

REVISIÓN DE ENFERMEDADES MIXTAS EN EL CAMARÓN CON ÉNFASIS DE LA INFECCIÓN POR NHP Y VIBRIOSIS EN LAS CAMARONERAS DE AMÉRICA LATINA EN EL 2015

Allan Heres y Ra'anán Ariav
Fortaleza, Noviembre 2015

- **Marzo**
 - Ecuador
- **Abril-Mayo**
 - Ecuador, Panamá, Honduras and Nicaragua
- **Agosto-Septiembre**
 - Ecuador, Panamá, Honduras
- **Octubre**
 - Perú, Ecuador, México



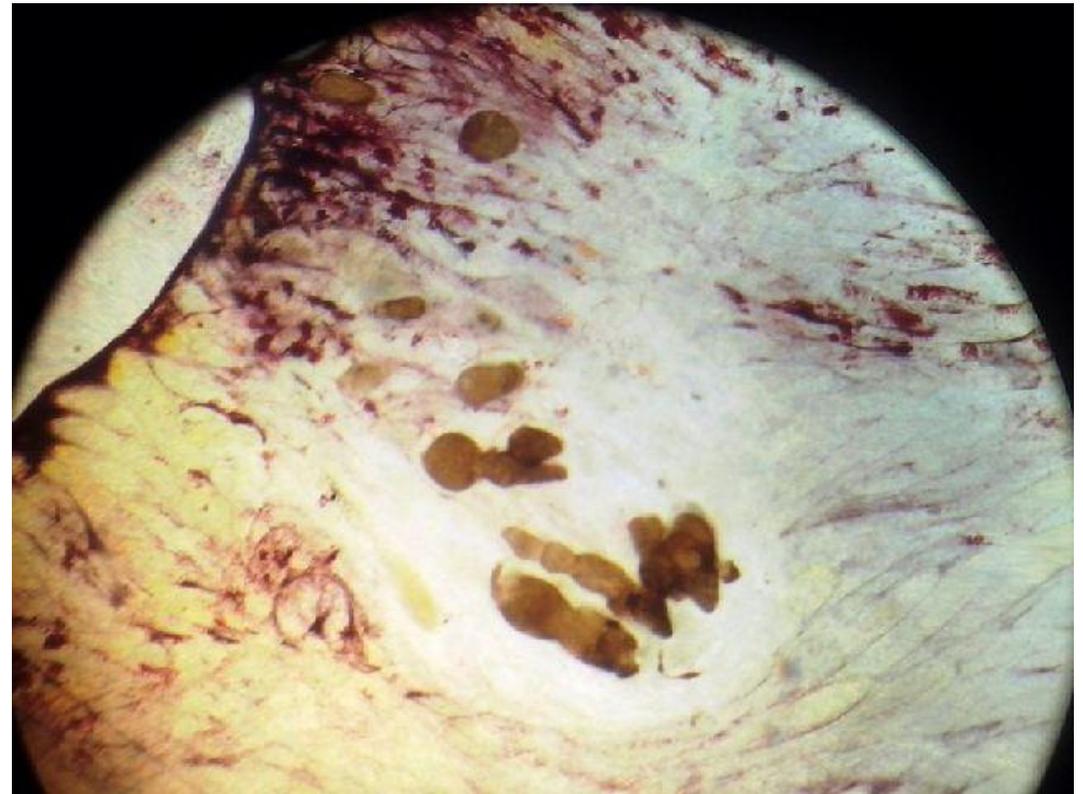
Ecuador Marzo 2015

Isla 1, Hepatopancreas, preparación en fresco

Nivel normal de lípidos en el HP.

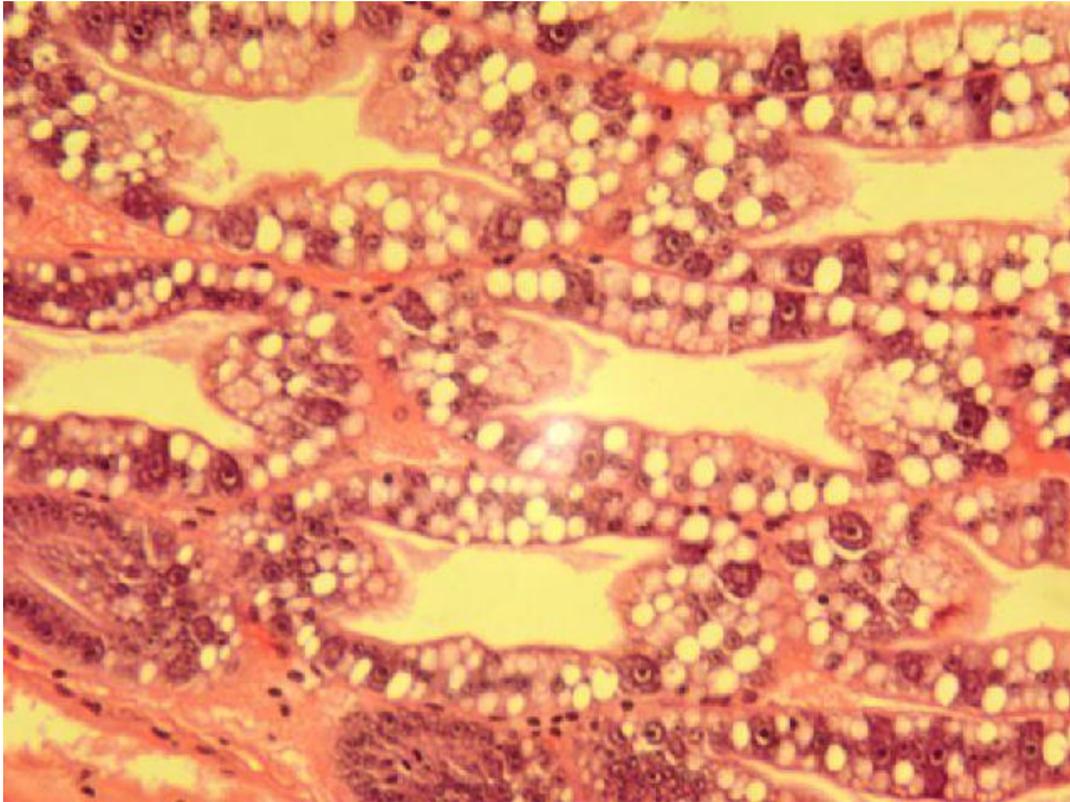


Túbulos melanizados, HP sin lípidos.

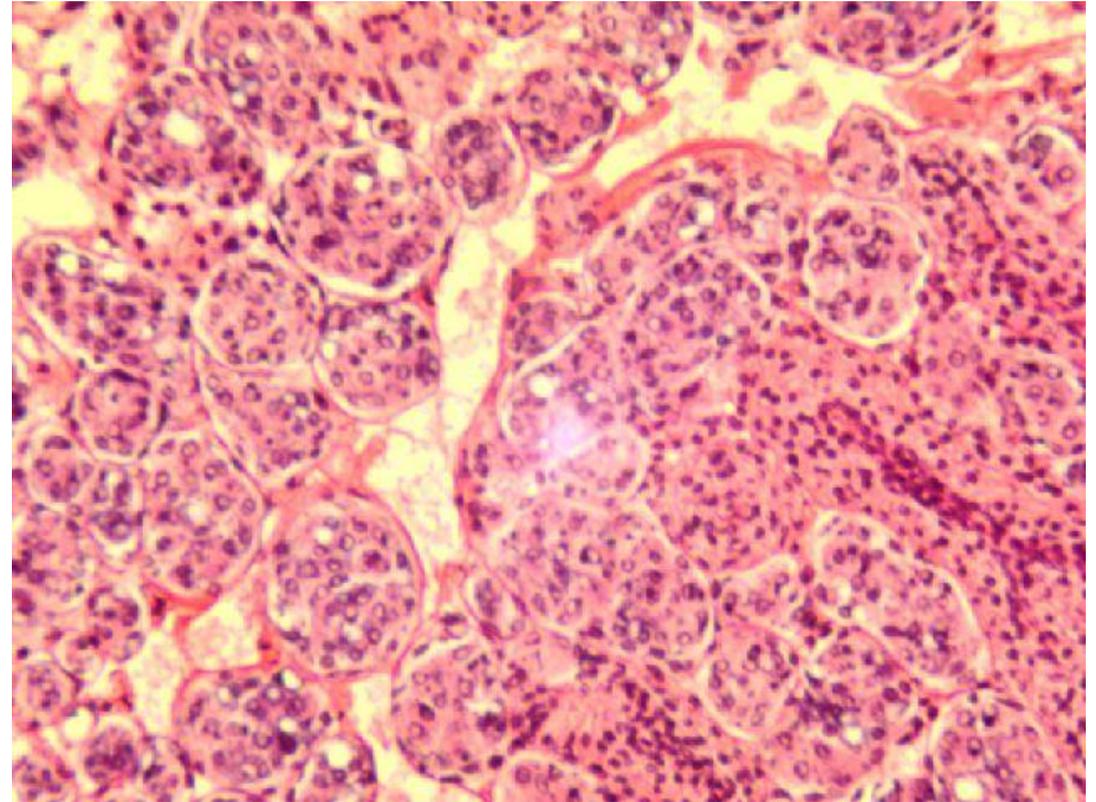


HP Nivel de Lípidos	HP atrofia de túbulos (signo de NHP)	HP desprendimiento celular en los túbulos (signo de NHP)	HP tubulos septico e inflamados (vibriosis)	HPV virus en HP	Organo linfoide LOS	LOS ectópico	Gregarinas	Ciliados peritricos externos	Microsporidio teids muscular
G=3, n=4					G=3	G=3	G=2-3		
G=0-3, n=8	G=3-4	G=2	G=3-4	G=1	G=4	G=2	G=1-3	G=1-2	

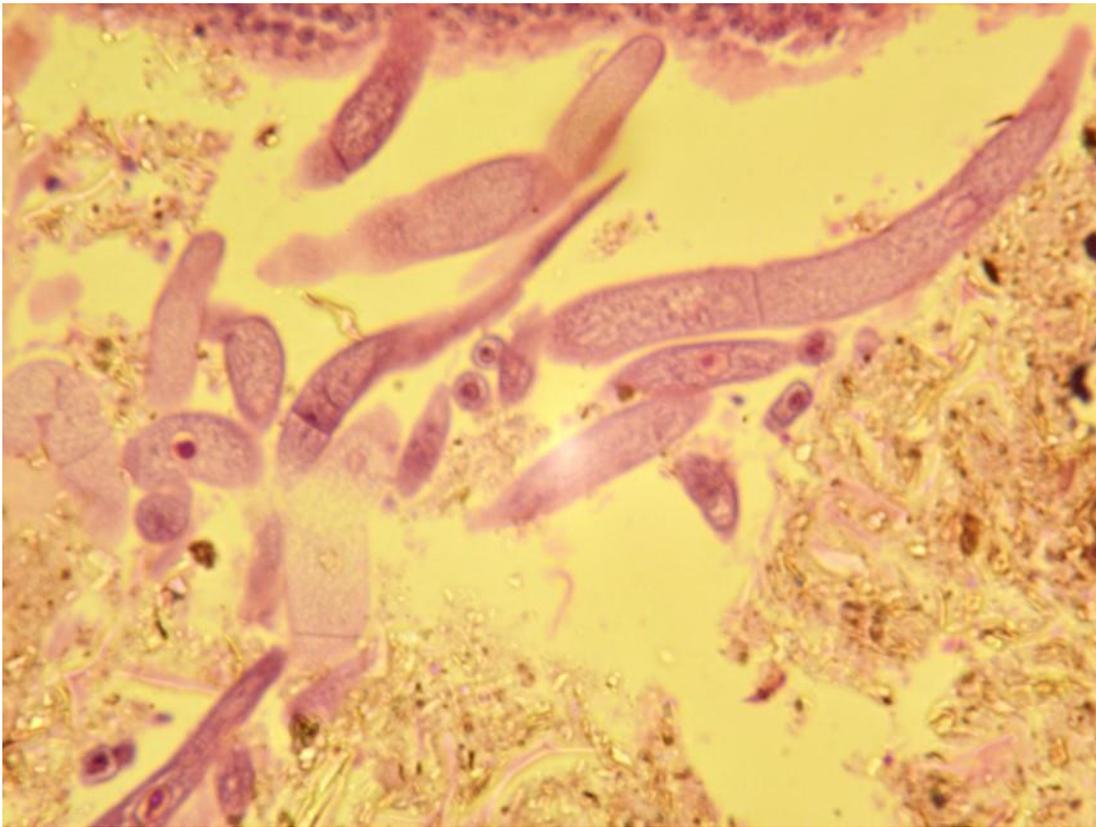
HP con lípidos, normal.



