



# UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

PRINCIPALES SÍNTOMAS Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN  
DEL SÍNDROME DE MORTALIDAD TEMPRANA (EMS) EN CAMARÓN  
BLANCO *LITOPENAEUS VANNAMEI*.

PROAÑO LOOR EDISON IVAN  
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA  
2019



# UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

PRINCIPALES SÍNTOMAS Y TÉCNICAS PARA LA  
IDENTIFICACIÓN DEL SINDROME DE MORTALIDAD  
TEMPRANA (EMS) EN CAMARÓN BLANCO *LITOPENAEUS*  
*VANNAMEI*.

PROAÑO LOOR EDISON IVAN  
INGENIERO ACUÍCULTOR

MACHALA  
2019



# UTMACH

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA

EXAMEN COMPLEXIVO

PRINCIPALES SÍNTOMAS Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL  
SÍNDROME DE MORTALIDAD TEMPRANA (EMS) EN CAMARÓN BLANCO  
LITOPENAEUS VANNAMEI.

PROAÑO LOOR EDISON IVAN  
INGENIERO ACUÍCULTOR

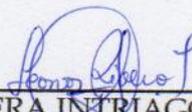
RIVERA INTRIAGO LEONOR MARGARITA

MACHALA, 31 DE ENERO DE 2019

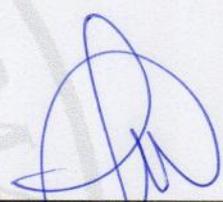
MACHALA  
31 de enero de 2019

**Nota de aceptación:**

Quienes suscriben, en nuestra condición de evaluadores del trabajo de titulación denominado PRINCIPALES SÍNTOMAS Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL SINDROME DE MORTALIDAD TEMPRANA (EMS) EN CAMARÓN BLANCO LITOPENAEUS VANNAMEI., hacemos constar que luego de haber revisado el manuscrito del precitado trabajo, consideramos que reúne las condiciones académicas para continuar con la fase de evaluación correspondiente.

  
RIVERA INTRIAGO LEONOR MARGARITA  
0702400292  
TUTOR - ESPECIALISTA 1

  
SOLANO MOTOCHE GALO WILFRIDO  
0703062083  
ESPECIALISTA 2

  
SORROZA OCHOA LITA SCARLETT  
0702681040  
ESPECIALISTA 3

Fecha de impresión: lunes 04 de febrero de 2019 - 13:01

## Urkund Analysis Result

**Analysed Document:** EMS.docx (D47113750)  
**Submitted:** 1/22/2019 2:48:00 PM  
**Submitted By:** lriviera@utmachala.edu.ec  
**Significance:** 3 %

### Sources included in the report:

<http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/acute-hepatopancreatic-necrosis-disease-es.pdf>  
<https://docplayer.es/18931033-Reaccion-en-cadena-de-la-polimerasa-pcr.html>

### Instances where selected sources appear:

2

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

El que suscribe, PROAÑO LOOR EDISON IVAN, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado PRINCIPALES SÍNTOMAS Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL SÍNDROME DE MORTALIDAD TEMPRANA (EMS) EN CAMARÓN BLANCO LITOPENAEUS VANNAMEI., otorga a la Universidad Técnica de Machalà, 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, 31 de enero de 2019

  
PROAÑO LOOR EDISON IVAN  
0706541729



**UTMACH**

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**CARRERA DE INGENIERÍA ACUÍCOLA**

**EXAMEN COMPLEXIVO**

**PRINCIPALES SÍNTOMAS Y TÉCNICAS PARA LA IDENTIFICACIÓN DEL  
SÍNDROME DE MORTALIDAD TEMPRANA (EMS) EN CAMARÓN BLANCO  
*LITOPENAEUS VANNAMEI***

