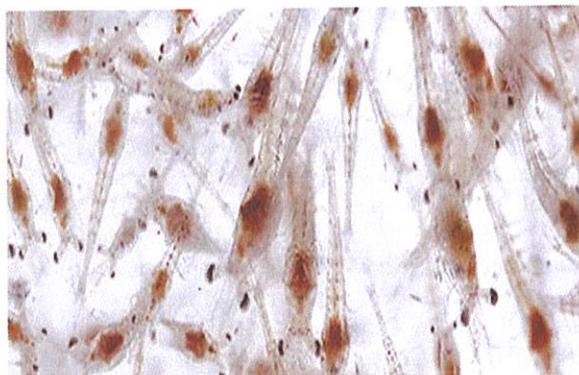


Figura 7. Postlarvas de camarón *L. vannamei*.

3.2. Recopilación, ordenamiento, agrupación

En estas instancias la labor consistió en una recopilación, ordenamiento, y agrupación de la información, digitada en computador en programa de Windows Microsoft Excel 2010, luego se podría seleccionar por años o por periodos más cortos de tiempos como cada 4 meses.

3.3. Elaboración de información.

Se construye tablas para llevar a ellas información de cada año. La frecuencia de positivos se extrae por porcentaje con respecto al total de mediciones de ese virus en cierto periodo,

Así: $\%F(\text{pos}) = \frac{[\# \text{pos}]}{[\# \text{pos} + \# \text{neg}]} * 100$

Donde,

$\%F(\text{pos})$ = Porcentaje Frecuencia de positivos

$\# \text{pos}$ = número de positivos en un periodo

$\# \text{neg}$ = número de negativos en un periodo

3.4. Gráficos comparativos.

Elaboración de gráficos comparativos de IHNV y de WSSV que impliquen al $\%$ frecuencia de positivos vs periodo de tiempos anuales. Esto permitirá analizar esa variación secuencial de frecuencias de positivos en los 10 años de mediciones, los que se revisarán en forma individual y luego curvas superpuestas en busca de relaciones.

3.5. Protocolos estándar para mediciones virales por PCR.

Para haber obtenido los datos que en este trabajo recopilé, ordené, clasifiqué y les convertí a frecuencias positivos, se aplicó un método de detección viral por PCR (Figura 8 y 9). La medición por PCR IQ2000, la cual sigue protocolos estándar para mediciones por PCR que implica tres pasos.

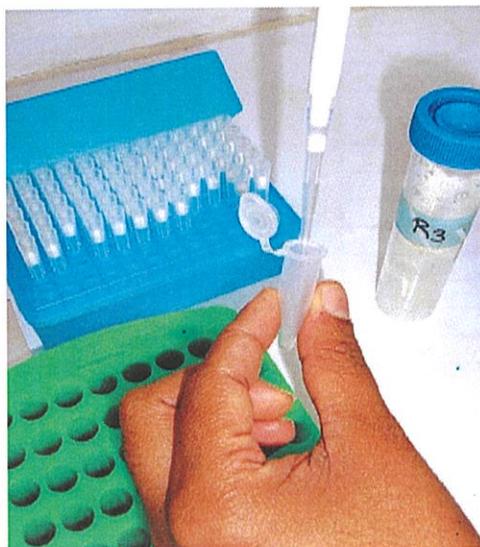


Figura 8. Pasos a seguir en medición por PCR.. Procedimiento de extracción de ADN, mediante lutilización de un kit comercial con base en soluciones de lisis celular.



Figura 9. Pasos a seguir en medición por PCR.

Termociclador (“aparato de PCR”) con 96 pozos para igual número de tubos de 0,2 mL. En este equipo se realiza apropiadamente la PCR dentro de los tubos que contengan el ADN de la muestra y los reactivos de amplificación.

Fuente. (Para fig.8 y 9) Programa Cyted Panamá 2008, Guía Técnica – Patología e inmunología de camarones Penaeidos.[24]

3.5.1. Protocolo clásico de extracción de DNA de camarón con el método de “BUFFER LYSIS”.(muestras mínimo de 150 postlarvas)

- Macerar la muestra con 200ul de lysis buffer en baño maría a 95°C, por 10 minutos; se recomienda tatar los tubos con parafilm o seguros para microtubo.