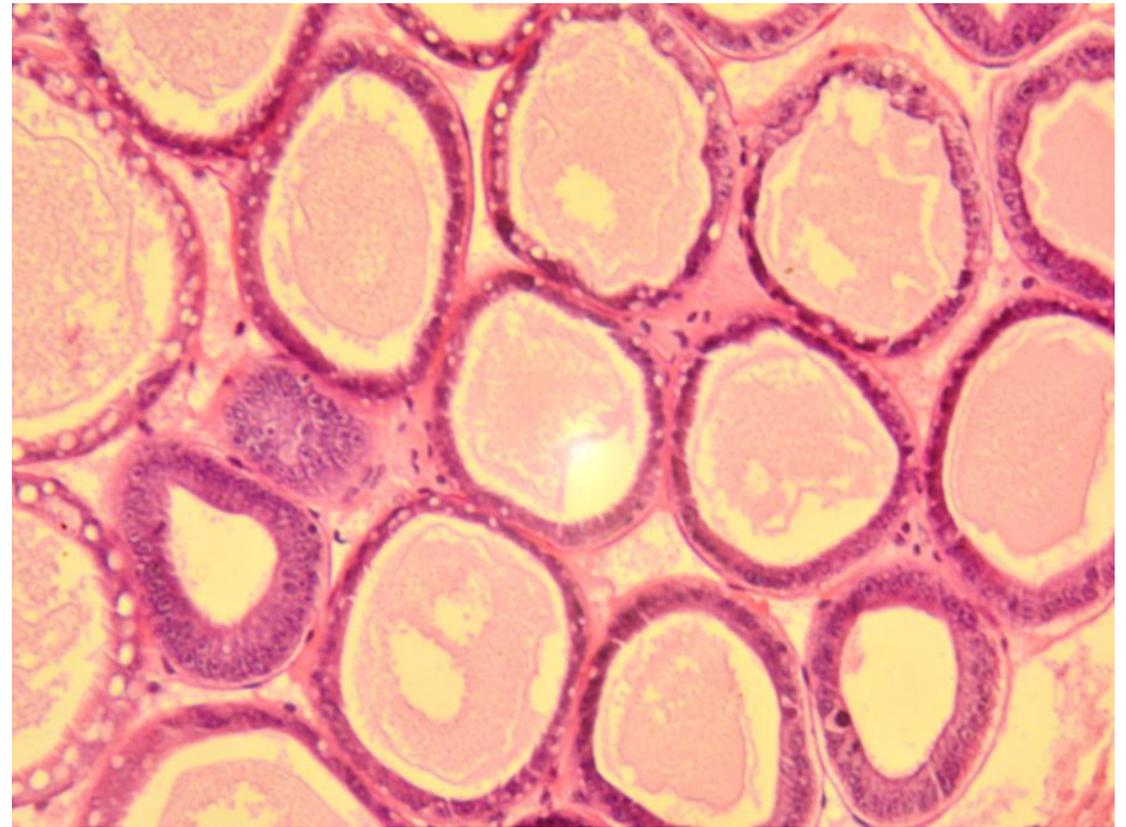
Organo linfoide con esferoides



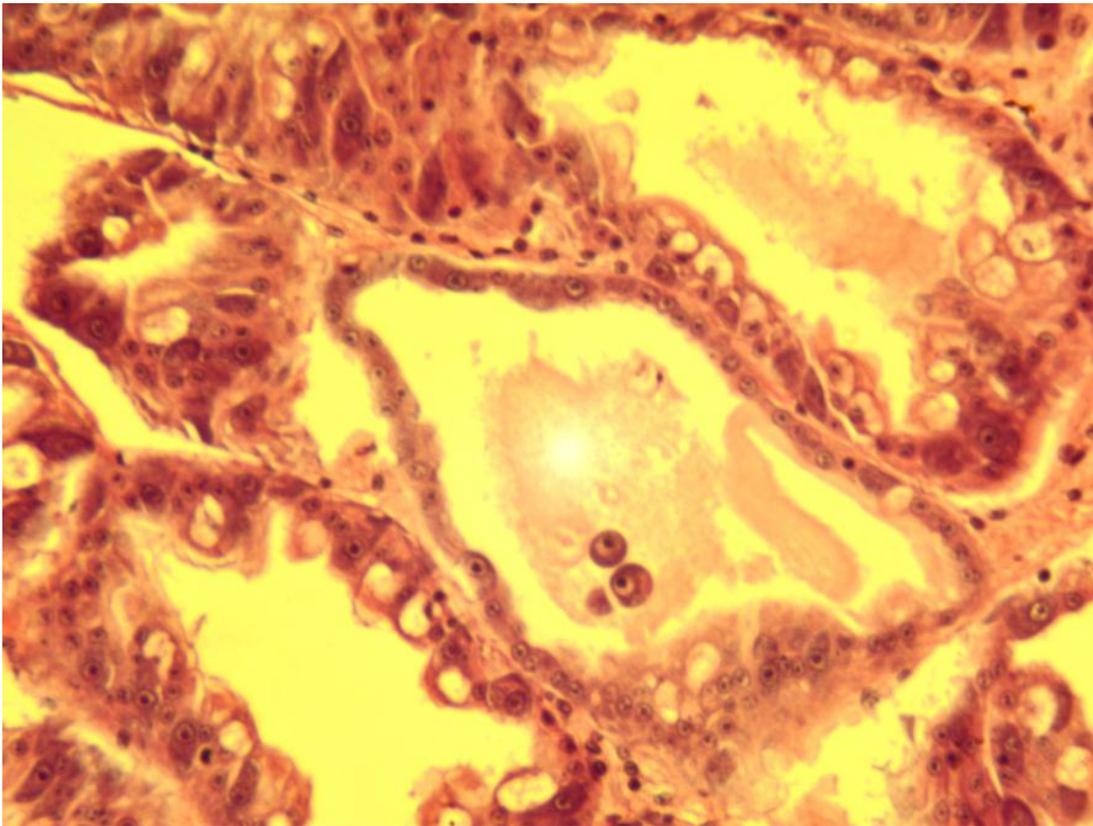
Gregarinas en el intestino.



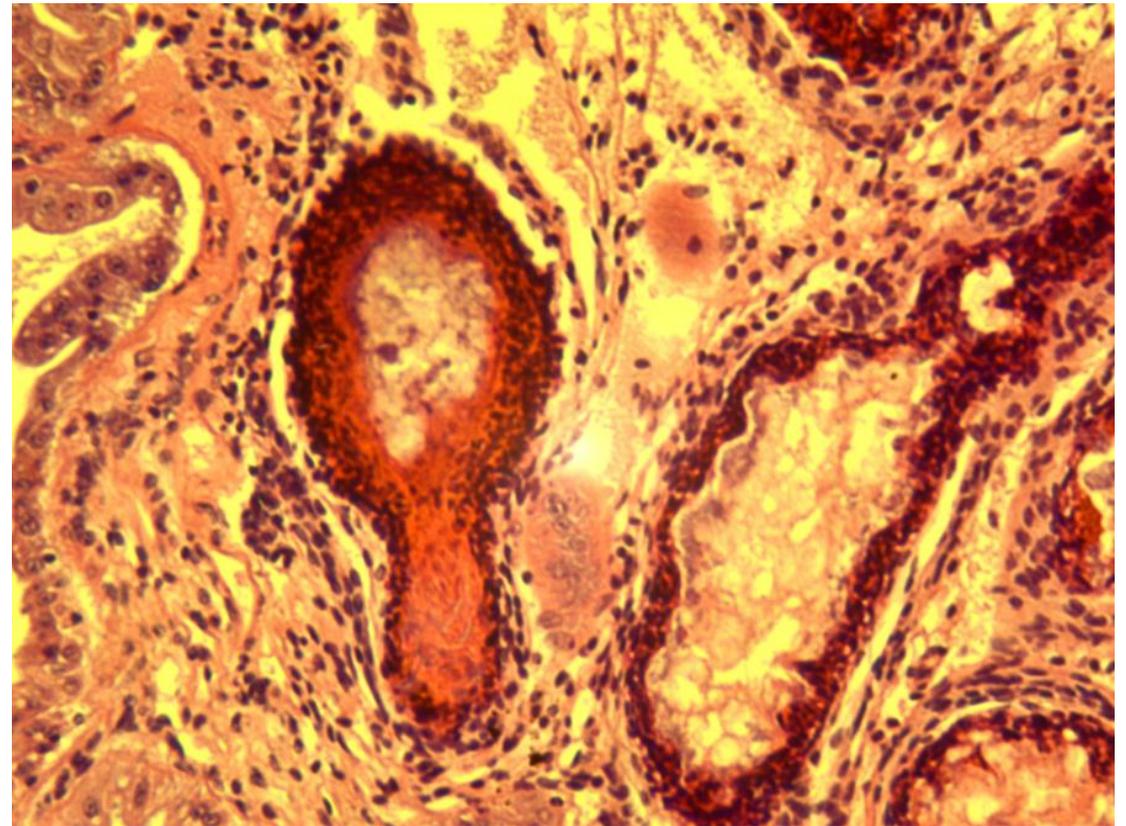
HP con túbulos atrofiados.



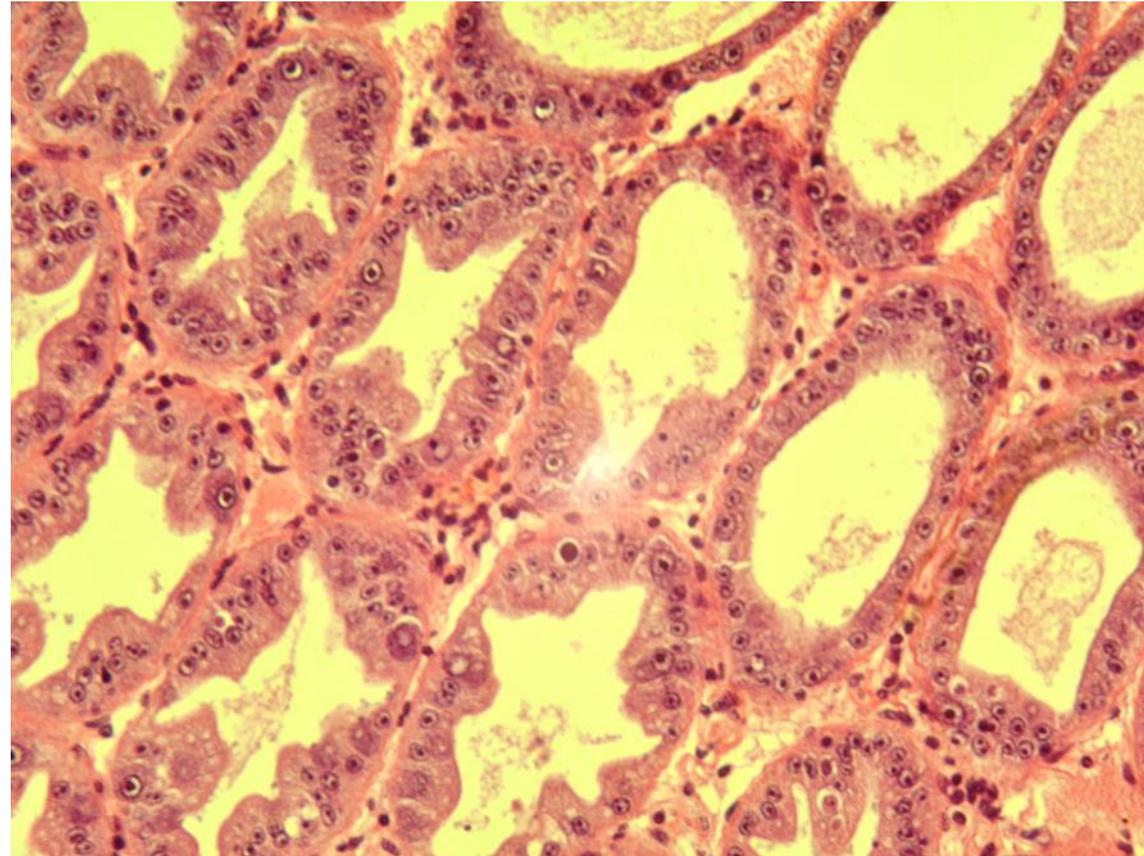
HP con desprendimiento de células.



HP con inflamación y tubulos melanizados.



Ecuador, Marzo 2015
Hepatopancreas with HPV, Isla 1



Ecuador, Marzo 2015, bacteriología.

Isla 1, salinidad 5-8 ppt, temperatura 31-32°C.



Finca	Piscina	Camaron	Tejidos	Agar	UFC/Crecimiento
X	A	1	HP	TCBS	neg
X	A	2	HP	TCBS	neg
X	A	3	HP	TCBS	neg
X	A	4	HP	TCBS	neg
X	B	1	HP	TCBS	ver-ama niveles bajos
X	B	2	HP	TCBS	ver-ama niveles bajos
X	B	3	HP	TCBS	ver-ama niveles bajos
X	B	4	HP	TCBS	neg

Bacteriología

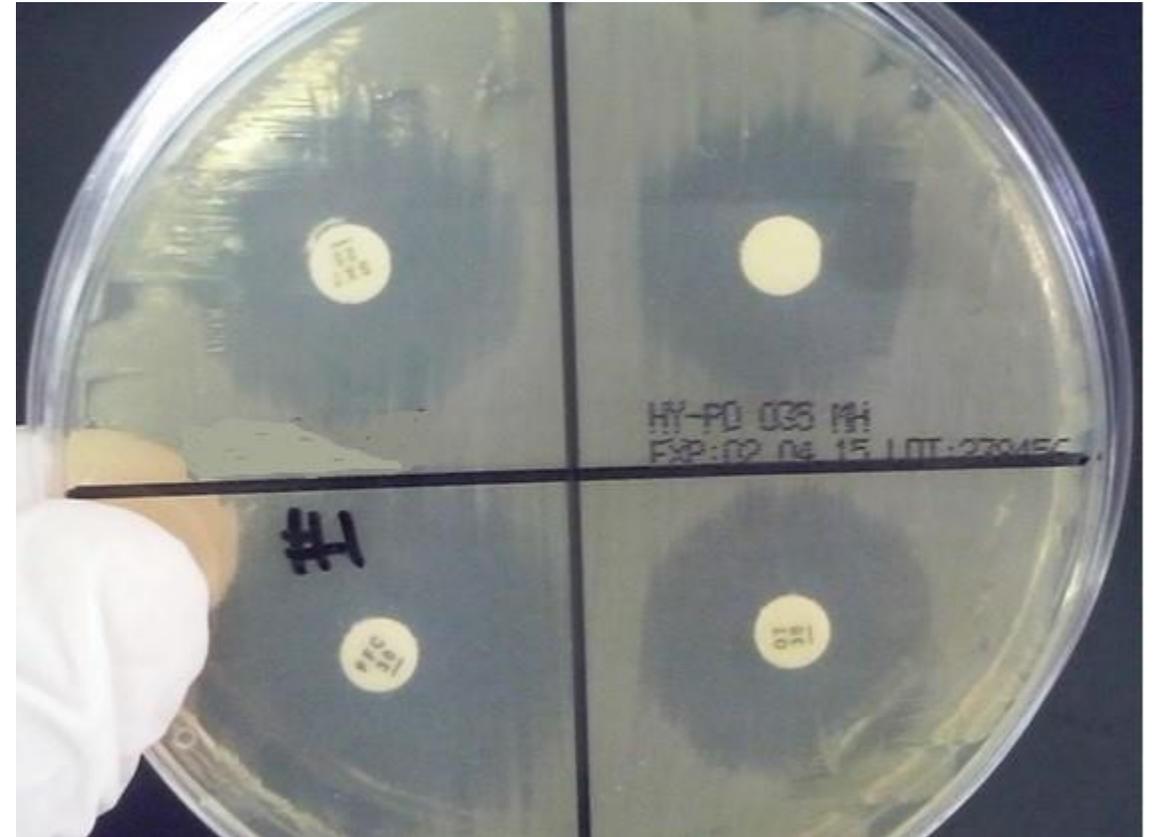
Isla 2, salinidad 5 ppt, temperatura 31°C



Finca	Piscina	Camaron	Tejidos	Agar	UFC/Crecimiento
Y	A	1	HP	TCBS	verdes niveles bajos
Y	A	1	Hemo	TCBS	neg
Y	A	2	HP	TCBS	amarillo niveles bajo
Y	A	2	Hemo	TCBS	neg
Y	A	3	HP	TCBS	neg
Y	A	3	Hemo	TCBS	neg
Y	B	1	HP	TCBS	neg
Y	B	1	Hemo	TCBS	neg
Y	B	2	HP	TCBS	neg
Y	B	2	Hemo	TCBS	neg
Y	B	3	HP	TCBS	amarillo niveles bajo
Y	B	3	Hemo	TCBS	neg

