



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

REVISIÓN DE LAS PRINCIPALES TÉCNICAS DE AISLAMIENTO E
IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS QUE PROVOCAN MORTALIDAD
TEMPRANA EN CULTIVOS DE CAMARÓN BLANCO

ROMERO JARAMILLO DIEGO FIDEL
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

REVISIÓN DE LAS PRINCIPALES TÉCNICAS DE AISLAMIENTO E
IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS QUE PROVOCAN
MORTALIDAD TEMPRANA EN CULTIVOS DE CAMARÓN
BLANCO

ROMERO JARAMILLO DIEGO FIDEL
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA
2022



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

EXAMEN COMPLEXIVO

REVISIÓN DE LAS PRINCIPALES TÉCNICAS DE AISLAMIENTO E
IDENTIFICACIÓN DE PATÓGENOS QUE PROVOCAN MORTALIDAD TEMPRANA
EN CULTIVOS DE CAMARÓN BLANCO

ROMERO JARAMILLO DIEGO FIDEL
INGENIERO ACUÍCULTOR

SORROZA OCHOA LITA SCARLETT

MACHALA, 24 DE AGOSTO DE 2022

MACHALA
24 de agosto de 2022

Revisión de las principales técnicas de aislamiento e identificación de patógenos, que provocan mortalidad temprana en cultivos de camarón blanco

por Diego Fidel Romero Jaramillo

Fecha de entrega: 12-jul-2022 10:54p.m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 1866897230

Nombre del archivo: provocan_mortalidad_temprana_en_cultivos_de_camar_n_blanco.docx (30.28K)

Total de palabras: 2404

Total de caracteres: 13260

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, ROMERO JARAMILLO DIEGO FIDEL, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Revisión de las principales técnicas de aislamiento e identificación de patógenos que provocan mortalidad temprana en cultivos de camarón blanco, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 24 de agosto de 2022



ROMERO JARAMILLO DIEGO FIDEL
0706668688

RESUMEN

La actividad acuícola ha tomado un crecimiento acelerado en los últimos años, pero ha ido presentando una serie de problemas en la producción, siendo una de las principales la aparición, de diversas enfermedades ocasionadas por bacterias de la cual se destaca como principal causante de altas mortalidades, la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), siendo una enfermedad causada por el *Vibrio parahaemolyticus*, y debido a la difícil identificación de este patógeno se realizó la presente revisión bibliográfica donde, damos a conocer los principales métodos de aislamiento e identificación del agente patógeno que provoca (AHPND), la primera forma de identificación es mediante Histopatología que se realiza mediante un análisis con microscopio a los túbulos hepatopancreáticos donde se observa el desprendimiento de las células epiteliales, el método de aislamiento para las pruebas moleculares es mediante el cultivo en placas de caja Petri, donde ya una vez obtenido el agente patógeno se procede a la identificación realizando las siguientes técnicas moleculares, como la Hibridación Dot Blot que permite identificar patógenos mediante la presencia del ADN, el segundo método es la PCR que es un proceso enzimático donde se realiza una amplificación de secuencias determinadas de ADN, y la última prueba molecular es el método LAMP y es un ensayo de Amplificación Isotérmica del ADN mediada por Asas, que sirven para identificar rápidamente las bacterias, todos estos métodos nos ayudan a identificar los agentes patógenos que provocan la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), y así podemos obtener una respuesta rápida ante cualquier rebrote de esta enfermedad.

Palabras Clave: LAMP, Hibridación, PCR, Vibrio, ADN, Epibiontes, Epizootias, Cromatóforo, Letargia, CHROMagar.

SUMMARY

Aquaculture activity has grown rapidly in recent years, but has been presenting a number of problems in production, being one of the main the appearance, of various diseases caused by bacteria of which it stands out as the main cause of high mortality, acute hepatopancreatic necrosis (AHPND), being a disease caused by *Vibrio parahaemolyticus*, and due to the difficult identification of this pathogen was made the present bibliographic review where, we present the main methods of isolation and identification of the pathogen causing (AHPND), the first form of identification is by histopathology performed by means of a microscope analysis to the hepatopancreatic tubules where the detachment of epithelial cells is observed, the method of isolation for the molecular tests is by means of the culture in petri dishes, where once the pathogen has been obtained the identification is carried out by performing the following molecular techniques, such as Dot Blot Hybridization, which allows pathogens to be identified by the presence of DNA, the second method is PCR, which is an enzymatic process in which certain DNA sequences are amplified, and the final molecular test is the LAMP method and is a Loop-mediated DNA isothermal amplification assay, which serve to quickly identify bacteria, All these methods help us to identify the pathogens that cause acute hepatopancreatic necrosis (AHPND), and so we can obtain a quick response to any resurgence of this disease.

