

BIOSEGURIDAD EN EL CULTIVO DE CAMARONES

Donald V. Lightner y Carlos. R. Pantoja
Departamento de Ciencias Veterinarias y Microbiología
Universidad de Arizona, Tucson, AZ 85721 U.S.A.

Introducción

En términos de impacto económico, las enfermedades más importantes que afectan el cultivo de camarones peneidos en Asia, la región Indo-Pacífica y las Américas son de origen infeccioso. De entre estas, las más relevantes son causadas por virus. Las pandemias ocasionadas por los virus de camarones peneidos tales como WSSV (Mancha Blanca) y TSV (Síndrome de Taura), y en menor grado IHNV (Virus de la Necrosis Hipodérmica y Hematopoyética Infecciosa) y YHV (Cabeza Amarilla) le han ocasionado a la industria camaronícola pérdidas de cultivos, empleos, e ingresos por exportaciones, lo cual se traduce en millones de dólares (Tabla 1). El impacto social y económico resultado de las pandemias causadas por estos patógenos en países en los que el cultivo del camarón constituye una industria significativa ha sido profundo. A raíz de las pandemias virales, la industria de la camaronicultura ha buscado formas de restaurar sus niveles de producción a aquellos alcanzados durante los años "pre-virus". Para llegar a esto la aplicación de la Bioseguridad es clave.

PÉRDIDAS ECONÓMICAS		
VIRUS	Año de descubrimiento	Pérdidas estimadas hasta la fecha
WSSV- Asia	1992	\$ 4-6 M.M.**
WSSV - Americas	1999	\$ >1 M.M.**
TSV	1991-92	\$ 1-2 M.M.**
YHV	1992	\$ 0.1-0.5 M.M.**
IHNV*	1981	\$ 0.5-1.0 M.M.**
* Incluye el Golfo de California		
** Miles de millones de Dólares		

Tabla 1. Estimación de pérdidas económicas debidas a enfermedades del camarón.

"Bioseguridad" se ha convertido en un término comúnmente usado en la industria mundial del cultivo de camarón sólo hasta en años recientes. Sin embargo, el concepto que representa es y ha sido por décadas el cimiento de casi toda industria de producción de alimentos de origen animal que se considere madura y exitosa. Muchos productores de ganado, cerdo, aves, y otras especies de acuicultura como trucha, salmón, y bagre de canal dependen de los principios de bioseguridad. Pero ¿qué es "bioseguridad"? Las ediciones recientes del diccionario médico Dorland y el Nuevo Diccionario Colegiado Webster no definen el

término. Es probable que el término "bioseguridad" haya nacido en una industria de alimentos de origen animal, donde las ganancias y la supervivencia misma del negocio dependen del estricto apego a los conceptos de bioseguridad.

En la industria avícola, bioseguridad se define como un grupo esencial de herramientas para prevenir, controlar, y erradicar enfermedades infecciosas económicamente importantes (Zavala, 1999).

A raíz de las epizootias causadas principalmente por los virus de camarones TSV y WSSV, que arrasaron las regiones de cultivo más importantes de Asia y América, la industria de la camaronicultura parece decidida a usar cualquiera de los conceptos de bioseguridad que pudieran ser aplicables en sus granjas.

La definición de la industria avícola de bioseguridad puede ser resumida como la exclusión de patógenos de las poblaciones en cultivo de las granjas. La aplicación de los conceptos de bioseguridad a muchos de los tipos existentes de cultivo de camarón, a como han sido aplicados a la avicultura por ejemplo, no es algo que pueda ser alcanzado fácilmente o en corto tiempo. La industria tiene miles de hectáreas de granjas y cientos de laboratorios de larvas, y pocos fueron diseñados con las facilidades para prevenir totalmente la introducción y establecimiento de ciertos patógenos específicos. No obstante, la bioseguridad es un concepto amplio y su aplicación, a través de la modificación de las granjas existentes y sus rutinas de manejo, puede hacer mucho para reducir las pérdidas causadas por estos patógenos. Además, la aplicación de estos conceptos a la camaronicultura contribuirá significativamente a hacerla mucho más sostenible y ambientalmente responsable. Las siguientes herramientas y principios son claves en cualquier esfuerzo de exclusión de patógenos:

- Disponibilidad de métodos de diagnóstico y detección adecuados para los patógenos de importancia
- Control de la poblaciones de camarón en cultivo.
- Control ambiental adecuado para prevenir la introducción de patógenos de importancia
- Desarrollo y continua implementación de políticas y prácticas de manejo que excluyan patógenos.
- Métodos de desinfección y erradicación de patógenos para contener y erradicar los contagios causados por patógenos de importancia

El primer punto de la lista anterior, es que como requisito, la industria debe de contar con métodos adecuados para el diagnóstico y detección de estos patógenos. Por ejemplo, métodos altamente sofisticados para la detección de patógenos usando varios tipos de muestras son de escaso valor para la industria del cultivo de camarón si no son lo suficientemente sensitivos o exactos, o si lo son pero no están del todo disponibles a una industria que podría beneficiarse de su uso y aplicación.

La industria mundial del cultivo de camarones peneidos tiene cerca de 30 años y actualmente produce cerca de 800,000 toneladas métricas al año en sus granjas. La importancia de esta industria para la economía global se refleja en los datos de producción y en los millones de personas empleadas directa o indirectamente. Que el camarón cultivado esté entre los más importantes rubros generadores de intercambio internacional en muchas naciones costeras tropicales y subtropicales documenta aún más la importancia de esta industria. Irónicamente, la mayor parte de la industria depende de la captura de larva silvestre o padrotes para proveer "la semilla" para sembrar las granjas (Argue y Warren 1999). Aunque la aplicación de algunos conceptos de bioseguridad es posible en una industria que utiliza larva silvestre, la consistencia en la prevención de enfermedades e introducción de patógenos es problemática. En tanto la industria continúe dependiendo de la semilla silvestre, no puede esperar tener un éxito consistente en la exclusión de patógenos de relevancia. El uso de padrotes silvestres, especialmente de postlarva silvestre deja a las granjas dependientes de esta fuente vulnerables a la introducción de patógenos de relevancia.

Aunque se ha incorporado un buen número de métodos al diseño operacional y manejo de las granjas previamente afectadas por TSV y WSSV para erradicar dichos virus y asegurar que no sean reintroducidos, de ninguno puede esperarse mucha protección contra pérdidas del cultivo en las granjas que usan semilla proveniente de poblaciones silvestres. El uso exclusivo de camarón domesticado, con un historial conocido de estar libre de patógenos de relevancia, ayuda a mitigar este riesgo. Sin embargo, un historial así sólo puede alcanzarse a través de un programa a largo plazo que incluya la vigilancia de enfermedades y la reproducción en cautiverio en instalaciones con un plan de bioseguridad totalmente funcional y efectivo.

Esta sección del manual revisa los conceptos y principios de bioseguridad con un énfasis particular en las metodologías de diagnóstico disponibles para la detección de patógenos, el diagnóstico de enfermedades, y para el desarrollo y uso de líneas domesticadas libres de patógenos específicos. La taxonomía de camarones usada en esta sección es la de Holthuis (1950).

1.0 PRINCIPIOS DE EXCLUSIÓN DE PATÓGENOS

1.1 Epizootiología y control de patógenos

La enfermedad en el cultivo del camarón puede ser definida como un factor o condición biótica o abiótica que afecta adversamente los resultados del cultivo (Lightner 1996). Las enfermedades bióticas son aquellas que tienen a agentes vivos como su causa, mientras que las abióticas son causadas por extremos físicos o ambientales (sobresaturación de nitrógeno, temperatura, condiciones hipóxicas, extremos de pH, etc.), químicos tóxicos, pesticidas, etc., deficiencias y desequilibrios nutricionales, manejo inapropiado, etc. Las enfermedades bióticas son de origen infeccioso y no infeccioso y la lista de éstas no es tan diferente a la que afecta a otros animales. Muchos de los grupos o causas mayores de enfer-

medad en vertebrados están representados en las causas de enfermedad en camarones peneidos. El camarón sufre de enfermedades infecciosas causadas por virus, rickettsias, bacterias, protozoos y parásitos helmintos, etc; de tumores benignos y neoplásicos; y desarrolla enfermedades nutricionales cuando es mal alimentado (Lightner, 1988, 1993a, 1993b, 1996).

Cuando la epizootiología de las enfermedades del camarón es considerada en términos de su distribución actual e histórica, algunas tendencias se hacen rápidamente aparentes. Las tablas 1 y 2 listan las principales enfermedades en los hemisferios occidental y oriental. Algunas de las más importantes (y sus agentes etiológicos) fueron alguna vez limitadas en distribución en uno o los dos hemisferios. Sin embargo, el movimiento internacional de camarones vivos (para acuicultura) y muertos (producción para el comercio) han facilitado el transporte y establecimiento de ciertos patógenos de un hemisferio al otro.

WSSV fue transportado de Asia a América, mientras que TSV fue acarreado en la dirección opuesta. Quizás esto se pudiera haber prevenido si las industrias y gobiernos de los países exportadores e importadores hubieran conocido los riesgos derivados de sus acciones, y si el diagnóstico apropiado de la enfermedad y métodos de detección hubieran estado fácilmente disponibles en el momento en que las transferencias más dañinas fueron realizadas. Desafortunadamente, desde su origen, el crecimiento y desarrollo de la industria acuícola de peneidos ha tenido como una de sus características la mentalidad de "fiebre de oro". La industria se ha movido muy rápidamente hacia el desarrollo de nuevas regiones de cultivo, transferencia de camarones vivos y muertos, etc., mucho antes que los riesgos o consecuencias ambientales fueran considerados, y mucho menos evaluados. Muchos de los patógenos más significativos fueron trasladados de las regiones en que se originaron a otras nuevas aún antes que el "nuevo" patógeno hubiera sido reconocido, nombrado, probado ser el causante de la enfermedad, y antes de que métodos confiables de diagnóstico fueran desarrollados. Las enfermedades ocasionadas por los virus IHHN, TSV y WSSV fueron transferidas por camarón vivo de país a país y de un continente a otro antes que su etiología (causa) fuera entendida.

Aunque la bioseguridad tiene como objetivo la exclusión de patógenos conocidos sobre los cuales existen datos epizootiológicos y para los cuales hay métodos de diagnóstico y detección, la aplicación de prácticas bioseguras puede también reducir la probabilidad de la introducción de un patógeno desconocido o pobremente entendido. Sin embargo, antes de que los principios de bioseguridad puedan ser aplicados a una región en particular o a una instalación individual, es necesario identificar cuáles patógenos deberán ser considerados para la exclusión. **Los patógenos enlistados en un programa de bioseguridad deben ser excluibles.** La Figura 1 muestra la interacción entre huésped, medio ambiente y patógeno. Por lo tanto, la epizootiología de un patógeno (ej. su hospedero, biología, y métodos de transmisión) debe ser entendida para permitir a los gerentes conocer cómo se transmite un patógeno y cómo prevenir su entrada y diseminación. Es de gran importancia para la bioseguridad el contar con los métodos de diagnóstico y detección más adecuados (deben de ser sensitivos, confiables y estar disponibles).

patogeno + huesped + ambiente = enfermedad



excluir patogeno = no enfermedad

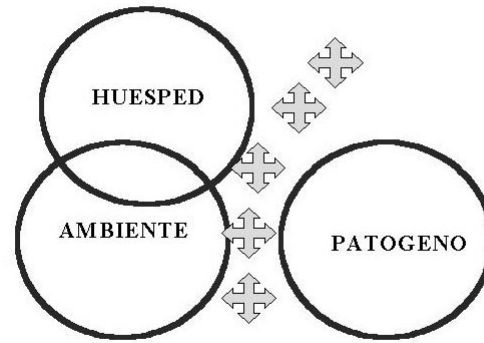


Figura 1. Los agentes patógenos se encuentran generalmente en el medio ambiente que rodea a cualquier organismo, con frecuencia sin causar ningún efecto adverso. Sin embargo, debido a una gran variedad de factores intrínsecos al huésped y su medio ambiente, la presencia de un patógeno puede llegar a resultar en la manifestación de la enfermedad. Solamente cuando un agente patógeno puede ser excluido es entonces posible prevenir dicha enfermedad.

Resulta impráctico, si no imposible, el esperar que la bioseguridad conduzca al desarrollo de líneas de camarón "libres de enfermedad" o "libres de patógenos"; también lo es esperar cultivar tales líneas en un ambiente donde cada patógeno potencial sea excluido.

El camarón tienen como parte de su flora microbiana natural y su ambiente acuático, una gran y diversa población de microorganismos, algunos son patógenos facultativos listos a atacar cuando el camarón está sometido a un número de estresantes. Ciertas especies de *Vibrio* proveen un buen ejemplo de organismos que viven en el ambiente que rodea al camarón, a menudo como parte de la microflora normal habitando la superficie de su cutícula o colonizando áreas del tracto intestinal o del hepatopáncreas. Algunas especies de *Vibrio* pueden volverse mortalmente patógenas en camarones "estresados".