Finca	Piscina	Camaron	Tejidos	Agar	UFC/Crecimiento
Z	A	1	HP	TCBS	amarillo niveles bajo
Z	A	1	Hemo	TCBS	neg
Z	A	2	HP	TCBS	amarillo niveles bajo
Z	A	2	Hemo	TCBS	amarillo niveles bajo
Z	A	3	HP	TCBS	amarillo niveles bajo
Z	A	3	Hemo	TCBS	neg
Z	A	4	HP	TCBS	amarillo niveles bajo
Z	A	4	Hemo	TCBS	neg

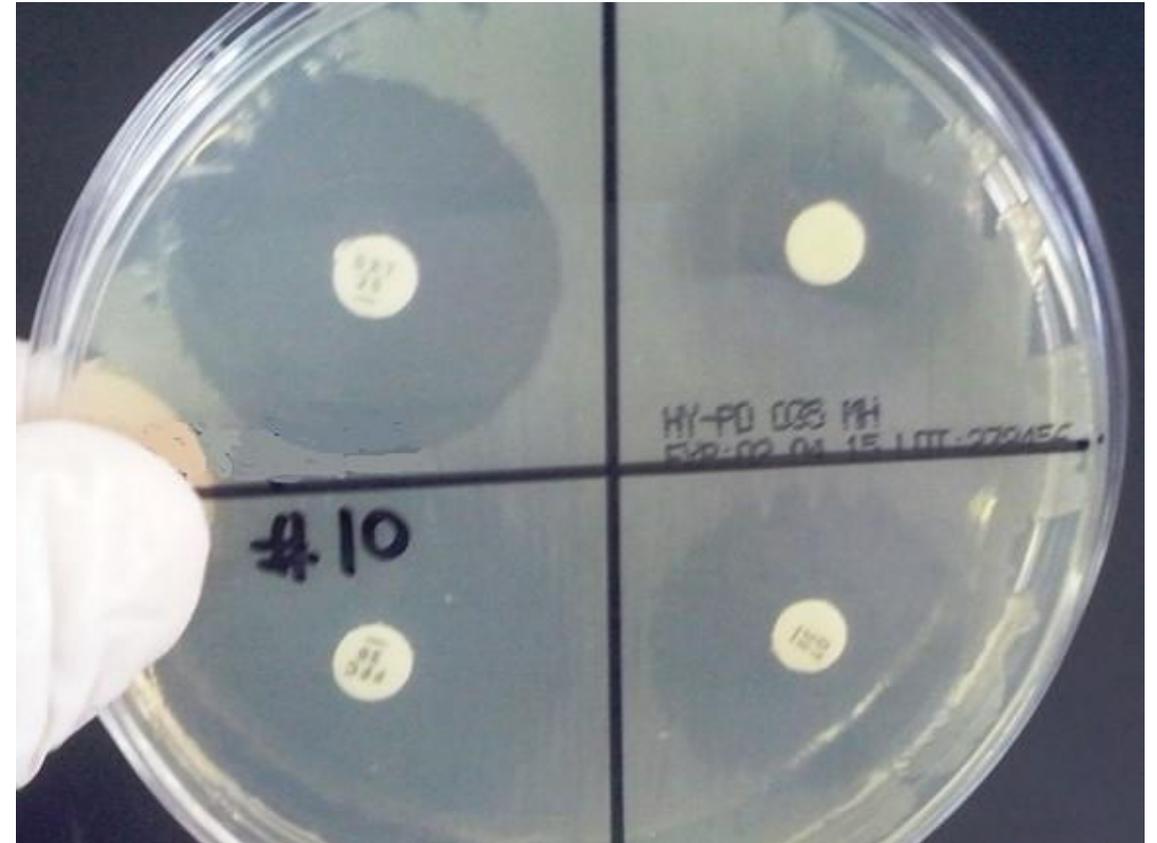
- **Hepatopancreas, Green colonies on TCBS – Marine Vibrio**
- **Top row: SXT (left), VM (right)**
- **Bottom row: FFC (left), OT (right)**



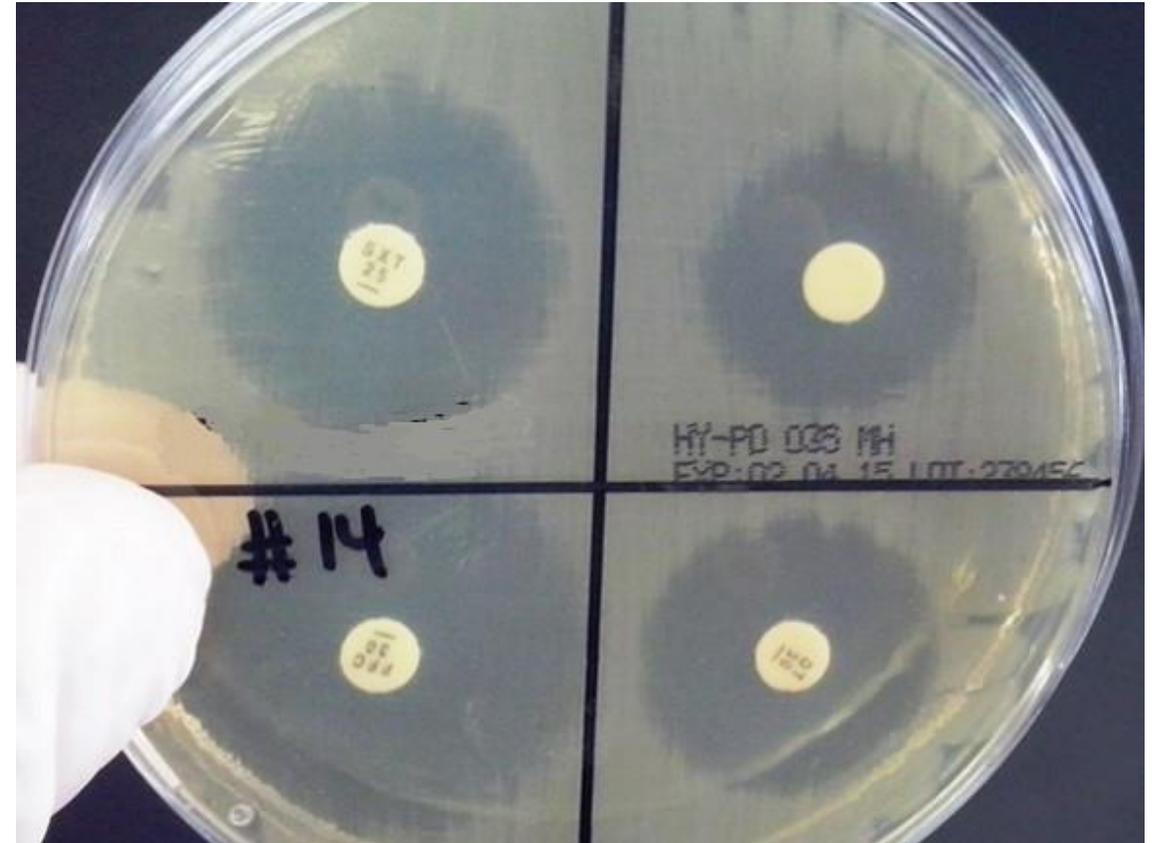
Antibiograma

Ecuador Marzo 2015

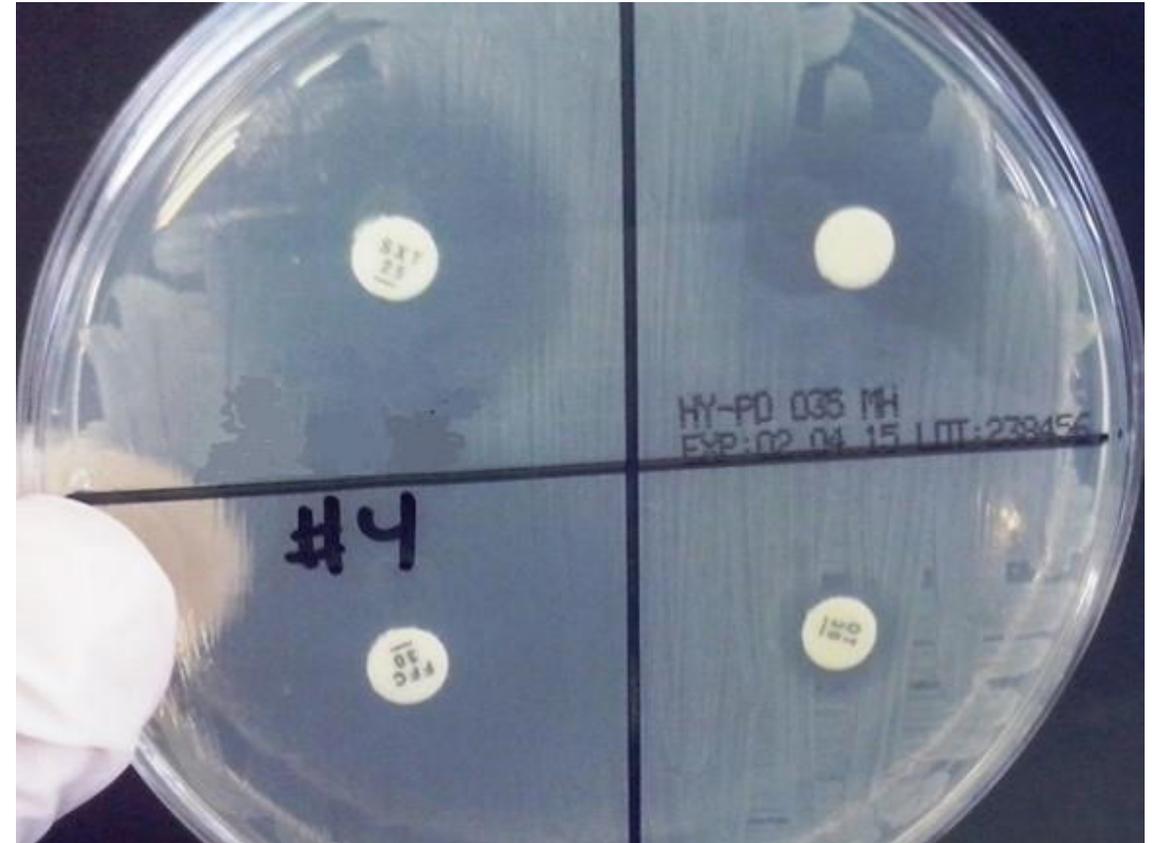
- **Hepatopancreas, Yellow colonies on TCBS – Marine Vibrio**
- **Top row: SXT (left), VM (right)**
- **Bottom row: FFC (left), OT (right)**



- **Hepatopancreas, Green colonies on TCBS**
- **Top row: SXT (left), VM (right)**
- **Bottom row: FFC (left), OT (right)**



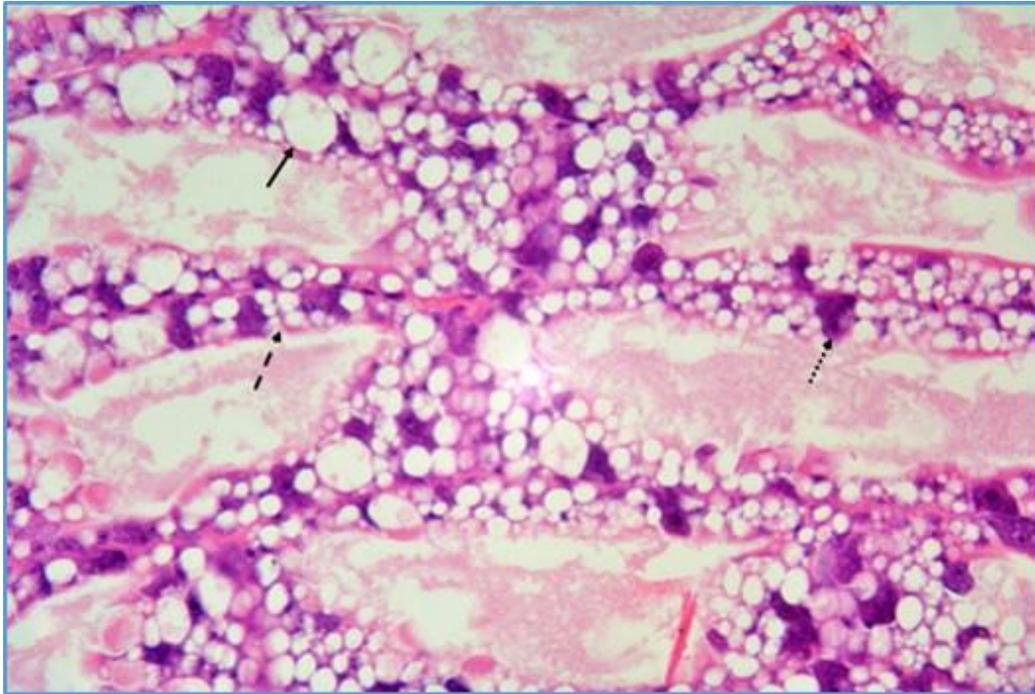
- **Hepatopancreas, Yellow colonies on TCBS**
- **Top row: SXT (left), VM (right)**
- **Bottom row: FFC (left), OT (right)**



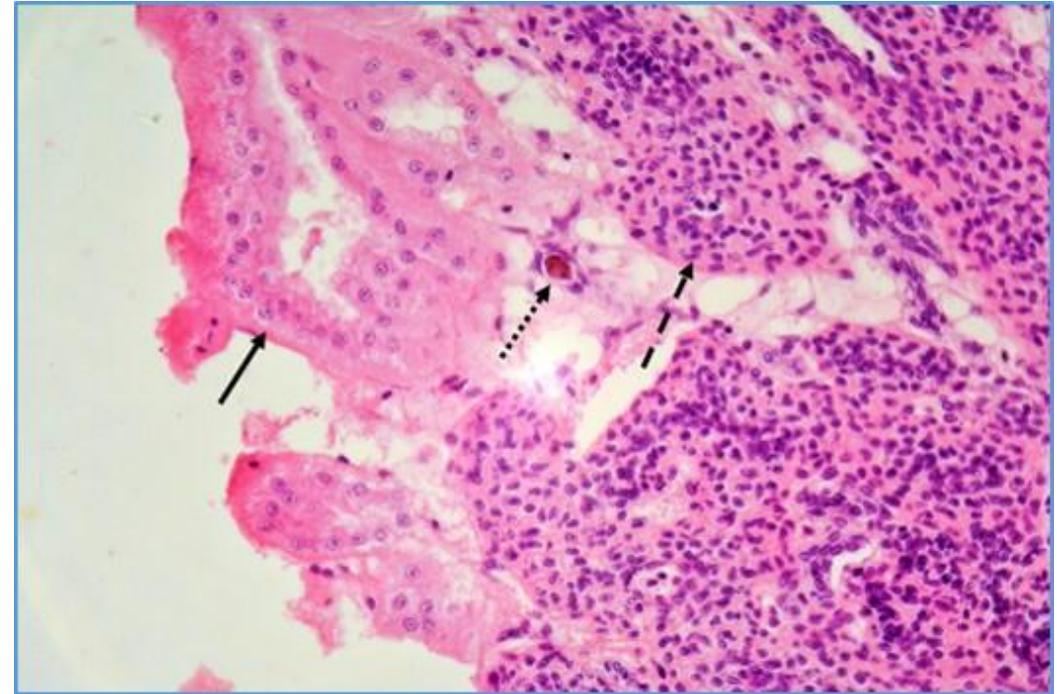
Piscina #	Camarón	Vacuolas lipídicas en el HP	Desprendimiento de células de los túbulos del HP	Nódulo hemocítico en la glándula antenal	Bioensuciamiento por <i>Zoothamnium</i> de las branquias
1	A	G2-3*	G0	G<1	G0
1	B	G2	G0	G0	G1
10	C	G<1	G2	G0	G1
10	D	G3	G0	G0	G0

- 1) El hallazgo más significativo fue desprendimiento de células en los túbulos del HP, la ausencia o presencia de pocas vacuolas lipídicas en el caso. Estos son signos presuntivos de una posible infección temprana por NHP (bacteria intracelular) en la muestra C.
- 2) El hallazgo de una lesión muy leve indicado por la presencia de un nódulo hemocítico en la glándula antenal en la muestra A de la piscina #1. Esta leve lesión está indicando el comienzo de una infección por bacterias extracelulares posiblemente por *Vibrio*.
- 3) Bioensuciamiento por ciliados como *Zoothamnium* en las branquias fue detectado a un nivel muy bajo (G<1) en la muestra C de la piscina #10.
- 4) No se observaron patologías causadas por WSSV, IHHNV o TSV en todas las cuatro muestras de camarones revisadas.
- 5) No se observaron infestaciones por Gregarinas en los intestinos o infestaciones por Microsporidios en la musculatura de las colas.