**EDISON IVAN PROAÑO LOOR  
INGENIERO ACUICULTOR**

**RIVERA INTRIAGO LEONOR MARGARITA**

**MACHALA, 06 DE JULIO DE 2018**

**Machala  
07 de Enero de 2019**

## Resumen

En el mundo las enfermedades relacionadas con el cultivo de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* han ido en aumento debido a las altas densidad que actualmente se siembran en los estanques de engorde. El síndrome de mortalidad temprana o EMS por sus siglas en inglés (Early Mortality Syndrome) o también conocida como Síndrome de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPNS), esta patología es producida por toxinas liberadas desde el tracto digestivo hacia el hepatopáncreas por cepas de Vibrios que contienen el plásmido pVPA3-1 que codifican las toxinas Pir A y Pir B. Esta enfermedad se caracteriza por presentar tres fases, la aguda donde se puede observar alteración en las células epiteliales de los túbulos y las células dejan de dividirse, en la fase intermedia hay presencia de melanización de los túbulos terminando con el desprendimiento celular y por último en la fase terminal se puede observar una destrucción del hepatopáncreas producido por acción bacteriana a esto lo acompaña infiltración hemocítica tanto intra como extra tubular con presencia de necrosis y melanosis asociadas a infecciones bacterianas secundarias, mientras que en el medio el camarón presenta nado errático, un bajo crecimiento y poca presencia de contenido intestinal o en ciertos caso el intestino se encuentra vacío. Las mortalidades producidas por esta enfermedad pueden llegar alcanzar el 100% de la población en los primeros 30 o 40 días de cultivo. En el presente trabajo se realizó una revisión sobre los síntomas que presenta el camarón y cuáles son las principales técnicas para identificar dicha enfermedad.

**Palabras clave:** Patologías, toxinas, hepatopáncreas, camarón blanco, necrosis, y hemocítica.

## Abstract

In the world, diseases related to the cultivation of white shrimp *Litopenaeus vannamei* have been increasing due to the high density currently planted in the fattening ponds. The syndrome of early mortality or EMS for its acronym in English (Early Mortality Syndrome) or also known as Acute Hepatopancreatic Necrosis Syndrome (AHPNS), this pathology is caused by toxins released from the digestive tract to the hepatopancreas by strains of *Vibrios* that they contain the pVPA3-1 plasmid that encode the Pir A and Pir B toxins. This disease is characterized by three phases, the acute one where alteration in the epithelial cells of the tubules can be observed and the cells stop dividing, in the intermediate phase there is presence of melanization of the tubules ending with cell detachment and finally in the terminal phase can be observed a destruction of the hepatopancreas produced by bacterial action accompanied by hemocytic infiltration both intra and extra tubular with presence of necrosis and melanosis associated with infections bacterial secondary, while in the middle the shrimp presents erratic swimming, low growth and little presence of intestinal content or in certain cases the intestine is empty. The mortalities produced by this disease can reach 100% of the population in the first 30 or 40 days of cultivation. In the present work a review was made on the symptoms that the shrimp presents and which are the main techniques to identify this disease.

**Keywords:** diseases, toxins, hepatopancreas, white shrimp, necrosis, and hemocytic.

## TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	5
2. DESARROLLO	7
2.1 Síndrome de mortalidad temprana (EMS)	7
2.1.1 Origen	7
2.1.2 Agente causal	8
2.1.3 Sintomatología	8
2.1.4 Diagnóstico histológico	9
2.1.5 Diagnóstico genético	11
2.2 Técnicas de identificación	12
2.2.1 Anamnesis	12
2.2.2 Microscopia directa y montaje en fresco	12
2.2.3 Histopatología	13
2.2.4 Técnicas moleculares	13
2.2.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	14
2.2.6 LAMP	14
3. CONCLUSIONES	16
4. Bibliografía	17

# 1. INTRODUCCIÓN

La producción de camarón blanco *Litopenaeus vannamei* en América, representó el 80,7% de la producción mundial, convirtiéndose en uno de los principales productos de exportación en el mundo (Peña-Navarro, *et al.*, 2013).

La intensificación de los cultivos de camarón en el mundo han provocado nuevos brotes de enfermedades y el impacto de dichas enfermedades en las producciones han generado grandes pérdidas económicas (Decamp, *et al.*, 2008).