- Centrifugar a 13000 RPM durante 10 minutos.
- Transferimos 150ul del sobrenadante a un nuevo microtubo de 1.5ml que contiene 300ul etanol al 95% helado.
- Centrifugar a 13000 RPM durante 5 minutos.
- Descartar todo el etanol al 95%; luego colocar 100ul de etanol al 70% helado.
- Centrifugar a 13000 RPM durante 5 minutos.
- Descartar todo el etanol al 70%.
- Secar los tubos.
- Resuspender el DNA extraído en 50ul de Agua Ultrapura.

Nota: El búfer lisis se compone de Hidróxido de Sodio 0,05N y Dodecilsulfato sódico al 10%.

3.5.2. Protocolo para la preparación de mezcla Madre para la reacción de PCR.

- Búfer para PCR (exento de magnesio) 10X. Concentración final 1X.
- Mezcla de dNTP 10mM. Concentración final 0,2mM.
- Cloruro de magnesio 50mM. Concentración final 1,5mM.
- Iniciadores 10uM. Concentración final 0,5uM.
- Muestra de ADN (normalmente 1ul).
- Taq DNA Polimerasa (normalmente 0,2ul).
- Agua destilada autoclavada.

3.5.3. Protocolo para la preparación del gel de agarosa para la observación de los amplicones de ADN.

- Preparar un gel de agarosa al 2% (para disolver la agarosa se utiliza TAE a una concentración de 1X) o TAE 50X: 242g de Tris base, 57,1ml de ácido acético glacial, 100 ml de EDTA 0,5M y H₂O hasta completar 1 litro.
 - Calentar en microondas para disolver la agarosa.
 - Colocar la solución de tinción, SYBR Safe al 0,01% (Agente de tinción).
 - Migrar durante 45 minutos en la cámara de electroforesis, con solución TAE 1X.
- Ver los resultados en la cámara ultravioleta.

4. Resultados.

La Figura 10, nos muestra en tabla y gráfico los resultados obtenidos de los miles de datos recopilados.

Las frecuencias de positivos de cada virus se disponen en orden en columna desde 2004 hasta 2014, con 11 datos.

RESULTADO FREC. POS. IHHNV Y WSSV		
% WSSV	% IHHNV	AÑOS
8,9	24,2	2004
1,9	2	2005
2,4	1,9	2006
1,5	2,3	2007
0	4,9	2008
0	8,2	2009
0	14,1	2010
0,6	14,9	2011
0	9,9	2012
0,4	5,6	2013
0	0,3	2014

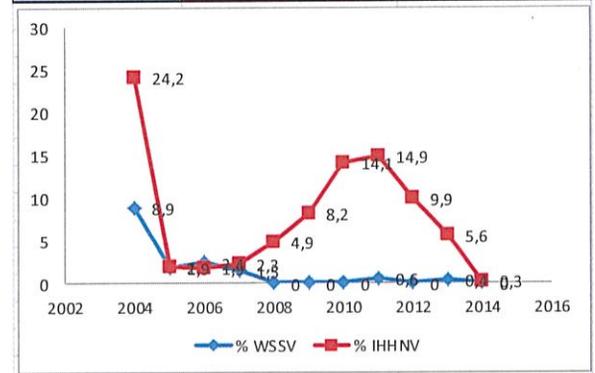


Figura 10. Tabla y gráfico de frecuencias de positivos para IHHNV y WSV que resultaron de cerca de 6000 datos de mediciones por PCR en postlarvas de camarón *Litopenaeus vannamei* en los últimos 10 años (Caso Ecuador). Las frecuencias se expresan en porcentajes.

Con estas frecuencias positivas de virus en tabla y gráfico resultantes, se va a disponer las siguientes discusiones y conclusiones.