Keywords: LAMP, Hybridization, PCR, Vibrio, DNA, Epibionts, Epizootics, Chromatophore, Lethargy, CHROMagar.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
2. DESARROLLO	6
2.1 Enfermedades bacterianas en cultivos de camarón <i>Litopenaeus vannamei</i>	6
2.1.1 Epibiontes bacterianos	6
2.1.2 Bacterias quitinoclásticas	6
2.1.3 Hepatopancreatitis necrotizante o NHP	6
2.1.4 El Síndrome de gaviota	6
2.1.5 Vibriosis luminiscente	7
2.1.5.1 Fase de larvicultura	7
2.1.5.2 Fase de engorda	7
2.1.6 La enfermedad de Bolitas blancas	7
2.1.7 Síndrome del Camarón Manchado	7
2.2 Síndrome de la Necrosis hepatopancreática aguda (AHPND)	8
2.3 Agente causante de la enfermedad	8
2.4 Métodos de aislamiento de (AHPND)	9
2.4.1 Medios de cultivo	9
2.5 Métodos de identificación para (AHPND)	10
2.5.1 Histopatología	10
2.5.2 Pruebas moleculares	11
2.5.2.1 Hibridación Dot Blot	12
2.5.2.2 La PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa)	12
2.5.2.3 Método LAMP	13
3. CONCLUSIÓN	14
4. BIBLIOGRAFÍA	15

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Signo Clínico de AHPND. Obtenido de Japan Science and Technology.	9
Figura 2 Evolución de la patología AHPND.	11

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Grado de confianza de las diferentes técnicas diagnósticas.	10
Tabla 2 Consideraciones para la implementación y selección de las técnicas de diagnóstico para enfermedades bacterianas en camarones.	10

1. INTRODUCCIÓN

La actividad acuícola ha tomado un crecimiento acelerado en los últimos años siendo así, el cultivo de camarón blanco ‘*Litopenaeus vannamei*’ el más cultivado. Una de las ventajas que presenta esta especie es la rápida adaptación a una amplia variedad de salinidades, formulaciones alimenticias, rápido crecimiento y fácil reproducción (Sunuram *et al.*, 2021).

Aunque la actividad camaronera ha ido en aumento en las últimas décadas, esta se ha visto frenada por una serie de problemas en la producción, siendo una de las principales la aparición de diversas enfermedades, ocasionadas por bacterias, que provocan mortalidades severas, los agentes bacterianos más comunes son los Vibrios y que los de mayor acontecimiento en la etapa de larvicultura son Síndrome Zoea II, Espibiones bacterianos, Bacterias luminiscentes, Bolitas blancas y en la etapa de engorde tenemos *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio vulnificus* y *Vibrio harveyi* que ocasionan las siguientes enfermedades: Black Splinter, Vibriosis Sistémica, Camarón manchado, Vibriosis luminiscente, Síndrome gaviota o vibriosis sistémica Hepatopancreatitis Necrotizante, Epibiontes Bacterianos y la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) o más conocida como síndrome de la mortalidad temprana (EMS) que es enfermedad que está ocasionando mortalidades sumamente elevadas y que ha llamado la atención de la (OIE) Oficina Internacional de Epizootias, la cual ha realizado varios estudios y análisis para identificar este patógeno de una forma rápida y segura, para así obtener un informe clínico concreto y tomar medidas eficientes y apropiadas, para detener el avance de este Vibrio en los cultivos de camarón (Tenecota *et al.*, 2018).

Existen varios métodos de aislamiento como son Microbiología e identificación como es espectrofotometría, Métodos moleculares (PCR), Dot Blot, Parámetros inmunológicos (hemogramas), Microscopía electrónica, histopatología y Bioensayos (Huat *et al.*, 2020).

