

# Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina

450



*La fotografía de la cubierta ha sido facilitada cortésmente por la Granja Pescis y Ana Bertha Montero Rocha, México.*

# Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina

por el  
Servicio de Recursos de Aguas Continentales y Acuicultura  
Dirección de Recursos Pesqueros  
Departamento de Pesca de la FAO

Las denominaciones empleadas en este producto informativo y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, de parte de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, juicio alguno sobre la condición jurídica o nivel de desarrollo de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto de la delimitación de sus fronteras o límites.

ISBN 92-5-305022-5

Todos los derechos reservados. Se autoriza la reproducción y difusión de material contenido en este producto informativo para fines educativos u otros fines no comerciales sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor, siempre que se especifique claramente la fuente. Se prohíbe la reproducción del material contenido en este producto informativo para reventa u otros fines comerciales sin previa autorización escrita de los titulares de los derechos de autor. Las peticiones para obtener tal autorización deberán dirigirse al Jefe del Servicio de Gestión de las Publicaciones de la Dirección de Información de la FAO  
Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Roma, Italia  
o por correo electrónico a:  
[copyright@fao.org](mailto:copyright@fao.org)

© FAO 2004

## PREPARACIÓN DE ESTE DOCUMENTO

El presente documento, Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina, ofrece una guía técnica para el manejo responsable y efectivo de los laboratorios de postlarvas de camarón en América Latina. Este documento es el resultado de un extenso proceso de consulta efectuado durante el período 2001-2003, con la contribución por parte de Coordinadores Nacionales designados por sus respectivos gobiernos, expertos regionales e internacionales, delegados de varias organizaciones intergubernamentales, representantes del sector privado y la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Este proceso se hizo posible a través del Proyecto – Asistencia para el manejo sanitario del cultivo del camarón en América Latina: TCP/RLA/0071 (A), perteneciente al Programa de Cooperación Técnica Regional de la FAO, en el que participaron catorce países de la región, varias organizaciones intergubernamentales, operarios de laboratorio y camaroneros, así como otros expertos. El objetivo de este documento es ofrecer una base sólida para la mejora del estado sanitario y de la calidad de la postlarva *Penaeus vannamei* producida en los laboratorios de postlarvas en América Latina.

### **Distribución**

Directivos y operarios de laboratorios de postlarvas de camarón  
Ministerios y Juntas Directivas de Pesca  
Funcionarios Regionales y Subregionales de Pesca de la FAO  
Departamento de Pesca de la FAO

FAO.

Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina.

FAO Documento Técnico de Pesca. No. 450. Roma, FAO. 2004. 66p.

## RESUMEN

La acuicultura representa un importante sector de la producción alimentaria mundial y constituye una importante fuente de proteínas, empleo e ingresos, siendo la base del sustento de una gran parte de la población mundial. En concreto, el camarón es un producto de alto valor, que se produce principalmente en Asia y América Latina, fundamentalmente para su exportación, generando riqueza en muchos de los países en vías de desarrollo de estas regiones. Durante la pasada década, surgieron considerables problemas en el cultivo del camarón, principalmente debido a enfermedades virales. En particular, América Latina, donde *Penaeus vannamei* es la principal especie cultivada, ha sufrido severos problemas a consecuencia de enfermedades de tipo vírico desde principios de los noventa. A partir de los esfuerzos realizados en la búsqueda de soluciones duraderas para combatir los problemas derivados de las enfermedades que afectan al cultivo de *P. vannamei* en América Latina, se advirtió que la siembra de postlarvas sanas es un factor esencial en la mejora de la supervivencia durante la producción. Sin embargo, para producir con éxito postlarvas sanas, es necesaria la asimilación de los principios básicos sobre el manejo sanitario y la bioseguridad en el laboratorio.

Este documento ofrece una guía técnica sobre cómo mejorar la sanidad y la calidad de las postlarvas producidas en laboratorio, interviniendo en diferentes puntos del proceso de producción para la optimización de las instalaciones de mantenimiento y cría, maduración de los reproductores, cría de las larvas, alimentación, gestión de la calidad del agua, bioseguridad, y manejo sanitario. El documento también proporciona información valiosa sobre las posibles vías de aplicación de intervenciones tipo Procedimientos Operativos Estándar (SOP) y de Análisis de Riesgo y Puntos Críticos de Control (HACCP), durante la producción en laboratorio de postlarva *P. vannamei*. Con este documento se pretende asistir a los directivos y operarios de los laboratorios de postlarvas en sus esfuerzos por producir postlarvas *P. vannamei* de calidad, sanas y libres de enfermedades, mejorando, de esta manera, la producción en general y la sostenibilidad del cultivo de camarón blanco.

# Prólogo

Es un placer para la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) el presentar este documento titulado Manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad de los laboratorios de postlarvas de camarón blanco (*Penaeus vannamei*) en América Latina, que fue desarrollado por representantes de catorce países de América Latina, científicos y expertos en la producción y manejo sanitario del camarón en laboratorio, así como por representantes de varias agencias y organizaciones regionales e internacionales<sup>1</sup>.