5. Conclusiones.

5.1. Frecuencias de WSV.

Desde el dato más alto de 8,9 % con que se empieza en el 2004 desciende por 4 años hasta 0% al 2008, de allí casi se mantuvo el 0% por los 6 años siguientes de no ser por 2 ligeras apariciones de 0,6% en el 2011 y de 0,4% en el 2013.

Una apreciación clara de la curva formada es una tendencia hacia la baja, con muy bajas frecuencias en la continuidad del 2008 al 2014.

Sabiendo que infecciones por WSV tienen efectos de mortalidad significativa en producciones, debe analizarse con más precisión etapas tempranas de aparición.

Según datos de CENAIM en Estudios de monitoreos de la prevalencia de WSV en pleno ataque de la Mancha Blanca en Junio a Julio de 1999, la prevalencia de WSV en Provincia del Guayas en piscinas camaroneras fue de 61% pero en el muestreo de larvas de 238 tanques (51 laboratorios) se dio una prevalencia de 20%, valor que puede considerarse como referente. En resultados obtenidos el mayor

valor fue de 8,9% el año 2004 que pronto bajó desde el 2005.

Frecuencia positivos WSV se ha mantenido baja desde 2005 (1,9%) y mínima desde 2008 hasta el 2014, haciendo una comparación con las producciones anuales, se mantiene un crecimiento de producción sostenido desde 2005 hasta el 2014.

5.2. Frecuencias de IHHNV.

Desciende desde 1° dato bien alto de 24,2% al 2004 para en el 2005 ya estar en 2%, luego mantenerse 2 años siguientes con 1,9% y 2,3%, último dato desde donde parte una clara curva de ascenso tal que en esos siguientes 4 años llega a un valor máximo de 14,9% el 2011, de allí continua una curva de descenso por 3 años que llega al 2014 con 0,3%.

Las frecuencias positivas de IHHNV se registran más permanentes, con comportamiento decreciente inicial para luego formar una curva completa creciente y decreciente.

Frecuencias positivas de IHHNV, a pesar de que llega a prevalencias altas en 2004 y 2011, no muestra influencia en los datos de producción.

Es probable que las frecuencias de IHHNV positivo puedan inhibir la presencia de frecuencias de WSV, aunque esta teoría no ha sido probada.

Se aprecia como dato muy relevante para la actual producción de camarón, año 2014, que frecuencias positivas tanto de WSV como de IHHNV, en postlarvas presentan mínimas, mientras la producción anual es la mejor.

6. Recomendaciones.

Al colega e investigador, obtener más de esta información de frecuencias positivas de virus por análisis por PCR en postlarvas, como por ejemplo de épocas anteriores al 2004, de actualizaciones o de comparaciones.

Al camaronero, realizar o continuar la selección de postlarvas con certificación por PCR como libre de virus, basados a las Buenas Prácticas de Manejo en aspecto de "la prevención y control de enfermedades".

Al laboratorio de larvas y a maduración, continuar sus esfuerzos de prevención de enfermedades cuyo fruto se refleja en las postlarvas producidas.

7. Agradecimiento.

Agradecimiento por todo siempre a Dios, a mi Gran Familia por el apoyo, a mis colegas y compañeros de estudios por la ayuda prestada, a M.Sc. Jerry Landivar, a Ph.D Marco Alvarez, a M.Sc. Fabrizio Marcillo, a M.Sc. Ecuador Marcillo, a Dr. Roberto Retamales. Y a todos quienes de alguna forma colaboraron en este trabajo.