Mediante este trabajo nos enfocaremos, en la revisión de las diferentes técnicas para el aislamiento e identificación de los patógenos que provocan mortalidad temprana en los cultivos de camarón blanco ‘*Litopenaeus vannamei*’, y de esta manera poder reiterar cuál técnica es la mejor y más rápida en la identificación de estos patógenos.

2. DESARROLLO

2.1 Enfermedades bacterianas en cultivos de camarón *Litopenaeus vannamei*

2.1.1 Epibiontes bacterianos

Es provocado por la bacteria *Leucothrix mucor* y es una enfermedad conocida comúnmente como la enfermedad de las branquias, ya que presentan una pigmentación que pasa del amarillo verdoso a café, y ocasiona mortalidad de los organismos provocándoles asfixia (Rosabal *et al.*, 2020).

2.1.2 Bacterias quitinoclásticas

Producidas por bacterias del género *Vibrios spp.* Estas bacterias se presentan más a menudo en los cultivos intensivos, donde la superficie del área es pequeña y los animales compiten por espacio y se ocasionan daños en el exoesqueleto y que forma una entrada a los patógenos oportunistas, que provocan daños en la cutícula, que luego presentan una mancha oscura conocida como melanosis que sirve como expresión de defensa para protegerse del ataque de las bacterias. La Vibriosis sistémica presenta signos clínicos como es anorexia, nado errático en la orilla, extensión de los cromatóforos y musculatura opaca Tenecota *et al.*, (2018) y según Moreno, (2010) otros géneros bacterianos que provocan erosión en el exoesqueleto son *Vibrios*, *Aeromonas*, *Pseudomonas* y *Cianobacterias*.

2.1.3 Hepatopancreatitis necrotizante o NHP

Es una enfermedad provocada por la bacteria intracelular *Hepatobacter penaei* y *alfa Proteobacteria*, esta enfermedad es endémica en América y ataca el hepatopáncreas, causa reducción en el consumo de alimento, la tasa de crecimiento se reduce, la cutícula de los animales se pone blanda y sus cuerpos flácidos mostrando un caparazón rugoso, frágil y blando luego de esto causando la mortalidad de los organismos, pigmentación en ciertos casos provoca la dilatación de los cromatóforos y letargia en los organismos (Rubio *et al.*, 2022).

2.1.4 El Síndrome de gaviota

Los principales causantes de esta enfermedad son *V. anguillarum*, *V. alginolyticus*, *V. campbellii*, *V. ordalii*, *V. Parahaemolyticus*, *V. splendidus* y *V. vulnificus* afectan en la fase de engorde y causan en los camarones un aspecto de nado errático en la superficie y son susceptibles a ser devorados como alimento por las gaviotas esta enfermedad se da por alteración del ambiente como son los cambios bruscos a altas temperaturas, cambios en la salinidad, elevaciones de compuestos nitrogenados y acumulación de agentes patógenos que se

quedan en las entradas de agua especialmente las que se dan con baja recirculación, otros de los problemas de esta enfermedad es la alta mortalidad que provoca en las especies (Moncada, 2022).

2.1.5 Vibriosis luminiscente

2.1.5.1 Fase de larvicultura

Nombradas así porque en las noches el aspecto de las larvas es fosforescente, son producidas por *Vibrio harveyi* y *Vibrio splendidus*, estas se adhieren a las superficies, de los crustáceos y se establecen en el tracto digestivo al ser ingeridos, dañándose el hepatopáncreas completamente (Nurhafizah *et al.*, 2021).

2.1.5.2 Fase de engorda

Es producida por la bacteria *Vibrio harveyi*, y surge especialmente en épocas de frío, esta bacteria ingresa a los organismos a través del agua o consumo de alimentos. Los camarones en fase juvenil son básicamente afectados. Los signos clínicos son igual a los descritos anteriormente en el síndrome de la gaviota. Esta enfermedad causa daños primordialmente en el hepatopáncreas, ocasionando perjuicios en la función digestiva, y causa altas mortalidades (Nurhafizah *et al.*, 2021).