La propagación de estas nuevas patologías infecciosas han tenido un efecto severo en la industria de la camaronicultura, con patógenos cada vez más resistentes que han logrado superar los nuevos sistemas de bioseguridad altamente elaborados afectando los cultivos regionales y en ocasiones internacionales (Varela-Mejías, 2018).

En los últimos 9 años se ha identificado varias amenazas en los cultivos de camarón. Una de las más importantes es el síndrome de mortalidad temprana o EMS (por sus siglas en inglés) actualmente conocida como síndrome de la necrosis hepatopancreática aguda, o AHPNS (por sus siglas en inglés). Se la identificó por primera vez en el 2009 en los cultivos de China, afectando posteriormente al resto de países asiáticos hasta llegar a Latinoamérica en el 2013 (Peña-Navarro y Varela-Mejías, 2016; Saavedra, *et al.*, 2018).

Por lo general un brote de AHPND va acompañado con otros patógenos oportunistas como el virus de mortalidad encubierta, la microsporidiosis entre otras infecciones provocadas por *Vibrio* sp., aumentando el nivel patogenicidad y mortalidad de esta enfermedad (Aranguren, *et al.*, 2017).

Para la identificación de enfermedades, así como para los controles rutinarios en los cultivos, se pueden realizar técnicas de análisis moleculares, uno de los más utilizados por su rapidez, sensibilidad y especificidad es la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) (Varela-Mejías, 2018).

Cabe destacar que en algunos casos se necesita especificar con una mayor precisión el daño causado en los tejidos, ante lo cual se utilizan técnicas histológicas que han sido ampliamente desarrolladas con el pasar de los años. Este tipo de técnicas no solo nos brinda información más detallada de la ubicación, severidad y tipo de lesión, sino que además nos permiten conocer el agente causal y la reacción probable del huésped (Peña-Navarro y Varela-Mejías, 2015).

## 2. DESARROLLO

### 2.1 Síndrome de mortalidad temprana (EMS)

El síndrome de mortalidad temprana o EMS (por sus siglas en inglés) fue identificado en el 2009 en camarones juveniles de cultivos de *Penaeus monodon* y *Litopenaeus vannamei* en China, en los primeros brotes se dijo que podría ser una enfermedad infecciosa por su forma de propagación, pero ninguno de los análisis y técnicas realizados en organismos infectados dieron buenos resultados por lo que se desconocía quién era el causal de esta patología y cómo actuar ante ella (Varela-Mejías, *et al.*, 2017). Más adelante estudios realizados por Lightner & *et al.*, (2013) se determinó que el EMS era una enfermedad de origen bacteriano.

Una de las principales características de esta enfermedad es que produce una mortalidad de hasta el 100% de la producción durante los primeros 30 a 40 días de cultivo por lo que inicialmente se le dio el nombre de síndrome de mortalidad temprana (EMS). Luego de varios estudios y en base a las lesiones ocasionadas en los camarones su nombre fue cambiado a síndrome de la necrosis hepatopancreática AHPNS (por sus siglas en inglés). Sin embargo se la conoce con el nombre de la enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas AHPND (por sus siglas en inglés) (Cuéllar-Anjel, 2013).

#### 2.1.1 Origen

Se diagnosticó por primera vez en cultivo de China en las especies de *P. monodon* y *L. vannamei*, luego se extendió a Vietnam (2010), Malasia (2011) y Tailandia (2012), después fue reportada en Filipinas (2012), y el año 2013 fue diagnosticada en el continente americano en

México afectando los cultivos de Sonora, Sinaloa y Nayarit y finalmente en Latinoamérica (Varela-Mejías, *et al.*, 2017).

### 2.1.2 Agente causal

Inicialmente el patógeno causal es la bacteria oportunista *Vibrio parahaemolyticus*, que ingresa al organismo por vía oral ya sea por el agua, canibalismo, o detritos que se consumen en el pastoreo. A diferencia de otros *Vibrios* este coloniza el tracto digestivo donde produce las toxinas Pir A y Pir B que afectan al hepatopáncreas dando como resultado la enfermedad (Morales, *et al.*, 2016).

