

Prevalencia de enfermedades en el camarón de cultivo *L. vannamei* en Cuba

Diseases prevalence in *L. vannamei* cultures shrimp in Cuba

Manuel Rubio Limonta, Raquel Silveira Coffigny, Damir A. Hernández Martínez,
Anna Pérez Beloborodova y Mayleé Pozo Escobar

Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP). Calle 246 No. 503 e/ 5ta. Avenida y Mar,
Santa Fe, Playa, CP 19100, La Habana, Cuba, E-mail: mrubio@cip.alinet.cu

RESUMEN

Los estudios de prevalencia constituyen una herramienta para conocer de la presencia y fluctuación de las enfermedades infecciosas por regiones y épocas del año. En el presente trabajo se determinó la prevalencia de patógeno/enfermedades que afectan el cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) en seis centros productivos ubicados en diferentes regiones de Cuba. Se tomaron muestras de animales cada cuatro meses y analizados mediante técnicas histológicas, de biología molecular (PCR), bacteriológicas y parasitológicas para identificar patógenos, definir prevalencia de procesos infecciosos y establecer una relación con la región y la época del año mediante una tabla de contingencia. Por PCR e histopatología no se detectó la presencia de (TSV, IMNV, HPV, YHV, GAV, IHHNV, WSSV, PvNV, AHPND y *Vibrio parahaemolyticus*) en ninguna de las granjas evaluadas. Se detectó infección por *Hepatobacter penaei* en tres de las camaroneras con una prevalencia entre el 90 % y el 100 %. De los patógenos detectados por bacteriología y parasitología el 80 % corresponden a bacterias y de estas el 62,5 % pertenecen al género *Vibrio*, el otro 20 % del total corresponde a afectación por parásitos. El análisis estadístico demostró la influencia ($p < 0,05$) de la ubicación de las granjas y de los períodos analizados sobre la presencia de estos patógenos. La determinación de la dinámica de estos procesos permite definir planes certeros de prevención y control de enfermedades en el país.

Palabras clave: prevalencia, *Vibrio parahaemolyticus*, *Hepatobacter penaei*, camarón, *Litopenaeus vannamei*.

ABSTRACT

Prevalence studies constitute a tool in order to detect the presence and fluctuations of infectious diseases by regions and annual seasons. In this work we determined the prevalence of the different pathogens/diseases that could affect white shrimp (*L. vannamei*) culture in six productive centers located in different regions of Cuba. Animal samples were taken every four months and were analyzed using histology, molecular biology (PCR), bacteriological and parasitological techniques, with the objective of identifying pathogens, defining the prevalence of the infectious process, and establishing a relationship with the region and the season of the year using a contingency table. By means of histopathology and PCR techniques, a presence of the virus (TSV, IMNV, HPV, YHV, GAV, IHHNV, WSSV, PvNV, AHPND and *Vibrio parahaemolyticus*) were not found in any studied farms. Infection by *Hepatobacter penaei* was detected in three of the shrimp farm facilities with a prevalence between 90 % and 100 %. Pathogens detected by bacteriology and parasitology correspond 80 % to bacteria and among these 62,5 % were members of the *Vibrio* group, the other 20 % found were parasites. The statistical analysis demonstrated the influence ($p < 0,05$) of the geographical location of the farms and the periods analyzed on pathogen presence. The determination of the dynamics of these processes allows to define accurate plans for prevention and control of diseases in the country.

Keywords: prevalence, *Vibrio parahaemolyticus*, *Hepatobacter penaei*, shrimp, *Litopenaeus vannamei*.

Recibido: 10/2/20

Revisado: 2/3/20

Aceptado: 24/11/20

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas se han convertido en el mayor freno para el desarrollo del cultivo del camarón a nivel global por los riesgos que representan y las pérdidas económicas que generan (Nunan *et al.*, 2013; Peña *et al.*, 2013). Para América Latina este factor fue más evidente desde la aparición del brote de la enfermedad de la mancha blanca reportada por Jory & Dixon (1999) con un impacto negativo en la camaronicultura de la región; aparición, que fue sucedida de otras enfermedades virales como IHNV (virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa), TSV (virus del síndrome de Taura), WSSV (virus de la mancha blanca), YHV (virus de la cabeza amarilla), entre otras (Valera & Peña, 2013).

Las estrategias de manejo y prevención adoptadas contra las enfermedades virales han posibilitado el cambio del panorama descrito en los últimos años, con el aumento de la incidencia e impacto de forma global de las enfermedades bacterianas como la hepatopancreatitis necrotizante (Morales-Covarrubias, 2008; Varela & Peña, 2015), y más reciente la enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas (Tran *et al.*, 2013; Pantoja & Lightner, 2014; Han *et al.*, 2015), reportada por primera vez en China en el 2009 y posteriormente en el 2013 en México, ocasionando pérdidas millonarias (Tran *et al.*, 2013).

Una forma de determinar la presencia y fluctuación de los patógenos por región son los estudios de prevalencia de enfermedades realizados en América Latina por Gámez *et al.* (2007), Morales *et al.* (2011) y Peña & Valera (2016), que demostraron variaciones en la prevalencia de las enfermedades por regiones, en algunos casos con la influencia de la época del año, donde factores ambientales como la temperatura, precipitación y salinidad desempeñan un papel importante.