2.1.6 La enfermedad de Bolitas blancas

Está compuesta por el *Vibrio spp*, provoca una reacción que se da por las sustancias tóxicas bacterianas o de la adsorción de metales pesados. Este *Vibrio* se deposita en el tracto digestivo y se pueden apreciar como las células son desprendidas en el hepatopáncreas, la enfermedad de la luminiscencia y de las bolitas blancas presentan los siguientes signos clínicos, reducción del consumo de alimento, nado lento y errático, y altas tasas de mortalidad (Otero, 2018).

2.1.7 Síndrome del Camarón Manchado

Es provocada por el *Vibrio sp* y otras bacterias oportunistas como *Spirillum sp*, *Aeromonas sp.* y *Flavobacterium sp*. Esta enfermedad presenta signos como cambio de color de café a negro en la cutícula, los apéndices y las branquias del camarón, esto se da cuando el organismo se encuentra bajo severo estrés y esto los lleva a provocar una amenaza que, si no se controla, se produce el desarrollo de “astillas negras”, que luego se convierte en una “vibriosis sistémica” (Moncada, 2022).

2.2 Síndrome de la Necrosis hepatopancreática aguda (AHPND)

Según Ovando *et al.*, (2020) esta enfermedad aparece por primera vez en el año 2010, en China y luego se expandió a países como Tailandia, Vietnam, Malasia, México y gran parte de América Latina, esta enfermedad se manifiesta en los cultivos aproximadamente en el 1 mes después de la liberación de las postlarvas en tierra y produce altas mortalidades en camarones en etapas tempranas de cultivo, se propaga muy rápido y coloniza desde los alimentos no consumidos, los fondos lodosos del estanque, la materia orgánica en suspensión, hasta en las cutículas quitinosas de la muda, este agente patógeno al ingresar al interior del organismo de los camarones, se aísla en el tracto digestivo produciendo toxinas.

2.3 Agente causante de la enfermedad

Galaviz *et al.*, (2021) dice que el agente etiológico de la enfermedad se da originalmente como *Vibrio parahaemolyticus*, se la puede identificar por el desprendimiento fuerte de los túbulos de las células epiteliales del hepatopáncreas (HP), que son causadas por las toxinas PirA y PirB de V-AHPND+ y la enfermedad tiene dos fases distintas.

En la fase aguda, la hepatopáncreas infectada muestra desprendimiento de células epiteliales tubulares de la membrana basal y degeneración epitelial tubular en ausencia de células bacterianas donde se deterioran las células (E, R, F, B). En la etapa terminal, el hepatopáncreas muestra una extensa infiltración hemocítica intratubular y el desarrollo de una infección bacteriana secundaria masiva (Galaviz *et al.*, 2021).

El método de transmisión se da de manera horizontal de camarón a camarón mediante canibalismo, y de manera vertical de reproductores a hijos.

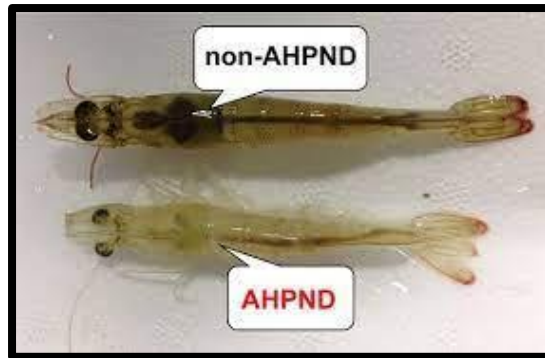


Figura 1 Signo Clínico de AHPND. Obtenido de *Japan Science and Technology*.

Fuente:(Okamoto, 2018)

2.4 Métodos de aislamiento de (AHPND)

Los métodos de aislamiento se utilizan para separar ciertos microorganismos unos de otros los cuales se encuentran acompañados entre sí en las muestras. El método más común utilizado en siembra es por estría en placa este método funciona utilizando un cultivo sólido como medio de preparación en una placa de Petri (Carlina *et al.*, 2021).

2.4.1 Medios de cultivo

Son Preparaciones líquidas o sólidas que contienen nutrientes, con factores de crecimiento y otros componentes, con la finalidad de recrear las condiciones necesarias para que se dé el desarrollo de microorganismos, la composición precisa de los cultivos dependerá del microorganismo que deseamos cultivar ya que las necesidades nutricionales de los microorganismos varían (Carlina *et al.*, 2021).

