



MONITOREO DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA EN ECUADOR

20 de junio - 14 de julio 1999

Jorge Calderón V., Bonny Bayot, Irma Betancourt y Victoria Alday de Graindorge

ANTECEDENTES

Una de las actividades desarrolladas por el CENAIM ante la emergencia causada por la presencia del virus de la Mancha Blanca (WSSV) ha sido realizar un monitoreo de toda la costa ecuatoriana para conocer la extensión del problema: la distribución geográfica del virus y su prevalencia (proporción de animales infectados).

El programa incluyó los siguientes objetivos:

- Distribución geográfica y prevalencia del WSSV en las camaroneras.
- Prevalencia del WSSV en los laboratorios de larvas de camarón.
- Prevalencia del virus WSSV en la larva silvestre.
- Prevalencia del virus WSSV en los reproductores silvestres *Litopenaeus vannamei*.
- Presencia del virus en posibles organismos portadores.

La detección del virus para este estudio se realizó usando la técnica más sensible disponible, que es el PCR anidado.

La campaña de recolección de muestras se realizó entre el 20 de junio y el 14 de julio de 1999. Es importante tener en cuenta que estos resultados corresponden solamente al periodo del muestreo y por lo tanto no reflejan circunstancias previas o posteriores al monitoreo.

PRESENCIA DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA EN LAS CAMARONERAS DE LA REGIÓN COSTA DEL ECUADOR

- Diseño estadístico:
Se emplearon tres técnicas para el diseño muestral:

Muestreo Multietápico (por áreas)

Muestreo Estratificado (provincias)

Muestreo por Conglomerados (camaroneras y piscinas)

- Nivel de confianza: 95%
- Variable (característica) de interés: presencia del virus de la Mancha Blanca en el camarón *Litopenaeus vannamei*.
- Parámetro a estimarse: Proporción "p" de unidades de investigación que presentan la característica de interés.
- Número de camaroneras a investigarse: 88
- Número de piscinas a investigarse: 272
- Número de camarones por piscina a investigarse: 141
- Error de diseño: 0.04
- Marco muestral En gran parte de este trabajo se tomó como referencia la cartografía CLIRSEN-PMRC para determinar las ponderaciones y ubicar las unidades a investigarse.

El número de camaroneras muestreadas por área (Figuras 1, 2 y 3), es dependiente de la concentración de camaroneras en esa área, por lo que

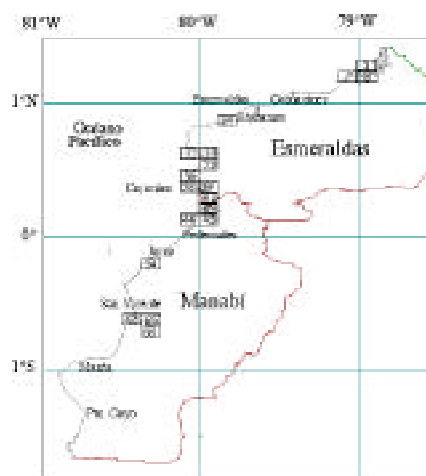


Fig. 1.- Localización de las cartas CLIRSEN-PMRC utilizadas para la ponderación y selección de las camaroneras para el muestreo de la prevalencia del WSSV en las provincias de Esmeraldas y Manabí.

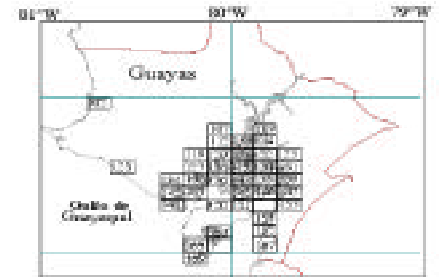


Fig. 2.- Localización de las cartas CLIRSEN-PMRC utilizadas para la ponderación y selección de las camaroneras para el muestreo de la prevalencia del WSSV en la provincia del Guayas.



Fig. 3.- Localización de las cartas CLIRSEN-PMRC utilizadas para la ponderación y selección de las camaroneras para el muestreo de la prevalencia del WSSV en la provincia de El Oro.

corresponde a la provincia del Guayas el mayor número de muestras. El diseño exigía muestrear un total de 272 piscinas, correspondientes a 88 camaroneras en todo el país. Este número no se alcanzó por diversos motivos: dificultades de acceso a ciertas áreas, particularmente en Esmeraldas y Manabí, dificultad para circular (paros cívicos) en El Oro y falta de colaboración (en algunos casos) en la Provincia del Guayas. Sin embargo, se logró muestrear 240 piscinas en 79 camaroneras en todo el país.