Esto, unido a parámetros como la adaptabilidad y especificidad de los patógenos por las condiciones existentes por zonas o países y la necesidad de establecer programas sanitarios que se ajusten y respondan a las condiciones epidemiológicas de cada región, motivaron la realización del presente trabajo para determinar la prevalencia de enfermedades que afectan el cultivo de camarón blanco (*L. vannamei*) en sistemas productivos ubicados en diferentes regiones de Cuba.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

El estudio se realizó durante los años 2018-2019 en seis centros codificados con la sigla G y enumeradas del 1 al 6; de ellos cinco de engorde (G1), (G2), (G3), (G4) y (G5), y un centro de producción de postlarvas (G6) (TABLA 1).

TABLA 1. Referencias geográficas y sistema de cría de las granjas muestreadas

Granjas	Latitud (N)	Longitud (O)	Propósito	Sistema
G1	21° 40'13,008	79° 31'18,359	Ceba	Semiintensivo
G2	20° 43'12,413	77° 58'27,576	Ceba	Semiintensivo
G3	20° 42'41,906	77° 26'37,394	Ceba	Semiintensivo
G4	20° 33'23,767	76° 59'29,586	Ceba	Semiintensivo
G5	20° 42'24,28	75° 23'27,233	Ceba	Semiintensivo
G6	20° 20'10,08	77° 7'55,073	Cría de postlarvas	Intensivo

Se monitorearon los valores climatológicos, promedios anuales de temperatura y precipitación y los de salini-

dad por región. Los datos climatológicos son los ofrecidos por el del Instituto de Meteorología de Cuba (TABLA 2).

TABLA 2. Valores promedio de parámetros ambientales por período (temperatura, salinidad precipitación)

Región	1 ^{er} Período			2 ^{do} Período			3 ^{er} Período		
	T (°C)	P (mm)	S(ppm)	T (°C)	P (mm)	S(ppm)	T (°C)	P (mm)	S(ppm)
Centro	18,3	44	29	27,4	470,2	25	27,9	490,4	27
Suroriental	22,5	66,0	30	32,5	385,1	28	29,9	424,3	27
Nororiental	24,3	50,6	34	31,0	347,3	32	29,5	414,6	32

Nota: T, Temperatura (°C); P, Precipitación (mm); S, Salinidad (ppmil).

Frecuencia y tamaño del muestreo

Se realizó el muestreo en tres períodos, enero-abril, mayo-agosto y septiembre-diciembre. En cada ocasión por año se recolectaron 60 camarones por centro de ceba para un nivel de confianza del 95 % y prevalencia de un 2 % ($n = 1\ 080$ animales), y 150 postlarvas en cada muestreo ($n = 450$ animales) en el centro de cría.

Captura de los organismos

Los camarones en ceba fueron capturados al azar en cuatro puntos del estanque con atarraya de 2 m de diámetro y ojo de malla de 5 x 5 mm (De Blas & Muniesa, 2014), las postlarvas fueron capturadas en un recipiente de cristal de 500 mL. Los animales se depositaron en contenedores plásticos, con agua y aireación para mantenerlos vivos hasta su traslado de inmediato al Laboratorio de Sanidad Acuicola del Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP).

Trabajo de campo y examen clínico

El examen físico y clínico se efectuó en el lugar de la captura para detectar alteraciones externas y de comportamiento según la metodología de (Cuéllar-Anjel, 2014).

Histología

Las muestras se fijaron en AFA de Davidson, su preparación se realizó de acuerdo con los procedimientos de Bell & Lightner (1988) y Cuéllar-Anjel (2014). Los tejidos cortados y colocados en portaobjetos fueron teñidos con Hematoxilina de Mayer-Bennett y Floxina/Eosina (H&E) (Lightner, 1996; Morales-Covarrubias, 2010). Las preparaciones fueron observadas y estudiadas en un microscopio óptico OMAX con aumento de 40X, 100X y 400X.

Biología molecular (PCR)

Fragmentos del tercer par de pleópodos entre el exopodito y el endopodito, branquias y hepatopáncreas se colocaron en viales con etanol absoluto. Se utilizó el kit IQ2000™ kit (Farming IntelliGene Tech. Corp. <http://www.iq2000kit.com>) y la metodología descrita para su utilización.

Se pesquisarón por biología molecular e histopatología el virus de la necrosis hipodérmica y hematopoyética infecciosa (IHHNV), virus del síndrome de las manchas blancas (WSSV), parvo virus del hepatopáncreas (HPV), enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), virus del síndrome de taura (TSV), virus causante de la cabeza amarilla (YHV), virus asociado a branquias (GAV), virus de la mionecrosis infecciosa (IMNV), *Penaeus vannamei nodavirus* (PvNv) y hepatopancreatitis necrotizante – Infección por *Hepatobacter penaei* (NHPB) y *Vibrio parahaemolyticus*.

Se realizó la extracción y siembra directa de hepatopáncreas en placas Petri en agar TCBS y agar Triptona Soya suplementado al 3 % con NaCl. Se llevó a cabo la incubación de las placas de forma invertida a 30 °C por 24-48 h y se registró el número en UFC totales por animal por las características de las colonias. Las colonias seleccionadas se aislaron en tubos inclinados de agar Triptona Soya e incubaron a 30 °C por 24-48 h. La caracterización de las cepas se realizó por pruebas bioquímicas y la identificación taxonómica según (Prieto & Rodríguez, 1993; Holt, et al., 2004).