Este documento, producto del Programa Regional de Cooperación Técnica (PCT) de la FAO – Asistencia para el manejo sanitario del cultivo de camarón en América Latina, proporciona una valiosa guía para la reducción del riesgo de enfermedades en el cultivo en laboratorio de *P. vannamei* con el correspondiente incremento en su producción. Así mismo, ofrece la oportunidad de mejorar la bioseguridad general de los sistemas de laboratorio, que a su vez es fundamental para asegurar la sanidad en el proceso de producción. La mejora en los procesos y prácticas de laboratorio para el incremento de la producción del camarón blanco en América Latina, contribuirá al desarrollo de las zonas rurales de la región y de su nivel de vida, mediante la generación de ingresos, la creación de empleo y mejorando la accesibilidad a los alimentos en países de América Latina. Los países que han participado en el desarrollo de este documento son: Belice, Brasil, Costa Rica, Colombia, Cuba, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México,

En este documento se hace referencia a diversas prácticas y protocolos de desinfección usados durante el proceso de producción de larvas de laboratorio en América Latina. Estos procedimientos y protocolos incluyen el uso de varios productos químicos y desinfectantes. Las concentraciones químicas y los tiempos de exposición que se aportan en este documento están basados en las prácticas existentes en América Latina. La FAO promueve el uso seguro y responsable de productos químicos y desinfectantes en acuicultura como parte del esfuerzo por reducir los impactos negativos en el medio ambiente y para mejorar la seguridad de la salud humana. Se alienta a las personas que utilicen este documento a ser consideradas y responsables en el uso de productos químicos y desinfectantes, así como a remitirse a las Directrices Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) sobre desinfección en acuicultura de camarón (OIE 2003).

La FAO agradece especialmente la colaboración de todos los gobiernos, agencias y organizaciones que tomaron parte en este proyecto, así como a todos aquellos individuos que contribuyeron de forma generosa con su tiempo, esfuerzo y conocimientos, a la compilación de este documento y de la información producida durante el proceso.

## **Ichiro Nomura**

Subdirector General

Departamento de Pesca

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

---

<sup>1</sup> Véase en el Anexo una lista de personas, agencias y organizaciones que participaron en el desarrollo de este documento



# Índice

<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>2. CONTRIBUCIÓN DEL CAMARÓN MARINO A LA PRODUCCIÓN ACUÍCOLA GLOBAL .....</b>	<b>5</b>
2.1 TENDENCIAS DE LA PRODUCCIÓN ACUÍCOLA EN AMÉRICA LATINA .....	5
2.2 CULTIVO DEL CAMARÓN EN AMÉRICA LATINA: CUESTIONES SANITARIAS .....	6
<b>3. REQUISITOS PARA UNA PRODUCCIÓN DE LABORATORIO EFECTIVA.....</b>	<b>9</b>
3.1 INFRAESTRUCTURA .....	9
3.2 CALIDAD DEL AGUA Y TRATAMIENTO .....	10
3.3 BIOSEGURIDAD .....	11
3.4 PROCEDIMIENTOS DE OPERACIONES ESTÁNDAR (SOP) .....	11
3.5 ANÁLISIS DE PELIGROS Y DE PUNTOS CRÍTICOS DE CONTROL (HACCP) .....	12
3.6 USO DE PRODUCTOS QUÍMICOS DURANTE EL PROCESO DE PRODUCCIÓN EN LABORATORIO .....	15
3.7 EVALUACIÓN SANITARIA .....	16
<b>4. PROCESO DE PREDESOVE .....</b>	<b>21</b>
4.1 SELECCIÓN DE REPRODUCTORES .....	21
4.2 PROCEDIMIENTOS DE CUARENTENA DE LOS REPRODUCTORES .....	23
4.3 ACLIMATACIÓN .....	25
4.4 MADURACIÓN .....	26
4.5 DESOVE .....	28
4.6 ECLOSIÓN .....	30
4.7 CHEQUEO SANITARIO DE LOS REPRODUCTORES .....	31
4.8 NUTRICIÓN DE LOS REPRODUCTORES .....	31
<b>5. PROCESO DE POSTDESOVE .....</b>	<b>33</b>
5.1 MANTENIMIENTO DE LAS INSTALACIONES .....	33
5.2 MANEJO DE LA CALIDAD DEL AGUA .....	34
5.3 DESINFECCIÓN DE LOS REPRODUCTORES .....	37
5.4 LAVADO DE LOS NAUPLIOS .....	37
5.5 SELECCIÓN DE LOS NAUPLIOS .....	38
5.6 MANTENIMIENTO DE LOS NAUPLIOS.....	38
5.7 TRANSPORTE DE LOS NAUPLIOS .....	38
5.8 CRÍA Y MANTENIMIENTO DE LAS LARVAS .....	39
5.9 NUTRICIÓN DE LAS LARVAS Y MANEJO ALIMENTICIO .....	40
5.10 MANEJO SANITARIO DE LAS LARVAS .....	43
5.11 EVALUACIÓN GENERAL DE LAS CONDICIONES DE LAS LARVAS .....	47
5.12 SELECCIÓN DE LAS POSTLARVAS PARA LA SIEMBRA .....	52
5.13 TRANSPORTE Y TRANSFERENCIA DE POSTLARVAS .....	58
5.14 DOCUMENTACIÓN Y RECOGIDA DE DATOS .....	59
<b>6. REFERENCIAS.....</b>	<b>61</b>
<b>7. ANEXO – PERSONAS RESPONSABLES DE LA COMPILACIÓN DE ESTE DOCUMENTO.....</b>	<b>63</b>