Hepatopancreas con lípidos.



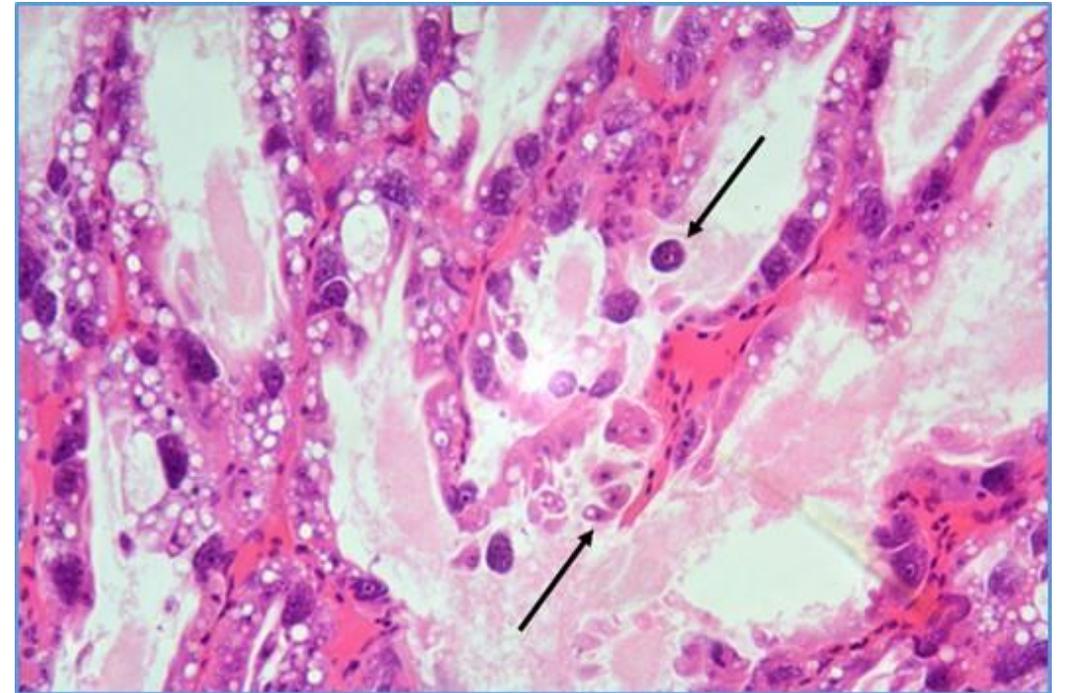
Glándula antenal y órgano linfoide, nódulo hemocítico.



Hepatopancreas sin lípidos.



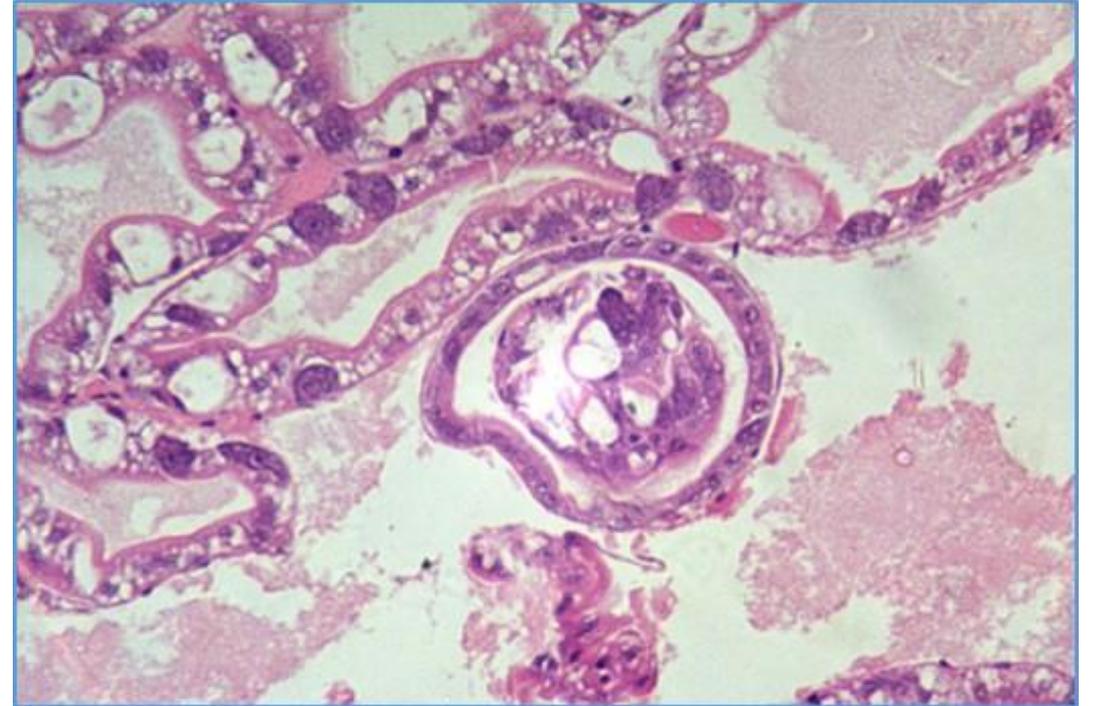
Desprendimiento de células en el HP.



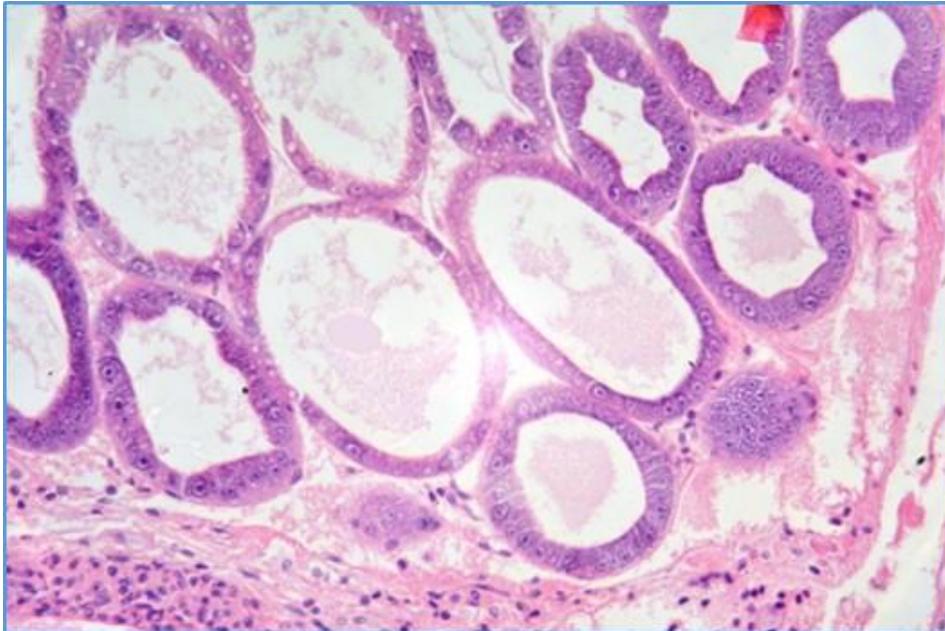
Ecuador

Abril 2015, Continente, Finca B

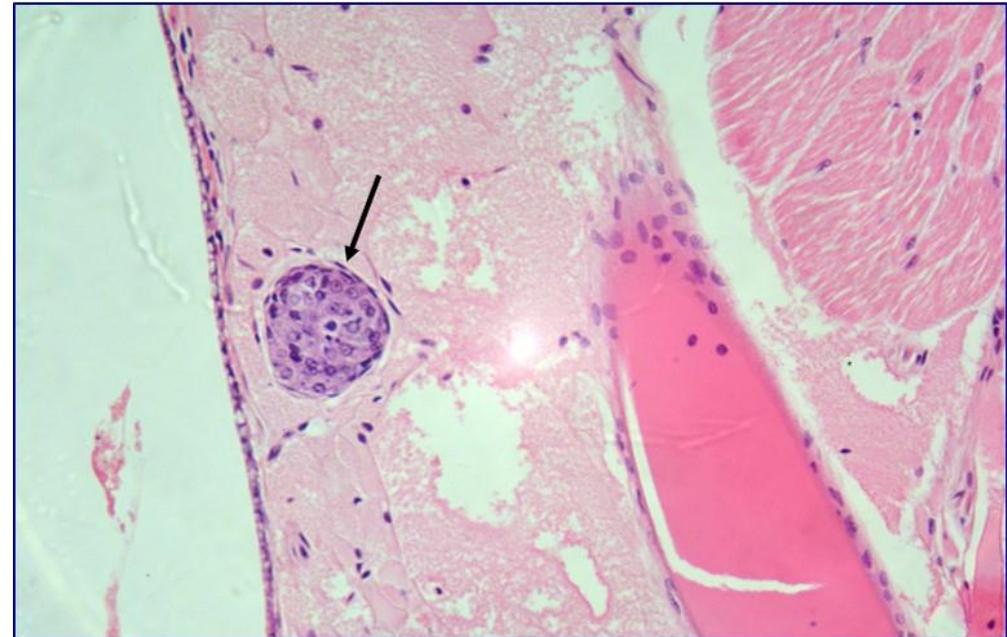
Piscina #	Camarón	Vacuolas lipídicas en el HP	Desprendimiento de células de los túbulos del HP	Paredes delgadas de los túbulos del HP	Esféroides ectópicos del órgano linfoide	Necrosis hialina del músculo en la cola	Bioensuciamiento por Zoothamnium de las branquias
25	A	G1*	G<1	G1	G<1	G1	G<1
25	B	G1	G<1	G1	G0	G0	G<1



Atrofia de los túbulos en el HP.



Nódulo hemocítico.



Ecuador

April 2015, Isla, Finca C

Piscina #	Camaron #	Glándula Antenal	Organo Linfoide	LOS Sistémico	Epitelio subcuticular	Tejido Hematopoyético	Epitelio Estomago	Hepatopáncreas	Ciego anterior	Intestino medio	Intestino posterior	Branquias	Exoesqueleto
8	8A	N	N	NE G	N	N	N	Lípidos G2	Greg	Greg G2	Macro y micro gametos de Greg	N	ZT G1
8	8B	N	N	NE G	N	N	N	lípidos G2	A	Greg G1	N	N	ZT G1
11	11A	N	N	NE G	N	N	N	lípidos G2	A	N	Macro y micro gametos de Greg	ZT G=1	ZT G1
11	11B	WSS V G3	KR	NE G	WSS V G3	WSSV G2	WSS V G3	lípidos G2	A	N	WSSV G2	WSSV G2	ZT G1
13	13A	WSS V G2	KR	NE G	WSS V G3	WSSV G2, KR	WSS V G3	lípidos G2, DESP CEL, KR	N	N	A	WSSV G3, KR, ZT G1	ZT G1
13	13B	WSS V G1	HEM INF	NE G	WSS V G3	WSSV G1	WSS V G3	lípidos G0-1, DESP CEL, HEM INF	N	A	A	WSSV G2, KR, ZT G1	ZT G1
14	14A	N	LOS G1-2	G1	N	N	N	lípidos G1-2	N		A	N	N

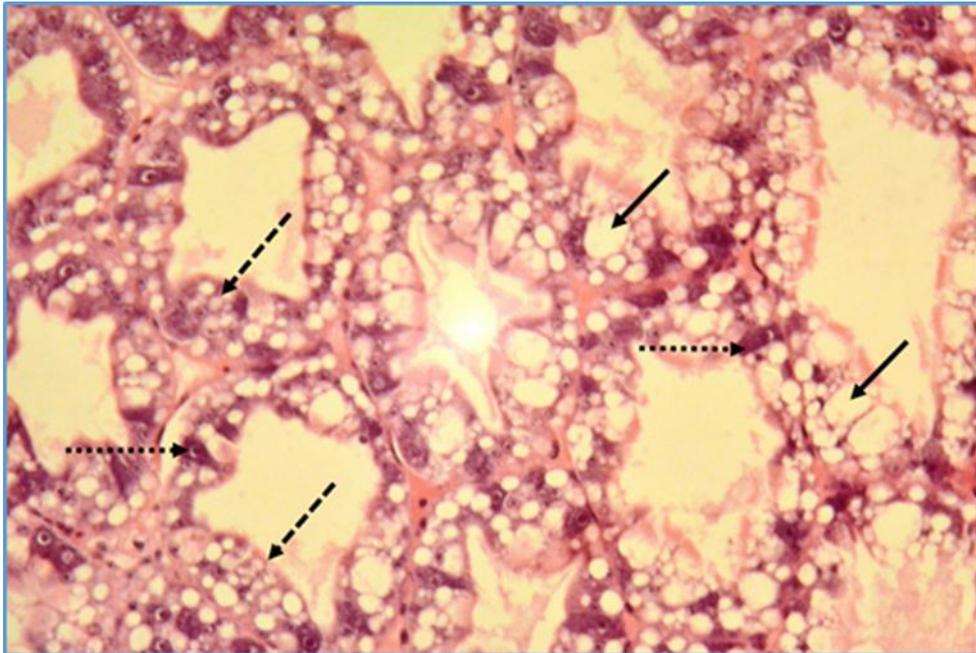
WSSV en el epitelio del estomago.