En la actualidad la enfermedad es producida por todas las cepas bacterianas de *Vibrio* que contengan el plásmido pVPA3-1 el cual contiene los genes que codifican las toxinas Pir A y Pir B (Han, *et al.*, 2015). En un estudio reciente se determinó mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) que el *Vibrio harveyi*, y *Vibrio campbellii*, también ocasionan la enfermedad ya que poseen los genes que codifican las toxinas que afectan el hepatopáncreas (Kondo, *et al.*, 2015). Además no se descarta la presencia de este plásmido en otras especies o géneros mediante la transferencia del mismo (Ahn, *et al.*, 2017; Varela-Mejías, 2018).

### 2.1.3 Sintomatología

Uno de los principales signos de importancia en el AHPND es el aumento de la mortalidad del cultivo que puede llegar al 100% de la población de estanque afectado en los primeros treinta a cuarenta días de cultivo. Además, se ha identificado brotes secundarios ocasionados por *Vibrio* sp. (Varela-Mejías y Peña-Navarro, 2014).

Los síntomas que se han observado en los camarones afectados por AHPND son:

- Nado errático
- Bajo crecimiento
- Textura blanda
- Cutícula áspera
- Anorexia
- Nulo o bajo contenido intestinal
- Atrofia y palidez del hepatopáncreas
- Pérdida de pigmentos de la cápsula
- No se logra aplastar el hepatopáncreas entre el dedo índice y pulgar
- Parasitosis secundarias
- Manchas o rayas oscuras en el HP a simple vista

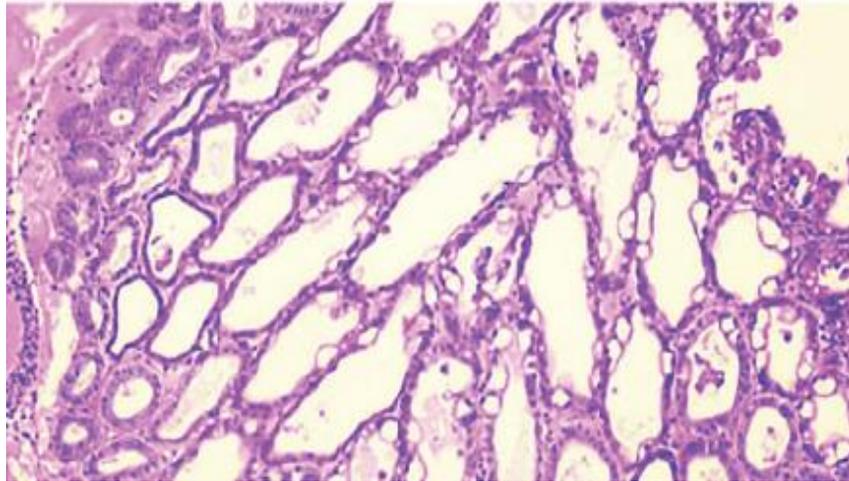
Los camarones enfermos se van hacia el fondo del estanque, observándose signos clínicos y de mortalidad durante los primeros 7-10 días después de la siembra pudiendo reaparecer a los 60 días de cultivo (Cuéllar-Anjel, 2013).

La sintomatología presenta cierta similitud con otras patologías como la Mancha blanca, Vibriosis sistémica, Síndrome de Taura, y el Síndrome de la cabeza amarilla, por lo que hay que tomar en cuenta el historial de brotes del sector (Cuéllar-Anjel, 2013).