## Abreviaturas y acrónimos

APEC	Cooperación Económica en Asia y el Pacífico
BP	<i>Baculovirus penaei</i>
CCP	Punto crítico de control
CV	Coefficiente de variación
EDTA	Ácido etileno diamino tetraacético
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
HACCP	Análisis de peligros y puntos críticos de control
IHHN	Necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética
LAN	Área de red local
NACA	Red de Centros de Acuicultura de Asia y el Pacífico
NC	Coordinador Nacional
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
PCR	Reacción en cadena de polimerasa
PL	Postlarva
PVC	Cloruro de polivinilo
SEMERNAP	Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca
SOP	Procedimientos de operaciones estándar
SPF	Libre de patógenos específicos
SPR	Resistente a patógenos específicos
SPT	Tolerante a patógenos específicos
TSV	Virus del síndrome de taura
UV	Ultravioleta
WSSV	Virus del síndrome de la mancha blanca
YHV	Virus de la cabeza amarilla



# 1. Introducción

Las enfermedades se han convertido en el mayor freno para el desarrollo del cultivo del camarón en América Latina. Especialmente desde el brote de la enfermedad de la mancha blanca (producida por el virus del síndrome de la mancha blanca, WSSV), la producción de camarón ha descendido de forma significativa en muchos países y los camaroneros se enfrentan con serias dificultades para continuar con la producción. En la actualidad, las correspondientes pérdidas económicas y sus impactos están afectando considerablemente a las economías nacionales y al sustento de los sectores más pobres. Por ejemplo, el volumen de las exportaciones ecuatorianas de camarón en diciembre de 1999 descendió por debajo de los niveles de 1985. En consecuencia, se considera oportuno y manifiestamente apropiado, proporcionar la asistencia adecuada para combatir esta situación. Esta asistencia ayudará a asegurar el desarrollo del cultivo de camarón, los ingresos nacionales a través de su comercio (tanto local como internacional), así como el sustento de camaroneros y otros proveedores de servicios.

Al examinar los patrones de propagación de las enfermedades y patógenos del camarón, especialmente aquellos de origen vírico, existen evidencias concluyentes de que la mayoría de los brotes principales de enfermedades están asociados al movimiento de animales vivos (reproductores, nauplios y postlarvas [PL]). Es importante mantener suma prudencia sobre el movimiento internacional o regional de poblaciones de camarón vivo destinados a la acuicultura. Esta precaución se aplica incluso a las poblaciones domesticadas aún siendo la misma especie de camarón cultivada en diferentes lugares. Sin embargo, se deberían permitir dichos movimientos siempre que se hayan realizado una correcta cuarentena y los pertinentes chequeos.

Nuestros conocimientos sobre las vías y posibilidades para controlar las enfermedades que afectan al camarón, especialmente la WSSV, han aumentado en los últimos años, gracias principalmente a la experiencia adquirida en Asia y América Latina. La solución definitiva para combatir los problemas derivados de las enfermedades del camarón es a través del cultivo de stocks domesticados certificados, que estén libres de patógenos específicos, alimentados con dietas secas de alto valor nutritivo en estanques bio-seguros y bajo condiciones que no sean estresantes para el camarón. Ésta debe ser la meta final de la industria del camarón.

En cuanto al estrés, mientras que es imposible controlar las condiciones climáticas, sí se pueden controlar muchas variables importantes, como la capacidad de carga de los estanques, la entrada de alimento y el intercambio de agua. Hoy en día, aunque los alimentos parecen ser adecuados, existe obviamente la posibilidad de mejorar su calidad. Los mayores problemas potencialmente controlables, con los que se encuentran los camaroneros son tanto la incertidumbre existente sobre la calidad de las postlarvas que son utilizadas en el cultivo, como la falta de bioseguridad del ambiente del estanque frente a la entrada de patógenos y sus portadores.

La forma más sencilla de resolver el problema relativo a la calidad de las postlarvas es controlando su origen mediante la utilización de poblaciones de reproductores domesticados en vez de salvajes. Sin embargo, esta práctica precisa de considerables esfuerzos de investigación y de ensayos de campo y se encuentran todavía en un estado muy inicial. Por lo menos podemos intentar asegurar la bioseguridad de los estanques mediante el adecuado chequeo de las postlarvas antes de su siembra. Los procedimientos para la detección de patógenos importantes en las postlarvas (en la actualidad, predominantemente el WSSV) están ya establecidos. No obstante, se precisa además de la formación de personal, desarrollo de capacidades, y de un aumento en el número de laboratorios de postlarvas y de centros de diagnóstico.

En la actualidad, se carece de estándares técnicos armonizados sobre la producción en laboratorio de postlarvas. Es imprescindible que tales estándares sean desarrollados, estandarizados, validados, y acordados por parte de los productores, tanto nacional como internacionalmente.