Bacteriología

El raspado del tejido fue colocado en portaobjetos para la realización del frotis. Se utilizaron las técnicas de campo brillante y contraste de fase para el conteo e identificación de epibiontes. Para la identificación se fijaron con solución de Schaudin de 15-20 min, se lavaron con etanol 70° y se decoloraron con solución de yodo etanol 70° para luego ser teñidos con Giemsa (método de Pukorsk & Robinow) y montados con Bálsamo de Canadá. La identificación se realizó de acuerdo con los criterios taxonómicos de Kudo (1950) y el conteo con el microscopio óptico a 400x y 1000x.

Análisis parasitológico

El raspado del tejido fue colocado en portaobjetos para la realización del frotis. Se utilizaron las técnicas de campo brillante y contraste de fase para el conteo e identificación de epibiontes. Para la identificación se fijaron con solución de Schaudin de 15-20 min, se lavaron con etanol 70° y se decoloraron con solución de yodo etanol 70° para luego ser teñidos con Giemsa (método de Pukorsk & Robinow) y montados con Bálsamo de Canadá. La identificación se realizó de acuerdo con los criterios taxonómicos de Kudo (1950) y el conteo con el microscopio óptico a 400x y 1000x.

Prevalencia de enfermedades

Se realizó de acuerdo con la propuesta de Bush et al. (1997) empleada por Morales et al. (2011):

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{No. de hosped. con patógenos, parásitos o epibiontes}}{\text{No. total de hosped.}} \times 100$$

Para determinar el grado de severidad de las enfermedades de origen por epicomensales se realizó la guía de acuerdo con la propuesta de Morales-Covarrubias (2010).

Análisis estadístico

La relación de la prevalencia de los patógenos/enfermedades con la granja se determinó con la utilización de tablas de contingencia construidas con las frecuencias observadas de patógenos/enfermedades por granja y período de muestreo, con un nivel de confianza de ($\alpha = 0,05$). La hipótesis nula sugiere que los factores granja y las enfermedades son independientes entre sí, lo que se probó con la utilización del estadístico Chi-cuadrado, donde se rechazó H_0 si $|Z_c| > |Z_t|$, y no se rechazó si $|Z_c| < |Z_t|$. Con la realización de tres muestreos por año se pudo evaluar el efecto del tiempo utilizando un análisis similar al anterior con tablas de contingencia tridimensionales.

$$\chi_c^2 = \sum_{i=1}^f \sum_{j=1}^c \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Donde:

$$E_{ij} = \frac{N_i \times N_j}{N};$$

N_i : suma de valores de la fila i ;

N_j : suma de valores de la fila j ;

$\chi_c^2 = (f - 1)(c - 1)$ grados de libertad;

f : total de filas;

c : total de columnas.

RESULTADOS

Las manifestaciones clínicas y lesiones macroscópicas observadas en el 46 % de los casos son evidencia de la presencia de enfermedades. De forma general el comportamiento de los camarones se caracterizó por alternar períodos de hiperactividad y nado errático con episodios de letargia, asociado a no ofrecer resistencia a su captura. Se detectaron cambios de la coloración del cuerpo, donde los bordes de los pleópodos, urópodos, telson, escamas antenales y pleuras se tornaron rojizos, mientras que la musculatura abdominal mostró una coloración opaca. Al examen se observó transparencia del músculo esquelético asociado a flacidez del tejido y del exoesqueleto, escaso o nulo contenido intestinal y branquias de color marrón oscuras con presencia de

detritos orgánicos, hubo en algunos casos cromatóforos expandidos. Estas lesiones se presentaron siempre asociadas a las patologías identificadas que no pudieron ser asociadas a un período en específico.

De los patógenos pesquisados por biología molecular no se detectó la presencia de 10 (TSV, IMNV, HPV, YHV, GAV, IHHNV, WSSV, PpNV, AHPND y *Vibrio parahaemolyticus*) de los 11 patógenos analizados, en ninguna de las granjas evaluadas (TABLA 3). La pesquisa de *V. parahaemolyticus* que permite el análisis de AHPND por PCR en postlarvas determinó la no presencia del patógeno en este estadio de vida. Los resultados obtenidos por histopatología confirman este resultado pues no se observaron en los tejidos lesiones asociadas a los patógenos pesquisados.

Se detectó infección por *Hepatobacter penaei* en tres camarones (TABLA 3) mediante la aplicación de las técnicas de PCR e histopatológicas (Fig. 1). La infección se manifestó con una prevalencia entre el 90 % y 100 % en todos casos con un intervalo de confianza de 100 que demuestra la amplitud del proceso en las granjas afectadas por ambas. La enfermedad se presentó en G2 a finales del segundo período (agosto) mientras que en G5 y G6 a comienzos del último período (septiembre-octubre). Entre los dos últimos períodos no se observaron grandes diferencias en la presentación del proceso infeccioso, pues en ambos se presentó la enfermedad y no media ni un mes de diferencia entre el tiempo de presentación del proceso en las granjas afectadas. La diferencia se presenta en relación con el primer período del año donde no hubo ni identificación del patógeno, ni presencia de la enfermedad. La distribución geográfica del proceso abarcó las regiones centro sur y oriental del país en los dos años evaluados durante los períodos de mayores niveles de temperatura y salinidad.