El estrés en el camarón es una condición pobremente definida, difícil de medir y tiene probablemente más causas que las ya conocidas. Sus causas pueden cubrir desde exposición a extremos ambientales hasta mal alimentación. La mayoría de los camarones peneidos tienen su mejor desarrollo de cultivo (ej: crecimiento y eficiencia en la conversión de alimento) a temperaturas de agua cerca de su límite de tolerancia máximo, para un estadio de vida particular de la especie. Las granjas y las prácticas de manejo deben operar cerca de la temperatura límite y estar preparadas para tomar medidas correctivas cuando el "estrés" y la enfermedad resulten de la exposición prolongada a la alta temperatura del agua. De esta manera, la ubicación de la granja, el diseño del sistema de cultivo, la calidad de alimento

usado, la densidad de siembra, las prácticas de manejo de rutina de la granja y otros factores pueden tener un efecto profundo en la cantidad de estrés a la cual son sometidas las poblaciones de camarones de cultivo. Por lo tanto un punto clave en la bioseguridad es que el diseño de la granja, el alimento y la alimentación, y la calidad del manejo son componentes esenciales para el cultivo exitoso (por ejemplo, instalaciones para los padrotes, laboratorios o granjas de crianza).

La Oficina Internacional de Epizootias (OIE) es el brazo administrativo de la Organización Mundial de Salud Animal (www.oie.int), y publica regularmente el Manual de Diagnóstico y Código Internacional de Salud de Animales Acuáticos. La OIE actualmente tiene 9 enfermedades de crustáceos (8 de las cuales son enfermedades virales de peneidos) en su lista de patógenos los cuales son consideradas una amenaza al comercio internacional, pesquerías, y acuicultura de crustáceos (camarón especialmente). Las tablas 5-7 contienen la lista de virus notificables y virus de camarón listados de la OIE y los métodos de detección y diagnóstico disponibles para cada uno. Antes de que una nueva enfermedad pueda ser añadida a la lista de enfermedades notificables y listadas de la OIE, es necesario que cumpla con ciertos requisitos:

- el agente etiológico debe ser conocido;
- se debe de contar con métodos de diagnóstico confiables; y
- la enfermedad debe ser una enfermedad de importancia local, regional o internacional.

Las listas de patógenos como las de la OIE son modelos útiles para establecer un programa de bioseguridad que se base en la exclusión de una serie de patógenos específicos y en los métodos para su vigilancia y diagnóstico.

1.2 Métodos actuales de diagnóstico

Los laboratorios de investigación y diagnóstico de camarón peneido se basan en métodos tradicionales adaptados de los usados en laboratorios de diagnóstico de peces, veterinarios y humanos. En la patología del camarón peneido, los analistas dependen mucho de la historia del caso, signos macroscópicos, comportamiento, patología morfológica (microscopia directa de campo brillante o de luz de contraste de fases, y microscopia electrónica), y microbiología clásica (bacteriología y micología) (Tabla 3, Figura 2).

Paradójicamente, técnicas importantes como el cultivo de tejidos y células, hematología y química clínica (pilares fundamentales de la investigación biomédica de los vertebrados), diagnóstico, y patología, o no han sido exitosamente aplicadas como herramientas de diagnóstico de rutina (en el caso de los cultivos de células y tejidos) o no han provisto datos prácticos en el diagnóstico rutinario (en el caso de la hematología y la química clínica). En contraste, en el caso de peneidos cultivados, los métodos basados en la detección de patógenos usando anticuerpos (empleando anticuerpos mono/ policlonales) y, especialmente, métodos moleculares (usando sondas genéticas y Reacción en Cadena de

Polimerasa-PCR) proveen más exactitud y son más estandarizables para el diagnóstico de enfermedades y la detección de patógenos, especialmente en el caso de ciertos virus (Lightner 1996, 1999 a, 1999 b; Tablas 6 y 7).

Métodos clásicos

Los métodos para la detección de patógenos y el diagnóstico de enfermedades que actualmente son usados por los patólogos y por laboratorios de diagnóstico han sido revisados varias veces en la década pasada (Baticados 1988, Baticados et al. 1990; Liu 1989; Johnson 1990, 1995; Brock 1991, 1992; Brock y Lightner 1990a, 1990b; Brock y LeaMaster 1992; Brock y Main 1994; Fulks y Main 1992, Lightner 1988, 1992, 1993a, 1993b, 1996; Lightner y Redman 1991, 1992, 1998; Lightner et al. 1992a, 1992b, 1994; Limsuwan 1993). Los analistas que trabajan con camarón peneido continúan dependiendo de los métodos de diagnóstico "clásicos" (Tabla 3). Entre los más importantes están los signos clínicos y macroscópicos siendo el examen directo y la microscopía con microscopio de luz, microbiología clásica con el aislamiento y cultivo del agente, histología de rutina e histoquímica las pruebas de laboratorio más comúnmente usadas (Bell y Lightner 1988; Lightner 1996). En la actualidad, prácticamente todos los laboratorios de diagnóstico y patología están equipados para realizar métodos de microscopía de luz directa y procedimientos de rutina en histología y bacteriología.



Figura 2. Existe una amplia variedad de métodos para diagnosticar enfermedades del camarón. El método a usar dependerá de la enfermedad y en ocasiones se requiere de más de uno para identificar definitivamente al patógeno.

Otras técnicas de diagnóstico clásico de importancia usadas con menos frecuencia incluyen los bioensayos y el potenciamiento, que son usados para la detección de infecciones subclínicas o latentes de ciertos patógenos (Lightner et al. 1983b; Overstreet et al. 1988; Brock y Lightner 1990a; Lightner 1996; Lu et al. 1995a). Los métodos utilizados por los patólogos, más como herramientas de investigación que para propósitos de diagnóstico, son la microscopía electrónica de transmisión y la de barrido (Momoyama et al. 1995; Jonson y Cassaut 1995) y pruebas basadas en anticuerpos con sera inmune preparada en mamíferos (Lightner 1996).

Hematología y química clínica

Es interesante, y quizás de algún modo una paradoja que la hematología y la química clínica, dos de las principales herramientas de diagnóstico en medicina humana y veterinaria, sean tan poco usadas como herramientas de diagnóstico en la patología del camarón peneido. Aunque hay estudios en los que se demuestra que ciertos cambios en los parámetros de hemolinfa tales como conteo de hemocitos, glucosa, SGOT (Serum Glutamic Oxaloacetic Transaminasa), amonio, tiempo de coagulación, nitrógeno no proteico, fosfataza alcalina, proteína de serum total, etc., se deben a enfermedades infecciosas en camarones y langostas (Stewart et al. 1969; Stewart y Rabin 1970; Hose et al. 1984; Stewart 1993), casi ninguno ha sido adaptado para su uso de diagnóstico de rutina. Solo el tiempo de coagulación y los cambios en el conteo total de hemocitos parecen ser usados por los analistas (Lightner 1996).

Cultivo de tejidos

Otra paradoja de la patología de camarones es la virtual ausencia de métodos de cultivo de tejidos y células como herramientas de diagnóstico. Los cultivos de tejidos y células forman uno de los pilares fundamentales de diagnóstico de la investigación biomédica y patológica en plantas, animales y humanos. Los métodos de cultivo de tejidos son fundamentales para el diagnóstico de la mayoría de virus en peces (Thoesen 1994). Aún para los insectos (artrópodos, como los crustáceos) hay numerosas líneas de células y algunas han estado disponibles por décadas (Vago 1971; Maramorosch y Mitsunashi 1982). Algunos grupos de investigación han desarrollado y mejorado los métodos para células primarias del camarón peneido (Chen et al. 1986; Itami et al. 1989; Rosenthal y Diamant 1990; Ellender et al. 1992; Luedeman y Lightner 1992). Algunos investigadores han usado estos cultivos para tratar de cultivar *in vitro* algunos tipos de virus de camarón como MBV, YHV, y WSSV (Chen y Kou 1989; Lu et al. 1995b; Tapay et al. 1996 a; Crane y Benzie 1999).

Toxicología y análisis

Las enfermedades no infecciosas son comunes en el cultivo (Lightner 1993b). Muchas se deben a extremos ambientales de temperatura, salinidad, pH, y otros factores, otras a desequilibrios y deficiencias nutricionales, y otras más a agentes tóxicos (Lightner 1993a, 1993b). Los síndromes de toxicidad pueden deberse a metabolitos propios del camarón (amonio y nitritos) o a metabolitos tóxicos de otras fuentes (alimento e ingredientes de alimento enmohecido). Los tóxicos agrícolas e industriales (algunos metales pesados, pesticidas y químicos tóxicos) también pueden causar enfermedades y pérdidas en el cultivo (Baticados et al. 1990; Brock 1992; Flegel et al. 1992; Lightner 1993b).

El camarón afectado por enfermedades no infecciosas presentan signos macroscópicos únicos y lesiones que proveen un diagnóstico definitivo. Sin embargo, la mayoría requieren confirmación del agente causante a través del análisis de laboratorio (Brock 1992; Lightner 1993b; Brock y Main 1994). Algunas enfermedades tóxicas diagnosticadas con la sola demostración histológica de las lesiones patognómicas incluyen la enteritis hemocítica cau-

sada por toxicidad de algas verde-azules y presumiblemente por organismos productores de potentes endotoxinas, en las que se presentan lesiones inflamatorias prominentes en la parte media del tracto intestinal (Lightner 1996), y un síndrome de toxicidad del funguicida agrícola benomyl en el que ocurren lesiones únicas en el hepatopáncreas (Lightner et al. 1996). Aunque las aflatoxinas y ciertas formas de enfermedad de las branquias negras y enfermedad de la cutícula muestran lesiones histológicas únicas, se debe demostrar la presencia del agente causal en la(s) muestra(s) apropiada(s) (agua, sedimento, alimento, camarón, etc.) antes de llegar a un diagnóstico definitivo. Así mismo, las enfermedades nutricionales como la cutícula suave, deficiencia de carotenoides, y síndrome del músculo acalambado y de deficiencia del ácido ascórbico, presentan histopatología y signos macroscópicos únicos (Baticados et al. 1990; Lightner 1988, 1993a, 1993b), y la confirmación del diagnóstico tentativo depende de otra información obtenida a través del historial del caso y de los resultados de los análisis.

Métodos basados en anticuerpos

Existen varios métodos para el diagnóstico de enfermedades que han sido desarrollados en base a uso de anticuerpos (Tabla 6-8). Los anticuerpos monoclonales (MAbs) se han desarrollado para detectar varias especies de *Vibrio* (agentes causantes de la vibriosis). Song et al. (1992) desarrolló un análisis de inmunoensayo enzima-ligado (ELISA) basado en MAbs para *Vibrio vulnificus* y *V. Harveyi*.

Chen et al. (1992) han desarrollado también un número de MAbs para varias especies de *Vibrio* incluyendo unas que comúnmente son reportadas como agentes causantes de vibriosis en el camarón (*V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, y *V. harveyi*). Sin embargo, ninguno de estos MAbs se han hecho accesibles al público.

Anticuerpos MAb y policlonales (PAbs) también han sido desarrollados como reactivos de diagnóstico para virus de camarón (Tablas 6 y 7). Sano et al. (1984) desarrolló una prueba PAb fluorescente para BMN, agente de la necrosis baculoviral de la glándula del tracto intestinal medio en *P. japonicus*. Lewis (1986) reportó la aplicación de una prueba PAb tipo ELISA para BP (*Baculovirus penaei*) del peneido americano. Se han desarrollado y aplicado, últimamente, PAbs para la detección de otros virus. Tapay et al. (1996b) reportó sobre su aplicación para la detección de rhabdovirus (RPS; Nalda et al. 1992; Tapay et al. 1996b), y para YHV y WSSV (Lu et al. 1996; Nalda y Loh 2000) (Tabla 4).

Se han desarrollado MAbs exitosamente y unos pocos se han puesto comercialmente a disposición de la industria del cultivo del camarón. Poulos et al. (1994a) desarrolló MAbs para IHNV, pero reportó problemas con especificidad que puede que hayan estado relacionados al tipo de anticuerpo (IgM) de los MAbs desarrollados para IHNV. Mientras éstos reaccionaron específicamente con muestras de IHNV purificado (o con proteínas que conforman su cápside) inmovilizadas en una membrana especial ("Western blots"), también reaccionaron no específicamente con tejidos de camarón normales, resultando en reacciones falso-positivas con muestras de tejido de camarón no infectada en ensayos tipo ELISA

(Lightner et al. 1992c; Poulos et al. 1994a). Más recientemente se han desarrollado MAb, clase IgG, para TSV y WSSV (Poulos et al. 1999; Poulos et al. presentado) que no presentan ningún problema de especificidad, y se los adquiere a través de DiagXotics, Inc. (Wilton, CT, USA).

A pesar que el desarrollo de pruebas basadas en anticuerpos para los patógenos del camarón más importantes han ocurrido después del desarrollo de métodos de diagnóstico y detección molecular, es muy probable que el uso de pruebas MAb y PAb se harán mucho más comunes en los laboratorios de diagnóstico en los próximos años. Debido a su rapidez, versatilidad, simplicidad, relativo bajo costo y sensibilidad razonablemente buena, las pruebas basadas en MAb son potencialmente muy útiles como pruebas de diagnóstico de rutina aún en los laboratorios más modestamente equipados (Mailhe et al. 1992; Reddington y Lightner 1994).

Métodos moleculares para el diagnóstico y detección de patógenos

Ciertos métodos moleculares (sondas genéticas y amplificación de ADN usando la reacción en cadena de la polimerasa-PCR) han sido recientemente aplicados para el diagnóstico de ciertas enfermedades infecciosas de camarones peneidos. El desarrollo y aplicación de la primera sonda genética para el diagnóstico del virus IHNV (Tabla 4) fue reportado hace apenas 8 años (Lightner et al. 1992c; Mari et al. 1993a). La primera generación de sondas para la detección de IHNV fue desarrollada extrayendo ssADN* de IHNV purificado a partir de *L. vannamei* y *L. stylirostris* (infectados por el virus) y subsecuentemente clonado dentro de células de *E. coli*-DH5 (Mari et al. 1993a). Del conjunto resultante de fragmentos de ADN de IHNV clonados, cinco clones con inserciones de ADN de 2.0 Kbp o mayores fueron seleccionados para un desarrollo posterior, a partir de estos se desarrollaron las primeras sondas de ADN (Mari et al. 1993a).