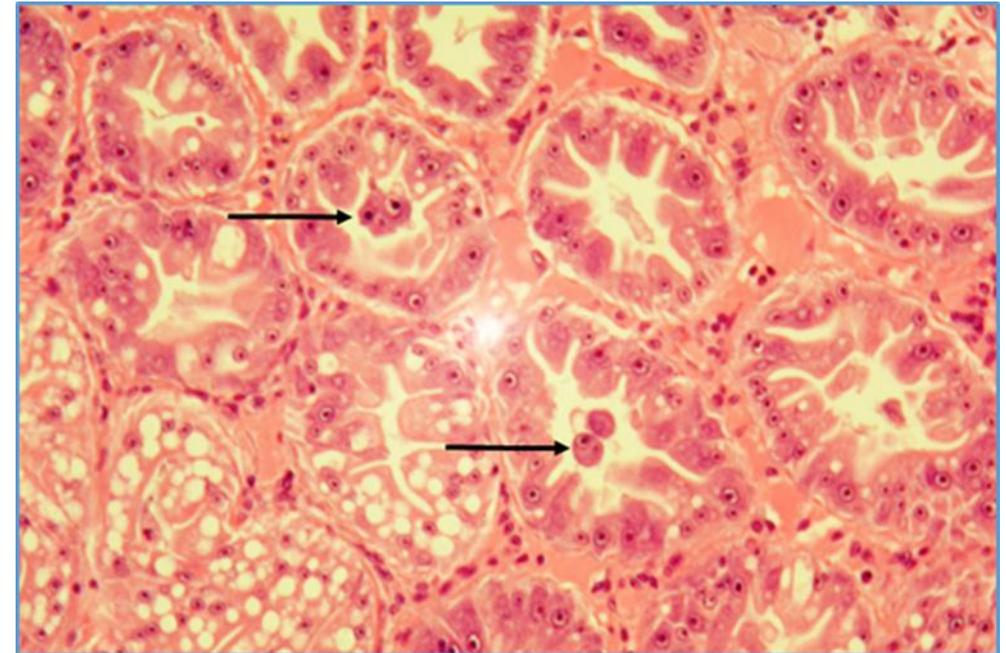
WSSV en las branquias.



HP, normal, con lípidos.



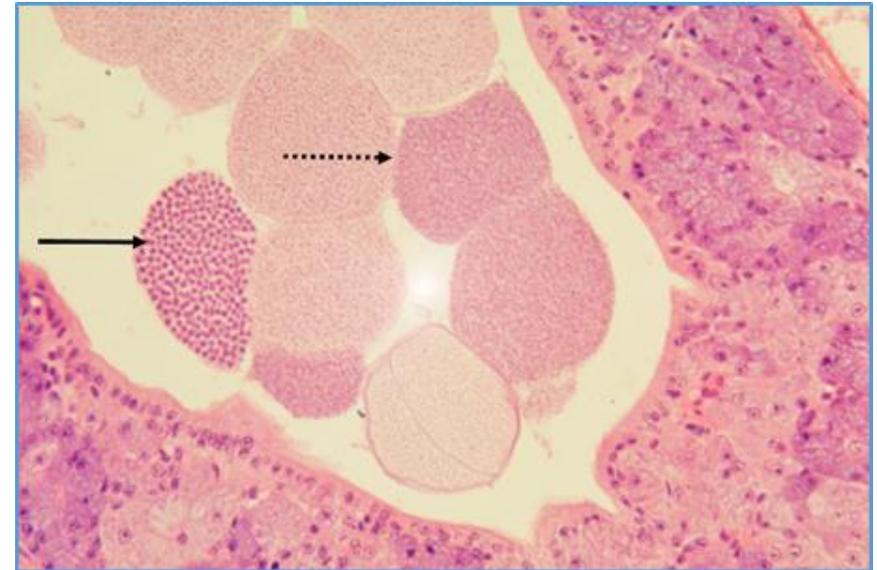
Desprendimiento de células en el HP.



Gregarinas en el intestino.



Macro y micro-gametos.



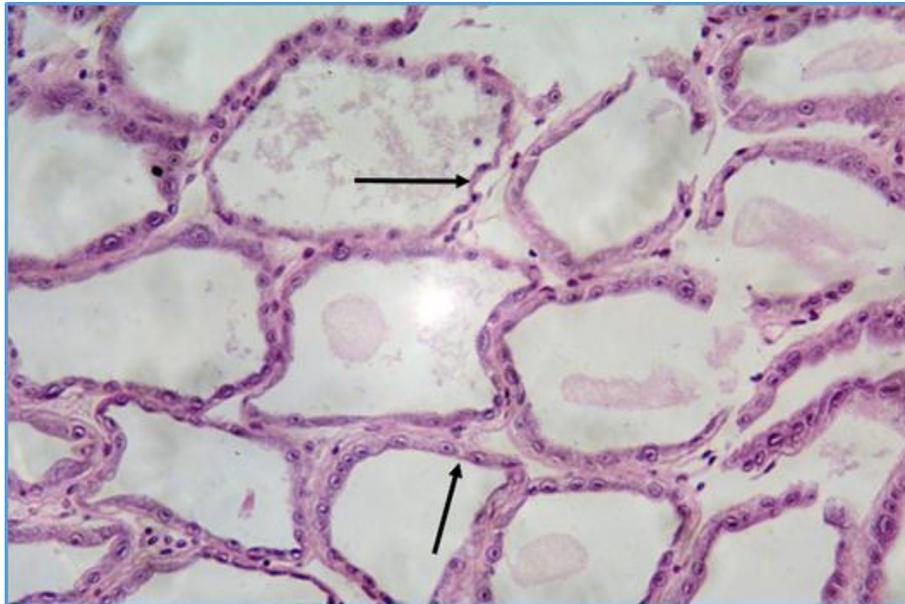
Panamá

Mayo 2015, Resumen de la histología, Finca A

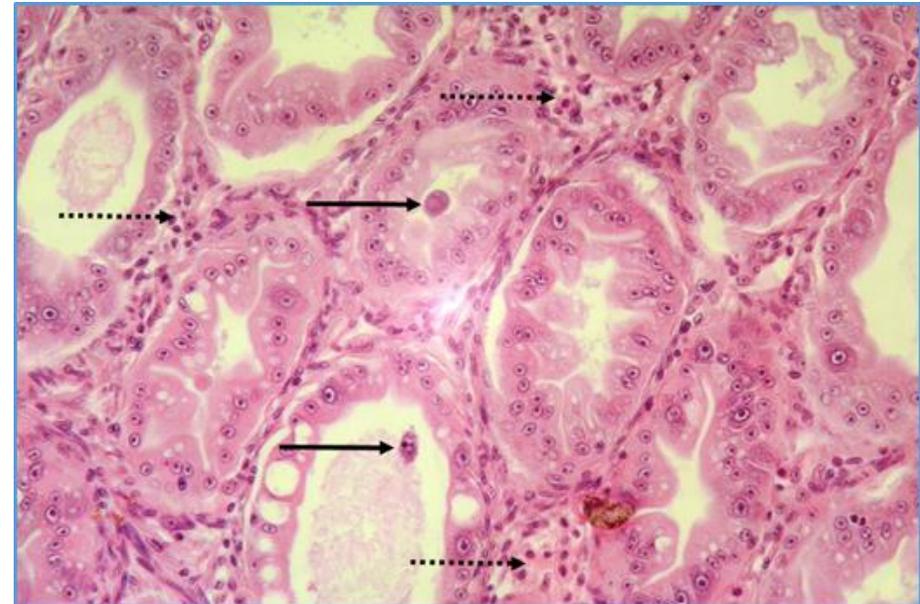


Piscina #	Camarón #	Glándula Antenal	Organo Linfoide	Epitelio subcuticular	Tejido Hematopoyético	Epitelio Estomago	Hepatopanereas	Intestino medio	Intestino posterior	Branquias	Tejido muscular en la cola	Exoesqueleto
10	A	N	N	N	N	N	Lípidos G0*, CEL B, CEL F, Paredes delgadas, NHP	N	Micro-gametos de GREG	N	Necrosis hialino muscular	ZT G1
10	B	N	N	N	N	N	Lípidos G0, CEL B G0, CEL F G0, DESP-CEL, INFIL HEM, NHP?	N	Macro y micro-gametos de GREG	ZT G1	N	N
11	A	N	N	N	N	N	Lípidos G0, CEL B, CEL F, INFIL HEM, NHP?	Etapa temprana de GREG	Macro y micro-gametos de GREG	ZT G2	N	ZT G1
11	B	N	N	N	N	N	Lípidos G0, CEL B, CEL F, INFIL HEM, NHP?	N	Micro-gametos de GREG	ZT G2	N	ZT G1
11	C	N	N	N	N	N	Lípidos G0, CEL B G0, CEL F G0, DESP-CEL, INFIL HEM, KR en Hemocitos, NHP	N	A	N	N	N

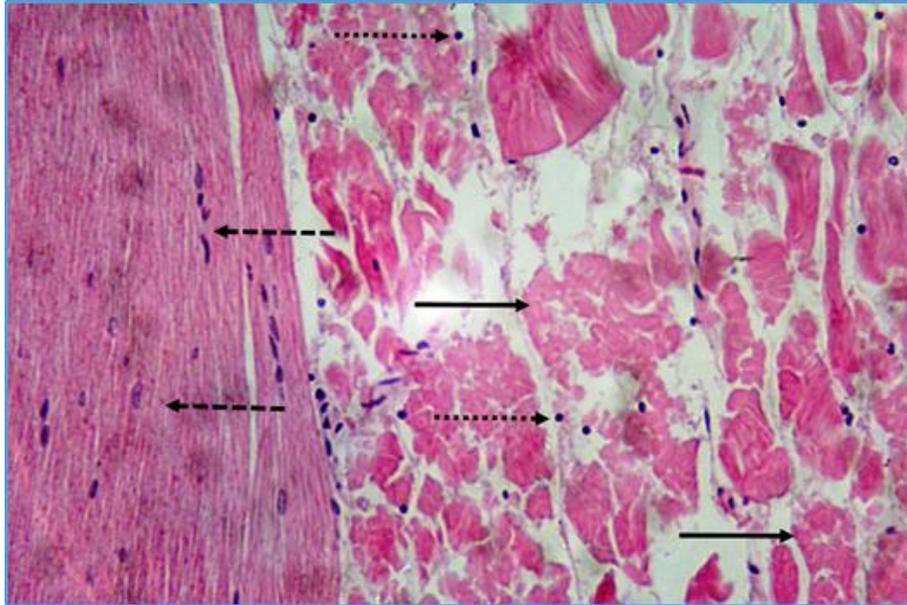
HP con túbulos atrofiados.



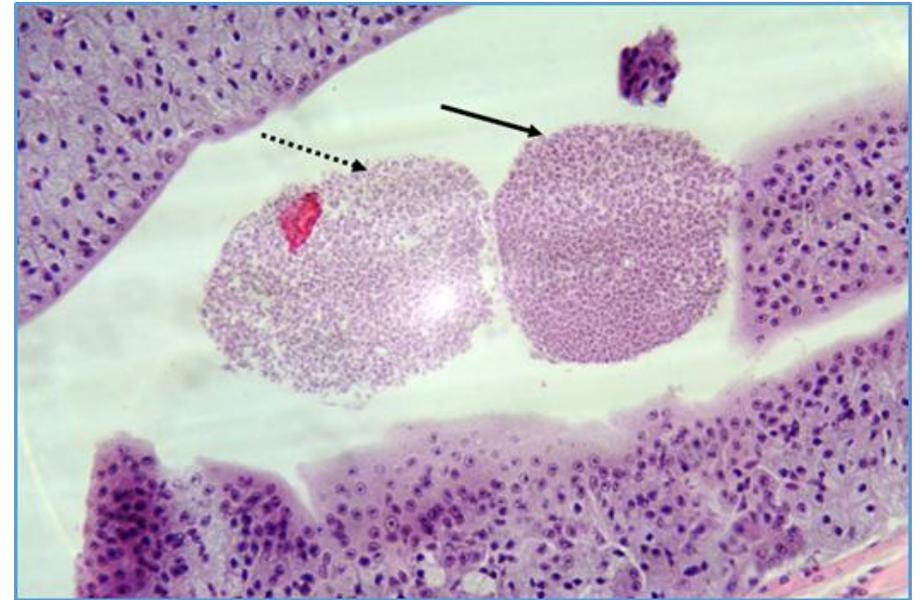
HP con infiltración de hemocitos, desprendimiento de células.



Tejido muscular y necrosis.



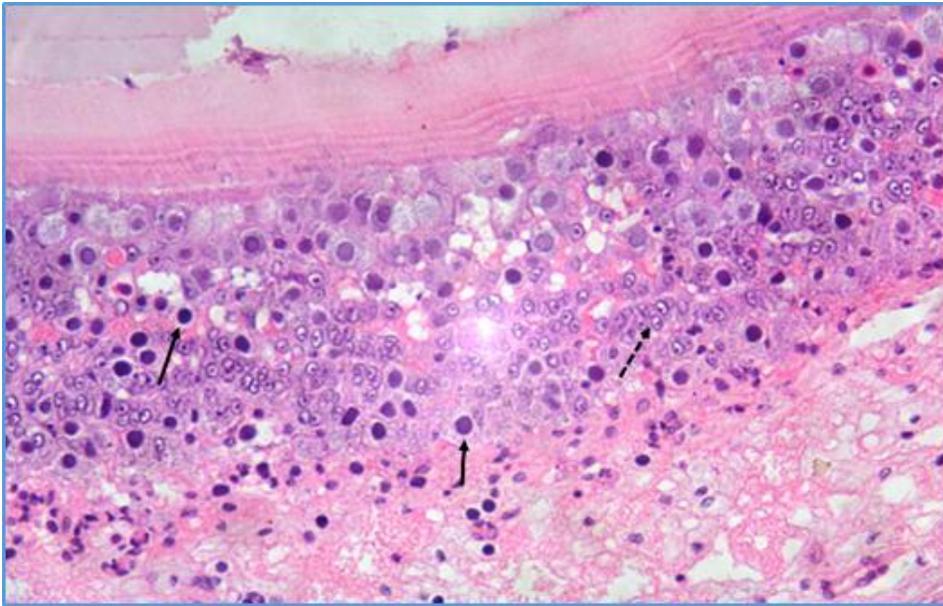
Macro y micro gametos de gregarinas.