El estudio histológico (Fig. 1) mostró lesiones principalmente en hepatopáncreas caracterizadas por degeneración celular en las áreas donde la luz tubular aparece totalmente dilatada con la desaparición del lumen en forma estrellada. El contenido celular quedó disperso dentro del espacio luminal, donde muchas de las células desprendidas conservan aún los núcleos a pesar de la extensa picnosis. Se observó presencia de cúmulo de células bacterianas en las células epiteliales desprendidas de la pared tubular. Es manifiesta la atrofia de los túbulos con infiltración de hemocitos, los espacios intertubulares se mostraron comprimidos a consecuencia del edema celular. Resultaron típicas las encapsulaciones multifocales y áreas de necrosis melanizadas con formación de granulomas.

De los patógenos detectados por bacteriología y parasitología el 80 % corresponden a bacterias, de estas el 62,5 % perteneciente al género *Vibrio*, el otro 20 % del total corresponde a afectación por parásitos.

Las bacterias del género *Vibrio* (TABLA 3) causantes de los procesos de vibriosis presentó un amplio rango de prevalencia, y las especies identificadas se presentaron durante todo el año, lo que determina que este factor no tuvo influencia en su aparición y fluctuación entre las localidades evaluadas, aunque los niveles más altos de prevalencia fueron observados durante el I y II período del año, que coincide con los reportes de los niveles más bajos de precipitación y temperatura promedio. Se destaca la prevalencia de 35,5 % de *V. parahaemolyticus* durante el primer período del año, donde en G3 alcanzó el 66,2 %. Otras especies con valores elevados fueron *V. vulnificus* y *V. alginolyticus*. El aislamiento de *Grimontia hollisae* fue representativo en el primer período del año en varias granjas, disminuyendo su incidencia durante el resto del año.

El estudio histológico de las vibriosis mostró las lesiones típicas de las infecciones bacterianas en esta especie con agregación bacteriana en el tejido conectivo de diferentes órganos. Presencia de nódulos melanizados y necróticos en tejido conectivo perigástrico con colonias de bacterias en estómago y en el tejido muscular en sus espacios intrafasciculares con una fuerte infiltración hemocítica. En las lamelas branquiales se destacan la melanosis y la presencia de nódulos hemocíticos. De todos los órganos el más afectado fue el hepatopáncreas con desprendimiento de células epiteliales picnóticas, atrofia tubular con agregación bacteriana en tejido conectivo de los espacios intertubulares del hepatopáncreas, infiltración de hemocitos y necrosis celular con formación de nódulos hemocíticos con masas de bacterias hacia el centro del nódulo, inflamación del tejido y escaso contenido de vacuolas lipídicas almacenadas.

TABLA 3. Prevalencia de patógenos bacterianos, virales y parásitos en el camarón de cultivo en Cuba

Enfermedades/ patógenos	Prevalencia (%)																	
	Granjas																	
	I Período						II Período						III Período					
	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G1	G2	G3	G4	G5	G6	G1	G2	G3	G4	G5	G6
NHP	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	100	0
IHHNV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
WSSV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
HPV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EMS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
TSV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
YHV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GAV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IMNV	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PvNv	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	58,5	41,65	66,2	0	12,3	34,8	24	12,3	25	0	0	0	22	14,2	76	5	0	0
<i>Vibrio vulnificus</i>	0	0	0	17,5	16	25,2	0	32	0	0	0	0	0	57,1	0	0	0	0
<i>Vibrio alginolyticus</i>	0	0	16,6	0	14,6	0	0	0	0	0	14,6	0	0	0	0	0	0	16,6
<i>Vibrio harveyi</i>	0	25	11,1	25	0	67	0	0	0	0	58,6	12	0	0	0	0	0	86
<i>Vibrio sp.</i>	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Aeromonas salmonicida</i>	3,4	10	0	50	36,5	41,4	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	89,9	0
<i>Grimontia hollisae</i>	0	3,3	4,5	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	28	0	0	0
<i>Epistylis sp.</i>	100	55,3	100	93,2	0	100	0	85	100	100	100	0	90	0	0	0	100	0
<i>Acineta spp.</i>	0	0	0	80	0	0	0	0	0	100	0	0	65	0	74,9	0	58,3	0

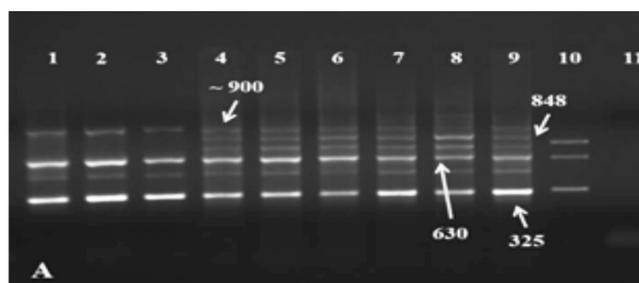
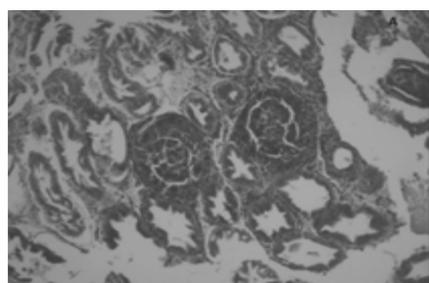


Fig. 1. Lesiones histopatológicas de la infección por *Hepatobacter penaei* y resultados PCR: carriles 1-3, controles positivos; carriles 4-9, muestras analizadas (positivas) de manera severa; carril 10, marcador de peso molecular; carril 11, control negativo.