Cuando se etiquetaban con marcadores radioactivos (antes tradicional), el uso de sondas genéticas era una opción solo para laboratorios de investigación y diagnóstico mejor equipados. Sin embargo, la aplicación de métodos de etiquetado no radiactivos ha facilitado la disponibilidad de la tecnología de las sondas genéticas. La primera sonda genética no radiactiva fue desarrollada empleando el "kit" no radiactivo TMI *Genius* (Boehringer Mannheim, Inc.) el cual contiene digoxigenina-11-dUTP (DIG) como agente etiquetador de ADN y usa un sistema tipo ELISA para el paso de detección final (Lightner et al. 1992c; Mari et al. 1993a). Esto condujo al desarrollo de sondas genéticas etiquetadas con DIG (no radiactivas) para la detección de IHNV y a su aplicación en los estuches o "kits" de diagnóstico comercializados bajo la marca "ShrimpProbes™" por DiagXotics (Wilton, CT, U.S.A.).

Desde que en 1992 se desarrolló la primera sonda genética para el parvovirus IHNV (Lightner et al. 1992c; Mari et al. 1993a), la tecnología se ha aplicado en el desarrollo de sondas genéticas adicionales para detectar otros virus de camarón, una bacteria similar a la rickettsia y para un microsporidio (Tabla 8). Actualmente, se han desarrollado sondas genéticas etiquetadas con DIG y están disponibles para la detección de los parvovirus IHNV y

*ssADN: ADN de cadena sencilla.

HPV, el picornavirus TSV, para los baculovirus BP, MBV, para WSSV, y YHV (virus ssARN con forma de bastón) (Tablas 5-8) (Lightner et al. 1992c, 1994; 2000; Bruce et al. 1993; Mari et al. 1993b, 1995; Poulos et al. 1994b; Nunan y Lightner 1997; Lightner 1996; Wang et al. 1995; Flegel et al. 1996). Se han desarrollado sondas semejantes para detectar el agente causante de la hepatopancreatitis necrotizante (bacteria intracelular similar a las rickettsias) (Krof et al. 1991; Frelie et al. 1992, 1993, 1994; Lightner et al. 1992d; Lightner 1996; Loy y Frelie 1996), y para el microsporidio *Agmasoma sp.*, el cual parasita *L. monodon* y *L. merguensis* en el sudeste asiático (Pasharawipas y Flegel 1994; Pasharawipas et al. 1994). Muchas están comercialmente disponibles como sondas DIG -etiquetadas o en forma de "kits" en la línea de DiagXotics ShrimProbe™ (Tabla 8), Inc. (Wilton, CT, USA).

Las sondas genéticas DIG-etiquetadas pueden ser aplicadas en la detección y diagnóstico de patógenos en varias formas. El protocolo para el sistema Genius™ (Boehringer Mannheim Inc., Genius™ Guía para Usuarios del sistema por Hibridización de Membrana) fue adaptado para ensayos de hibridización marca de punto ("dot-blot") usando muestras de tejido homogenizado impregnadas y fijadas sobre membranas preparadas hechas de nitrocelulosa o nylon cargado positivamente. El método ha sido aplicado con éxito en la detección de virus IHHNV y WSSV (Lightner 1996), la bacteria del NHP (Loy y Frelie 1996; Lightner 1996), y microsporidio *Agmasoma sp.* (Pasharawipas y Flegel 1994).

La hibridación *in situ* usando protocolos adaptados del sistema Genius™ desarrollado por Boehringer Mannheim (Manual de Aplicación de Hibridización *in situ* no radiactivo) puede usarse para detectar secuencias genómicas y virales con sondas ADN específicas complementarias. Se ha demostrado que el uso de sondas genéticas DIG-etiquetadas no radiactivas, provee un método de diagnóstico bastante específico, dado que cualquier efecto de tejido no específico (diagnóstico falso positivo durante el ensayo "marca de punto" con muestras de tejido homogenizado) puede ser fácilmente distinguido de lesiones histológicas específicas que han reaccionado con las sondas (Lightner 1996). Se han desarrollado métodos de hibridación *in situ* para el virus IHHNV, HPV, MBV, BP, el grupo WSSV, YHV y TSV (Tablas 6 y 7); la bacteria NHP semejante a las rickettsias; y el microsporidio *Agmasoma sp.* (Flegel et al. 1996; Lightner 1996).

Recientemente, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) ha sido aplicada con bastante frecuencia en la detección de patógenos e investigación de enfermedades de camarón (Tablas 6 y 7). Con el PCR es posible detectar cantidades muy pequeñas de ADN que no pueden ser detectadas por otros medios. Esto se logra usando "primers" de oligonucleótidos específicos diseñados para complementar la secuencia del ADN buscado. El producto resultante del PCR puede entonces ser comparado con un estándar conocido usando electroforesis en un gel de agarosa, o también a través de una reacción con una sonda de ADN específica de productos de PCR impregnados directamente sobre una membrana o a los productos de PCR, o en pruebas tipo "Southern transfer". En algunas aplicaciones los mismos productos del PCR pueden ser etiquetados con DIG y usados como sondas de ADN específicas (Innis et al. 1990; Perkin Elmer 1992).

Cuando se conoce la información de secuencias específicas de los ácidos nucleicos del ADN

(de camarón, virus, bacterias, etc.), es posible sintetizar "primers" o iniciadores para dirigirse a secuencias específicas de nucleótidos. Éstas pueden pertenecer a un virus, bacteria o cualquier secuencia de ácidos nucleicos. Existen programas de computación que ayudan a seleccionar los "primers" óptimos, esto es siempre y cuando se encuentre disponible la información de la secuencia del ADN que se busca detectar (Innis et al. 1990; Perkin Elmer 1992).

La técnica PCR ha sido aplicada a la investigación y detección de patógenos en la mayoría de los virus de importancia en el cultivo moderno del camarón (Tablas 6 y 7) (Wang et al. 1996; Nunan et al. 2000; Lightner 1999b). Otras aplicaciones del PCR incluyen la detección de patógenos bacterianos como en el caso de la bacteria del NHP (Loy et al. 1996) y *Vibrio penaeicida* (Genmoto et al. 1996).

Existe una necesidad creciente de estandarizar y validar los métodos de diagnóstico basados en ADN y de los laboratorios que los usan (Walker y Subasinghe 1999). La estandarización de estos métodos es casi inherente a la naturaleza de las pruebas. Esto es, la sonda de ADN específica o el juego de primers específico que es usado para demostrar la presencia o no de una secuencia única de ADN o ARN no varía de un lote a otro. Por consiguiente, con los controles apropiados, estos métodos son fácilmente estandarizados (Reddington y Lightner 1994). Sin embargo, a pesar de la creciente dependencia de la industria del cultivo de camarón en los métodos de diagnóstico basados en ADN, ninguna de las pruebas actualmente disponibles en el mercado han sido validadas usando pruebas de campo controladas. Así mismo, todavía no hay programas formales de certificación o acreditación que aseguren que los resultados de las pruebas son realmente exactas y apropiadamente controladas (Lightner y Redman 1998; Lotz y Lightner 1999; Lightner 1999b).

Se requiere la implementación de un programa formal por parte de agencias internacionales apropiadas o sociedades profesionales para validar los nuevos métodos de diagnóstico y para revisar periódicamente la acreditación y certificación de los laboratorios y de los diagnosticadores. El establecimiento de laboratorios de referencia regionales para métodos de diagnóstico basados en ADN de patógenos podría caber bien en tales programas con el objetivo de hacer estos métodos uniformes, confiables y fácilmente aplicables a las estrategias de manejo y control de las enfermedades virales.

MÉTODOS DE MANEJO DE ENFERMEDADES

Se ha intentado una variedad de estrategias para controlar enfermedades virales en la acuicultura del camarón peneido. Estas van desde el uso de prácticas de cultivo mejoradas (fuentes de contaminación por virus reducidas o eliminadas, prácticas sanitarias mejoradas, densidades de siembra reducidas, etc.) hasta sembrar especies o poblaciones "libres de patógenos específicos" (SPF) o "resistentes a patógenos específicos" (SPR). Últimamente, se han realizado estudios sobre el uso de vacunas e inmuno estimulantes para la prevención de enfermedades virales en el camarón.

Estrategias de Control de Enfermedades virales

En América, se han empleado varias estrategias para reducir las pérdidas de producción debido a virus enzoóticos como IHNV, BP y TSV.

Prevención de Baculovirus en laboratorios de crianza:

El mejoramiento de las prácticas de cultivo ha sido exitoso para controlar BP. Por más de una década este virus no ha sido reportado como un problema serio para el cultivo, gracias a que su ciclo de infección puede ser interrumpido con buenas prácticas rutinarias de manejo. BP es un baculo-virus que ataca el sistema digestivo, el cual es transmitido de camarón a camarón exclusivamente *per os*¹ (Jonson y Lightner, 1988; Overstreet et al., 1988; Overstreet 1994). Por lo tanto, las infecciones de padres a crías en los laboratorios de crianza de BP al igual que de MBV y BMN (todos ellos baculovirus que atacan el sistema digestivo), han sido prevenidas al eliminar la contaminación fecal de huevos proveniente directamente de las heces fecales de los padrotes reproductores y también a través de la implementación de prácticas adecuadas de saneamiento (Momoyama, 1988, 1989a, 1989b, 1989c, 1989d).

Se han desarrollado un buen número de métodos innovadores para reducir o eliminar la contaminación fecal (que contiene baculovirus) de los huevos. El método más simple ha sido el uso de recipientes de eclosión en los cuales los huevos embrionados son enjuagados con agua de mar limpia y en los cuales los nauplios que van eclosionando son enjuagados pasivamente al tiempo que son separados de sustancias contaminantes y de los "hermanos" enfermos utilizando la respuesta fototáctica positiva de los "nauplios saludables". También es muy común en los laboratorios de las Américas el uso de enjuagues químicos de huevos y larvas aplicando desinfectantes como cloro, ozono, yodo o formalina para prevenir BP, la vibriosis y otras enfermedades. La implementación rutinaria de procedimientos de saneamiento y desinfección de equipo de laboratorio y de estanques después de cada uso, también es útil en la prevención de infecciones de BP o bien ayuda a limitar la contaminación de estanque a estanque cuando ésta se presenta.

Algunos laboratorios de crianza prefieren utilizar el desove individual de las hembras, ya que así es posible coleccionar las heces fecales existentes y analizarlas utilizando técnicas de microscopía para identificar cuerpos de oclusión de BP. De manera similar, algunos laboratorios sacrifican a las hembras después del desove para examinar el hepatopáncreas y determinar la presencia de cuerpos de oclusión. Para prevenir que ocurran infecciones de BP en el sistema de tanques de crianza de larva se descartan entonces los desoves de las hembras en cuyas heces o hepatopáncreas se haya detectado BP.

Prevención por medio de exclusión de patógenos y desarrollo de camarones SPF:

El manejo de enfermedades por medio de la exclusión de patógenos específicos es bastante común en las prácticas de agricultura moderna. El concepto de desarrollar padrotes libres

¹*per os*: oral

de patógenos específicos y desarrollar la crianza de éstos en regiones donde estos patógenos han sido excluidos, ha tomado lugar en varios lugares del hemisferio oeste donde los resultados han variado. El éxito de la aplicación de este concepto dependerá, de la ausencia o no de los patógenos específicos en los padrotes, al igual que de la habilidad, sensibilidad y precisión de la metodología para su detección. Adicionalmente, la presencia de una barrera efectiva (i.e. geográfica, restricciones gubernamentales de importación, etc) para prevenir la introducción de patógenos específicos que se intenta excluir.

En el Hemisferio Oeste, las poblaciones SPF de *L. stylirostris* y *L. vannamei* han sido desarrolladas y exitosamente cultivadas en varios sitios (Wyban, 1992; Wyban et al., 1992; Carr et al., 1994; Pruder et al., 1995; Lightner, 1996b). El procedimiento del Consejo Internacional para la Exploración de los Océanos (ICES) (Sindermann, 1990) se basó en este desarrollo. La decisión de cuales patógenos específicos deberían estar ausentes en los padrotes fue basada en una lista que había sido elaborada previamente con este propósito (Wyban, 1992; Lotz et al., 1995). La lista más actualizada del Consorcio Americano de Productores de Camarón Marino de USA incluye 8 virus (WSSV, YHV, TSV, IHNV, HPV, BP, MBV, y BMN), algunas clases de parásitos protozoos (microsporidios, gregarinas y haplosporidios), parásitos helmintos (tremátodos, céstodos y nemátodos). En el espíritu del procedimiento ICES se identificó cada población candidata SPF de camarón salvaje o cultivado (Tabla 3).