#### **2.1.4 Diagnóstico histológico**

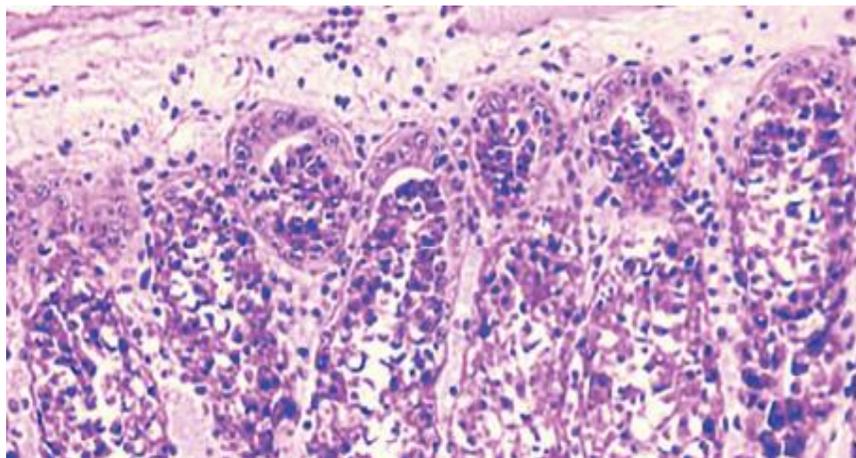
Las lesiones a nivel tisular observadas en camarones infectados con AHPND se las ha clasificado en tres fases: aguda, intermedia, y terminal, cada una de estas se las puede identificar con el paso de la infección (Varela-Mejías y Peña-Navarro, 2014).

En la primera fase (fase aguda) de la infección las células F, B y R del hepatopáncreas pierden su funcionalidad y se desprenden de los túbulos. Además, se puede observar una disminución en actividad de las células E y una disminución en los lípidos dando inicio a la atrofia (Varela-Mejías, 2018).



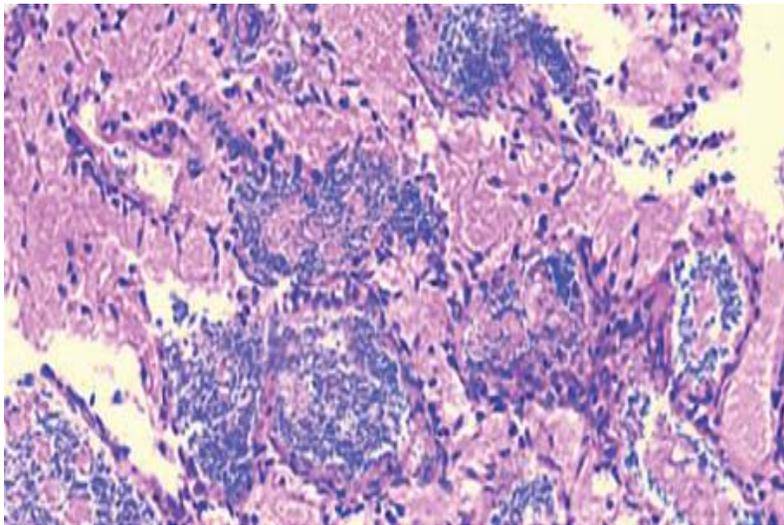
**Fuente:** (Varela-Mejías, *et al.*, 2017).

En la fase intermedia existe presencia de masas de bacterias oportunistas, dando inicio a una infección detectable. En esta fase se empieza a observar desprendimiento celular, inflamación e infiltración hemocítica (Pantoja & Lightner, 2014).



**Fuente:** (Varela-Mejías, *et al.*, 2017).

En la fase final el desprendimiento celular y la fuerte carga bacteria causa una destrucción generalizada del hepatopáncreas. La infiltración hemocítica aumenta, se observa melanosis y necrosis tisular. Esta fase se puede confundir con la necrosis séptica del hepatopáncreas ya que los lesiones son muy parecidas en este caso se utilizan otras técnicas para su identificación (Varela-Mejías, *et al.*, 2017).



**Fuente:** (Varela-Mejías, *et al.*, 2017).

### 2.1.5 Diagnóstico genético

Una vez identificado el responsable del AHPND se pudo realizar varios métodos para su identificación molecular. Para ello se tuvo que identificar las cepas que poseen el plásmido pVPA3-1 que es el que produce las toxinas Pir A Y Pir B, y se diseñó primer's o cebadores para la detección de dicho plásmido.