Epicomesales de los géneros *Epistylis* sp. y *Acineta* spp. fueron detectados en todas las granjas. Los niveles mayores de prevalencia se manifestaron en los períodos I y II con grado de severidad 2 y 3. *Epistylis* sp. alcanza valores de prevalencia durante los períodos I y II de 74,7 y 64,1 respectivamente. Mientras que *Acineta* spp. aumenta su prevalencia hacia el III período con el 33. Estos epicomensales provocaron lesiones histológicas como melanosis, infiltración hemocítica con formación de nódulos hemocíticos y necrosis en lámelas branquiales.

El análisis estadístico demostró influencia significativa ($p < 0,05$) de la ubicación de las granjas sobre infección por *Hepatobacter penaei*, pero no para el resto de los procesos detectados. También hubo diferencias significativas de afectación por enfermedad entre el primer período donde fue menor la incidencia y los períodos II y III con mayor nivel de afectación, que demuestra la difusión de estos procesos en todas las granjas del país, con diferencias en su presentación influenciada por las condiciones ambientales.

DISCUSIÓN

Estudios de prevalencia de enfermedades en la camaronicultura en Latinoamérica realizados por Morales *et al.* (2011) en ocho regiones durante los años 2008-2009 determinaron la presencia de 12 enfermedades con prevalencia variable por zona y etapa de muestreo; Alfaro *et al.* (2010) en langostinos silvestres detectó NHP, IHHNV, BP, WSSV y TSV con la posibilidad de que estos organismos sean vectores de enfermedades para los sistemas de cultivo de camarón, mientras Peña & Valera (2016) determinaron la prevalencia de IHHNV, NHP, epicomensales, vibriosis, gregarinas en cultivo de *L. vannamei* en el golfo de Nicoya en Costa Rica, investigaciones que demuestran que la presencia de patógenos y enfermedades muestran variación por región o territorio, que hacen necesario determinar la prevalencia de los mismos de forma particular por región que permitan trazar estrategias certeras en la prevención y control de enfermedades.

Sobre la prevalencia de patógenos bacterianos o virales Flegel (2012), estimó que de las enfermedades reportadas para el camarón silvestre o de cultivo el 60 % están relacionadas con virus, el 20 % a bacterias y el resto se distribuye entre hongos y parásitos, otros autores estiman que las virales tienen mayor presentación. A diferencia de muchos países de Latinoamérica y del Caribe, en Cuba estos porcentajes se invierten al promediar un 80 % de los patógenos identificados como bacterianos en correspondencia con Peña *et al.* (2013) sobre el aumento de la incidencia e impacto de los pa-

tógenos bacterianos. El otro 20 % corresponde a agentes parasitarios específicamente epibiontes y 0 % de virus.

De los patógenos bacterianos los vibrios presentaron los mayores niveles de prevalencia en correspondencia con Soto *et al.* (2010), que notifica la vibriosis como una de las enfermedades infecciosas más extendidas en el cultivo de camarón en México. En este trabajo las vibriosis junto a infección por *Hepatobacter penaei* (NHPB) fueron los causantes de los principales efectos negativos en la salud del cultivo del camarón. Estas dos patologías con gran similitud en su sintomatología clínica, están caracterizadas por la marcada palidez y atrofia del hepatopáncreas, estómago e intestinos vacíos o con contenido entrecortado, anorexia, letargia, y ocasionalmente infestaciones por parasitologías secundarias en correspondencia con los reportes de (Lightner, 1996; Estévez & Herrera, 2000; Vincent *et al.*, 2004; Cuéllar-Anjel *et al.*, 2012; Morales-Covarrubias, 2014; Varela & Peña, 2015; Peña & Valera, 2015). La clínica de estas patologías no mostró diferencias independientemente de las zonas del territorio nacional donde se presentó, con el agravante de que comparten al hepatopáncreas como tejido blanco, similitudes que dificultan su diagnóstico presuntivo siendo necesario análisis de laboratorio (PCR e histopatología) para llegar a un diagnóstico confirmativo-(Gámez *et al.*, 2007; Rubio *et al.*, 2011).

Morales *et al.* (2011) en el estudio referido con anterioridad detectaron prevalencia promedio de 19,1 % de vibrios causando hepatopancreatitis necrotizante séptica (NHP-S) asociadas a *V. campbelli*, *V. parahaemolyticus*, *V. brasiliensis* y *Streptococcus* spp., de ellos fue identificado en el presente estudio con mayor prevalencia *V. parahaemolyticus* con 66,2 %; otros identificados bajo nuestras condiciones y que coinciden con otros estudios realizados fueron *V. vulnificus*, *V. alginolyticus*, *V. harveyi* y *Vibrio* spp.