Lista de Patógenos Específicos para peneidos "SPF" en EUA		
Patógeno	Clase de patógeno	categoria
VIRUS		
TSV	Picornavirus	C-1*
WSSV(SEM BV, etc.)	'Nimavirus'	C-1*
YHV, GAV, LOV	"Corona-like"virus	C-1*
IHNV	Parvovirus	C-2**
BP	Baculovirus ocluido	C-2**
MBV	Baculovirus del tipo <i>P. monodon</i>	C-2**
BMN	Baculovirus no ocluido	C-2**
HPV, SMV	Parvovirus	C-2**
PROTOZOOS		
Microsporidios	Microsporidios	C-2
Haplosporidios	Haplosporidios	C-3
Gregarinas	Apicomplexa	C-3
PARASITOS METAZOOS		
	Parásitos helmintos	
Para 1995-2001; * = OIE notificable; ** = OIE listado		

Tabla 3. Las poblaciones SPF deben ser libres de patógenos de acuerdo a una lista pre-establecida.

El proceso para desarrollar una población SPF comienza por tomar y analizar muestras de las poblaciones disponibles utilizando para ello las técnicas de diagnóstico y detección más apropiadas para los patógenos específicos previamente definidos. Si no se detecta ninguno de estos patógenos, se establece entonces una población fundadora (F_0) llamada también "candidatos SPF" la cual es mantenida bajo protocolos de cuarentena primaria. Durante este

período, la población (F_0) es vigilada para detectar síntomas de enfermedad, y periódicamente se toman muestras para determinar la presencia de patógenos de interés. Si alguno es encontrado toda la población se elimina. Las poblaciones en donde no se detectó ninguno de estos patógenos (durante un período de 30 días hasta un año en algunas poblaciones) se transfieren a una instalación separada en donde comienza la cuarentena secundaria. Aquí las poblaciones maduran, se seleccionan, se aparean y se produce la segunda generación (F_1), la cual es mantenida en cuarentena y sometida a más exámenes para detectar patógenos de interés. Aquellas en donde no se detecte ninguno de estos patógenos, son designadas como SPF y usadas para la producción de líneas domesticadas de SPF de "alta salud" (Wyban et al., 1992; Pruder et al., 1995). Las poblaciones SPF y de "alta salud" de *L. vannamei* se usaron con éxito en granjas en USA en 1993 y 1994, lo que resultó en un incremento del 100% de la producción en comparación con años anteriores, cuando se sembraron líneas *L. vannamei* no seleccionadas. Estas mismas líneas, habían sido afectadas por RDS, "síndrome de deformidades y enanismo" debido a infecciones crónicas de IHNV (Pruder et al., 1995; Lightner, 1996a, 1996b) (Figura 2).



Figura 2. Procedimiento de cuarentena independiente para el aislamiento y desarrollo de poblaciones SPF.

Otra aplicación interesante del manejo de enfermedades por prevención y uso de poblaciones SPF, comenzó en Belice en 1995. La industria camaronera en este país es relativamente pequeña (menos de diez granjas), y fue impactada severamente por TSV en 1994 (Lightner 1996b; Dixon y Dorado 1997). Las granjas en Belice están geográficamente aisladas de otras regiones de producción en países adyacentes (pues la mayoría está localizada en la costa Pacífica), y por estar localizado en la parte caribeña de la región, no tiene poblaciones naturales de especies peneidas (*L. stylirostris* y *L. vannamei*). Estas especies son las más propensas a servir como huéspedes de TSV y IHNV. Belice fue líder en tratar de erradicar TSV y IHNV; siete de sus granjas fueron despobladas a finales del año 1995. Cada granjas fue desinfectada y secada para erradicar fuentes potenciales de estos virus. El programa de erradicación incluía desinfección de tanques, (tratando los fondos de los estanques con óxido de calcio en proporciones de 5,000 kg/ha o con cloro a 10 ppm por 24-48 horas), seco de los estanques y gradeo de los fondos (a profundidades de 10 cm para asegurar la oxi-

dación de contaminantes de fondo como detritus), desinfección de granjas y otra infraestructura (con cloro o gas de formalina), utilización de insecticidas (para matar huéspedes potenciales tales como cangrejos y camarones salvajes que se encuentran en los canales de drenaje), y eliminación de camarones congelados en la bodega de la planta procesadora del país (Dixon y Dorado, 1997). Para los ciclos 1996 y 1997, las granjas se sembraron exclusivamente con SPF de *L. vannamei*. Desde 1995 hasta finales del año 2000, no se ha detectado TSV y IHNV ha sido encontrado en porcentajes de prevalencia muy bajos. Con TSV ausente en las instalaciones de cultivo, el promedio de producción por cosecha de *L. vannamei* en 1996 en una de las granjas fue de 891 kg/ha (con cabeza) con una densidad de siembra de 15.5 PL/m², y la sobrevivencia por cosecha promedió 67%. Comparando la misma granja durante el periodo de TSV en 1994 la producción fue de 390 kg/ha (con una siembra a 18.3 PL/m²) con una sobrevivencia de 36% (Dixon y Dorado, 1997). Aunque el experimento de erradicación TSV e IHNV en Belice fue exitoso, su duplicación en otras regiones de América puede no ser factible. En regiones donde la población total no puede ser erradicada, están siendo aplicados otros métodos de manejo de enfermedades.

La aplicación exitosa del procedimiento de ICES y el concepto SPF requiere que los patógenos específicos sean eliminables. En situaciones donde esto no ocurra, el desarrollo y el uso de poblaciones SPR es posiblemente la única alternativa. El hecho de que IHNV y TSV se hayan dispersado ampliamente en América, indica que ni el gobierno ni la industria se apoyaron en los mecanismos de exclusión de patógenos y por lo tanto se deben implementar regulaciones para poder alcanzar el uso de poblaciones SPF, y en caso de no existir, desarrollar y utilizar las poblaciones SPR.

Desarrollo y uso de poblaciones resistentes a patógenos específicos:

Una alternativa al desarrollo de poblaciones SPF, es la de seleccionar y criar sobrevivientes que han sido infectados por patógenos específicos (de patógenos como IHNV, TSV, o WSSV) para desarrollar una población resistente. Con este esquema, investigadores franceses desarrollaron con éxito una población de *L. stylirostris* resistente a IHNV en las Polinesia francesa (Weppe, 1992; Lightner, 1996b). Esta población designada SPR-43, fue desarrollada por la agencia francesa Research Institute for Exploration of the Seas (IFREMER), la cual crió varias generaciones sobrevivientes a IHNV en su estación en Tahití y Nueva Caledonia. Después de varias generaciones, la sobrevivencia y el cultivo de la población mejoró. Se encontró también que la población llevaba dosis bajas de infección por IHNV. Finalmente, cuando fue experimentalmente expuesta a IHNV, la población SPR-43 demostró resistencia a la enfermedad ocasionada por el virus (Weppe et al., 1992).

Una segunda línea de SPR para *L. stylirostris* fue desarrollada en Venezuela con la misma estrategia que utilizó IFREMER en Tahití y Nueva Caledonia. La población fundadora fue introducida a Venezuela desde Panamá, tal población pudo haber estado infectada con IHNV cuando fue introducida, o infectarse por contacto con poblaciones importadas a Venezuela. Generaciones sobrevivientes de IHNV fueron seleccionadas y criadas hasta que

las poblaciones dieran el mismo rendimiento de las poblaciones resistentes de *L. vannamei* a IHNV de la misma granja. Cuando TSV llegó a las Américas, se observó que las poblaciones de *L. stylirostris* eran resistentes a TSV. Esta población era resistente a IHNV y TSV y fue comercializada como "SuperShrimp" en las Américas (Lightner y Redam, 1998). A principios de 1997 en algunas regiones de México, la población SPR de "SuperShrimp", (*L. stylirostris*) reemplazó la población de *L. vannamei*, la cual en ese tiempo representaba más del 90% del camarón cultivado en México (Rosenberry, 1996). Sin embargo, el uso del "SuperShrimp" declinó en 1990-2000 después de que WSSV llegó a México y después de que emergió una cepa, aparentemente nueva, de TSV la cual resultó ser patogénica para el "SuperShrimp".

Selección para resistencia de enfermedades:

Otras instancias han estado utilizando poblaciones salvajes, o domesticadas de SPF/SPR de *L. vannamei* que muestran incremento en la resistencia a TSV y WSSV. La resistencia a TSV fue usada como un criterio para la selección y desarrollo de líneas nuevas de poblaciones domesticadas de *L. vannamei*. En experimentos de laboratorio y de campo donde el virus es enzoótico, las líneas mejoradas mostraron ventajas significativas de sobrevivencia frente a las poblaciones no seleccionadas (Carr et al. 1997; Lotz and Lightner 1999). La selección natural para la resistencia de TSV, parece estar también ocurriendo en poblaciones salvajes. En Ecuador y Honduras donde TSV ha sido enzoótico por varios años. La siembra directa de PIs salvajes en las granjas, está resultando en un aumento lento de sobrevivencia, independientemente de si el camarón presenta las señales clásicas de infección de TSV. El mismo proceso de resistencia selectiva para IHNV también parece ocurrir en algunas poblaciones salvajes de *L. stylirostris* (Lightner, 1996b).

Los esfuerzos iniciales por seleccionar y criar líneas resistentes a TSV de *L. vannamei* han incrementado y mejorado los rendimientos de cosecha y sobrevivencia del 20 al 40% (Lightner, 1996b). Algunas líneas de *L. vannamei* son altamente resistentes a TSV, logrando sobrevivencias mayores del 90% en estudios de laboratorios (White et al., 1999; Wyban 2000) y mejorando la sobrevivencia en regiones donde el virus es enzoótico (Wyban, 2000). Algunos programas que utilizan *L. vannamei* han criado sobrevivientes de epizootias de WSSV han producido a partir de ellos líneas seleccionadas F1, algunas de las cuales muestran mejor sobrevivencia que las poblaciones no seleccionadas de granjas afectadas por WSSV (Faria et al., 2000). La crianza selectiva para resistir patógenos puede proveer a la industria con poblaciones SPR mejoradas.

Otras estrategias para reducir la pérdida por enfermedades:

El policultivo del camarón con especies de peces omnívoros también se ve como una herramienta de manejo que puede ayudar a reducir el impacto del TVS en algunos países que cultivan camarón. El cultivo de tilapia con el camarón (*L. vannamei*) es parte de esta estrategia. Aparentemente, la tilapia consume los camarones débiles y los que murieron (de TVS).

Esto previene que los camarones sanos se infecten del virus por canibalismo. Con este método se reporta mejora en la productividad de camarón y se logra una cosecha adicional de peces (Green, 1997).

También, cómo una herramienta de manejo para el Síndrome de Taura, se reporta la aplicación de inmunoestimulantes en el alimento (Brock et al., 1997; Dixon y Dorado, 1997; Klesius y Shoemaker, 1997; D.Dugger, comunicación personal, Immunodyna, Inc, Brownsville, TX). Los resultados han ido desde ligeras mejoras en sobrevivencia (Klesius y Shoemaker, 1997; Dixon y Dorado, 1997) hasta tasas de sobrevivencia prácticamente iguales entre *L. vannamei* expuestos al virus y *L. vannamei* (control) no expuestos al virus (Dugger, comunicación personal).

Temas actuales de importancia de bioseguridad de TSV/WSSV

Durante el 4to congreso Latinoamericano de Acuicultura (Octubre 25-28, 2000) realizado en Panamá, fueron hechas varias presentaciones sobre los resultados de las estrategias utilizadas en siembras recientes, para controlar las pérdidas debido al WSSV. A pesar de que hubo cierto desacuerdo y variabilidad en los resultados, fueron pocas las estrategias que parecen mejorar la sobrevivencia y la producción. Algunas de éstas son las siguientes:

- Secar y arar los estanques. Lo más adecuado es cosechar toda la granja, aplicar cal, gradear, secar y arar.
- Algunos usan pesticidas (Sevin o DÍlos) para eliminar los cangrejos de estanques y canales. Otros ven esta actividad como impráctica e innecesaria.
- Filtrar el agua entrante y almacenarla en un reservorio por una semana o más.
- Llenar los estanques con agua pasada por filtros de luz de malla de (150-200 micras), asegurándose que el filtro no esté roto.
- Reducir el recambio de agua y usar solo agua filtrada para llenar los estanques.
- Sembrar PLs libres de WSSV (haga análisis de las PLs), o utilice poblaciones SPF domesticadas.
- Utilizar bajas densidades en estanques con poca aireación.
- Utilizar aireación mecánica en los estanques con altas densidades para reducir o eliminar el recambio de agua.
- Usar probióticos para mejorar el fondo del estanque y el ciclo de nutrientes.
- Añadir cal para lograr rangos aceptables de pH y una alcalinidad de >100mg/L.