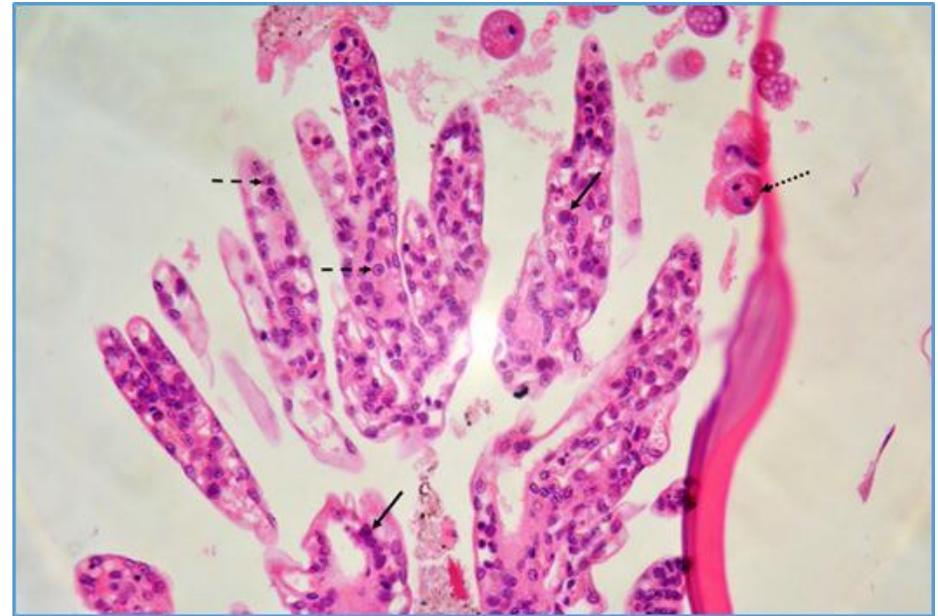
Camarón	Vacuolas lipídicas (HP)	Organo linfoide / núcleos picnóticos y cariorexix	WSSV Mancha Blanca	Bioensuciamiento por Zoothamnium
A	G3*	G2	G1-3	G2
B	G2	G0	G0	G2

- El hallazgo más significativo fue la presencia de cuerpos de inclusión basófilos de WSSV en los núcleos de las células del epitelio del estómago, epitelio subcuticular, glándula antenal, branquias y tejido hematopoyético en la muestra B en niveles bastante moderados.
- En el órgano linfoide de la muestra B se observaron núcleos picnóticos y cariorexix.
- No se detectaron lesiones típicas de diagnóstico de la infección por NHP (bacteria intracelular) y vibriosis (bacteria extracelular) en ambas muestras A y B.
- En muestra B no se detectó patologías.

WSSV, en el epitelio del estomago.



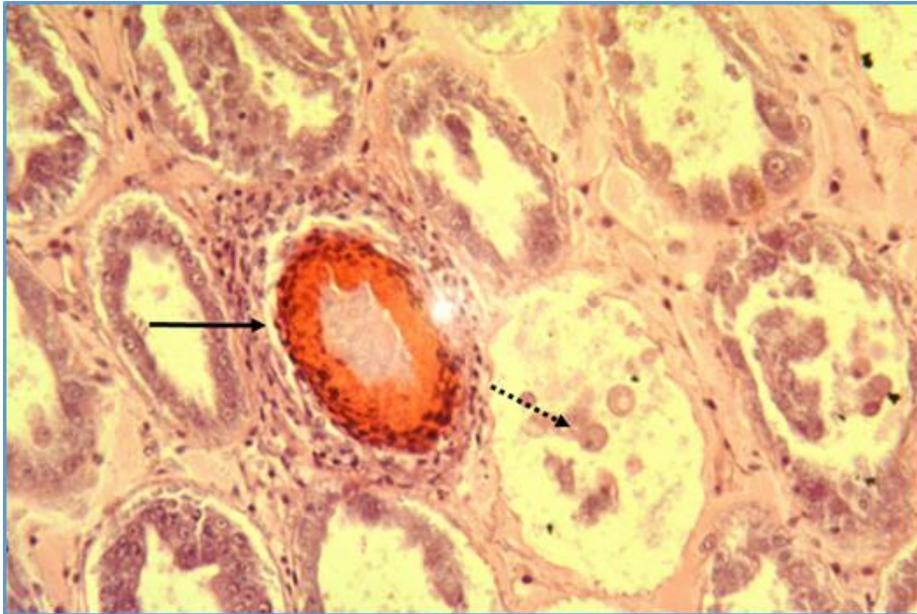
WSSV, en las branquias.



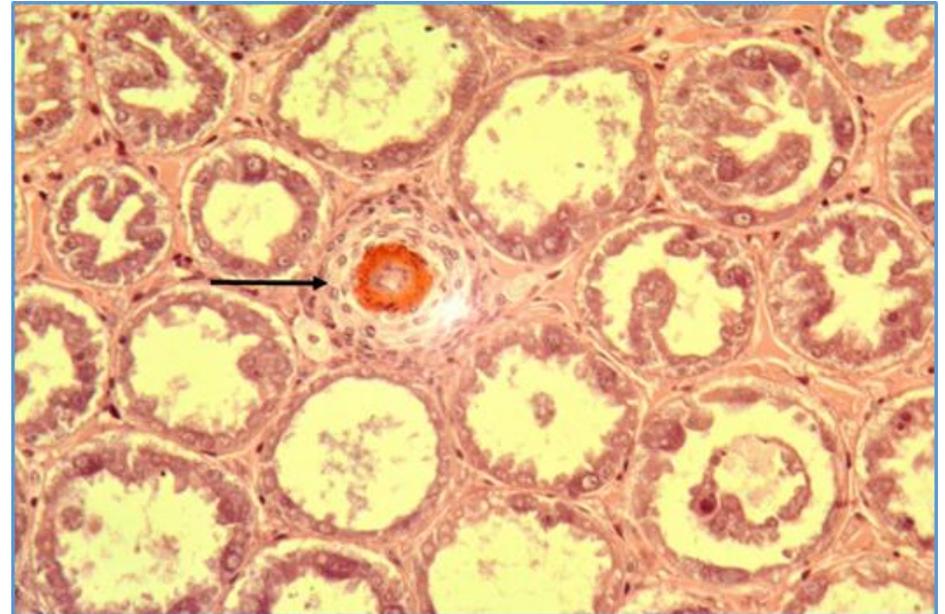
Piscina #	Camarón	Vacuolas lipídicas en el hepatopaneas (HP)	Desprendimiento de células, infiltración de hemocitos, granulomas, tubos melanizados	Paredes delgadas de los túbulos del HP	Organo linfoide, infiltración de hemocitos	Tejido hematopoyético, infiltración de hemocitos	Intestino con el epitelio necrotizado y melanizado	Bioensuciamiento por <i>Zoothamnium</i> de las branquias
8	A	G0-1*	G0	G0	G0	G1	G0	G0
8	B	G0	G2-3	G2	G1-2	G0	G2-3	G0

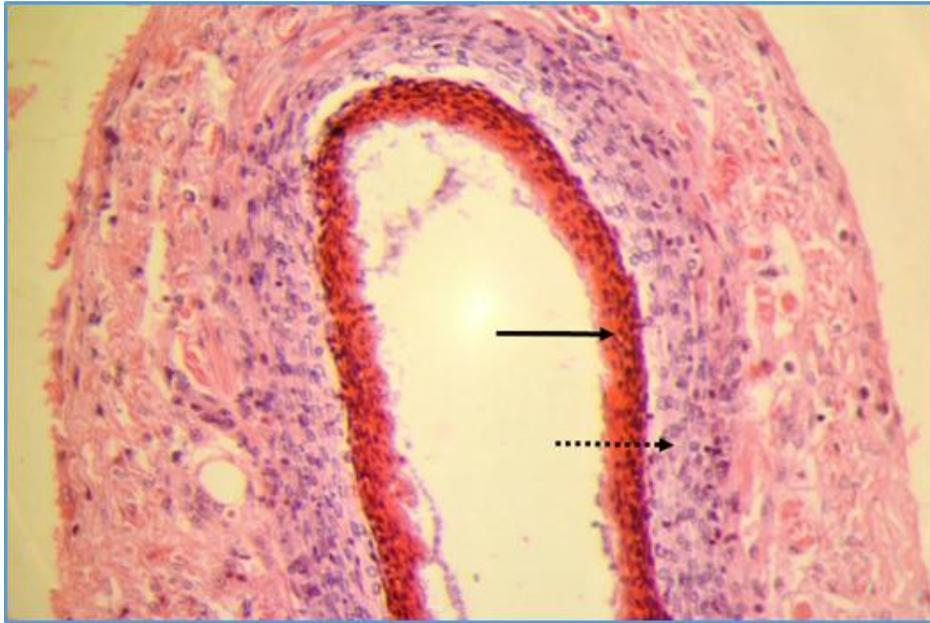
- 1) Hepatopáncreas (HP) con vacuolas lipídicas, una indicación de la absorción y el almacenamiento de nutrientes, se detectaron en ausencia o niveles muy bajos de G0-1 en la muestras A y B. En el HP se observaron desprendimiento de las células de los túbulos con G2-3 y túbulos con paredes delgadas de G2 en la muestra B. Se observaron varios túbulos melanizados e inflamados. Hay presencia de granulomas melanizados.
- 2) En el órgano linfoide no se detectó patología en la muestra A, pero infiltración de hemocitos y núcleos picnóticos se observó en la muestra B.
- 3) En el tejido hematopoyético se observó una leve infiltración de hemocitos y núcleos picnóticos.
- 4) En el intestino se detectó el epitelio necrotizado y melanizado en la muestra B.
- 5) En las branquias no se detectó bioensuciamiento por ciliados tipo *Zoothamnium* (Muestra A y B).

**Encapsulación, melanización,
desprendimiento de células, vibriosis.**



**Granuloma melanizado,
desprendimiento de células, vibriosis.**





- Intestino (corte trasversal): Melanización (una respuesta inmunológica a una infección bacteriana extracelular) indicado por la flecha de línea sólida. Fuerte inflamación (infiltración de hemocitos) indicado por la flecha con puntitos. Muestra B.

Visitas Marzo-Abril-Mayo 2015

Hibridación In Situ (ISH) para NHP



Item	Country	SAMPLED DATE	SUSPECT
1	Ecuador	16-Mar-15	NHP
2	Ecuador	17-Mar-15	VIBRIOSIS
3	Ecuador	17-Mar-15	NHP
4	Ecuador	17-Mar-15	NHP
5	Ecuador	19-Mar-15	NHP
6	Ecuador	28-Apr-15	NHP
7	Ecuador	30-Apr-15	NHP
8	Panama	4-May-15	NHP
9	Panama	4-May-15	NHP
10	Honduras	8-May-15	VIBRIOSIS

Visitas Marzo-Abril-Mayo 2015

Hibridación In Situ (ISH) para NHP



Item	Country	SAMPLED DATE	SUSPECT	ISH NHP
1	Ecuador	16-Mar-15	NHP	Neg
2	Ecuador	17-Mar-15	VIBRIOSIS	Neg
3	Ecuador	17-Mar-15	NHP	Neg
4	Ecuador	17-Mar-15	NHP	Neg
5	Ecuador	19-Mar-15	NHP	Neg
6	Ecuador	28-Apr-15	NHP	Neg
7	Ecuador	30-Apr-15	NHP	Neg
8	Panama	4-May-15	NHP	Neg
9	Panama	4-May-15	NHP	Neg
10	Honduras	8-May-15	VIBRIOSIS	Neg

Visitas Marzo-Abril-Mayo 2015

Antibiograma, bacteriología, vibrios marinos



Source	Location	TCBS ORIGINAL ISOLATION	Tentative Bact ID	OTC 30 µg	VM 30 µg	FFC 30 µg	STX 30 µg	Media	Temp (°C)	Time (h)
Hepatopancreas	Ecuador	yellow	Vibrio	0	0	16	0	MH	26	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	0	0	26	25	MH	26	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	0	0	25	22	MH	26	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	20	0	25	21	MH	26	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	20	0	25	20	MH	26	24
Post larvae	Panama	green	Vibrio	21	0	30	20	MH	26	24
Hemolymph	Honduras	green	Vibrio	26	0	31	26	MH	27	24
Canal-Water	Honduras	green	Vibrio	26	0	33	26	MH	27	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	19	14	31	25	MH	27	24
Hepatopancreas	Honduras	green	Vibrio	0	0	33	26	MH	27	24
Hemolymph	Honduras	green	Vibrio	25	0	30	25	MH	27	24
Hepatopancreas	Ecuador	yellow	Vibrio	25	0	33	25	MH	27	24
Pond Water	Honduras	yellow	Vibrio	0	0	34	29	MH	27	24
Hepatopancreas	Honduras	yellow	Vibrio	0	0	34	28	MH	27	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	23	15	32	28	MH	27	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	27	0	31	28	MH	27	24
Hepatopancreas	Panama	green	Vibrio	34	14	40	40	MH	27	24
Hepatopancreas	Ecuador	green	Vibrio	20	0	28	21	MH	27	24
Hepatopancreas	Ecuador	white-yellow	Vibrio	15	15	20	18	MH	27	24
Hepatopancreas	Panama	yellow	Vibrio	20	0	25	19	MH	27	24