En noviembre 1999, se celebró en Cebú, Filipinas, un Taller de Expertos de la FAO al que acudieron representantes de catorce países productores de camarón, incluyendo cinco de América Latina. En el taller se discutieron y se acordaron una serie de estrategias para controlar los problemas derivados de las enfermedades del camarón y se hicieron recomendaciones para futuras actividades. Estas ideas se discutieron más a fondo en el reciente Taller de Expertos APEC/NACA/FAO/SEMERNAP sobre Transferencia transfronteriza de patógenos de animales acuáticos y desarrollo de estándares armonizados en el manejo sanitario en acuicultura, celebrado en Puerto Vallarta, Jalisco, México, 24-28 de julio del 2000. En esta ocasión, se logró consensuar que estas estrategias fueran incorporadas en un proyecto de cooperación técnica regional de asistencia, y los países miembros de la FAO, en los que el dicho proyecto sería implementado, dieron su consentimiento para la formulación de la propuesta del proyecto.

El desarrollo de directrices técnicas regionales y estándares sobre cuarentena y certificación sanitaria para el movimiento transfronterizo seguro de animales acuáticos vivos (reproductores, nauplios y postlarvas de camarón), y su armonización dentro de la región, fue considerada oportuna y apropiada. Sin embargo, la asimilación de esta necesidad no será inmediata, de manera que la aceptación de estas directrices seguirá constituyendo un tema de debate hasta que se desarrollen las competencias nacionales pertinentes. Sin embargo, la experiencia adquirida en Asia por la FAO en el desarrollo de directrices técnicas sobre el manejo sanitario para el movimiento transfronterizo seguro de animales acuáticos vivos, puede ser debidamente utilizada en beneficio de América Latina (ver FAO/NACA 2000, 2001a). Un factor importante es el desarrollo de capacidades de las instituciones nacionales, el personal involucrado, y los productores de camarón. Los camaroneros deben ser informados de las opciones y medios disponibles para controlar los brotes de enfermedades, especialmente el WSSV. Se considera así mismo apropiado y oportuno el desarrollo de buenas prácticas para el manejo de los laboratorios y de los cultivos, así como su documentación a través de evidencias científicas adecuadas y datos de campo.

Teniendo en cuenta lo arriba mencionado, se hace evidente que el medio más efectivo y oportuno de asistir a las Américas a afrontar la situación existente respecto a las enfermedades del camarón, sería a través del desarrollo de intervenciones para: i) mejorar la calidad de las postlarvas, ii) fomentar la capacidad de los camaroneros y de las agencias estatales oportunas, iii) desarrollar una extensa red de información dentro de la región. El Gobierno de Ecuador realizó una petición formal a la FAO de asistencia técnica para combatir los graves problemas existentes en el país debidos a las enfermedades del camarón. La FAO, en consulta y acuerdo de los países productores de camarón de América Latina, decidió preparar el Proyecto sobre el Programa de Cooperación Técnica Regional en el que se abordan las cuestiones anteriores.

El proyecto, que empezó en el 2001, involucró la participación de 14 países: Belice, Brasil, Costa Rica, Colombia, Cuba, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Perú y Venezuela. Representantes de cada país respondieron a un cuestionario sobre las prácticas de laboratorio y de maduración del camarón en su país respectivo. El cuestionario comprendía un número de aspectos de producción, concentrándose en la maduración y en los tipos de laboratorios de postlarvas, tallas, especies, manejo, tratamientos físicos y químicos y procedimientos de desinfección utilizados; manejo sanitario; métodos de evaluación de producción y calidad; métodos de transporte; y problemas encontrados.

La guía técnica proporcionada en este documento fue desarrollada por los Coordinadores Nacionales (NC) y los expertos involucrados en el proyecto y está basada en la información proporcionada por los gobiernos participantes.



## 2. Contribución del camarón marino a la producción acuícola global

En el año 2000, el total de la producción acuícola global registrada fue de 45,71 millones de toneladas, valorados en 56,47 miles de millones de dólares EE.UU. (\$EE.UU.). Aproximadamente la mitad de esta cantidad correspondía a peces (23,07 millones de toneladas o 50,4% de la producción total), seguido de moluscos (10,73 millones de toneladas o 23,5%), plantas acuáticas (10,13 millones de toneladas o 22,2%), crustáceos (1,65 millones de toneladas o 3,6%), anfibios y reptiles (100 271 toneladas o 0,22%) y invertebrados acuáticos diversos (36 965 toneladas o 0,08%). Aunque los crustáceos (una categoría constituida principalmente por camarón peneido) representaban sólo el 3,6% de la producción total en peso, comprendieron el 16,6% del valor total de la producción acuícola global para el 2000.

Más de la mitad (54,9%) de la producción acuícola global, se originó en aguas costeras marinas o salobres en el 2000, en comparación al 45,1% de la producción acuícola en agua dulce. Aunque la producción en aguas salobres representaba sólo el 4,6% del total de la producción acuícola global en peso para el 2000, contribuyó en un 15,7% del valor de la producción total. Los principales grupos de especies criadas en agua dulce fueron crustáceos y peces de alto valor (50,5% y 42,7%, respectivamente), mientras que los moluscos y las plantas acuáticas, dominan en agua marina (46,1% y 44,0%, respectivamente)

Como en años anteriores, el camarón marino continuó dominando la acuicultura de crustáceos, alcanzando en el año 2000 una producción de 1 087 111 toneladas (66,0% de la producción global de la acuicultura de crustáceos) valorada en 6 880 068 900 \$EE.UU. (73,4% del valor total). Actualmente la acuicultura ofrece sólo alrededor de un cuarto (26,1%) del total de las extracciones globales de camarón. Las principales especies cultivadas son el camarón tigre (*Penaeus monodon*), el langostino carnoso (*P. chinensis*) y el camarón blanco (*P. (Litopenaeus) vannamei*), las cuales comprenden entre las tres alrededor del 86% de la producción acuícola total de camarón en el 2000.