Bibliografía

- Adams, J.R. and J.R. Bonami. (eds.). 1991. Atlas of Invertebrate Viruses. CRC Press. Boca Raton, FL. 684 pp.
- Arimoto, M., T. Yamazaki, Y. Mizuta and I. Furusawa. 1995. Characterization and partial cloning of the genomic DNA of a baculovirus from *Penaeus japonicus* (PjNOB = BMNV). Aquaculture 132: 213-220.
- Argue, B. and A. Alcivar-Warren. 1999. Genetics and breeding applied to the penaeid shrimp farming industry. pp. 29-53 in: R.A. Bullis and G.D. Pruder (eds). Controlled and Biosecure Production Systems. Evolution and Integration of Shrimp and Chicken Models. Proceedings of a Special Session, World Aquaculture Society. Sydney, Australia, April 27-30, 1999.
- Baticados, M.C.L. 1988. Diseases of Prawns in the Philippines. SEAFDEC Asian Aquaculture 10:1-8.
- Baticados, M.C.L., E.R. Cruz-Lacierda, M.C. de la Cruz, R.C. Duremdez-Fernandez, R.Q. Gacutan, C.R. Lavilla-Pitogo and G.D. Lio-Po. 1990. Diseases of Penaeid Shrimps in the Philippines. Aquaculture Extension Manual No. 16. Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center (SEAFDEC), Tigbauan, Iloilo, Philippines. 46 pp.
- Bell, T.A. and D.V. Lightner. 1988. A Handbook of Normal Shrimp Histology. Special Publication No. 1, World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. 114 pp.
- Boehringer Mannheim Corp. Genius™ System User's Guide for Membrane Hybridization. Version 3.0. Boehringer Mannheim Corporation, Biochemical Products, 9115 Hague Road, P.O. Box 50414, Indianapolis, IN 46250, USA. pp. 1-99.
- Boehringer Mannheim Corp. Nonradioactive *In Situ* Hybridization Application Manual. Boehringer Mannheim Corporation, Biochemical Products, 9115 Hague Road, P.O. Box 50414, Indianapolis, IN 46250, USA. pp. 1-75.
- Bonami, J.R., M. Brehelin, J. Mari, B. Trumper, and D.V. Lightner. 1990. Purification and characterization of IHNV virus of penaeid shrimps. J. Gen. Virol. 71:2657-2664.
- Bonami, J.R., D.V. Lightner, R.M. Redman and B.T. Poulos. 1992. Partial characterization of a togavirus (LOVV) associated with histopathological changes of the lymphoid organ of penaeid shrimps. Dis. Aquat. Org. 14:145-152.

- Bonami, J.R., L.D. Bruce, B.T. Poulos, J. Mari and D.V. Lightner. 1995. Partial characterization and cloning of the genome of P ν SNP ν (= BP-type virus) pathogenic for *Penaeus vannamei*. *Diseases of Aquatic Organisms* 23: 59-66.
- Bonami J.R., K.W. Hasson, J. Mari, B.T. Poulos and D.V. Lightner. 1997. Taura syndrome of marine penaeid shrimp: characterization of the viral agent. *Journal of General Virology* 78:313-319.
- Boonyaratpalin, S., K. Supamattaya, J. Kasornchandra, S. Direkbusaracom, U. Aekpanithanpong and C. Chantanachooklin. 1993. Non-occluded baculo-like virus, the causative agent of Yellow Head Disease in the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*). *Gyobyo Kenkyu (Fish Pathol.)* 28:103-109.
- Brock, J.A. 1991. An overview of diseases of cultured crustaceans in the Asia Pacific region. In: *Fish Health Management in Asia-Pacific. Report on a Regional Study and Workshop on Fish Disease and Fish Health Management*. ADB Agriculture Department Report Series No. 1. Network of Aquaculture Centres in Asia-Pacific. Bangkok, Thailand. pp. 347-395.
- Brock, J.A. 1992. Current diagnostic methods for agents and diseases of farmed marine shrimp. In: W. Fulks and K. Main (eds.) *Proceedings of the Asian Interchange Program Workshop on the Diseases of Cultured Penaeid Shrimp*. Asian Interchange Program, The Oceanic Institute, Oahu, HI. pp. 209-231.
- Brock, J.A. and B. LeaMaster. 1992. A look at the principal bacterial, fungal and parasitic diseases of farmed shrimp. In: J. Wyban (ed.). *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. pp. 212-226.
- Brock, J.A. and D.V. Lightner. 1990a. Diseases of Crustacea. Diseases caused by microorganisms. In: O. Kinne (ed.), *Diseases of Marine Animals, Vol. III*. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Germany. pp. 245-349.
- Brock, J.A. and D.V. Lightner. 1990b. Diseases of Crustacea. Diseases caused by proliferative lesions and neoplasia. In: O. Kinne (ed.), *Diseases of Marine Animals, Vol. III*. Biologische Anstalt Helgoland, Hamburg, Germany. pp. 390-400.
- Brock, J.A. and K. Main. 1994. *A Guide to the Common Problems and Diseases of Cultured Penaeus vannamei*. Published by the Oceanic Institute, Makapuu Point, P.O. Box 25280, Honolulu, HI. 241 pp.
- Brock, J.A., L.K. Nakagawa, H. Van Campen, T. Hayashi and S. Teruya. 1986. A record of *Baculovirus penaei* from *Penaeus marginatus* Randall in Hawaii. *J. Fish Dis.* 9:353-355.

- Brock, J.A., R. Gose, D.V. Lightner and K.W. Hasson. 1995. An overview on Taura Syndrome, an important disease of farmed *Penaeus vannamei*. In: C.L. Browdy and J.S. Hopkins (eds.). Swimming through troubled water. Proceedings of the special session on shrimp farming. Aquaculture '95. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. pp. 84-94.
- Brock, J.A., R.B. Gose, D.V. Lightner and K.W. Hasson. 1997. Recent developments and an overview of Taura Syndrome of farmed shrimp in the Americas. pp. 275-283 in Diseases in Asian Aquaculture III, a Proceedings from the Aquatic Animal Health Section FHS/WAS'96 Meeting, Bangkok, Thailand. Jan. 29-Feb. 2, 1996.
- Bruce, L.D., R.M. Redman, D.V. Lightner and J.R. Bonami. 1993. Application of gene probes to detect a penaeid shrimp baculovirus in fixed tissue using *in situ* hybridization. Dis. Aquat. Org. 17:215-221.
- Carr, W.H., J.M. Sweeney and J.S. Swingle. (1994). The Oceanic Institute's specific pathogen free (SPF) shrimp breeding program: preparation and infrastructure. In "U.S. Marine Shrimp Farming Program 10th Anniversary Review". Gulf Coast Research Laboratory Special Publication. Ocean Springs, Mississippi. Gulf Research Reports, No. 1, 47-54.
- Chantanachookin, C. J. Boonyaratpalin, S. Kasornchandra, U. Direkbusarakom, K. Ekpanithanpong, S. Supamataya, S. Sriurairatana and T.W. Flegel. 1993. History and ultrastructure reveal a new granulosis-like virus in *Penaeus monodon* affected by "yellow head" disease. Diseases of Aquatic Organisms 17:145-157.
- Chang P.S., C.F. Lo, G.H. Kou and S.N. Chen. 1993. Purification and amplification of DNA from *Penaeus monodon*-type baculovirus (MBV). Journal of Invertebrate Pathology 62: 116-120.
- Chen, D., P.J. Hanna, K. Altman, A. Smith, P. Moon and L.S. Hammond. 1992. Development of monoclonal antibodies that identify *Vibrio* species commonly isolated from infections of humans, fish, and shellfish. Appl. Envir. Micro. 58:3694-3700.
- Chen, S.N. and G.H. Kou. 1989. Infection of cultured cells from the lymphoid organ of *Penaeus monodon* Fabricius by monodon-type baculovirus (MBV). J. Fish Dis. 12:73-76.
- Chen, S.N., S.C. Chi, G.H. Kou and I.C. Liao. 1986. Cell culture from tissues of grass prawn, *Penaeus monodon*. Fish Pathol. 21:161-166.
- Chou, H.Y., C.Y. Huang, C.H. Wang, H.C. Chiang and C.F. Lo. 1995. Pathogenicity of a baculovirus infection causing white spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Taiwan. Diseases of Aquatic Organisms 23: 165-173.

- Couch, J.A. 1974a. Free and occluded virus similar to *Baculovirus* in hepatopancreas of pink shrimp. *Nature* 247 (5438):229-231.
- Couch, J.A. 1974b. An enzootic nuclear polyhedrosis virus of pink shrimp: ultrastructure, prevalence, and enhancement. *J. Invertebr. Pathol.* 24:311-331.
- Crane, M. and J.A.H. Benzie (editors). 1999. Proceedings of the Aquaculture CRC International Workshop on Invertebrate Cell Culture, 2-4 November 1997, University of Technology, Sydney, Australia. *Methods in Cell Science* 21(4): 171-272.
- Dixon, H. and J. Dorado. 1997. Managing Taura syndrome virus in Belize: a case study. *Aquaculture Magazine* 23(3), 30-42.
- Dorland's Medical Dictionary. 1968. 21st edition. W.B. Saunders Co.
- Durand, S., D.V. Lightner, L.M. Nunan, R.M. Redman, J. Mari and J.R. Bonami. 1996. Application of gene probes as diagnostic tool for the white spot baculovirus (WSSV) of penaeid shrimps. *Diseases of Aquatic Organisms* 27: 59-66.
- Durand, S., D.V. Lightner, R.M. Redman and J.R. Bonami. 1997. Ultrastructure and morphogenesis of white spot syndrome baculovirus (WSSV). *Diseases of Aquatic Organisms* 29: 205-211.
- Ellender, R.D., A.K. Najafabadi and B.L. Middlebrooks. 1992. Observations on the primary culture of hemocytes of *Penaeus*. *J. Crust. Biol.* 12:178-185.
- Faria, L.A., N. dos Santos, J. Castano and R. J. Chamorro. 2000. Genetic selection by tolerance to WSSV in broodstock of white shrimp, *Penaeus (Litopenaeus) vannamei*. pp. 14-15 in: Abstracts of the 4th Latin American Aquaculture Congress & Exhibition, October 25-28, 2000, Panama.
- Flegel, T.W., D.F. Fegan, S. Kongsom, S. Vuthikomudomkit, S. Sriurairtana, S. Boonyaratpalin, C. Chantanachookin, J.E. Vickers and O.D. Macdonald. 1992. In: W. Fulks and K.L. Main (eds.). *Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States*. Publ. by The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, HI. pp. 57-112.
- Flegel, T.W., S. Sriurairtana, C. Wongteerasupaya, V. Boonsaeng, S. Panyim and B. Withyachumnarnkul. 1995. Progress in characterization and control of yellow-head virus of *Penaeus monodon*. In: C.L. Browdy and J.S. Hopkins (eds.). *Swimming Through Troubled Water, Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA. pp. 76-83.

- Flegel, T.W., S. Boonyaratpalin and B. Withyachumnankul, B. 1996. Current status of research on yellow-head virus and white-spot virus in Thailand. World Aquaculture '96. Book of Abstracts. Publ. by World Aquaculture Soc., Baton Rouge, LA. pp. 126-127.
- Fraser, C.A. and L. Owens. 1996. Spawner-isolated mortality virus from Australian *Penaeus monodon*. Diseases of Aquatic Organisms 27: 141-148.
- Frelter, P.F., R.F. Sis, T.A. Bell and D.H. Lewis. 1992. Microscopic and ultrastructural studies of necrotizing hepatopancreatitis in Texas cultured shrimp (*Penaeus vannamei*). Vet. Pathol. 29:269-277.
- Frelter, P.F., J.K. Loy and B. Kruppenbach. 1993. Transmission of necrotizing hepatopancreatitis in *Penaeus vannamei*. J. Invertebr. Pathol. 61:44-48.
- Frelter, P.F., J.K. Loy, A.L. Lawrence, W.A. Bray and G.W. Brumbaugh. 1994. U.S. Marine Shrimp Farming Program 10th Anniversary Review, Gulf Coast Research Laboratory Special Publication No. 1. Ocean Springs, Mississippi: Gulf Research Reports. No. 1, pp. 55-58.
- Fulks, W. and Main, K.L. (eds.). 1992. Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States. Publ. by The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, HI. 392 pp.
- Genmoto, K., T. Nishizawa, T. Nakai and K. Muroga. 1996. 16S rRNA targeted RT-PCR for the detection of *Vibrio penaeicida*, the pathogen of cultured kuruma prawn *Penaeus japonicus*. Dis. Aquat. Org. 24:185-189.
- Green, B.W. 1997. Inclusion of tilapia as a diversification strategy for penaeid shrimp culture. pp. 85-93 in D.E. Alston, B.W. Green and H.C. Clifford (editors). Proceedings of the IV Symposium on Aquaculture in Central America: Focusing on Shrimp and Tilapia. 22-24 April 1997. Tegucigalpa, Honduras. Asociación Nacional de Acuicultores de Honduras and the Latin American Chapter of the World Aquaculture Society.
- Hasson K.W., D.V. Lightner, B.T. Poulos, R.M. Redman, B.L. White and J.A. Brock. 1995. Taura Syndrome in *Penaeus vannamei*: demonstration of a viral etiology. Dis. Aquat. Org. 23:115-126.
- Hose, J.E., D.V. Lightner, R.M. Redman and D.A. Danald. 1984. Observations on the pathogenesis of the imperfect fungus, *Fusarium solani*, in the California brown shrimp, *Penaeus californiensis*. J. Invertebr. Pathol. 44:292-303.
- Holthuis, L.B. 1950. FAO Species Catalog. Vol. 1 - Shrimp and Prawns of the World. FAO Fisheries Synopsis No. 125, FAO, Rome. 271 p.