El Aislamiento de los cultivos bacterianos se los hace mediante la toma de una muestra de el hepatopáncreas de los camarones que presentan signos clínicos de la enfermedad y se los procede a cultivar en agar TCBS y las colonias verdes se las resiembra en CHROMagar *Vibrio*, luego son aislados los patógenos y se procede a la identificaron por PCR (Galaviz L. , 2021).

Según Pérez *et al.*,(2018) el aislamiento de las cepas de *V. parahaemolyticus* se la realiza aislándola de la hepatopáncreas de camarones blancos infectados y se identifica mediante amplificación de secuencias de ARNr 16S como *V. parahaemolyticus*.

La virulencia de las cepas se evalúa mediante la detección por PCR del plásmido VPA3-1, en particular el fragmento del gen similar a *pirB* (que codifica una proteína similar a la toxina PirB albergada por este plásmido), que determina si una cepa es o no virulenta para los camarones.

2.5 Métodos de identificación para (AHPND)

	Clínica	Fresco	Bacteriología	Histopatología	ISH/IHC ¹	PCR
Vibriosis	X	XX	XXX	XXX		
AHPND	X	XX	XX	XXX		XXX
NPH	X	XX		XXX	XXX	XXX
Espiroplasma	X		X	XX	XXX	XXX
Estreptococos	X		X	XX	XXX	XXX

Tabla 1 Grado de confianza de las diferentes técnicas diagnósticas.

Fuente: (Varela & Choc, 2020)

X: aplicabilidad limitada; **XX;** aplicabilidad moderada; **XXX;** aplicabilidad elevada **ISH:** Hibridación in situ; **IHC:** Inmunohistoquímica

	Clínica	Fresco	Bacteriológico	PCR	Histopatología	ISH/IHC
Tiempo de respuesta	Corto	Corto	Medio	Medio	Extenso	Extenso
Entrenamiento	Corto	Corto	Medio	Intenso	Intenso	Intenso
Costo	Bajo	Bajo	Medio	Alto	Alto	Alto
Especificidad	Baja	Baja	Media	Alto	Media-Alta	Alta
Sensibilidad	Baja	Media	Media	Alto	Media-Alta	Media-Alta

Tabla 2 Consideraciones para la implementación y selección de las técnicas de diagnóstico para enfermedades bacterianas en camarones.

Fuente: (Varela & Choc, 2020)

2.5.1 Histopatología

Las técnicas histopatológicas, muestran un gran valor ya que permiten visualizar la presencia de lesiones, y permiten establecer el estado de la infección y el grado de afectación. Mediante la identificación Histopatológica, el (AHPND) se manifiesta con el desprendimiento de las células epiteliales de los túbulos hepatopancreáticos y la depreciación de la mitosis. Provoca una disminución de las reservas energéticas, atrofia el hepatopáncreas. Luego de eso las heridas progresan desde las zonas cercanas a los túbulos y después se dirigen hacia las zonas distales. En las próximas fases se visualiza bacterias basófilas, mayormente oportunistas. Luego se prolonga el rompimiento celular y comienzan los procesos irritantes con acumulación de

hemocitos. En la última fase se puede observar la decadencia del hepatopáncreas por los desprendimientos celulares, y la acción bacteriana con la producción de toxinas (Varela & Choc, 2020).