Se tomaron como muestra 141 animales por estanque según la tabla anexa:



	Camaroneras	Piscinas
Esmeraldas	8	18
Manabí	9	24
Guayas	44	140
Oro	18	58
Total	79	240

reduzcan las condiciones que provocan estrés en el camarón.

Distribución de la prevalencia geográficamente:

Al procesar las prevalencias obtenidas en cada una de las áreas de muestreo (cartas CLIRSEN - PMRC), las isolíneas trazadas muestran las

interior mientras que en la costa Oriental aumenta conforme penetra en el continente. Igualmente, en la provincia de El Oro la prevalencia aumenta conforme las camaroneras se introducen tierra adentro. Es posible que existan focos de infección en el interior, tales como empacadoras, que

RESULTADOS

De un total de 240 piscinas pertenecientes a 79 camaroneras, el 70% de las muestras analizadas por PCR anidado resultaron positivas para WSSV. La distribución de los positivos y la prevalencia en cada provincia está detallada en la Figura 4. La provincia con la prevalencia más alta es Esmeraldas con un 83% y la más baja Manabí con un 59%.

El porcentaje de la presencia del virus en cada provincia no está necesariamente asociado con mortalidades, ya que existen factores ambientales que están ligados al desencadenamiento de las mortalidades. Sin embargo, revela el nivel de riesgo de cada provincia. Esta prevalencia debería disminuir en la medida que la industria adopte las medidas de bioseguridad apropiadas como siembra de larva PCR negativa para WSSV y tratamiento de estanques infectados antes de liberar el agua. La disminución del riesgo de mortalidades requerirá también que los productores logren establecer estrategias que

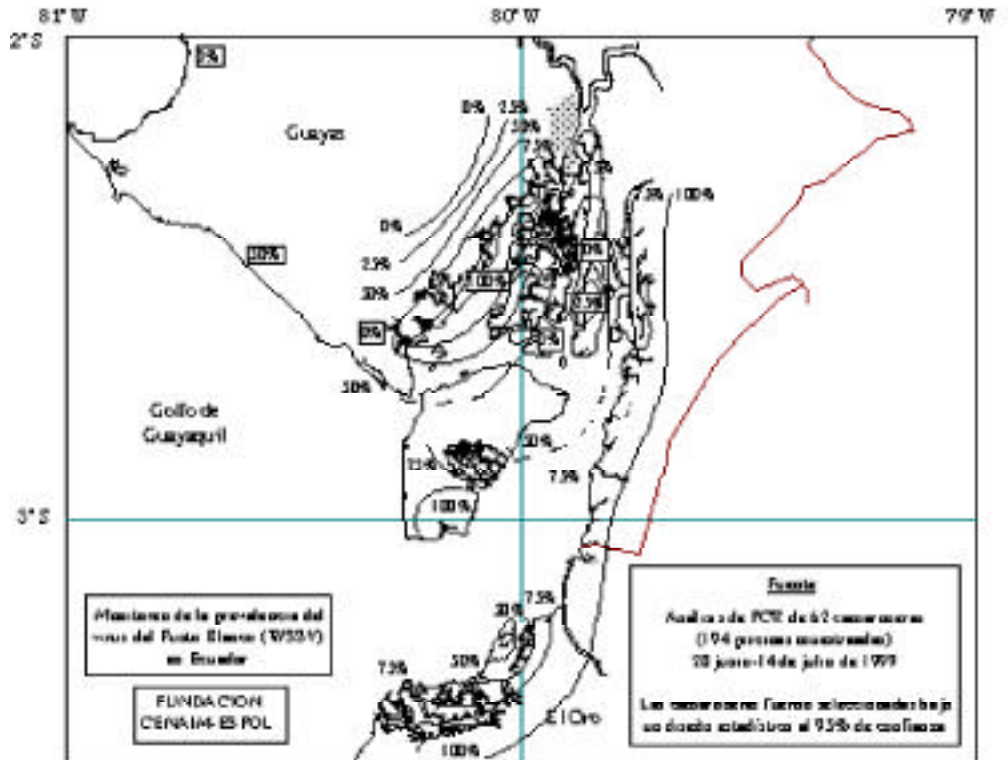


Fig. 5.- Las isolíneas trazadas muestran las tendencias a lo largo de las diferentes áreas.

tendencias a lo largo de las diferentes áreas (Figura 5). Existe una menor prevalencia en el centro del estuario del Golfo de Guayaquil, que disminuye hasta llegar a cero y aumenta conforme se aproxima a las costas Occidental y Oriental del Golfo. Es interesante observar que en la costa Occidental la prevalencia vuelve a disminuir hasta llegar a cero conforme se adentra hacia el

estén aumentando la prevalencia en estas zonas. Este estudio no pudo realizarse con las muestras de las provincias de Esmeraldas y Manabí ya que los puntos de toma de muestras eran demasiado dispersos.