8. Referencias.

- [1] FAO, Informe SOFIA 2008, www.FAO.com
- [2] FAO, 2007. www.FAO.com
- [3] CNA. En Revista *Aquaculture*, Artículo de la Cámara Nacional de Acuicultura. Nov.2014
- [4] Kinne, O. 1990. *Diseases of Marine animals*, Volume III. Ecology Institute Nordbiinte, Germany. Biologische Anstalt Helgoland. Hamburg, Germany.
- [5] Lightner 1998. *A Handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp*.
- [6] Browdy, C.L., D. Holloway Jr., C.O. King, A.D. Stokes, Stokes, J.S. Hopkins y P.A. Sandifer. 1998. IHHNV virus and water exchanger rate. *Journal of Crustaceans Biology*, 13: 87-94.
- [7] Flegel, T. W., Lightner, D. V., Lo, C. F. and Owens, L. 2008. *Shrimp disease control: past, present and future*, pp. 355-378
- [8] Bonami, J-R, Hasson, K. Mari, J., Poulos, B., and Lightner, D., 1997. Síndrome de Taura del camarón *penaeus marino*: caracterización del agente viral. *Journal of General Virology*. 78: 313 - 319
- [9] Estadísticas Cia. Ltda. *Revista Acuicultura*. Ed.105. Dic.14
- [10] Pantoja C.R., S. A. Navarro, J. Naranjo, D. V. Lightner, C. P. Gerba 2004. Nonsusceptibility of primate cells to Taura syndrome virus. *Emerg. Infect. Dis.* 10 (12): 2106-2112.
- [11] Mari, J., J.R. Bonami y D.V. Lightner. 1993. Partial cloning of the genome of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus, an unusual parvovirus pathogenic for penaeid shrimps: Diagnosis of the disease using a specific probe. *Journal of General Virology*, 74: 2637-2643.
- [12] Varela, A., 2007. *Manual para la interpretación de resultados de laboratorio*. Alicorp, Publicis Asociados, Perú. 24p.
- [13] Lo, C. F. 2012. Enfermedad de las Manchas Blancas. Pp. 1-15. In: *Manual de Pruebas*

- de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), París, Francia.
- [14] Lotz, J. M., A. Soto. 2002. Model of white spot syndrome virus (WSSV) epidemics in *Litopenaeus vannamei*. *Dis. Aquat. Org.* 50: 199–209.
- [15] Sánchez, A. 2010. White spot syndrome virus: an overview on an emergent concern. *Review article Vet. Res.* 41:43.
- [16] Gómez, B., A. Roque, A. Guerra. 2001. Enfermedades infecciosas más comunes en la camaronicultura en México y el impacto del uso de antimicrobianos. In: Paez-Osuna F.(ed.). *Camaronicultura y medio ambiente*. ICMYL-UNAM, México. 448 p.
- [17] D. V. Lightner en artículo de revista *Panorama Acuícola* en Mayo del 2011
- [18] Bateman, K. S., I. Tew, C. French, R. J. Hicks, P. Martin, J. Munro, G. D. Stentiford. 2012b. Susceptibility to infection and pathogenicity of White Spot Disease (WSD) in non-model crustacean host taxa from temperate regions. *J. Invertebr. Pathol.* 110: 340–351.
- [19] Lightner, D. V., C. Pantoja. 2001. *Manual para el Diagnóstico de Enfermedades del Camarón*. United States Department of Agriculture-Programa de Reconstrucción Huracán Mític
- [20] Bell, T., and Lightner, D. 1984. IHNV virus, estudios de infección y patogeneseidad *stylirostris* y *L. vannamei*. *Aquacultura*, 38; 185 - 194
- [21] Maldonado, M., J. Rodríguez, I. de Blas. 2004. El camarón de cultivo frente al WSSV, su principal patógeno. *Rev. AquaTIC.* 21: 78-91.
- [22] Kou G.H., S. E. Peng, Y. L. Chiu, C. F. Lo. 1998. Tissue distribution of white spot syndrome virus (WSSV) in shrimp and crabs. 267-271 p. In *Advances in shrimp biotechnology*. Flegel T.W. (ed.). National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, Bangkok.
- [23] Bustillo, M. I., C. M. Escobedo, R. R. Sotelo. 2009. Revisión de patogénesis y estrategias moleculares contra el virus del síndrome de la mancha blanca en camarones peneidos. *Rev. Biol. Mar. Oceanog.* 44(1): 1-11.
- [24] Programa Cytel Panamá 2008, Guía Técnica – Patología e inmunología de camarones *Penaeidos*.