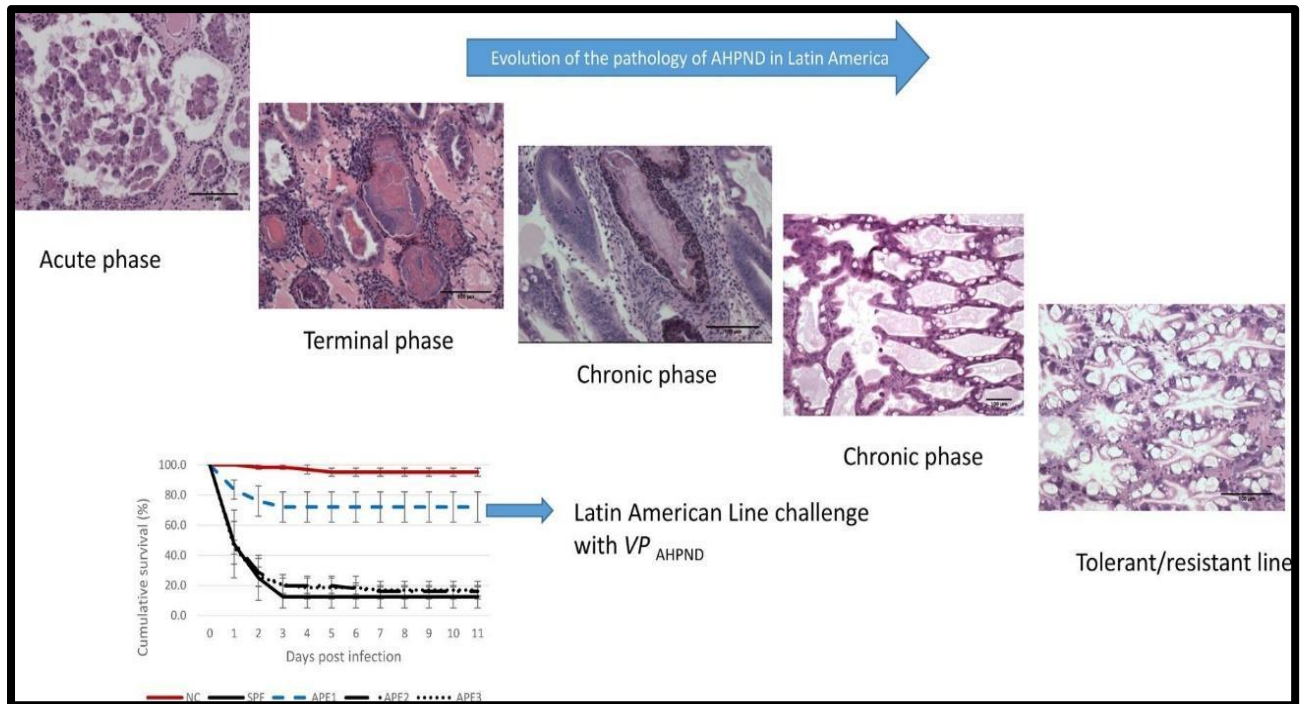


Figura 2 Evolución de la patología AHPND

Fuente: (Aranguren, 2020)

2.5.2 Pruebas moleculares

Las pruebas moleculares son un método positivo de laboratorio donde se toma una muestra de tejido para ver si hay ciertos genes o proteínas, que nos ayudan a identificar si un patógeno se encuentra o no presente en la muestra, su aparición se la detecta mediante la aparición de ácidos nucleicos esto quiere decir un fragmento del genoma del patógeno infeccioso (Varela & Choc, 2020).

Las técnicas de identificación de microorganismos que se da por medio de técnicas moleculares son una alternativa muy factible para la separación de estos limitantes, ya que en términos de costo y tiempo ayudan más rápido a la obtención de resultados. Estas técnicas manejan ADN separado para de esta manera identificar y corroborar de manera eficaz si existe o no la presencia de dichos microorganismos (García & Miranda, 2018).

2.5.2.1 Hibridación Dot Blot

Esta técnica nos ayuda a identificar patógenos como bacterias intracelulares y virus, mediante identificación de la presencia de su ADN a través un proceso de lisis o rompimiento celular, la extracción del ADN, hibridación y revelado. El proceso comienza con una muestra de hemolinfa o de un tejido animal que presente signos clínicos de la patología, la muestra tomada se procede a macerar manualmente con un tampón o buffer de lisis, esto se realiza para destruir las células y ceder la salida de las moléculas de ADN directo a la solución con la cual estamos macerando, luego es colocado sobre una membrana de nylon y consecutivamente desnaturalizado para ubicarlo en la sonda anteriormente preparada con el fin de alistar la muestra, y en el caso de esta encontrar regiones del ADN viral, producirá un anillado o hibridación que es el enlace entre la sonda y el ADN viral. Posteriormente se realiza la limpieza y se añaden anticuerpos anti-digoxigenina, que han sido antes marcados con la enzima fosfatasa-alcalina y se añade una solución indicadora (BCIPNBT), que reacciona con la fosfatasa alcalina y causa una reacción colorimétrica. Cuando se realiza el proceso está tomará un color morado y dependiendo de la intensidad, determinaremos la cantidad de microorganismos que la muestra presente (Morales & Jorge, 2014).