Fuente: (Han, *et al.*, 2015).

## 2.2 Técnicas de identificación

En la actualidad se utilizan varias técnicas para la identificación de esta enfermedad:

### 2.2.1 Anamnesis

Para esto el profesional a cargo de los cultivos debe tener toda la información posible del cultivo afectado, ya que para que se pueda dar un diagnóstico más real posible, el especialista debe realizar una serie de preguntas como: el origen de la larva el seguimiento que se le dio presencia de problemas, forma de siembra, parámetros del estanque, tipo de alimentación entre otras preguntas que ayuden a dar el diagnóstico (Cuéllar-Anjel, 2014). Esta técnica nos permite tomar decisiones para la realización de los análisis complementarios y recomendar un posible tratamiento.

### 2.2.2 Microscopia directa y montaje en fresco

La microscopia directa es una técnica utilizada para dar un diagnóstico rápido de una posible infección. Consiste en observar con el microscopio el hepatopáncreas, branquias y

contenido intestinal del camarón, previo a esto se debe realizar un montaje en fresco de lo que se desea analizar (Morales-Covarrubias, 2014).

El montaje en fresco se debe realizar inmediatamente después del muestreo o llevando los camarones vivos hasta el laboratorio donde se va a realizar. Esto se hace con el fin de evitar errores o dar falso positivos debido a la autólisis que sufren los organismos post mortem (Morales-Covarrubias, 2014).

### **2.2.3 Histopatología**

La histología es una técnica ampliamente desarrollada a lo largo de los años y que se ha utilizado con gran éxito en la identificación de todas las enfermedades de origen viral que afectan al camarón, entre otras enfermedades. Para que esto sea posible se debe preparar las láminas histológicas sin cometer errores, las mismas que deben ser examinadas por un profesional con experiencia en el campo (Cuéllar-Anjel, 2014).

La histopatología nos permite conocer el comportamiento del patógeno que se desea identificar, como afecta al organismo a nivel tisular y el tipo de lesiones que causa para poder diferenciar esta enfermedad de otras que ocasionan lesiones parecidas (Cuéllar-Anjel, 2014).

Gracias a la histopatología se pudo identificar el causante de la AHPND y diferenciar todas sus fases y las lesiones ocasionadas en cada una de ellas.

### **2.2.4 Técnicas moleculares**

Las técnicas que se desarrollan una vez identificado los patógenos causantes de las enfermedades, (en este caso AHPND) con el fin de que el tiempo de diagnóstico de la

enfermedad se mucho más corto a continuación se detalla las técnicas moleculares que se han utilizados para la detección de esta enfermedad (Varela-Mejías y Peña-Navarro, 2014).

### 2.2.5 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) consiste en la amplificación de secuencias del ADN mediante el uso de enzimas. Esto nos permite duplicar fragmentos del ADN que sirven para la identificación genética de virus y bacterias que afectan a los cultivos de camarón (Morales-Covarrubias, 2014).

Para la detección de AHPND por medio de PCR se diseñaron varios primer´s siendo los primeros el AP1 con la secuencia: 5'-CCTTGGGTGTGCTTAGAGGATG-3; reversa 5'-GCAAACACTATCGCGCAGAACACC-3 y AP2, con la secuencia: 5'-TCACCCGAATGCTCGCTTGTGG-3; reversa 5'-CGTCGCTACTGTCTAGCTGAAG -3, pero fueron descartados por el bajo nivel de sensibilidad que tenían para la identificación de las toxinas (Sirikharin, *et al.*, 2015). Después se diseñaron dos nuevos primer´s, AP3 con la secuencia 5'-ATG-AGT-AAC-AAT-ATA-AAA-CAT-GAA-AC-3'; reversa AP3-R: 5'-GTG-GTA-ATA-GAT-TGT-ACA-GAA-3' y AP4, con dos cebadores el primero con la secuencia 5'-ATG-AGT-AAC-AAT-ATA-AAA-CAT-GAA-AC-3'; reversa 5'-ACG-ATT- TCG-ACG-TTC-CCC-AA-3: el segundo con la secuencia 5'-TTG-AGA-ATA -CGG-GAC-GTG-GG-3' de regreso 5'- GTT-AGT-CAT-GTG-AGC-ACC-TTC-3, que mejoraron la detección de la enfermedad; con la única diferencia que el primer AP4 es un procedimiento de PCR anidado y el AP3 requiere aumentar la carga bacteriana si esta es baja (Dangtip, *et al* 2015; Varela-Mejías, *et al.*, 2017).