Aislamientos a partir de camarones con signos clínicos de septicemia bacteriana permitieron a Lightner & Lewis (1975) identificar a *V. anguillarum*, *V. alginolyticus* y *V. parahaemolyticus*, como los agentes etiológicos de esa enfermedad. En comparaciones de la patogenicidad de estas tres especies en juveniles de *Penaeus japonicus*, Vera *et al.* (1992) demostraron que *V. alginolyticus* era la más patógena. Otra investigación realizada en Tailandia por Yano *et al.* (2014) detectaron prevalencias de *V. cholerae* del 94 %, *V. parahaemolyticus* 38 % y *V. vulnificus* 12,5 % acercándose más a los resultados obtenidos en el presente estudio. Sobre la presencia de microorganismos de este género y el desarrollo de procesos patológicos, Gómez *et al.* (1998) encontraron que, con una carga inferior a 1×10^3 de *V. harveyi*, *V. parahaemolyticus* y *Vibrio* spp. en la hemolinfa de animales en cultivo no causaban mortalidad, sin embargo, son diversas las citas bibliográficas sobre dramáticos episodios de mortalidades masivas por vibriosis en

varios países (Mohney, 1994; Lightner, 1996; Soto *et al.*, 2010; Peña & Valera, 2016). Los estudios publicados demuestran similitud con los hallazgos generados en la presente investigación, confirmando la respuesta del hospedador y la alta patogenicidad de las bacterias pertenecientes al género *Vibrio* sp., en específico al nivel de prevalencia observado en las infecciones sistémicas por *V. parahaemolyticus*, bacteria causante de gastroenteritis asociada al consumo de productos marinos contaminados, crudos o mal cocinados o con una manipulación y almacenamiento inadecuado (Rodríguez, Méndez, Rivas & Cortés, 2014).

En relación con el período del año y los parámetros ambientales que propician la presencia de estos patógenos y su efecto negativo sobre el cultivo, se determinó mayor prevalencia durante finales del primer período y los primeros meses del segundo período (abril-junio), caracterizado en Cuba por presentar valores altos de temperatura y bajo de precipitación, condiciones asociadas a la aparición de las vibriosis (Peña & Valera, 2016). Otro factor muy asociado a esta patología es la salinidad, que durante los meses señalados fueron las más altas en los años evaluados, propiciando la proliferación de los vibrios, lo cual corrobora los resultados reportados por Rodríguez *et al.* (2014) sobre la presencia de *V. parahaemolyticus* durante el período mayo-junio en diferentes sistemas lagunares en México, meses donde se registraron los mayores niveles de salinidades (32-37 ppt). Otro factor como las precipitaciones provoca aumento en los niveles de materia orgánica en suspensión en el agua y con ellos fluctuaciones del oxígeno disuelto y la salinidad, favorables para la proliferación bacteriana y con ello los vibrios.

Desde el punto de vista histopatológico, estos patógenos a pesar de tener en el camarón *L. vannamei* la capacidad de lesionar el hepatopáncreas (Cuéllar-Anjel, 2014; Varela & Peña, 2015) como tejido blanco producen graves lesiones en otros órganos que comprometen la salud de los animales. En hepatopáncreas las lesiones observadas se corresponden con las descritas por Conroy & Conroy (1990), Lavilla-Pitogo (1993), Song *et al.* (1993), Lightner (1996) y Esteve & Herrera (1997, 2000) en las alteraciones de la estructura de los acinos hepatopancreáticos por destrucción de las células que forman el epitelio tubular, infiltración hemocítica y melanización. Se observó en NHP-B la formación de granulomas y acumulación de bacterias, mientras que en las vibriosis en hepatopáncreas y otros órganos como corazón, branquias, órgano linfoide, tejido conectivo y músculo, se detectó la infiltración de hemocitos y formación de nódulos hemocíticos con presencia de colonias de bacterias asociadas a una fuerte respuesta de tipo inflamatorio (Lightner, 1996; Morales-Covarrubias, 2010; Cuéllar-Anjel, 2014).

La prevalencia mostrada por los géneros de protozoos *Epistylis* y *Acineta* concuerda con los resultados

obtenidos en estudios previos realizados en Cuba por Cabrera & Rubio (2012), Rubio *et al.* (2017), con la diferencia de que, en el presente trabajo no aparecieron los géneros *Zoothamnium* y *Ascophrys* reportados con anterioridad. En todos los casos el grado de severidad ha sido alto. Trabajos realizados por Song (2003) y Ahmet & Ercument (2009) señalan a *Epistylis* como el más común y tipo patogénico de los ciliados ectocomensales sésiles. Al referirse a su relación con las variables ambientales Rubio *et al.* (2017) señalan una correlación positiva con los indicadores sólidos en suspensión, temperatura y salinidad, observado en el presente trabajo principalmente para el género *Epistylis*.

CONCLUSIONES

Se determinó la no presencia de las enfermedades virales (TSV, IMNV, HPV, YHV, GAV, IHHNV, WSSV, PvNV, AHPND) en el cultivo del camarón *L. vannamei* en Cuba, siendo los procesos infecciosos bacterianos los que han aumentado su incidencia de forma general, donde la vibriosis provocadas por *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus*, *V. alginolyticus* y *V. harveyi* ocupan el primer lugar y provocan las mayores afectaciones junto a NHP-B. Estas patologías poseen similitud en sus manifestaciones clínicas y comparten órganos blancos que dificultan su diagnóstico presuntivo. Resulta interesante comenzar a observar el comportamiento de *Grimontia hollisae* en este cultivo.