PRESENCIA DEL VIRUS DE LA MANCHA BLANCA EN LOS LABORATORIOS DE CAMARON DE LA REGION COSTA DEL ECUADOR

- Diseño estadístico:
Se emplearon dos técnicas para el diseño muestral:
Muestreo Multietápico (por áreas)

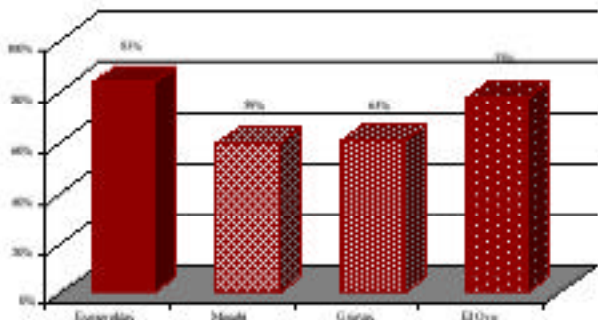


Fig. 4.- Porcentaje, por provincias, de positivos por PCR en camaroneras



- Muestreo Estratificado (provincias)
- Nivel de confianza: 95%
 - Variable (característica) de interés: Presencia del virus de la Mancha Blanca en postlarvas del camarón *Penaeus vannamei*.
 - Parámetro a estimarse: Proporción “p” de unidades de investigación que presentan la característica de interés.
 - Número de laboratorios a investigarse: 70
 - Número de tanques a investigarse: 350
 - Número de camarones por tanque a investigarse: 141
 - Error de diseño: 0.04
 - Marco muestral: lista de laboratorios registrados por la Cámara Nacional de Acuicultura e información complementaria proporcionada por el CENAIM.

La escasez de nauplios por un lado y razones económicas por otro, forzaron a un gran número de laboratorios en el país a cerrar sus facilidades. Se muestrearon un total de 51 laboratorios y 238 estanques distribuidos según la tabla. Se tomaron como muestra 150 larvas por tanque según la tabla anexa:

Provincia	Laboratorios	Tanques
Esmeraldas	6	25
Manabí	12	52
Guayas	31	153
El Oro	2	8
Total	51	238

RESULTADOS

De un total de 238 tanques pertenecientes a 51 laboratorios, el 42% de las muestras analizadas por

PCR anidado resultaron positivas para WSSV. La distribución de los positivos y la prevalencia en cada provincia presentan gran diferencia y se detallan en la Figura 6. La provincia con la prevalencia más alta es Esmeraldas con un 92% y la más baja Manabí con un 15%.

Es importante que toda la larva que se siembre, independientemente de su origen, sea chequeada por PCR. Hay que recordar que estos valores corresponden a muestras tomadas entre el 20 de junio y el 14 de julio del presente año por lo que la situación actualmente puede haber variado significativamente. Los resultados de las muestras procesadas por el CSA han mostrado una disminución drástica de positivos fuertes en larvas, con un

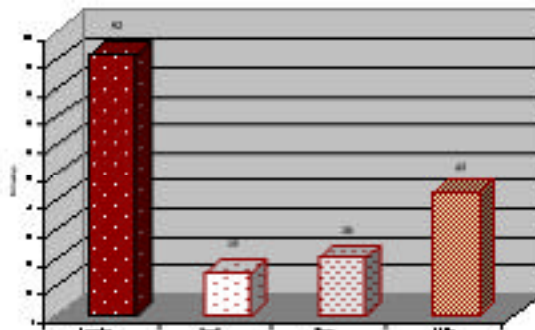


Fig. 6.- Porcentaje, por provincias, de los positivos por PCR en laboratorios de larvas.

gran porcentaje de positivos leves, lo cual muestra que el sistema de lavados implementado en la mayoría de los laboratorios ha sido parcialmente eficiente, sin embargo hay que seguir investigando para poder mejorar estos lavados y eliminar estos positivos leves.

MUESTREO DE REPRODUCTORES Y LARVAS SILVESTRES

- Diseño estadístico: Tipo de muestreo: aleatorio simple en cada puerto de captura y laboratorios de maduración
- Nivel de confianza: 95%
- Unidad de investigación: camarones reproductores y larvas silvestres *Penaeus vannamei*.
- Variable (característica) de interés: presencia del virus de la Mancha Blanca en las unidades de investigación.
- Número de reproductores a ser investigados: 386 (115 Esmeraldas, 142 Manabí y 129 Guayas)
- Número de larveros a ser investigados: 380
- Parámetro a estimarse: proporción “p” de unidades de investigación que presentan la característica de interés.
- Error de diseño: 0.04
- Marco muestral: lugares de desembarco durante el periodo de muestreo y laboratorios de maduración.