2.5.2.2 La PCR (Reacción en Cadena de Polimerasa)

La PCR es un método enzimático donde se realiza una amplificación de secuencias determinadas de ADN, que logra la síntesis in-vitro de un determinado segmento de ADN y que ocasiona, en cada etapa del proceso, que esta pueda duplicar un cierto número de moléculas. Este proceso se realiza para la localización genómica de determinados microorganismos patógenos como bacterias y virus, que se encuentran presentes en determinadas muestras de camarones, esta técnica se basa en establecer una secuencia genómica de beneficio, utilizando pequeños fragmentos de nucleótidos llamados iniciadores o cebadores. La PCR en tiempo real es un método que se utiliza en laboratorio que necesita de un Termociclador, un Fluorómetro y un monitor, para calcular y ampliar paralelamente una parte concreta de una molécula de ADN o ARN. Esta técnica se utiliza para comprobar si existe o no una secuencia específica (Morales & Jorge, 2014).

Según Saavedra *et al.*, (2018) lo más común para la detección de la AHPND en la secuenciación es la utilización de los cebadores universales para bacterias F518 y R800 (Ludwig, 2007).

2.5.2.3 Método LAMP

La tecnología LAMP es un ensayo de Amplificación Isotérmica del ADN mediada por Asas o más conocidas como (LAMP) que sirven para identificar rápidamente las bacterias, este método fue desarrollado para sintetizar grandes cantidades de ácido nucleico utilizando cuatro cebadores que reconocen seis sitios específicos en el ADN objetivo y que pueden ser empleados para detectar *Vibrio parahaemolyticus* que es el principal causante de la enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND), la tecnología LAMP desarrolla dos grupos de primers (LAMP-A2 y LAMP-A3) mediante ensayos ya se han aprobado su uso para identificar al *V. parahaemolyticus*, donde se indica que los dos grupos de primers detectan *V. parahaemolyticus* causante del AHPND (Kongrueng *et al.*, 2015).

3. CONCLUSIÓN

La presente revisión nos ayuda a conocer las técnicas que se pueden utilizar, para el aislamiento e identificación de patógenos, que provocan el síndrome de la necrosis hepatopancreática aguda, mediante la revisión detallada de cada técnica podemos conocer cuál es la mejor y más eficaz.

De esta manera se pretende poder identificar el agente patógeno, de una manera rápida y así evitar las infestaciones y altas tasas de mortalidad, que esta enfermedad puede llegar a provocar en los cultivos de camarones.

Debido a los brotes recientes de EMS/AHPND se sugieren que las prácticas modernas de cultivo ya sean intensivo o extensivo de camarón, se debe revisar minuciosamente el manejo microbiano, para mantener el control y evitar la propagación de esta enfermedad.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Aranguren, L. M. (2020). Acute hepatopancreatic necrosis disease (VPAHPND), a chronic disease in shrimp (*Penaeus vannamei*) population raised in Latin America. *ELSEVIER*, 1-28.
2. Carlina, S. R. (2021). *Manual práctico de microbiología básica*. Popayán: Universidad del Cauca.
3. Galaviz, L. (2021). Cepas de *Vibrio parahaemolyticus* que causan necrosis hepatopancreática aguda en camarón cultivado de Sonora, México y su resistencia a antibióticos. *Universidad Autónoma Metropolitana (HIDROBIOLÓGICA)*, 111-123. Obtenido de <https://hidrobiologica.izt.uam.mx/hidrobiologica/index.php/revHidro/article/view/1396/1121>
4. Galaviz, L. R. (2021). Cepas de *Vibrio parahaemolyticus* que causan necrosis hepatopancreática aguda en camarón cultivado de Sonora, México. *Unam (Universidad Autónoma Metropolitana)*, 111-123. Obtenido de <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/1396-Texto%20del%20art%C3%ADculo-9622-2-10-20220315.pdf>
5. García, A., & Miranda, A. (2018). Evaluación de métodos de extracción de ADN bacteriano en muestras fecales de pacientes diagnosticados con infección por *Helicobacter pylori* Evaluation of bacterial DNA extraction methods in fecal samples of patients diagnosed with *Helicobacter pylori* infe. *Biociencias*, 7-16. Obtenido de <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/03/981156/4996-texto-del-articulo-8462-1-10-20190220.pdf>
6. Huat, L. J. (2020). Diagnostic approaches and contribution of next-generation sequencing technologies in genomic investigation of *Vibrio parahaemolyticus* that caused acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND). *Springer link*, 2547–2559. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s10499-020-00610-4>
7. Kongrueng, J. T. (2015). LAMP assay to detect *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease in shrimp. *Springer*, 1179–1188. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1007/s10499-014-9874-3>
8. Ludwig, W. (2007). Nucleic acid techniques in bacterial systematics and identification. *ELSEVIER*, 225-236. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168160507004576>
9. Moncada, A. (2022). Importancia de la tinción de gram en la identificación de patógenos presentes en el cultivo de *Litopenaeus vannamei*. *Universidad Técnica de Machala*, 1-24. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/18554/1/ECUACA-2022-IAC-DE00006.pdf>