La prevalencia de estos patógenos/enfermedades depende de los factores climatológicos inherentes de cada región y con ello de la época del año con mayor incidencia en Cuba durante los meses mayo-septiembre.

AGRADECIMIENTOS

Al laboratorio de parasitología del Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP), por los datos brindados para la determinación de la prevalencia de epibiontes.

REFERENCIAS

- Ahmet, B. & Ercument, G. (2009). First record of the epibiont protozoan *Epistylis* sp. on zooplankton (Copepoda, Cladocera, and Rotifera) from the Asia River, Turkey. *Crustaceana*, 82(5), 515-530.
- Alfaro, R., Guevara, M. & Gonzáles, I. (2010). Prevalencia y distribución de los principales agentes etiológicos que afectan los langostinos silvestres en Tumbes, Perú. *Revista Peruana de Biología*, 17(3), 359-364.

- Bell, T. A. & Lightner, D. V. (1988). Fixation and normal penaeid histology. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. *World Aquaculture Society*, pp. 1-114, Baton Rouge, USA.
- Blas, I. de & Muniesa, A. (2014). Vigilancia epidemiológica en camaronicultura. En: V. Morales & J. Cuéllar-Anjel (Eds.). *Guía técnica. Patología e inmunología de camarones peneidos* (2da. ed., pp. 309-327), OIRSA, Panamá.
- Bush, A., Lafferty, K., Lotz, J. & Shostak, A. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.* revisited. *J. Parasitol.*, 83, 575-583.
- Cabrera, F. & Rubio, M. (2012). Protozoarios epibiontes en el cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei*. *Rev. Fac. Cs. Vets. UCV.*, 53(2), 69-80.
- Conroy, D. A. & Conroy, G. (Eds.). (1990). *Manual de patología de camarones peneidos*. Maracay, 197 pp.
- Cuéllar-Angel, J., Lightner, D. V. & Pantoja, C. (2012). Síndrome de mortalidad temprana o síndrome de necrosis hepatopancreática aguda. *Panorama Acuicola Magazine*, 17, 42-43.
- Cuéllar-Anjel, J. (2014). Métodos de diagnósticos de enfermedades en camarones marinos de cultivo. En: V. Morales & J. Cuéllar-Anjel (Eds.), *Guía técnica. Patología e inmunología de camarones peneidos* (2da. ed., pp. 21-92), OIRSA, Panamá.
- Esteve, M. & Herrera, F. (1997). Histological alterations of the hepatopancreas of *Penaeus vannamei* experimentally infected with a *Vibrio anguillarum* strain. Abstracts of the *World Aquaculture Society*, 97, p. 72.
- Esteve, M. & Herrera, F. (2000). Alteraciones histológicas del hepatopáncreas en juveniles de *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea: Penaeidae) Experimentalmente infectados con *Vibrio alginolyticus*. *Saber, Universidad de Oriente, Venezuela*, 12(1), 14-20.
- Farming IntelliGene Tech. Corp. <http://www.iq2000kit.com>
- Flegel, T. W. (2012). Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Africa. *Journal of Invertebrate Pathology*, 110(2), 174-183.
- Gámez, J. C., Galavíz, L. & Molina, Z. J. (2007). Distribución de la bacteria causante de la necrosis hepatopancreática (NHPB) en el cultivo del camarón *Litopenaeus vannamei*, en México. *Ciencias Marinas*, 33(1), 1-9.
- Gómez, G. B., Tron, M. L., Roque, A., Turnbull, J. F., Inglis, V. & Guerra, A. L. (1998). Species of *Vibrio* isolated from hepatopancreas, haemolymph and digestive tract of a population of healthy juveniles *Litopenaeus vannamei*. *Aquac.*, 163, 1-9.
- Han, J. E., Tang, K., Tran, L. & Lightner, D. V. (2015). Photorhabdus insect-related (Pir) toxin-like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, 113, 33-40.
- Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J. & Williams, S. (1994). *Bergey's Manual of determinative bacteriology* (Ninth ed.), Ed. Williams & Wilkins, USA.
- Jory, D. E. & Dixon, H. M. (1999) Shrimp white spot virus in the hemisphere. *Aquaculture Magazine*, 25, 83-91.
- Kudo, R. (1950). *Protozoology*. In Charles C. Thomas Publisher (p. 778). Springfield. Illinois. USA.
- Lightner, D. V. (1996). A handbook of shrimp pathology and diagnostic procedures for diseases of cultured penaeid shrimp, *World Aquaculture Society*, Baton Rouge.
- Lightner, D. V. & Lewis, D. H. (1975). A septicemic bacterial disease syndrome of penaeid shrimp. *Mar. Fish. Rev.*, 37, 25-28.
- Lavilla-Pitogo, C. R. (1993). Bacterial diseases of penaeid shrimps: an Asian view. En: Asian Fisheries Society (Eds.), 2nd Symposium on Diseases in Asian Aquaculture, 13 pp.
- Mohney, L. L., Lightner, D. V. & Bell, T. A. (1994). An epizootia of vibriosis in Ecuadorian pond reared *Penaeus vannamei* Boone (Crustacea: Decapoda). *J. World Aquacult. Soc.*, 25, 116-125.
- Morales-Covarrubias, M. (2014). Enfermedades bacterianas. En: V. Morales & J. Cuéllar-Anjel (Eds.), *Guía técnica. Patología e inmunología de camarones peneidos* (2da. ed., pp. 167-171), OIRSA, Panamá.
- Morales-Covarrubias, M. (2010). *Detección mediante análisis en fresco e histopatología. Enfermedades del camarón* (2da. ed.), Ed. Trillas, S.A. de C.V., D.F., México.
- Morales-Covarrubias, M., Ruiz, A., Pereira, A., Solís, V. & Conroy, G. (2011). Prevalencia de enfermedades de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) cultivado en ocho regiones de Latinoamérica. *Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia*, 21(5), 434-446.
- Nunan, L., Pantoja, C., Gómez-Jiménez, S. & Lightner, D. V. (2013). "*Candidatus Hepatobacter penaei*" an shrimp *Penaeus vannamei* in the Hepatopancreas of the marine intracellular pathogenic enteric bacterium (Crustacea: Decapoda). *Appl. Environ. Microbiol.*, 79(4), 1407.
- Pantoja, C. & Lightner, D. V. (2014). EMS/AHPND: Descripción de la enfermedad en Asia y América. En: V. Morales & J. Cuéllar-Anjel (Eds.), *Guía técnica. Patología e inmunología de camarones peneidos* (2da. ed., pp.172-177), OIRSA, Panamá.
- Peña, N. & Varela, A. (2015). Análisis histopatológico en *Litopenaeus vannamei* infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1), 43-53.
- Peña, N. & Varela, A. (2016). Prevalencia de las principales enfermedades infecciosas en el camarón