### 2.2.6 LAMP

El PCR isotérmico LAMP (por sus siglas en inglés) Loop-mediated isothermal amplification está basado en la síntesis de ADN por desplazamiento de cadena. Tiene resultados muy parecidos a un PCR tradicional realizado en un termociclador con la diferencia que este utiliza cuatro primers dos internos y dos externos que permite reconocer 6 secuencias de ADN (Cuéllar-Anjel, 2014). Para la detección de AHPND con esta técnica se diseñaron dos primers LAMP-A y LAMP- B que nos permiten identificar específicamente cepas de *V. parahaemolyticus* con el plásmido que produce estas toxinas (Varela-Mejías y Peña-Navarro, 2014).

### 3. CONCLUSIONES

El síndrome de mortalidad temprana es una enfermedad reciente que ha afectado el cultivo de camarón en el mundo. En la actualidad el agente causal ha sido identificado por lo que se ha podido realizar barreras de bioseguridad para disminuir los brotes de esta enfermedad.

Es fundamental realizar correctamente el diagnóstico para esta enfermedad, ya que se puede confundir los signos clínicos con otras enfermedades relacionadas con el hepatopáncreas.

Es de suma importancia llevar un registro histórico de los cultivos, con el fin de realizar tratamientos oportunos en caso de sospechar una posible infección.

La histología es una técnica de alta precisión para la identificación de cada una de las fases y lesiones que esta patología ocasiona, pero debido al largo tiempo de espera de los resultados es mucho más utilizada para investigaciones científicas.

Para los cultivos de camarón a gran escala la técnica más usada para la identificación de esta enfermedad es el PCR, por el tiempo en el que se obtienen los resultados, la precisión y la sensibilidad lo que nos permite tomar decisiones a tiempo con el fin de evitar grandes pérdidas económicas.

Llevar un registro de los parámetros de calidad de agua, las enfermedades, consumo de alimento, entre otras particularidades que se han presentado en la camaronera también nos permite predecir con antelación un posible evento y tomar las medidas de control necesarias.

#### 4. Bibliografía

Ahn, S., Piamsomboon, P., Tang, K., Han, E., & Kim, H. (2017). Complete Genome Sequence Of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease- Causing *Vibrio campbellii* LA16-V1, Isolated from *Penaeus vannamei* Cultured in a Latin American Country. *Genome Announcenments*, 5(37):e01011-17.

Aranguren, F., Han, E., & Tang, K. (2017). Enterocytozoon hepatopenaei (EHP) is a risk factor for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) and septic hepatopancreatic necrosis (SHPN) in the Pacific white shrimp *Penaeus vannamei*. *Aquaculture*, 471:37-42.

Cuéllar-Anjel, J. (2013). Síndrome de mortalidad temprana (EMS) Enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas (AHPND). Iowa: Institute for international cooperation in animal biologics.

Cuéllar-Anjel. (2014). Métodos para el Diagnóstico de Enfermedades en Camarones Penaeidos. En V. Morales y, J. Cuéllar-Anjel, (Edits.) *Guía técnica: Patología e inmunología de camarones Penaeidos* (pp. 21-92). Panamá.