- Huang, J., J. Yu, X.L. Song, J. Kong and C.H. Yang. 1995a. Studies on fine structure, nucleic acid, polypeptide and serology of hypodermal and hematopoietic necrosis baculovirus of penaeid shrimp. *Mar. Fish. Res.* 16:11-23.
- Huang, J., X.L. Song, J. Yu, and C.H. Yang. 1995b. Baculoviral hypodermal and hematopoietic necrosis - study on the pathogen and pathology of the shrimp explosive epidemic disease of shrimp. *Marine Fisheries Research* 16(1):1-10.
- Kasornchandra, J., S. Boonyaratpalin and T. Itami. 1998. Detection of white-spot syndrome in cultured penaeid shrimp in Asia: microscopic observation and polymerase chain reaction. *Aquaculture* 164: 243-251.
- Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky and T.J. White. (eds.). 1990. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, Inc. Berkeley, CA, 425 pp.
- Itami, T., Y. Aoki, K.I. Hayashi, Y. Yu and Y. Takahashi. 1989. *In vitro* maintenance of cells of lymphoid organ in Kuruma shrimp *Penaeus japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 55:2205.
- Johnson, S.K. 1990. Handbook of Shrimp Diseases, Sea Grant Publ. No. TAMU-SG-90-601, Texas A&M Univ., College Station, TX. 25 pp.
- Johnson, S.K. 1995. Handbook of Shrimp Diseases, Sea Grant Publ. No. TAMU-SG-95-601(r), Texas A&M Univ., College Station, TX. 25 pp.
- Johnson, P.T. and D.V. Lightner. 1988. The rod-shaped nuclear viruses of crustaceans: gut-infecting species. *Diseases of Aquatic Organisms* 4: 123-141.
- Johnson, S.K. and D. Cassout. 1995. Electron microscopic examination of negatively stained samples for diagnosis of virus diseases of shrimp. *World Aquaculture* 26:37.
- Kimura, T., K. Yamano, H. Nakano, K. Momoyama, M. Hiraoka and K. Inouye. 1996. Detection of penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV) by PCR. *Fish Pathology* 31:93-98.
- Klesius, P. and C. Shoemaker (1997): Enhancement of disease resistance in shrimp: a review. pp. 31-35 in D.E. Alston, B.W. Green, and H.C. Clifford (editors), *Proceedings of the IV Symposium on Aquaculture in Central America: Focusing on Shrimp and Tilapia*. 22-24 April 1997. Tegucigalpa, Honduras. Asociación Nacional de Acuicultores de Honduras and the Latin American Chapter of the World Aquaculture Society.
- Kroil, R.M., W.E. Hawkins and R.M. Overstreet. 1991. Rickettsial and mollicute infections in hepatopancreatic cells of cultured Pacific white shrimp (*Penaeus vannamei*). *J. Invertebr. Pathol.* 57:362-370.

- Lewis, D.H. 1986. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting penaeid baculovirus. *J. Fish Dis.* 9:519-522.
- Lightner, D.V. 1988. Diseases of cultured penaeid shrimp and prawns. In: C.J. Sindermann and D.V. Lightner. (eds.). *Disease Diagnosis and Control in North American Marine Aquaculture*. Elsevier, Amsterdam, pp. 8-127.
- Lightner, D.V. 1992. Shrimp viruses: diagnosis, distribution and management. In: J. Wyban (ed.). *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming*. World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA. pp. 238-253.
- Lightner, D.V. 1993a. Diseases of penaeid shrimp. In: J.P. McVey (ed.). *CRC Handbook of Mariculture: Crustacean Aquaculture*. Second Edition. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 393-486.
- Lightner, D.V. 1993b. Non-infectious diseases of Crustacea with an emphasis on cultured penaeid shrimp. In: J.A. Couch and J.W. Fournie (eds.). *Advances in Fisheries Science: Pathobiology of Marine and Estuarine Organisms*, CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 343-358.
- Lightner, D.V. (ed.). 1996. *A Handbook of Shrimp Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Cultured Penaeid Shrimp*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. ~305 pp.
- Lightner, D.V. 1999a. The penaeid shrimp viruses TSV, IHNV, WSSV, and YHV: current status in the Americas, available diagnostic methods and management strategies. *Journal of Applied Aquaculture* 9:27-52.
- Lightner, D.V. 1999b. DNA-based diagnostic and detection methods for penaeid shrimp viral diseases. pp. 38-44 in: P. Walker and R. Subasinghe (editors). *DNA-based Molecular Diagnostic Techniques*. Report and Proceedings of the Expert Workshop on DNA-based Molecular Diagnostic Techniques: Research Needs for Standardization and Validation of the Detection of Aquatic Animal Pathogens and Diseases, Bangkok, Thailand, 7-9 February 1999. FAO, Rome.
- Lightner, D.V. and R.M. Redman. 1985. A parvo-like virus disease of penaeid shrimp. *J. Invertebr. Pathol.* 45:47-53.
- Lightner, D.V. and R.M. Redman. 1991. Hosts, geographic range and diagnostic procedures for the penaeid virus diseases of concern to shrimp culturists in the Americas. In: P. DeLoach, W.J. Dougherty and M.A. Davidson (eds.). *Frontiers of Shrimp Research*, Elsevier, Amsterdam, pp. 173-196.

- Lightner, D.V. and R.M. Redman. 1992. Penaeid virus diseases of the shrimp culture industry of the Americas. Chapter 26. In: A.W. Fast and L.J. Lester (eds.). Culture of Marine Shrimp: Principles and Practices. Elsevier, Amsterdam, pp. 569-588.
- Lightner, D.V. and R.M. Redman. 1993. A putative iridovirus from the penaeid shrimp *Protrachypene precipua* Burkenroad (Crustacea: Decapoda). J. Invertebr. Pathol. 62:107-109.
- Lightner, D.V. and R.M. Redman. 1998. Shrimp diseases and current diagnostic methods. Aquaculture. 164: 201-220.
- Lightner, D.V., R.M. Redman and T.A. Bell. 1983a. Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis (IHHN), a newly recognized virus disease of penaeid shrimp. J. Invertebr. Pathol. 42:62-70.
- Lightner, D.V., R.M. Redman, T.A. Bell and J.A. Brock. 1983b. Detection of IHHN virus in *Penaeus stylirostris* and *P. vannamei* imported into Hawaii. J. World Maricult. Soc. 14:212-225.
- Lightner, D.V., R.M. Redman and Bell, T.A. 1983c. Observations on the geographic distribution, pathogenesis and morphology of the baculovirus from *Penaeus monodon* Fabricius. Aquaculture 32:209-233.
- Lightner, D.V., T.A. Bell, R.M. Redman, L.L. Mohny, J.M. Natividad, A. Rukyani and A. Poernomo. 1992a. A review of some major diseases of economic significance in penaeid prawns/shrimps of the Americas and Indopacific. In: Diseases in Asian Aquaculture I. M. Shariff, R.P. Subasinghe and J.R. Arthur (eds.). Fish Health Section, Asian Fisheries Society, Manila, Philippines. pp 57-80.
- Lightner, D.V., R.R. Williams, T.A. Bell, R.M. Redman and L.A. Perez. 1992b. A collection of case histories documenting the introduction and spread of the virus disease IHHN in penaeid shrimp culture facilities in northwestern Mexico. ICES Mar. Sci. Symp. 194:97-105.
- Lightner, D.V., B.T. Poulos, R.M. Redman, J. Mari and J.R. Bonami. 1992c. New developments in penaeid virology: Application of biotechnology in research and disease diagnosis for shrimp viruses of concern in the Americas. In: W. Fulks and K. Main (eds.). Proceedings of the Asian Interchange Program Workshop on the Diseases of Cultured Penaeid Shrimp. Asian Interchange Program, The Oceanic Institute, Oahu, HI. pp. 233-253.
- Lightner, D.V., R.M. Redman and J.R. Bonami. 1992d. Morphological evidence for a single bacterial etiology in Texas necrotizing hepatopancreatitis in *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). Diseases of Aquatic Organisms 13: 235-239.

- Lightner, D.V., B.T. Poulos, L. Bruce, R.M. Redman, L. Nunan, C. Pantoja, J. Mari and J.R. Bonami. 1994. Development and application of genomic probes for use as diagnostic and research reagents for the penaeid shrimp parvoviruses IHNV and HPV, and the baculoviruses MBV and BP. U.S. Marine Shrimp Farming Program 10th Anniversary Review, Gulf Coast Research Laboratory Special Publication. Ocean Springs, Mississippi. Gulf Research Reports. No. 1. pp. 59-85.
- Lightner, D.V., R.M. Redman, K.W. Hasson and C.R. Pantoja. 1995. Taura syndrome in *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda): gross signs, histopathology and ultra structure. *Diseases of Aquatic Organisms* 21: 53-59.
- Lightner, D.V., K.W. Hasson, B.L. White and R.M. Redman. 1996. Chronic toxicity and histopathological studies with BenlateTM, a commercial grade of benomyl, in *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda) *Aquat. Tox.* 34:105-118.
- Limsuwan, C. 1993. Diseases of black tiger shrimp *Penaeus monodon* Fabricius in Thailand. In: D.M. Akiyama (ed.), *Techn. Bull., Amer. Soybean Assoc., M.I.T.A.(P) No. 518/12/92, Vol. AQ39*, Singapore.
- Liu, C.I. 1989. Shrimp disease, prevention and treatment. In: D.M Akiyama (ed.). *Proc. Southeast Asia Shrimp Farm Management Workshop. American Soybean Assoc., Singapore. pp. 64-74.*
- Lo, C.F., J.H. Leu, C.H. Chen, S.E. Peng, Y.T. Chen, C.M. Chou, P.Y. Yeh, C.J. Huang, H.Y. Chou, C.H. Wang and G.H. Kou. 1996. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. *Diseases of Aquatic Organisms* 25: 133-141.
- Lo, C.F., C.H. Ho, S.E. Peng, C.H. Chen, H.C. Hsu, Y.L. Chiu, C.F. Chang, K.F. Liu, M.S. Su, C.H. Wang and G.H. Kou. 1997. White spot syndrome baculovirus (WSBV) detected in cultured and captured shrimp, crabs and other arthropods. *Diseases of Aquatic Organisms* 27: 215-225.
- Lo, C.F., H.C. Hsu, M.F. Tsai, C.H. Ho, S.E. Peng, G.H. Kou and D.V. Lightner. 1999. Specific genomic DNA fragment analysis of different geographical clinical samples of shrimp white spot syndrome associated virus. *Diseases of Aquatic Organisms* 35: 175-185.
- Lotz, J.M., C.L. Browdy, W.H. Carr, P.F. Frelief and D.V. Lightner. 1995. USMSFP suggested procedures and guidelines for assuring the specific pathogen status of shrimp brood stock and seed. In "Swimming Through Troubled Water" (ed. by C.L. Browdy and J.S. Hopkins). *Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95. World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA. pp. 66-75.*

- Lotz, J.M. and D.V. Lightner. 1999. Shrimp biosecurity: pathogens and pathogen exclusion. pp. 67-74 in: R.A. Bullis and G.D. Pruder (editors) Controlled and Biosecure Production Systems. Evolution and Integration of Shrimp and Chicken Models. Proceedings of a Special Session, World Aquaculture Society. Sydney, Australia, April 27-30, 1999.
- Loy, J.K. and Frelier, P.F., 1996a. Specific, nonradioactive detection of the NHP bacterium in *Penaeus vannamei* by *in situ* hybridization. J. Vet. Diagn. Invest. 8:324-331.
- Loy, J.K., P.F. Frelier, P. Varner and J.W. Templeton. 1996b. Detection of the etiologic agent of necrotizing hepatopancreatitis in cultured *Penaeus vannamei* from Texas and Peru by polymerase chain reaction. Dis. Aquat. Org. 25:117-122.
- Lu, Y. and P.C. Loh. 1994. Viral structural proteins and genome analyses of the rhabdovirus of penaeid shrimp (RPS). Diseases of Aquatic Organisms 19: 187-192.
- Lu, Y., L.M. Tapay, P.C. Loh and J.A. Brock. 1995a. Infection of the yellow head baculo-like virus in two species of penaeid shrimp, *P. stylirostris* and *P. vannamei*. J. Fish Dis. 17:649-656.
- Lu, Y., L.M. Tapay, P.C. Loh, J.A. Brock and R.B. Gose. 1995b. Distribution of yellow-head virus in selected tissues and organs of penaeid shrimp *Penaeus vannamei*. Dis. Aquat. Org. 23:67-70.
- Lu, Y., L.M. Tapay and P.C. Loh. 1996. Development of a nitrocellulose-enzyme immunoassay for the detection of yellow-head virus from penaeid shrimp. Journal of Fish Diseases 19: 9-13.
- Luedeman, R.A. and D.V. Lightner. 1992. Development of an *in vitro* primary cell culture system from the penaeid shrimp, *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei*. Aquaculture 101:205-211.
- Mailhe, E., V. Boulo, E. Bachere, D. Hervio, K. Cousin, D. Noel, T. Noel, M. Ohresser, R.M. le Deuff, B. Desperes and S. Gendreau. 1992. Development of new methodologies for diagnosis of infectious diseases in mollusc and shrimp aquaculture. Aquaculture 107:155-164.
- Maramorosch, K. and J. Mitsuhashi (eds.), 1982. Invertebrate Cell Culture Applications. Academic Press, New York. 245 pp.
- Mari, J., J.R. Bonami and D.V. Lightner. 1993a. 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. J. Gen. Virol. 74:2637-2643.