El crecimiento de la producción de crustáceos ha continuado siendo fuerte, aumentando un 6,8% en peso desde 1999, una tasa que excede ligeramente a la de peces (6,7%), moluscos (5,8%) y plantas acuáticas (6,1%). El crecimiento de la producción de camarón, aunque aún significativa, ha decrecido a niveles más modestos durante la última década (de media un 5%) en comparación con las tasas de crecimiento de dos-dígitos observadas durante los setenta (23%) y los ochenta (25%).

### 2.1 Tendencias de la producción acuícola en América Latina

Los países de América Latina, aunque todavía contribuyen relativamente poco a la producción acuícola total (1,9% de la producción global en peso, y el 5,3% en valor), han aumentado su producción de forma espectacular en los 30 últimos años, con un incremento de la producción acuícola total que se ha doblado más de 714- veces en peso, de 1 221 toneladas en 1970 (0,03% del total de la producción global) a 871 874 toneladas en el 2000. La acuicultura continúa creciendo poco a poco en la región, con un saludable 14,2% al año en el período 1990-2000, aunque esta tasa es considerablemente menor que los vertiginosos aumentos experimentados en décadas anteriores (34,4% al año durante el período 1970-1980 y 23,3% al año durante 1980-1990). El crecimiento general durante el período 1970-2000 tuvo de media un 24,5% al año.

Las 10 principales especies cultivadas en peso en la región en el 2000 fueron, el salmón Atlántico (166 897 toneladas o 19,1%), camarón blanco (139 264 toneladas o 16,0%), trucha arcoiris (97 479 toneladas o 11,2%), salmón coho (93 419 toneladas o 10,7%), tilapia (85 246 toneladas o 9,8%), carpa común (62 241 toneladas o 7,1%), alga marina *Gracilaria* (33 642 toneladas o 3,8%), carpa plateada (30 000 toneladas o 3,4%), mejillón chileno (*Mytilus chilensis*) (23 477 toneladas o 2,7%) y el escalop peruano calico (*Argopectin purpuratus*) (21 295 toneladas o 2,4%) (FAO 2003).

Los primeros productores nacionales dentro de la región en el 2000 fueron Chile (425 058 toneladas o 48,7%), Brasil (153 558 toneladas o 17,6%), Ecuador (62 011 toneladas o 7,1%), Colombia (61 786 toneladas o 7,1%), México (53 802 toneladas o 6,2%), Cuba (52 700 toneladas o 6,0%), Venezuela (12 830 toneladas o 1,5%), Costa Rica (9 708 toneladas o 1,1%), Honduras (8 542 toneladas o 1,0%) y Perú (6 812 toneladas o 0,8%).

En valor, la producción acuícola de la región ha aumentado más de 8 veces, de 337 millones de dólares americanos (\$EE.UU.) en 1984 a 2,98 miles de millones en el 2000 (representando el 5,3% del total de la producción acuícola global en valor) Los principales grupos de especies en función de su valor en el 2000 fueron peces (1,89 billones de \$EE.UU. o 63,4%), crustáceos (0,94 billones de \$EE.UU. o 31,5%) y moluscos (128 millones de \$EE.UU. o 4,3%), siendo las principales especies cultivadas el camarón blanco (848 millones de \$EE.UU. o 28,4%), salmón Atlántico (567 millones de \$EE.UU. o 19,0%), salmón coho (346 millones de \$EE.UU. o 11,6%), trucha arcoiris (291 millones de \$EE.UU. o 9,7%), tilapia (221 millones de \$EE.UU. o 7,4%), carpa común (176 millones de \$EE.UU. o 5,9%), escalop peruano calico (93 millones de \$EE.UU. o 3,1%), camarón peneido (especie no aportada) (77 millones de \$EE.UU. o 2,6%), cachama (*Colossoma*) (75 millones de \$EE.UU. o 2,5%) y carpa plateada (21 millones de \$EE.UU. o 0,7%).

## 2.2 Cultivo del camarón en América Latina: cuestiones sanitarias

La industria del cultivo del camarón en América Latina ha desarrollado y emergido como una de las mayores fuentes de ingreso de divisas extranjeras de la región. Inicialmente, los productores de camarón dependían casi por entero de la captura de postlarvas salvajes en estuarios y áreas costeras donde éstos se encuentran de forma natural. Sin embargo, las variaciones estacionales y anuales de las capturas de postlarvas, originaron el desarrollo de laboratorios de postlarvas de camarón donde la producción de postlarvas se podía llevar a cabo bajo condiciones controladas. Estos laboratorios usaban reproductores salvajes capturados y suministrados por pescadores.