El plan original de monitoreo de reproductores y larvas silvestres no pudo ser cumplido en la presente campaña dada la escasez de ambos durante el periodo del muestreo. Sólo pudieron obtenerse reproductores de Esmeraldas y Guayas y larva silvestre de Esmeraldas, Manabí y El Oro. En el presente documento se presentan los pocos resultados obtenidos, pero no podemos inferir sobre la situación general en el medio natural debido al bajo nivel de confianza de los resultados.

<i>Nº de reproductores muestreados</i>	<i>Esmeraldas</i>	<i>Guayas</i>	
<i>Nº de muestras positivas</i>	90	110	
	77	55	
	<i>Esmeraldas</i>	<i>Manabí</i>	<i>El Oro</i>
<i>Nº de larveros muestreados</i>	2	5	2
<i>Nº de muestras positivas</i>	2	4	0



Artículos

MUESTREO DE POSIBLES PORTADORES

Este muestreo no responde a un diseño estadístico particular, simplemente describe algunos resultados de muestras de posibles portadores que se recogieron durante el muestreo. En la tabla se detallan el número de positivos versus el tamaño de la muestra

	Esmeraldas	Manabí	Guayas
Cangrejos	6/6		2/1
Corixias	1/0		
Copépodos	3/1		
Jaibas		2/1	

AGRADECIMIENTO

Dejamos constancia de nuestra gratitud por la colaboración prestada por los empresarios camaroneros para la realización de este estudio.

De igual manera, expresamos nuestro reconocimiento a los técnicos y estudiantes del CENAIM que realizaron la ardua tarea de recolección de muestras.



CAUSAS DE MORTALIDAD DEL CAMARON



Desde la confirmación de la presencia del virus de la Mancha Blanca (WSSV) muchas de las mortalidades ocurridas en camaroneras, se han adjudicado al WSSV. El propósito de este estudio es determinar si las mortalidades que se estaban reportando en camaroneras durante el periodo del 20 de junio al 14 de julio de 1999, fueron causadas por WSSV u otros agentes diferentes. Para este estudio la técnica de elección fue la histología, que aún siendo menos sensible que las técnicas de biología molecular, es la única técnica que nos permite evaluar las lesiones causadas por los distintos agentes. Se tomaron muestras de 23 camaroneras que reportaron mortalidades anormales. El número de estanques muestreados dependió del número de estanques con problemas oscilando de 1 a 19 estanques y cinco camarones por estanque. La distribución según provincia es la siguiente:

Resultados

De 116 muestras de estanques con mortalidades anómalas, sólo 15 muestras tenían patología de WSSV, es decir un 13% de las muestras. Estas muestras eran provenientes de las provincias del Guayas, Manabí y Esmeraldas. Las dos muestras de El Oro no presentaron ninguna patología significativa. La mayor causa de patología en las otras 3 provincias fue la presencia de gregarinas en grandes números que bloqueaban el tracto intestinal. Otras patologías observadas fueron hepatopáncreas séptico (vibriosis en el hepatopáncreas), melanosis de branquias y cuerpos de inclusión de *Baculovirus Penaeid*.

Las gregarinas son parásitos protozoarios que usan al camarón como hospedador definitivo. Este parásito requiere de hospedadores intermedios de los cuales conocemos a los poliquetos y a los moluscos bivalvos para completar su ciclo de vida. La transmisión de las gregarinas es horizontal, por ingestión del portador

Provincia	Guayas	El Oro	Manabí	Esmeraldas
Nº de camaroneras	12	1	3	7
Nº de estanques	21	2	14	79

intermedio. La presencia de gregarinas puede ser fácilmente diagnosticada a nivel de campo sin necesidad de hacer histología convencional, que se demora varios días. Para ello, primero hay que separar la cabeza de la cola, si se hace cuidadosamente, la totalidad del intestino saldrá con la fracción de la cabeza. Coloque el intestino sobre una placa microscópica y vacíelo arrastrando con presión a todo lo largo del intestino. Coloque un cubreobjetos encima de la muestra y obsérvelo al microscopio (ver fotografía). Si quiere hacer la preparación permanente puede añadir una gota de fijador Davidson en el que se sustituya el ácido acético glacial con ácido clorídrico al 50%. Existen varios productos en el mercado para el tratamiento de gregarinas, aunque el resultado de estos tratamientos no es siempre satisfactorio.