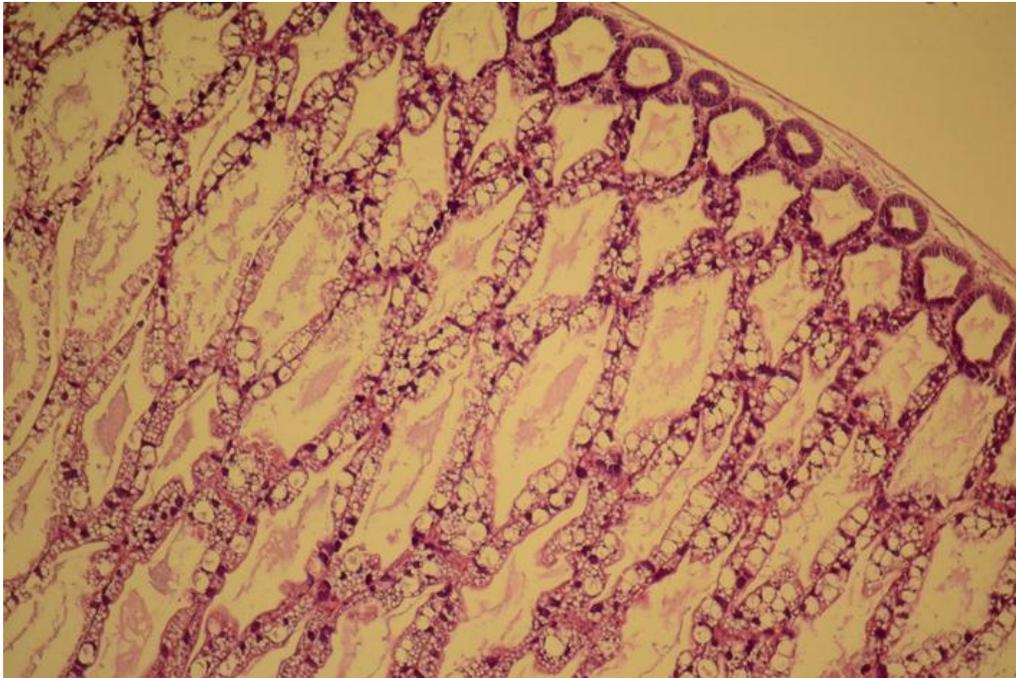
Ecuador

Agosto 2015, Continente, Finca A

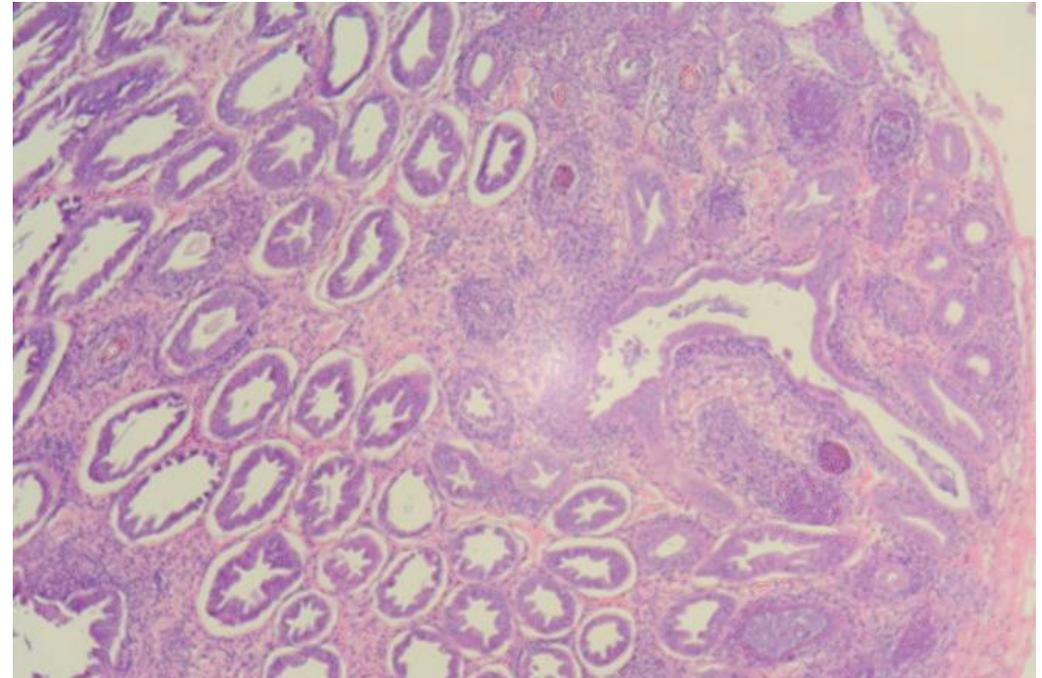


Piscina #	Camaron #	Glandula Antenal	Organo Linfoide	Tejido Hematopoyetico	Corazon	Epitelio Estomago	Hepatopaneas	Intestino posterior	Branquias	Tejido Muscular	Exo-esqueleto
1	A	N	N	N	N	N	N, LIPIDOS G=3	N	N	N	N
1	B	N	NA	N	N	N	Necrosis séptica del HP de G=4, granulomas con centros melanizados, inflamación severa, ausencia de vacuolas lipídicas, placas bacterianas en el lumen de los túbulos del HP.	N	N	N	N

HP con túbulos normales con lípidos.



Necrosis séptica del hepatopancreas.



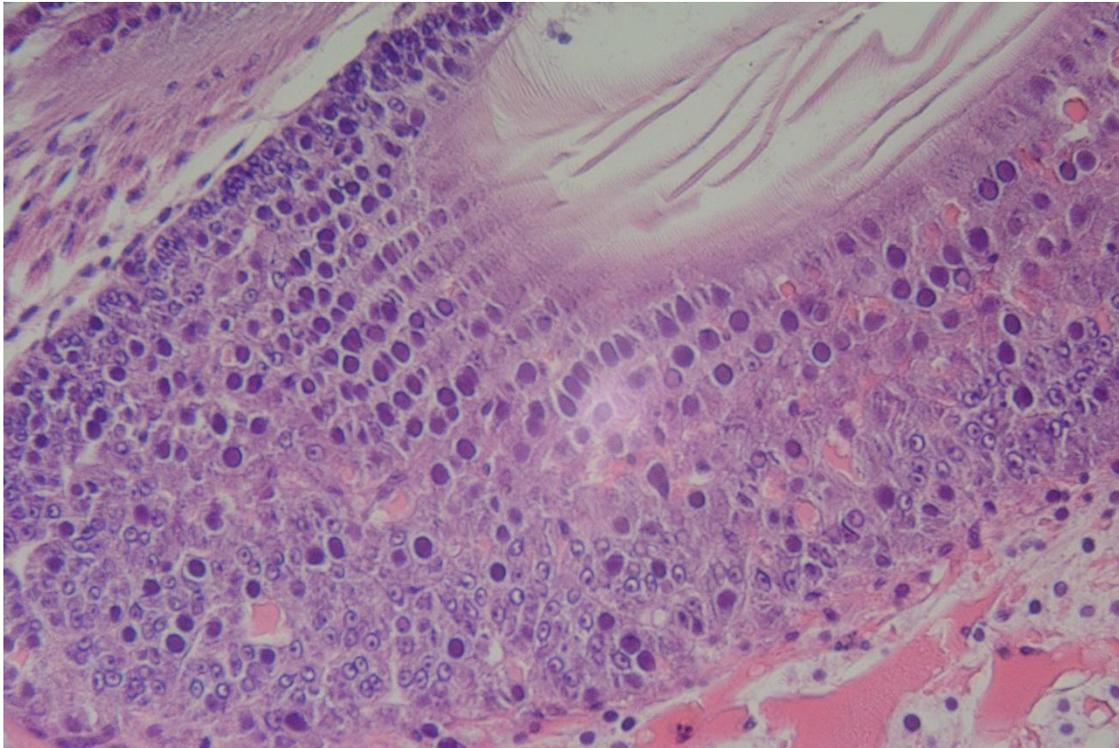
Ecuador

Agosto 2015, Continente, Finca B

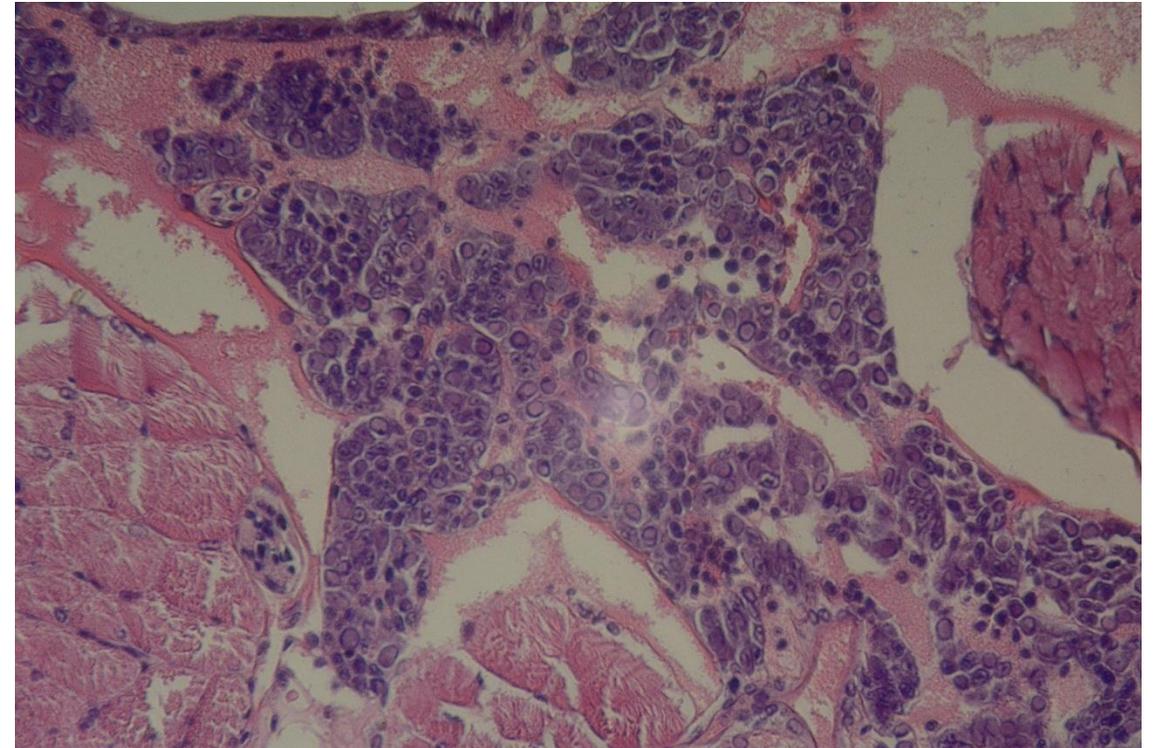


Piscina #	Camaron #	Glandula Antenal	Organo Linfoide	Epitelio subcuticular	Tejido Hematopoyetico	Epitelio Estomago	Hepatopancreas	Branquias
1	A	N	N	N	NA	N	N, LIPID=2-3	N
1	B	WSSV G=3	WSSV G=2	WSSV G=4	WSSV G=4	WSSV G=4	N, LIPID=2-3	WSSV G=3
2	A	N	N	N	N, cells dividing	N	SHPN G=4, granulomas, hemocitic infiltration, melanized centers, no lipid vacuoles, bacteria plaques inside lumen	Melanized filaments G=1, Zoothamnium G=1
2	B	N	NA	N	N	N	Low lipid level, G=1-2	N