Las fluctuaciones en las capturas de ambos, postlarvas y reproductores salvajes, debidas al fenómeno de El Niño influyeron enormemente en el desarrollo de los laboratorios. Tanto los bajos precios de las postlarvas en los años en los que la semilla salvaje era abundantes, como la impresión de que éstos eran más fuertes que los domesticados, fueron los factores por los que muchos laboratorios se encontraron con dificultades financieras. Por otro lado, en los años en los que las semillas salvajes escaseaban, los producidos en laboratorio podían ser vendidos a un precio superior. A pesar de esto, muchos laboratorios de postlarvas experimentaban problemas debido a la imprevisible situación del mercado.

En los últimos tiempos, las enfermedades, o más concretamente, los problemas sanitarios del camarón, produjeron un renacimiento del interés por las postlarvas producidas en laboratorio. La creencia ampliamente extendida de que el camarón de ciertos países era menos sensible al virus del síndrome de taura (TSV) que aquellos procedentes de otras áreas, motivó el comercio lucrativo transfronterizo de reproductores, nauplios y postlarvas en la región.

Desafortunadamente, la aparición del virus del síndrome de la mancha blanca (WSSV) a finales de los años 1990, reveló a los operarios de laboratorio locales la posibilidad de que la enfermedad podría ser propagada por dichas transferencias si no eran sometidas a una regulación y control apropiado.

Al mismo tiempo, varios productores han estado experimentando con la reproducción de supervivientes de brotes de TSV, en el intento de desarrollar cepas de camarón con mayor resistencia al virus. La epidemia de WSSV y el riesgo de transmisión vertical, aceleraron este proceso despertando un mayor interés por estudios de genética y reproducción, así como el reconocimiento de que la dependencia de camarón salvaje representaba un riesgo significativo de enfermedad. Los operarios de laboratorio sometieron a examen sus operaciones, centrándose en mejorar la bioseguridad y el manejo sanitario de sus sistemas de producción.

En la actualidad, la mayoría de los países latinoamericanos han empezado programas de domesticación y selección genética, utilizando en los sistemas de maduración, reproductores criados en estanques, con el objetivo de estabilizar las previsiones y de mejorar la resistencia a enfermedades y la tasa de crecimiento de sus poblaciones de camarón. En un principio, se usaron reproductores procedentes de varios países de la región, con la intención de asegurar una amplia variabilidad genética en los stocks. Sin embargo, el posterior cierre de fronteras a la importación de camarones vivos ha restringido esta actividad.

La mayor parte de los países de la región se están concentrando en la producción de camarones resistentes a patógenos específicos (SPR) o tolerantes a patógenos específicos (SPF), seleccionando los mejores animales supervivientes (pero no necesariamente libres de enfermedad) de los estanques de engorde para su posterior crecimiento en distintas instalaciones, antes de ser transferidos a los sistemas de maduración. Los camarones Libres de Patógenos Específicos (SPF) –por ejemplo, aquellos certificados, libres de uno o más agentes específicos, y mantenidos a lo largo de su vida en sistemas cerrados– también han sido utilizados, aunque con menor frecuencia, siendo generalmente importados de centros de reproducción aislados de los Estados Unidos.



### 3. Requisitos para una producción de laboratorio efectiva

Con la intención de ofrecer guía técnica práctica y adecuada para la gestión de los laboratorios de postlarvas de camarón, es necesario primeramente revisar algunos requisitos básicos para un sistema efectivo de producción en laboratorio. Estos requisitos incluyen: la presencia de una infraestructura básica, el desarrollo de unos Procedimientos de Operaciones Estándar (SOP) (incluyendo el Análisis de peligro y de puntos críticos de control [HACCP]), el mantenimiento de la bioseguridad, el aprovisionamiento de las cantidades adecuadas de agua limpia, el uso responsable de productos químicos, y la garantía del estado sanitario de las poblaciones de camarón a través de pruebas de laboratorio. Muchos de estos componentes son examinados con mayor detalle en secciones posteriores de este documento.

#### 3.1 Infraestructura

**Los laboratorios de postlarvas tienen que estar bien diseñados y tener la infraestructura adecuada, puesto que éstos tienen un impacto importante en la cantidad y la calidad de las postlarvas producidas**

Los laboratorios de postlarvas deben ser diseñados (o en el caso de los ya existentes, modificados) para asegurar una buena bioseguridad, eficiencia, efectividad de costes e implementación de Procedimientos de Operaciones Estándar (SOP) Los requisitos de la infraestructura para una bioseguridad satisfactoria en el funcionamiento del laboratorio serán discutidos bajo los encabezamientos pertinentes a lo largo de esta sección.

**Los laboratorios de postlarvas de camarón deben estar constituidos por varias unidades, cada una disponiendo de la infraestructura apropiada**

Un laboratorio de camarón bien diseñado constará de unidades separadas de cuarentena, aclimatación, maduración, desove y eclosión, cría de larvas y nursery, cultivo de algas interior y exterior, y para la eclosión (y enriquecimiento, cuando sea oportuno) de *Artemia*. Adicionalmente, habrá infraestructura de soporte para el manejo del agua (instalaciones de toma de agua, almacenaje, filtración, aireación, calefacción, y distribución), y de la alimentación (laboratorios de postlarvas para el análisis e instalaciones para la preparación y el almacenaje), así como áreas de mantenimiento, áreas de embalaje de nauplios y PL, oficinas, almacenes, y áreas destinadas al personal.