- Mari, J., J.R. Bonami, B. Poulos and D.V. Lightner. 1993b. Preliminary characterization and partial cloning of the genome of a baculovirus from *Penaeus monodon* (PmSNPV = MBV). *Diseases of Aquatic Organisms* 16: 207-215.
- Mari, J., D.V. Lightner, B.T. Poulos and J.R. Bonami. 1995. Partial cloning of an unusual shrimp parvovirus (HPV): use of gene probes in disease diagnosis. *Dis. Aquat. Org.* 22:129-134.
- Mari, J., J.R. Bonami and D.V. Lightner. 1998. Taura syndrome of Penaeid shrimp: cloning of viral genome fragments and development of specific gene probes. *Diseases of Aquatic Organisms* 33: 11-17.
- Momoyama, K. 1988. Infection source of baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) in mass production of Kuruma shrimp larvae, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol.* 23, 105-110.
- Momoyama, K. 1989. Virucidal effect of some disinfectants on baculoviral mid-gut gland necrosis virus (BMN) *Fish Pathol.* 24, 47-49.
- Momoyama, K. 1989b. Tolerance of baculoviral mid-gut gland necrosis virus (BMNV) to ether, NaCl concentration and pH. *Fish Pathol.* 24, 175-177.
- Momoyama, K. 1989c. Survival of baculoviral mid-gut gland necrosis virus (BMNV) in infected tissues and sea water. *Fish Pathol.* 24, 179 -181.
- Momoyama, K. 1989d. Inactivation of baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) virus by ultraviolet irradiation, sunlight exposure, heating and drying. *Fish Pathol.* 24, 115-118.
- Momoyama, K. and T. Sano. 1989. Developmental stages of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* Bate, susceptible to baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) virus. *J. Fish Dis.* 12, 585-589.
- Momoyama, K., M. Hiraoka, K. Inouye, T. Kimura and H. Nakano. 1995. Diagnostic techniques of the rod-shaped nuclear virus infection in the Kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Fish Pathol.* 30:263-269.
- Nadala, E.C.B., Y. Lu, P.C. Loh and J.A. Brock. 1992. Infection of *Penaeus stylirostris* (Boone) with a rhabdovirus from *Penaeus* spp. *Gyobyu Kenkyu (Fish Pathol.)* 27:143-147.
- Nalda, E.C.B. Jr., and P.C. Loh. 2000. Dot-blot nitrocellulose enzyme immunoassays for the detection of white-spot and yellow-head virus of penaeid shrimp. *Journal of Virological Methods* 84: 175-179.

- Nunan, L. M. and D.V. Lightner. 1997. Development of a non-radioactive gene probe by PCR for detection of white spot baculovirus (WSBV). *Journal of Virological Methods* 63: 193-201.
- Nunan, L.M., B.T. Poulos and D.V. Lightner. 1998. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) used for the detection of Taura Syndrome Virus (TSV) in experimentally infected shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms* 34: 87-91.
- Nunan, L.M., B.T. Poulos and D.V. Lightner. 2000. Use of polymerase chain reaction for the detection of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus in penaeid shrimp. *Marine Biotechnology* 2: 319-328.
- Overstreet, R.M. 1994. BP (*Baculovirus penaei*) in penaeid shrimps: Development and application of genomic probes for use as diagnostic and research reagents for the penaeid shrimp parvoviruses IHNV and HPV, and the baculoviruses MBV and BP. In "U.S. Marine Shrimp Farming Program 10th Anniversary Review", Gulf Coast Research Laboratory Special Publication. Ocean Springs, Mississippi. Gulf Research Reports, No. 1, 97-106.
- Overstreet, R.M., K.C. Stuck, R.A. Krol and W.E. Hawkins, 1988. Experimental infections with *Baculovirus penaei* in the white shrimp *Penaeus vannamei* as a bioassay. *J. World Aquacult. Soc.* 19:175-187.
- Owens, L. 1993. Description of the first haemocytic rod-shaped virus from a penaeid prawn. *Diseases of Aquatic Organisms* 16: 217-221.
- Owens, L., S. De Beer and J. Smith. 1991. Lymphoidal parvovirus-like particles in Australian penaeid prawns. *Dis. Aquat. Org.* 11:129-134.
- Pasharawipas, T. and T.W. Flegel. 1994. A specific DNA probe to identify the intermediate host of a common microsporidian parasite of *Penaeus merguensis* and *P. monodon*. *Asian Fish. Sci.* 7:157-167.
- Pasharawipas, T., T.W. Flegel, S. Chaiyaroj, S. Mongkolsuk and S. Sirisinha. 1994. Comparison of amplified RNA gene sequences from microsporidian parasites (Agmasoma or Thelohania) in *Penaeus merguensis* and *P. monodon*. *Asian Fish. Sci.* 7:169-178.
- Perkin Elmer. 1992. DNA Thermal Cycler 480 User's Manual. The Perkin Elmer Corp. Norwalk, CT.
- Pruder G.D., C.L. Brown, J.N. Sweeney and W.H. Carr. 1995. High health shrimp systems: seed supply - theory and practice. In "Swimming Through Troubled Water, Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95" (ed. by C.L. Browdy and J.S. Hopkins), World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA, pp. 40-52.

- Poulos, B.T., D.V. Lightner, B. Trumper and J.R. Bonami. 1994a. Monoclonal antibodies to the penaeid shrimp parvovirus, infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV). *J. Aquat. An. Health* 6:149-154.
- Poulos, B.T., J. Mari, J.R. Bonami, R. Redman and D.V. Lightner. 1994b. Use of non-radioactively labeled DNA probes for the detection of a baculovirus from *Penaeus monodon* by *in situ* hybridization on fixed tissue. *J. Virol. Meth.* 49:187-194.
- Poulos, B.T., R. Kibler, D. Bradley-Dunlop, L.L. Mohny and D.V. Lightner. 1999. Production and use of antibodies for the detection of the Taura syndrome virus in penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms* 37: 99-106.
- Poulos, B.T., D. Bradley-Dunlop and D.V. Lightner. Submitted. Production and use of antibodies for the detection of the white spot syndrome virus in penaeid shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*.
- Reddington, J. and D. Lightner, 1994. Diagnostics and their application to aquaculture. *World Aquacult.* 25:41-48.
- Rosenberry, B. (editor). 1996. *World shrimp farming 1996*. Published by Shrimp News International, San Diego, CA. 164 p.
- Rosenthal, J. and A. Diamant. 1990. *In vitro* primary cell cultures from *Penaeus semisulcatus*. In: F.O. Perkins and T.C. Cheng (eds.) *Pathology in Marine Science*. Academic Press, New York, pp. 7-13.
- Sano, T., T. Nishimura, K. Oguma, K. Momoyama and N. Takeno. 1981. Baculovirus infection of cultured Kuruma shrimp, *Penaeus japonicus* in Japan. *Fish Pathol.* 15:185-191.
- Sano, T., T. Nishimura, H. Fukuda and T. Hayashida. 1984. Baculoviral mid-gut gland necrosis (BMN) of Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*) larvae in intensive culture systems. *Helgoländer Meeresunters* 37:255-264.
- Sindermann, C.J. 1990. *Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish*. Volume 2, Second Edition. Academic Press, NY, USA, 516 p.
- Song, Y.L., S.P. Lee, Y.T. Lin and C.T. Chen. 1992. Enzyme immunoassay for shrimp vibriosis. *Dis. Aquat. Org.* 14:43-50.
- Spann, K.M., J.E. Vickers and R.J.G. Lester. 1995. Lymphoid organ virus of *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms* 26: 127-134.
- Spann, K.M., J.A. Cowley, P.J. Walker and R.J.G. Lester. 1997. A yellow-head-like virus from *Penaeus monodon* cultured in Australia. *Diseases of Aquatic Organisms* 31: 169-179.

- Stewart, J.E. 1993. Infectious diseases of marine crustaceans. In: J.A. Couch and J.W. Fournie (eds.) *Advances in Fisheries Science: Pathobiology of Marine and Estuarine Organisms*. CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 319-342.
- Stewart, J.E. and H. Rabin. 1970. Gaffkemia, a bacterial disease of lobsters (*Genus Homarus*). In: S.F. Snieszko (ed.) *A Symposium on Diseases of Fishes and Shellfishes*. Special Pub. No. 5. American Fisheries Society. Washington, D.C. pp. 431-439.
- Stewart, J.E., B. Arie, B.M. Zwicker and J.R. Dingle. 1969. Gaffkemia, a bacterial disease of the lobster, *Homarus americanus*: effects of the pathogen, *Gaffkya homari*, on the physiology of the host. *Can. J. Microbiol.* 15:925-932.
- Takahashi, Y., T. Itami, M. Kondo, M. Maeda, R. Fujii, S. Tomonaga, K. Supamattaya and S. Boonyaratpalin. 1994. Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Fish Pathology* 29: 121-125.
- Takahashi, Y., T. Itami, M. Maeda, N. Suzuki, J. Kasornchandra, K. Supamattaya, R. Khongpradit, S. Boonyaratpalin, M. Kondo, K. Kawai, I. Hirono and T. Aoki. 1996. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of bacilliform virus (PV-PJ) DNA in *Penaeus japonicus* Bate and systemic ectodermal and mesodermal baculovirus (SEMBV) DNA in *Penaeus monodon* Fabricius. *Journal of Fish Disease* 19: 399-403.
- Tang, K.F.J. and D.V. Lightner. 1999. A yellow-head virus gene probe: application to in situ hybridization and determination of its nucleotide sequence. *Diseases of Aquatic Organisms* 35: 165-173.
- Tsing, A. and Bonami, J.R. 1987. A new virus disease of the tiger shrimp *Penaeus japonicus* Bate. *J. Fish Diseases* 10: 139-141.
- Takahashi, Y., T. Itami, M. Kondo, M. Maeda, R. Fujii, S. Tomonaga, K. Supamattaya and Boonyaratpalin. 1994. Electron microscopic evidence of bacilliform virus infection in Kuruma shrimp (*Penaeus japonicus*). *Fish Pathol.* 29:121-125.
- Tapay, L.M., Y. Lu, R.B. Gose, E.C.B. Nadala, J.A. Brock and P.C. Loh. 1996a. Development of an *in vitro* quantal assay in primary cell cultures for a baculo-like virus of penaeid shrimp. In: *Book of Abstracts, Second International Conference on the Culture of Penaeid Prawns and Shrimps*. SEAFDEC/AQD, Iloilo City, Philippines. 1-17 May 1996. p. 53.
- Tapay, L.M., Y. Lu, J.A. Brock and P.C. Loh. 1996b. Distribution and incidence of rhabdovirus of penaeid shrimp (RPS) in Hawaiian farms. In: *Book of Abstracts, Second International Conference on the Culture of Penaeid Prawns and Shrimps*, SEAFDEC/AQD, Iloilo City, Philippines. 1-17 May 1996. p. 52.

- Thoesen, J.C. (ed.). 1994. Blue Book. Suggested Procedures for the Detection and Identification of Certain Finfish and Shellfish Pathogens. 4th ed., Version 1. Fish Health Sect., Am. Fish. Soc. Bethesda, MD. ~250 pp.
- Tsing, A. and Bonami, J.R. 1987. A new virus disease of the tiger shrimp *Penaeus japonicus* Bate. *Journal of Fish Diseases* 10: 139-141.
- Vago, C. (ed.). 1971. *Invertebrate Tissue Culture*. Academic Press, New York. 360 pp.
- van Hulten, M.C., M. Westenberg, S.D. Goodall and J.M. Vlaskovits. 2000. Identification of two major virion protein genes of white spot syndrome virus of shrimp. *Virology* 266: 227-236.
- Walker, P. and R. Subasinghe (editors). 1999. DNA-based Molecular Diagnostic Techniques. Report and Proceedings of the Expert Workshop on DNA-based Molecular Diagnostic Techniques: Research Needs for Standardization and Validation of the Detection of Aquatic Animal Pathogens and Diseases, Bangkok, Thailand. 7-9 February 1999. FAO, Rome. 93 p.
- Wang, C.H., C.F. Lo, J.H. Leu, C.M. Chou, P.Y. Yeh, H.Y. Chou, M.C. Tung, C.F. Chang, M.S. Su and G.H. Kou. 1995. Purification and genomic analysis of baculovirus associated with white spot syndrome (WSBV) of *Penaeus monodon*. *Diseases of Aquatic Organisms* 23: 239-242.
- Wang, S.Y., C. Hong and J.M. Lotz. 1996. Development of a PCR procedure for the detection of *Baculovirus penaei* in shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms* 25: 123-131.
- Wang, Y.C., C.F. Lo, P.S. Chang and G.H. Kou. 1998. White spot syndrome associated virus (WSSV) infection in cultured and wild decapods in Taiwan. *Aquaculture* 164: 221-231.
- Weppe M., AQUACOP, J.R. Bonami and D.V. Lightner. 1992. Demostracion de las altas cualidades de la cepa de *P. stylirostris* (AQUACOP SRP 43) resistente al virus IHHN. pp. 229-232 in J. Calderon and L. Shartz (editors). *Proceedings of the Primer Congreso Ecuatoriano de Acuicultura*. October 19-23, 1992, Guayaquil, Ecuador.
- White, B.L., D.V. Lightner, P.J. Schofield and B.T. Poulos. 2000. A Laboratory Challenge Method for Estimating TSV Resistance in Selected Lines of *Penaeus vannamei*. pp. 360-361 in: *Book of Abstracts. Aquaculture America*, February 2-5, 2000, New Orleans, LA.
- Wongteerasupaya, C. J.E. Vickers, S. Sriurairatana, G.L. Nash, A. Akarajamorn, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul and T.W. Flegel. 1995a. A non-occluded, systemic baculovirus that occurs in cells of ectodermal and

- mesodermal origin and causes high mortality in the black tiger prawn, *Penaeus monodon*. Diseases of Aquatic Organisms 21: 69-77.
- Wongteerasupaya, C., S. Sriurairatana, J.E. Vickers, A. Anutara, V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul and T.W. Flegel. 1995b. Yellow-head virus of *P. monodon* is an RNA virus. Diseases of Aquatic Organisms 22: 45-50.
- Wongteerasupaya, C., V. Boonsaeng, S. Panyim, A. Tassanakajon, B. Withyachumnarnkul and T.W. Flegel. 1997. Detection of yellow-head virus (YHV) of *Penaeus monodon* by RT-PCR amplification. Diseases of Aquatic Organisms 31: 181-186.
- Wyban J.A. 1992. Selective breeding of specific pathogen-free (SPF) shrimp for high health and increased growth. In "Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States" (ed. by W. Fulks and K. Main). Publ. by The Oceanic Institute, Makapuu Point, Honolulu, HI, USA, pp.257-268.
- Wyban J.A., J. Swingle, J.N. Sweeney and G.D. Pruder. 1992. Development and commercial performance of high health shrimp from SPF broodstock *Penaeus vannamei*. In "Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming" (ed. by J. Wyban). World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. pp. 254-260.
- Wyban, J. and J. Skidmore. 2000. Breeding shrimp for Taura resistance: inbreeding vs. out-crossing. pp 52-53 in: Abstracts of the 4th Latin American Aquaculture Congress & Exhibition, October 25-28, 2000, Panama.
- Zavala, G. 1999. Biosecurity in the poultry industry. pp. 75-78 in: R.A. Bullis and G.D. Pruder (editors) Controlled and Biosecure Production Systems. Evolution and Integration of Shrimp and Chicken Models. Proceedings of a Special Session, World Aquaculture Society, Sydney, Australia. April 27-30, 1999.