Dangtip, S., Sirikharin, R., Sanguanrut, P., Thitamadee, S., Sritunyalucksana, K., Taengchaiyaphum, S., Flegel, T. (2015). AP4 method for two-tube nested PCR detection of AHPND isolates of *Vibrio parahaemolyticus*. *Aquaculture Reports*, 2:158-162.

Decamp, O., Moriarty, D., & Lavens, P. (2008). Probiotics for shrimp larviculture: review of field data from Asia and Latin America. *Aquaculture Research*, 39(4):334-338.

Han, J., Tang, K., Tran, L., & Lightner, D. (2015). *Photobacterium* insect-related (Pir) toxin- like genes in a plasmid of *Vibrio parahaemolyticus*, the causative agent of acute

hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) of shrimp. *Diseases of Aquatic Organisms*, 113(1):33-40.

Kondo, H., Thi, P., Dang, L., & Hirono, I. (2015). Draft Genome Sequence of Non-*Vibrio parahaemolyticus* Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease Strain KC13.17.5, Isolated from Diseased Shrimp in Vietnam. *Genome Announcements*, 3(5):e00978-15.

Lightner, D., Redman, R., Pantoja, C., Noble, B., Nunan, L., & Tran, L. (2013). Documentation of an Emerging Disease (Early Mortality Syndrome) in SE Asia & Mexico. *NACA*.

Morales-Cavarrubias, M. (2014). Montajes en fresco. En V. Morales y, J. Cuéllar-Anjel, (Edits.) *Guía técnica: Patología e inmunología de camarones Penaeidos* (pp. 29-47). Panamá.

Morales, V., Cuéllar-Anjel, J., Tello, R., y Montoya, L. (2016). Manual regional de procedimientos de emergencia para la prevención y el control de la enfermedad de la necrosis aguda del hepatopáncreas (AHPND). *OIRSA*, 1-36.

Pantoja, C., & Lightner, D. (2014). EMS/AHPND Descripción de la enfermedad en Asia y América. En V. Morales y, J. Cuéllar-Anjel, (Edits.) *Guía técnica: Patología e inmunología de camarones Penaeidos* (pp. 172-177). Panamá.

Peña-Navarro, N., & Varela-Mejías, A. (2015). Análisis histopatológico en *Litopenaeus vannamei* infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Agronomía Mesoamericana*, 26(1):43-53.

Peña-Navarro, N., & Varela-Mejías, 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-Navarro, N., Vargas, R., & Varela-Mejías, A. (2013). Productos naturales como estimuladores del sistema inmunológico de *Litopenaeus vannamei*, infectado con *Vibrio parahaemolyticus*. *Agronomía Mesoamericana*, 24(1):133-147.

Saavedra, K., Peralta, T., Ordinola, A., Sandoval, J., Vieyra, E., Zapata, M., Campoverde, S. (2018). Detección de una proteína asociada a la enfermedad de la Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND) en *Litopenaeus vannamei* bajo cultivo semi-intensivo en Ecuador. *Revista Investigaciones Veterinarias de Perú*, 29(1):328-338.

Sirikharin, R., Taengchaiyaphum, S., Sanguanrut, P., Duang, T., Mavichak, R., Proespraiwong, P., Sritunyalucksana, K. (2015). Characterization and PCR Detection Of Binary, Pir-Like Toxins from *Vibrio parahaemolyticus* Isolates that Cause Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) in Shrimp. *Plos ONE*, 10(5):1-16.

Varela-Mejías, A. (2018). Patologías del hepatopáncreas en camarones marinos cultivados en América y su diagnóstico diferencial mediante histopatología. *AquaTIC*, 50:13-30.

Varela-Mejías, A., y Peña-Navarro, N. (2014). Síndrome de la Mortalidad Temprana (EMS/AHPNS) en camarones cultivados: Una revisión. *Repertorio Científico*, 17(1):25-30.

Varela-Mejías, A., Peña-Navarro, N., & Aranguren, L. F. (2017). Necrosis aguda del hepatopáncreas: una revisión de la enfermedad en *Penaeus vannamei*. *Agronomía Mesoamericana*, 28(3):735-745.