**Un buen diseño de laboratorio debe incluir la separación física o aislamiento de las diferentes instalaciones de producción y un perímetro de seguridad efectivo**

La separación física o aislamiento de las diferentes instalaciones de producción es significativo de un buen diseño de laboratorio y debe ser incorporado en las nuevas construcciones. En diseños existentes de laboratorio sin separación física, se puede conseguir también el aislamiento efectivo a través de la construcción de barreras y la implementación de controles de los flujos de procesos

y de productos. Las instalaciones deben contar con una pared o cerca alrededor de la periferia de la propiedad, con la altura suficiente para evitar la entrada de animales y personas no autorizadas. Esto ayudará a reducir el riesgo de introducción de patógenos por esta vía, así como a mantener la seguridad general de las instalaciones.

**Debe existir una unidad de cuarentena para las nuevas introducciones de reproductores para minimizar las posibilidades de infectar los reproductores existentes a través de los nuevos animales**

La cuarentena de todos los animales que van a ser introducidos por primera vez en el laboratorio es una medida esencial de bioseguridad. Antes de pasar al sistema de producción, los reproductores tienen que ser chequeados en busca de niveles sub-clínicos de patógenos (Ej. Vía dot blot, PCR, inmunoblot, etc.) Los reproductores con enfermedades graves sin posible tratamiento deben ser destruidos inmediatamente y sólo los animales libres de patógenos serán introducidos en la unidad de maduración.

### 3.2 Calidad del agua y tratamiento

**Los sistemas de tratamiento del agua deben ser diseñados para proporcionar agua oceánica de alta calidad**

El agua para el laboratorio debe ser filtrada y tratada para prevenir la entrada de vectores y patógenos que puedan estar presentes en la fuente de agua. Esto se puede conseguir mediante el filtrado inicial a través de pozos excavados en arena, filtro de arena (de gravedad o de presión), o filtros de saco de malla dentro del reservorio o estanque de decantación. Seguidamente a la desinfección primaria por cloración, y tras la decantación, el agua debe ser filtrada otra vez con un filtro más fino y luego desinfectada mediante luz ultravioleta (UV) y ozono. El uso de filtros de carbón activado, la adición de EDTA y la regulación de temperatura/salinidad deben ser también considerados dentro del sistema de abastecimiento de aguas.

**El diseño del sistema de distribución de agua debe tener en cuenta el nivel de bioseguridad requerido en las áreas en las que el agua es distribuida**

Cada unidad funcional del sistema del laboratorio debe tener un tratamiento de agua apropiado y, cuando sea necesario, debe ser aislado del agua suministrada para otras áreas (por ejemplo, áreas de cuarentena). Deben utilizarse sistemas de recirculación separados en parte o en todo el laboratorio para reducir el gasto de agua y aumentar además la bioseguridad, especialmente en áreas de alto riesgo.

**Toda el agua que se vierte desde la instalación debe estar libre de patógenos**

Todo el agua vertida desde el laboratorio, particularmente aquella que se sabe o se sospecha que puede estar contaminada (por ejemplo, las aguas procedentes de las áreas de cuarentena) debe ser retenida temporalmente y tratada con una solución de hipoclorito (>20 ppm de cloro activo durante al menos 60 min) o cualquier otro desinfectante efectivo antes de ser vertida. Esto es particularmente crítico en los casos donde el agua es vertida en el mismo lugar de la toma de agua.

Los procedimientos de tratamiento del agua más específicos usados en cada fase de maduración y cría de larvas se explican en detalle en las secciones correspondientes.

### 3.3 Bioseguridad

**Es indispensable conseguir una buena bioseguridad para lograr la producción de postlarvas sanas**

La bioseguridad ha sido definida como «...*el conjunto de prácticas que reducirán la probabilidad de introducción de patógenos y la subsiguiente propagación de un sitio a otro...*» (Lotz, 1997). Los elementos básicos de un programa de bioseguridad comprenden los métodos físicos, químicos y biológicos necesarios para proteger el laboratorio de las consecuencias de todas aquellas enfermedades que representan un alto riesgo. Una bioseguridad efectiva supone tener en cuenta un rango de factores, tanto específicos como no específicos de enfermedades, desde los puramente técnicos hasta aspectos económicos y de gestión. Pueden ser empleados distintos niveles y estrategias de bioseguridad dependiendo de las instalaciones de laboratorio, del tipo de enfermedad y del grado de riesgo percibido. El nivel apropiado de bioseguridad aplicado será función generalmente de la facilidad y coste de su implementación, y relativo al impacto de la enfermedad en las operaciones de producción (Fegan y Clifford, 2001). Un funcionamiento responsable del laboratorio tiene que considerar también el riesgo potencial de propagación de enfermedades al medio natural, y sus efectos en los cultivos acuícolas colindantes y de la fauna salvaje.

### 3.4 Procedimientos de operaciones estándar (SOP)

**Cada laboratorio debe desarrollar su propio conjunto de procedimientos estándares de funcionamiento (SOP)**

Los Procedimientos de Operaciones Estándar (SOP) que resumen el protocolo de control para el laboratorio, deben ser descritos en un documento detallado que cubra cada etapa o proceso del ciclo de producción. El documento debe incluir detalles de todos los puntos críticos de control (CCP) y describir cómo realizar cada tarea para controlar el riesgo asociado. Una vez que el protocolo está documentado, los SOPs deben ser repartidos a todo el personal, así como dejar una copia a disposición de todos los trabajadores en un lugar accesible (comedor, sala de reunión, etc.). Se debe organizar una reunión para explicar la necesidad y los contenidos de los SOP, siendo una buena oportunidad para identificar y explicar cualquier punto que genere dudas o que pueda generar confusión; se puede aprovechar también para recoger ideas prácticas procedentes del personal de laboratorio.