10. Morales, V., & Jorge, C. (2014). Guía Técnica Patología e Inmunología de camarones penaeidos. *OIRSA*, 1-386. Obtenido de https://utm.edu.ec/fcv/acuicultura/images/acuicultura/pdf_revistas/Guia_Tecnica_Patologia_Inmunologia_de_Camarones_Penaeidos.pdf
11. Moreno. (2010). Erosión Bacteriana del Caparazón en el camarón *Penaeus vannamei* (Bacterial Erosion of the Shell in the species of shrimp *Penaeus vannamei*). *REDVET (Revista Electrónica de Veterinaria)*, 1-6. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63613160011.pdf>
12. Nurhafizah, W. K. (2021). Virulence properties and pathogenicity of multidrug-resistant *Vibrio harveyi* associated with luminescent vibriosis in Pacific white shrimp, *Penaeus vannamei*. *ELSEVIER*, 1-47. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022201121000616>
13. Okamoto, N. (2018). タイ発・次世代養殖技術 (Tecnología acuícola de próxima generación de Tailandia). *Japan Science and Technology*, 1-3.
14. Otero, J. (2018). Enfermedades bacterianas más comunes en la larvicultura del camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*) y sus métodos de control. *Universidad Técnica de Machala*, 1-27. Obtenido de chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/12225/1/DE00002_EXAMENCOMPLEXIVO.pdf
15. Ovando, M. V. (2020). La Necrosis Hepatopancreatitis Aguda que afecta al cultivo de camarones peneidos en México. *Innovación más Desarrollo*, 136-148. Obtenido de [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/admin,+07.+Necrosis%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/admin,+07.+Necrosis%20(1).pdf)
16. Pérez, J. M. (2018). Proteomic profiling of integral membrane proteins associated to pathogenicity in *Vibrio parahaemolyticus* strains. *Wiley Online Library*, 14-23. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/1348-0421.12556>
17. Rosabal, D. S. (2020). Prevalencia de epibiontes en larvas de camarón *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) en el Centro de Desove del Camarón de Manzanillo. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 1-7. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/41621/Prevalencia%20de%20epibiontes%20en%20larvas.pdf.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
18. Rubio, M. A. (2022). Hepatopancreatitis necrotizante (NHP). Identificación etiológica por métodos histopatológicos y moleculares en el camarón de cultivo *Litopenaeus vannamei*. *Revista Cubana de Investigaciones Pesqueras*, 68-73. Obtenido de <chrome-extension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/4657/Manuel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
19. Saavedra, K. P. (2018). Detección de una proteína asociada a la enfermedad de la necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) en *Litopenaeus vannamei* bajo cultivo

semi-intensivo en Ecuador. *Scielo*, 328-338. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000100032

20. Sunuram, R. P.-M. (2021). Role of shrimp farming in socio-economic elevation and professional satisfaction in coastal communities. *ELSEVIER*, 1-10. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352513421001241>
21. Tenecota, R. M. (2018). Enfermedades, tratamientos y recomendaciones en el cultivo del camarón. *Espirales revista multidisciplinaria de investigación*, 93-107. Obtenido de [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/379-1133-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/379-1133-1-PB%20(1).pdf)
22. Varela, A., & Choc, L. (2020). Técnicas diagnósticas para enfermedades bacterianas en camarones. Usos, alcances y limitaciones. *Revista de investigaciones Veterinaria del Peru*, 1-16.