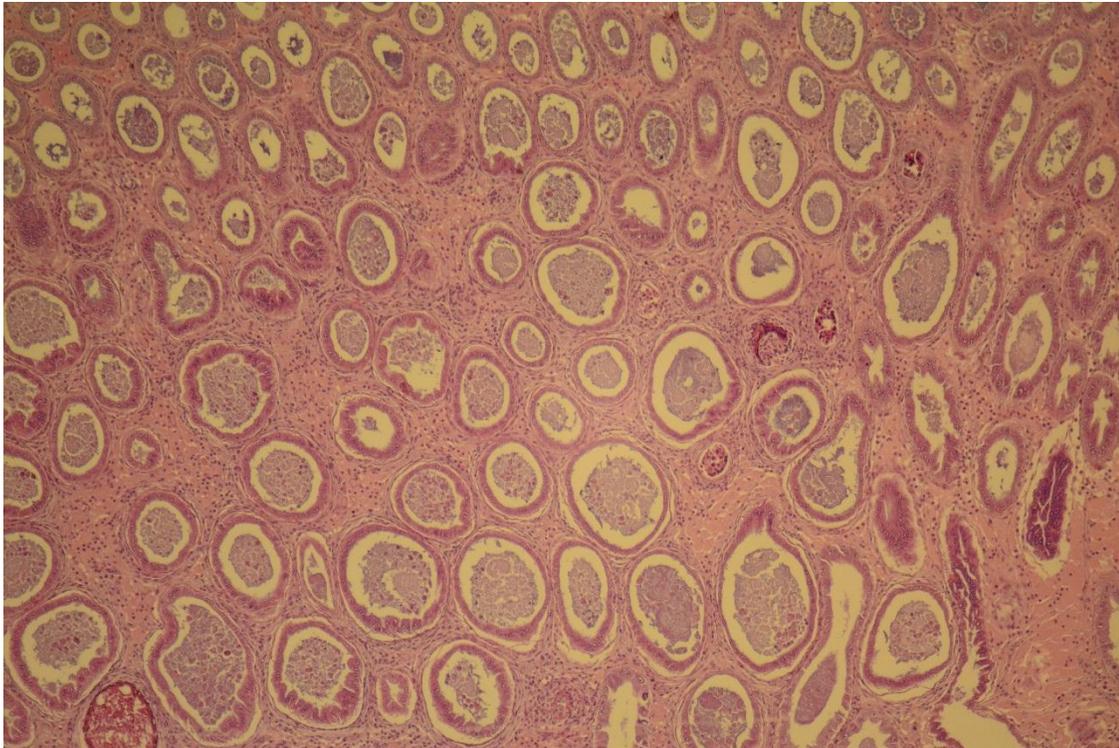
Epitelio del estomago, 400X



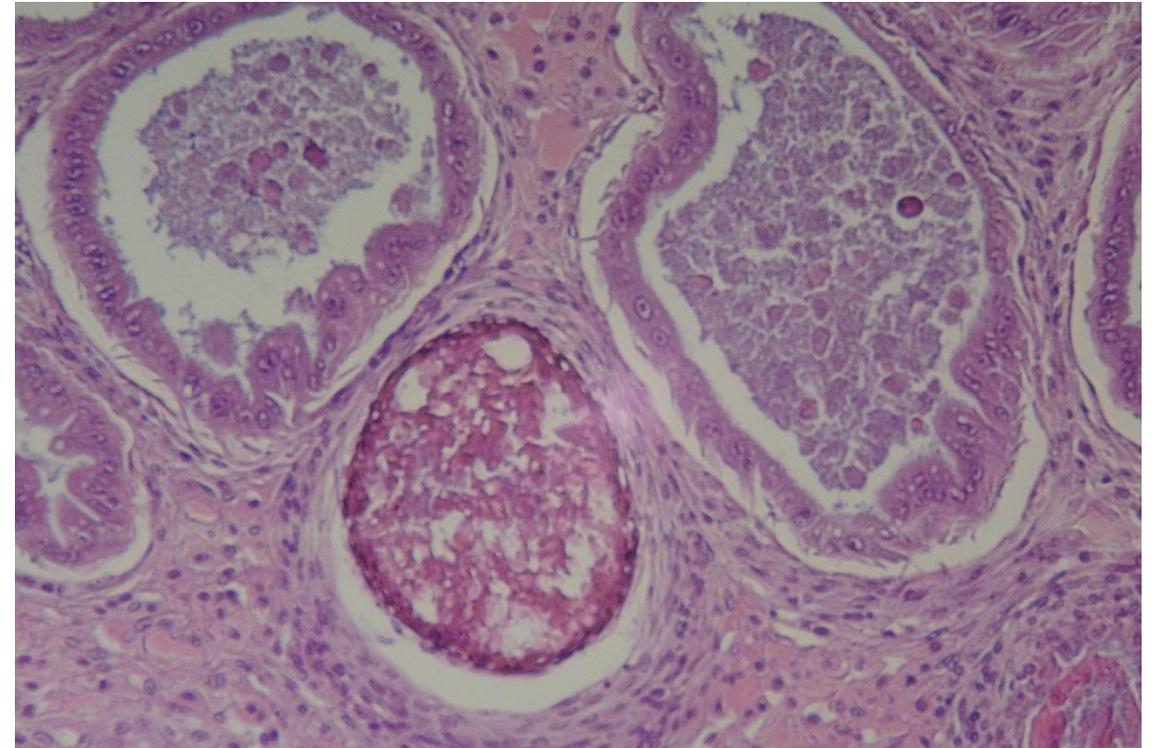
Tejido hematopoyético, 400X



Necrosis séptica del HP, 100X



Necrosis séptica del HP, 400X



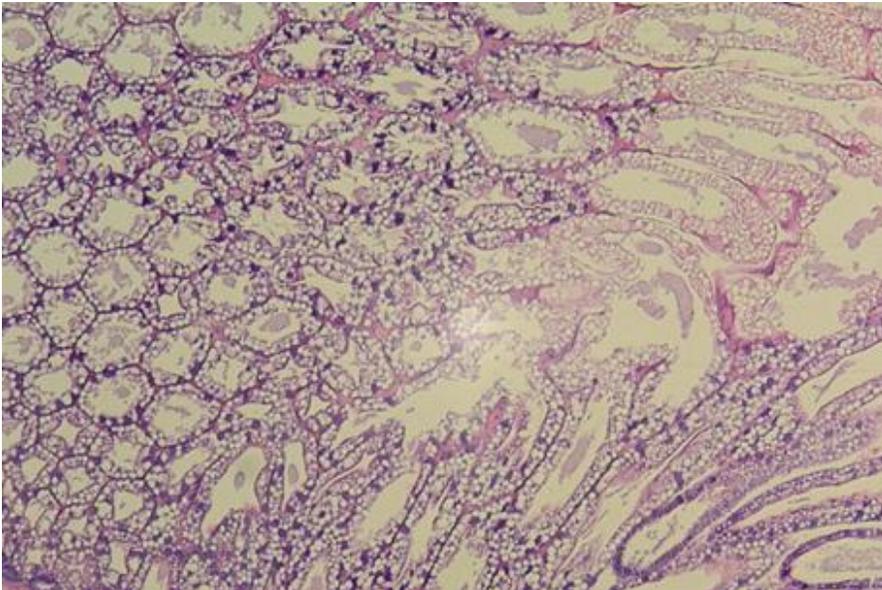
Panamá

Agosto 2015, Continente, Finca A

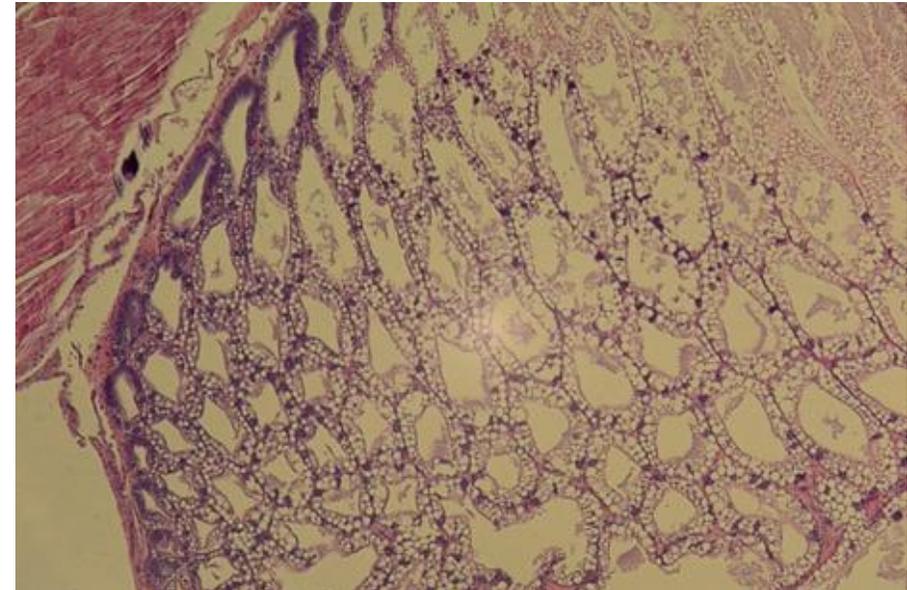


Camarón #	Glándula Antenal	Organo Linfoide	Epitelio subcuticular	Tejido Hematopoyético	Epitelio Estomago	Hepatopancreas	Intestino medio	Intestino posterior	Branquias	Tejido muscular en la cola	Exoesqueleto
A	N*	N	N	N	N	Lípidos G3-4	N	N	N	N	N
B	N	N	N	N	N	Lípidos G3-4	N	N	N	N	N

Hepatopancreas normal con lípidos.



Hepatopancreas normal con lípidos.



Honduras

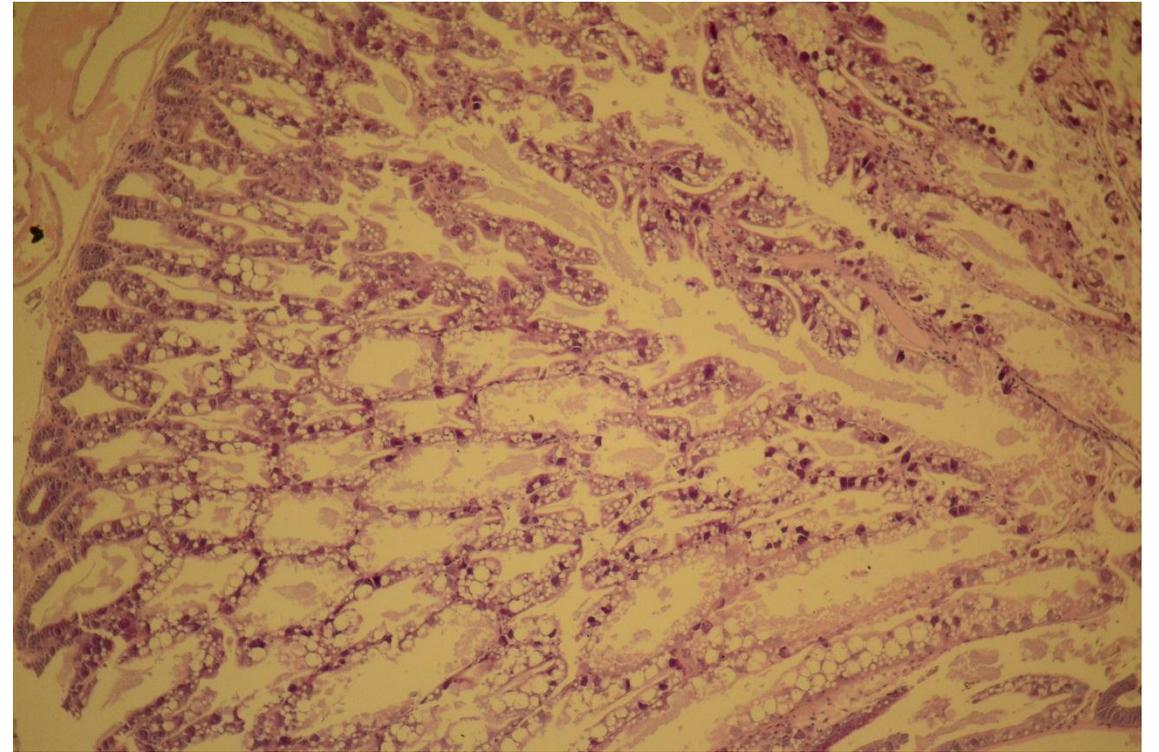
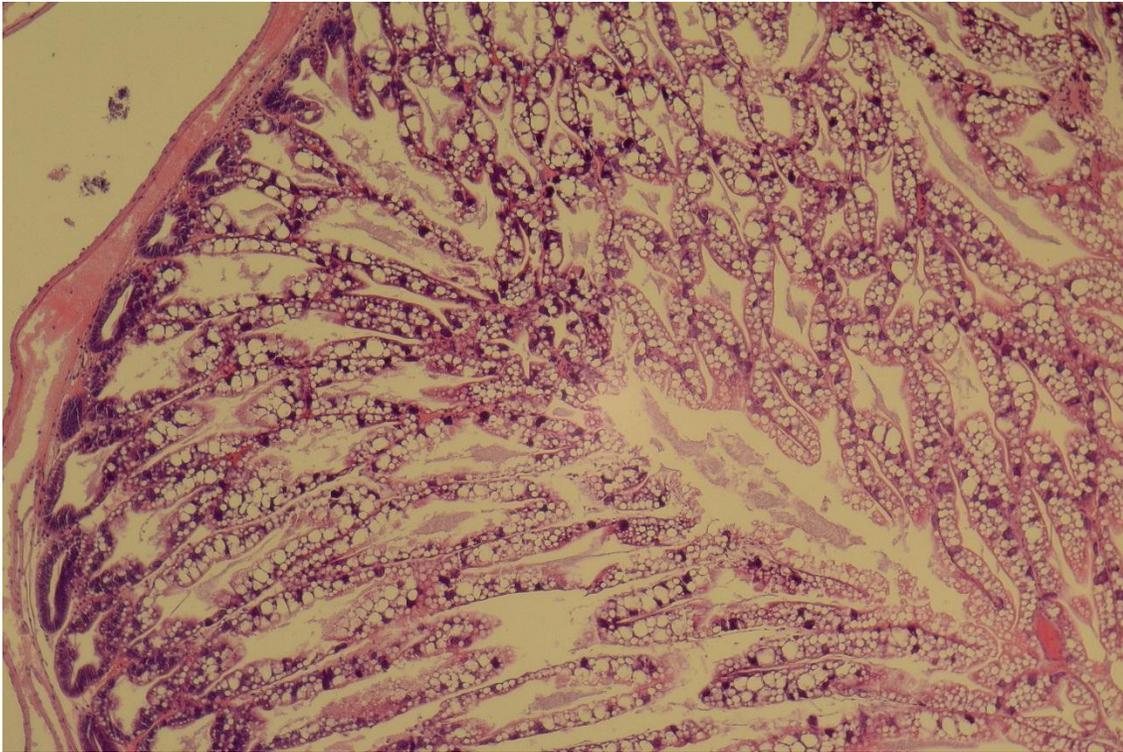
Septiembre 2015, Continente, Finca A



Piscina #	Camarón #	Organo Linfoide	Tejido Hematopoyetico	Epitelio Estomago	Hepatopancreas	Intestino posterior	Branquias	Tejido Muscular
10	A	N	N	N	N, LIPIDOS G1-2	Micro and macro gametes of gregarines G=1	N	N
10	B	N	N	N	N, LIPIDOS G2-3	Micro and macro gametes of gregarines G=1	N	N
4	A	N	N	N	N, LIPIDOS G2	N	Zoothamnium G=1	Muscle necrosis G=1-2
4	B	NA	NA	N	N, LIPIDOS G1-2	N	NA	Muscle necrosis G=1
3	A	N	N	N	N, LIPIDOS G2-3	N	Melanized filaments G=1	N
3	B	NA	NA	N	N, LIPIDOS G2-3	N	Melanized filaments G=1	Muscle necrosis G=1

Honduras

Septiembre 2015, Continente, Finca A, Piscina #3



Visitas Agosto-Septiembre 2015

Resultados de PCR para NHP y AHPND (EMS)



Item	Region	Sample	AHPND/EMS	NHP-B
1	Ecuador	HP pool of 3	Not detected	Not detected
2	Ecuador	HP pool of 4	Not detected	Not detected
3	Ecuador	HP pool of 5	Not detected	Not detected
4	Ecuador	HP pool of 6	Not detected	Not detected
5	Ecuador	HP pool of 7	Not detected	Not detected
6	Panama	HP pool of 8	Not detected	POSITIVE
7	Central America	HP pool of 9	POSITIVE	POSITIVE
8	Central America	HP pool of 10	Not detected	Not detected
9	Central America	HP pool of 11	Not detected	Not detected
10	Ecuador	PL pool of 6 PL	Not detected	Not detected
11	Ecuador	PL pool of 4 PL	Not detected	Not detected

- **Hepatopancreatitis necrotizante (NHP) es una enfermedad causada por bacterias intracelulares, Gram-negativas, pleomórficas.**
- **El órgano afectado es el hepatopáncreas.**
- **Las principales especies huéspedes son *Penaeus vannamei* y *P. stylirostris*.**
- **La enfermedad es estacional y tiende a ocurrir a altas salinidades y altas temperaturas.**
- **NHP se ha detectado en México, Centroamérica, Panamá, Colombia, Venezuela, Brasil y Perú.**

- **Los juveniles, sub-adultos y adultos se ven afectados por el NHP.**
- **Los signos clínicos incluyen:**
 - La reducción de crecimiento y la mortalidad,
 - La cutícula suave, flacidez,
 - Bajo nivel de lípidos y atrofia del HP,
 - Deformidad y melanización de los túbulos en el HP incluyendo el desprendimiento de las células.
- **El control efectivo de NHP incluye la detección precoz de los signos de la enfermedad, la anticipación por la historia de la piscina, y el tratamiento metafiláctico con alimento medicado para minimizar o eliminar el brote de NHP.**

Resumen de las observaciones externas y observación del HP en fresco:



- **(1) se detectaron niveles de lípidos aceptable en el hepatopáncreas de camarones con signos de flacidez y hepatopáncreas pálidos.**
- **(2) En las zonas geográficas cercanas, los hepatopáncreas estaban vacíos o tenían niveles muy bajo de lípidos en camarones con signos de flacidez, pálidos y atrofia del hepatopáncreas.**
- **(3) Hubo algunos casos de camarones con túbulos del HP melanizados, con constricciones y sin lípidos indicación del NHP en la fase temprana.**

Resumen de las observaciones en los cortes histológicos:

- **(1) Se observó esferoides en el órgano linfoide (LOS) que sugieren una posible infección viral en muestras de camarón de diferentes áreas geográficas. Esferoides ectópicos estaban presentes en los tejidos del corazón y tejidos conectivos en las muestras de camarones examinados.**
- **(2) El desprendimiento de las células epiteliales de los túbulos en el HP se observó en varios casos de camarones (signo de NHP).**
- **(3) Otros casos mostraron túbulos del HP séptico, melanizados e inflamación hemocítica en los túbulos del HP (signo de vibriosis) en diferentes lagunas de cercana proximidad.**
- **(4) En algunos casos hubo atrofia de los túbulos del HP que indican un caso crónico de NHP.**
- **(5) Se detectó una infección muy ligera en el HP indicado por la presencia de cuerpos de inclusión virales de BPV y HPV en el hepatopancreas.**

Resumen de las observaciones en los cortes histológicos:



- **(6) La infección por Microsporidios se observó en el tejido muscular esquelético de la cola en un número muy bajo de camarones.**
- **(7) Gregarinas estaban presentes en niveles bajos y altos en el intestino medio de la mayoría de los casos de camarones en todas las áreas geográficas visitadas.**



Obrigado

Muchas gracias por su atención.