- blanco *Penaeus vannamei* cultivado en el golfo de Nicoya, Costa Rica. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 51(3), 553-564.
- Peña, N., Vargas, R. & Varela, A. (2013). Productos naturales como estimuladores del sistema inmunológico de *Litopenaeus vannamei*, infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Agron. Mesoam.*, 24, 133-147.
- Prieto, A. & Rodríguez, M. (1993): Diagnóstico y control de enfermedades bacterianas en camarón de cultivo. Programa cooperativo gubernamental, Proyecto Aquila II: Apoyo a las actividades regionales de acuicultura. *Documento de campo No. 14*, 19, 30-32.
- Rodríguez, J. C., Méndez, E., Rivas, A. M. & Cortés, J. A. (2014). Evaluación de la presencia de *Vibrio parahaemolyticus* en camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) silvestre estuarino en el sur de Sinaloa y norte de Nayarit, mediante análisis microbiológico y PCR. *Revista Bio Ciencias*, 2(4), 282-292.
- Rubio, M., Cabrera, F. & Fernando Lucas, F. (2017). Relación prevalencia de protozoos epibiontes y factores ambientales en el camarón *Litopenaeus vannamei*. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 34(1), 13-20
- Song, W. (2003). Ectocommensal peritrichs on the cultured shrimps. In W. Song, Y. Zhao, K. Xu & J. Gong (Eds.), *Pathogenic Protozoa in Mariculture* (pp.13-48), Beijing, China: Sci. Press.
- Song, Y. L., Cheng, W. & Wang, C. H. (1993). Isolation and characterization of *Vibrio damsela* infectious for cultured shrimp in Taiwan. *J. Invert. Pathol.*, 61, 24-31.
- Soto, S. A., Gómez, B. G. & Lozano, R. (2010). Density of Vibrios in Hemolymph and Hepatopancreas of Diseased Pacific White Shrimp, *Litopenaeus vannamei*, from Northwestern Mexico. *Journal of the World Aquaculture Society*, 41(S1).
- Tran, L., Nunan, L., Redman, R., Mohny, L., Pantoja, C., Fitzsimmons, K. & Lightner, D. V. (2013). Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, 105, 45-55.
- Varela, A. & Peña, N. (2013). El virus del Síndrome de las Manchas Blancas (WSSV): una revisión y su impacto en la camaronicultura costarricense. *Revista de Ciencias Veterinarias*, 28(2), 51-69.
- Varela, A. & Peña, N. (2015). Hepatopancreatitis necrotizante asociada al Fenómeno del Niño, en cultivos de camarones del golfo de Nicoya. *Repertorio Científico*, 18, 29-34.
- Vera, P., Navas, J. I. & Quintero, M. C. (1992). Experimental study of the virulence of three species of *Vibrio* bacteria in *Penaeus japonicus* (Bate, 1881) juveniles. *Aquaculture*, 107, 119-123.
- Vincent, A., Breland, V. M. & Lotz, J. (2004). Experimental infection of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* with Necrotizing Hepatopancreatitis (NHP) bacterium by per os exposure. *Dis. Aquat. Org.*, 61, 227-233.
- Yano, Y., Hamano, K., Satomi, M., Tsutsui, I., Masatoshi, B. & Aue-Umneoy, D. (2014). Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio* species related to food safety isolated from shrimp cultured at inland ponds in Thailand. *Food Control*, 38, 30-36.