Tabla 1
Enfermedades más importantes de los camarones peneidos del Este de Asia y en la región Indo pacífica.

Enfermedades Virales	Bacterianas y Micóticas	Otras enfermedades
Virus del Síndrome de la mancha blanca	Vibriosis	Epicomensales
Virus del grupo cabeza amarilla	- necrosis séptica del HP	- Leucothrix mucor
Grupo de MBV	- vibriosis en laboratorios	- protozoos peritricos
IHHNV	- vibrio luminiscente	Gregarinas
Grupo HPV	Rickettsia	Microsporidios
Grupo REO	Micosis Larval	Desajustes nutricionales
	Fusariosis	Síndromes Tóxicos
		Síndromes Ambientales

Tabla 2		
Enfermedades mas importantes de los camarones peneidos americanos.		
Enfermedades Virales	Bacterianas y Micóticas	Otras enfermedades
Virus del Síndrome de Mancha Blanca	Vibriosis	Epicomensales
	- "Síndrome de la Gaviota"	- Leucothrix mucor
Virus del Síndrome de Taura	- Vibriosis de laboratorio	- protozoos peritricos
IHHNV	- Vibrio luminiscente	Gregarinas
Grupo BP	- enfermedad de la concha	Microsporidios
HPV	Bacteria NHP	Desajustes nutricionales
REO III?	Micosis larval	Síndromes Tóxicos
LOVV?	Fusariosis	Síndromes ambientales
RPS?		Síndrome Zoea II
Virus Cabeza Amarilla?		

Tabla 3.
Métodos disponibles para la detección y diagnóstico de patógenos y enfermedades de camarón.

METODO	PRUEBA Y DATOS OBTENIDOS
Historia	Historia de la enfermedad en las instalaciones o en la región, diseño de las instalaciones, fuente de postlarvas (ej. silvestre o domesticada, libre de patógenos específicos, SPF, o resistente, SPR), tipo de alimento utilizado, condiciones ambientales, etc.
Signos macroscópicos	Lesiones visibles, comportamiento, crecimiento anormal, eficiencia en la conversión de alimento.
Microscopía directa	Exámen microscópico de campo oscuro, contraste de fases o de campo brillante de tejido teñido o no teñido, estriado, montajes enteros, montajes húmedos, etc., de especímenes anormales o enfermos.
Histopatología	Análisis de rutina histológico o histoquímico (con tinciones especiales) de secciones de tejidos.
Microscopia Electrónica	Exámen ultraestructural de secciones de tejido, preparación de tejidos teñidos negativamente, o muestras de superficie.
Identificación bioquímica y de cultivo	Cultivo de rutina y aislamiento de bacterias segregadas en medios artificiales y su identificación usando reacciones bioquímicas sobre substratos únicos.
Mejoramiento	Muestras de crianza de los estadios de vida del camarón bajo condiciones controladas, estresantes para hacer surgir la expresión latente o infecciones de bajo grado.
Bioensayos	Exposición de camarones indicadores susceptibles a vectores sospechosos de agentes patogénicos.
Metodos basados en Anticuerpos	Uso de anticuerpos específicos como reactivos de diagnóstico en inmunoblot, inmunohistoquímica, aglutinación, IFAT, ELISA, u otras pruebas.
Hematología y Química Clínica	Determinación de conteo diferencial de hemocitos, tiempo de coagulación de la hemolinfa, glucosa, ácido láctico, ácidos grasos, ciertas enzimas, etc.
Toxicología/ Análisis	Detección de tóxicos por análisis y verificación de toxicidad por bioensayos.
Sondas ADN	Detección de porciones únicas del ácido nucléico de patógenos usando una sonda etiquetada con ADN.
PCR/RT-PCR	Amplificación de secciones únicas del genoma de patógenos a concentraciones fácilmente detectables usando pares de primers específicos.
Cultivo de Tejidos	Cultivo in vitro de patógenos de camarón en sistemas de cultivo de tejidos o en cultivos de células primarias extraídas de camarones.

Tabla 4	
Virus de los camarones peneidos (a Diciembre del 2000; modificado de Lightner 1996, 2000; Lightner y Redman 1998).	
Grupo familiar/ Acrónimo/Nombre completo	Referencias clave
<p>Parvovirus (Parvoviridae)</p> <p>IHHNV Virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética</p> <p>HPV Parvovirus hepatopancreático</p> <p>SMV Virus de la mortalidad desovador-aislado</p> <p>LPV Virus similar al parvovirus linfoidal</p>	<p>Lightner et al. 1983a,b Bonami et al. 1990 Lightner & Redman 1985 Fraser & Owens 1996 Owens et al. 1991</p>
<p>Baculovirus y virus similares a los baculovirus</p> <p>Tipo-B = Virus del tipo del Baculovirus penaei (especies del tipo PvSNPV)</p> <p>Líneas de BP del golfo de México, Hawai y el Pacifico Este</p> <p>Tipo - MBV = Bculovirus del tipo Penaeus monodón (especies del tipo PmSNPV)</p> <p>Líneas MBV del este y sudeste Asiático y la región Indo-Pacifica</p> <p>Tipo- BMN = Virus del tipo Baculovirus necrotico de tracto intestinal medio</p> <p>BMN = de <i>P. Japonicus</i> en Japón</p> <p>TCBV = Baculovirus del tipo C de <i>P. monodon</i></p> <p>PHRV = Virus hemocítico-infeccioso no ocluido similar al Baculovirus</p>	<p>Couch 1974a, 1974b Bonami et al. 1995 Brock et al. 1986 Lightner et al. 1983c Wang et al. 1996 Momoyama & Sano 1996 Arimoto et al. 1995 Mari et al. 1993 Chang et al. 1993 Owens 1993</p>

<p>VIRUS DEL SÍNDROME DE LA MANCHA BLANCA (Nimaviridae)</p> <p>SEMBV Virus sistémico ectodermico y mesodermico similar al Baculovirus</p> <p>RV-PJ Virus con forma de bastón de <i>P. japonicus</i></p> <p>PAV Virus de la viremia aguda de los peneidos</p> <p>HHNB Virus necrótico hipodérmico y hematopoyético similar al Baculovirus; agente de "SEEDS" (enfermedad epidémica explosiva del camarón)</p> <p>WSBV Virus de la mancha blanca similar al baculovirus</p> <p>PRDV Virus DNA de forma de bastón de los peneidos</p> <p>WSSV Virus del síndrome de la mancha blanca</p> <p>WSV Virus mancha blanca</p>	<p>Wongteerasupaya et al. 1995a Takahashi et al. 1994, 1996 Huang et al. 1995 Wang et al. 1995, 1998 Lo et al. 1996, 1997, 1999 Durand et al. 1996, 1997 Chou et al. 1995 Kimura et al. 1996 Kasornchandra et al. 1998 van Hulten et al. 2000</p>
<p>IRIDOVIRUS: IRIDO = Iridovirus del camarón</p>	<p>Lightner and Redman 1993</p>

VIRUS RNA	
<p>PICORNAVIRUS (Picornaviridae):</p> <p>TSV Virus del síndrome de Taura</p>	<p>Lightner et al. 1995 Brock et al. 1995, 1997 Hasson et al. 1995 Bonami et al. 1997 Mari et al. 1998 Nunan et al. 1998</p>
<p>REOVIRUSES:</p> <p>REO-III & IV Virus similar al REO del tipo II y IV</p>	<p>Tsing & Bonami 1987 Adams & Bonami 1991</p>
<p>VIRUS SIMILAR AL TOGA</p> <p>Virus de vacuolización del órgano linfoide</p>	<p>Bonami et al. 1992 Lightner 1996</p>
<p>RHABDOVIRUS:</p> <p>Rabdo Virus de los camarones peneidos</p>	<p>Nadala et al. 1992 Lu & Loh 1994</p>
<p>GRUPO DE VIRUS CABEZA AMARILLA</p> <p>YHV/"YBV" Virus de cabeza amarilla de P. monodón</p> <p>GAV Virus asociados a las branquias de P. monodón</p> <p>LOV Virus del órgano linfoide de P. monodon</p>	<p>Chantanachookin et al. 1993 Boonyaratpalin et al. 1993 Wongteerasupaya et al. 95b, 97 Tang & Lightner 1999 Flegel et al. 1995 Spann et al. 1995, 97</p>

Tabla 5. Enfermedades de los camarones peneidos notificables y listadas por OIE su actual distribucion en poblaciones cultivadas y silvestres (modificado de Lightner 1996; Lightner y Redman 1998; OIE 2000).		
Virus o Grupo de Virus	Hemisferio Este	Hemisferio Oeste
Virus Notificables por la OIE de camarones peneidos:		
WSSV	silvestre y cultivado	silvestre y cultivado
YHV	silvestre y cultivado	no reportado
TSV	cultivado	silvestre y cultivado
Virus listados por la OIE de los camarones peneidos:		
IHHNV	silvestre y cultivado	silvestre y cultivado
BP	no reportado	silvestre y cultivado
MBV	silvestre y cultivado	reportado; no enzoótico
BMN	silvestre y cultivado	no reportado
SMV	cultivado	no reportado

Tabla 6.

Métodos de diagnóstico y detección de patógenos de las enfermedades virales notificables y listadas por la OIE (modificado de Lightner 1996, 2000; Lightner y Redman 1998).

Método	WSSV	IHHNV	BP	MBV	BMN	SMV	Grupo YHV	TSV
Directa BF/ LM/ PH/ DF	++	-	+++	+++	++	-	++	+
Histopatología	++	++	++	++	++	++	+++	+++
Bioensayo	++	+	+	-	+	-	+	++
TEM / SEM	+	+	+	+	+	++	+	+
ELISA con PAb / Mab	-	-	+	-	+	-	-	++
Sondas ADN DBH / ISH	+++	+++	++	++	++	+++	+++	+++
PCR / RT-PCR	+++	+++	+++	+	-	+++	+++	+++

Definiciones por cada virus

- o = Desconocida o aplicación de la técnica publicada
- + = Aplicación de la técnica conocida o publicada, pero no comúnmente practicada o fácilmente disponible
- ++ = Aplicación de la técnica que los autores del presente trabajo consideran que provee suficiente exactitud de diagnóstico o sensibilidad en la detección de patógenos para la mayoría de aplicaciones
- +++ = Técnica que provee un alto grado de sensibilidad en la detección de patógenos

Métodos

- BF = microscopía de luz de campo brillante para el análisis de improntas de tejidos, montajes húmedos, montajes enteros teñidos

- LM = Microscopía de luz
- PH = Microscopía de fases
- DF = Microscopía de campo oscuro
- EM = Microscopía electrónica de secciones o de virus purificados o semipurificados
- ELISA = Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima
- PAbs = Anticuerpos policlonales
- MAbs = Anticuerpos monoclonales
- DBH = Hibridización marca de punto (dot blot)
- ISH = Hibridización in situ

Tabla 7.		
Resumen de métodos para la vigilancia y diagnóstico de patógenos virales de camarones penidos notificables y listados por la OIE.		
AGENTE	VIGILANCIA	DIAGNOSTICO
TSV	RT-PCR	RT-PCR, sondas ADN, AB, histología
WSSV	PCR, AB	PCR, sondas DNA, AB, histología, bioensayos
YHV	RT-PCR	RT-PCR, sondas ADN, AB, histología, bioensayos
BMN	Histología	Microscopia directa, histología
BP/MBV	PCR, microscopia directa, histología	Microscopia directa, histología, PCR
IHHNV	PCR, sondas ADN	PCR, sondas ADN, histología
SMV	Sondas ADN	Sondas ADN, histología, bioensayo

Tabla 8.
Productos de diagnóstico moleculares y basados en anticuerpos para camarones penidos disponibles comercialmente y sus aplicaciones*.

Patógeno	Pruebas basadas en ADN			Pruebas basadas en anticuerpos	
	Marca de punto	In situ	PCR	Inmuno punto	Inmunohisto-Química
WSSV	X	X	X	X	X
IHHNV	X	X	X		
TSV	X	X	X	X	X
HPV	X	X	X		
MBV	X	X	X		
BP	X	X	X		
YHV	X	X	X		
NHP bacterium	X	X	X		

*Disponible en DiagXotics, Inc. Wilton, CT, USA