A medida que se dispone de nueva información, se hará necesario actualizar o modificar los SOP, y estos cambios tienen que ser comunicados a todo el personal. Cualquier versión actualizada de los SOP debe tener la fecha de la modificación y una clara referencia de que la nueva versión suplanta a todas las anteriores.

**Todos los trabajadores deben firmar en un documento que indique que han leído y entendido los SOP, y que cumplirán los requisitos**

Todas las descripciones de los trabajos de la gestión del laboratorio y del personal deben incluir una cláusula relativa al seguimiento de los SOP, así como las consecuencias disciplinarias por su incumplimiento.

**La formación para el mantenimiento de la bioseguridad debe ser un componente importante del proceso de laboratorio**

Es aconsejable tener un grupo de gente con una formación o experiencia técnica más elevada, que pueda supervisar y formar a los trabajadores en la ejecución de cada paso de los SOP. Este punto es de una importancia fundamental, pues puede ser que los trabajadores no comprendan la importancia ni de los estándares requeridos ni de los riesgos por su incumplimiento para el éxito del laboratorio. Este personal técnico tiene que organizar reuniones con los trabajadores de cada departamento para explicar y discutir la importancia de la ejecución de los SOP.

**El riesgo de bioseguridad que representa cada área del laboratorio debe ser determinado**

Diferentes áreas de los laboratorios de postlarvas pueden ser clasificadas de acuerdo con el nivel de riesgo de introducción o propagación de enfermedades. Weirich *et al.* (en prensa) utilizaron este sistema para describir cuatro clasificaciones:

- áreas de cuarentena donde patógenos relevantes están potencialmente presentes o se presume su presencia,
- áreas de alta sensibilidad que requieren una exposición mínima para evitar la introducción o propagación potencial de patógenos,
- áreas de sensibilidad media con un riesgo más bajo de introducción o propagación de patógenos, y
- áreas de baja sensibilidad donde el riesgo de introducción o propagación de patógenos es poco probable.

Estas clasificaciones pueden ser modificadas si es necesario, y los cambios reflejados en una versión actualizada de los SOP. Para prevenir la introducción o propagación de patógenos, se pueden adoptar protocolos específicos y restricciones en cada uno de estos niveles de bioseguridad.

### **3.5 Análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP)**

**El desarrollo e implementación de protocolos de bioseguridad se puede facilitar mediante el sistema del Análisis de peligros y de puntos críticos de control (HACCP)**

El HACCP es un sistema preventivo de gestión de riesgos que ha sido utilizado ampliamente para identificar y controlar los peligros en los sistemas de procesamiento de alimentos para la salud pública. Se fijan límites críticos para cada uno de los puntos críticos de control (CCP) del sistema donde se tienen que realizar controles para prevenir, eliminar o reducir los riesgos. Posteriormente se realiza un seguimiento y las acciones correctivas adecuadas son implementadas (Weirich *et al.*, en prensa). Los principios del HACCP han sido adoptados como herramientas de gestión del riesgo para controlar los patógenos víricos en las instalaciones de investigación y de producción del camarón (Jahncke *et al.*, 2001).

**El análisis HACCP también puede ser utilizado en la producción de camarón, con un énfasis particular en la reducción o prevención del riesgo de enfermedades**

El máximo de bioseguridad en las instalaciones de producción de camarón se puede alcanzar mediante la separación de las fases de reproducción, hatchery y producción (Jahncke *et al.*, 2001, 2002). Un buen diseño de las instalaciones, con un alto grado de aislamiento, puede ayudar a reducir el riesgo de transferencia de patógenos de los reproductores a su descendencia. Los puntos críticos de control identificados en las etapas de maduración y hatchery son: los camarones, los piensos y el agua. Otros riesgos potenciales que son tenidos en cuenta durante la implementación de los SOP y del HACCP son: los vectores de enfermedad (humanos y animales), las instalaciones y el equipo.

**Se debería crear un diagrama de flujos para detallar todas las operaciones de las instalaciones del laboratorio y del movimiento de camarones y larvas, a través del sistema de producción**

Para cada operación, desde la recepción de los reproductores pasando por la maduración, la cría de larvas, y la nursery (donde sea oportuno), se deben identificar: todos los riesgos potenciales, los impactos en la salud y la calidad de las larvas, y los puntos de entrada de patógenos. Los puntos críticos de control (CCP) deben ser identificados mediante este análisis sistemático de los riesgos. Para cada CCP, se tienen que establecer los límites críticos y, donde estos límites sean excedidos, determinarse las acciones correctivas apropiadas. Se tiene que establecer un sistema de seguimiento de los CCP junto con un buen sistema de documentación y de registro.

**Los puntos críticos de control (CCP) tienen que ser identificados en cada área**

Para áreas diferentes como la de cuarentena, maduración, hatchery, cultivo de algas, producción de *Artemia*, etc. es necesario identificar los puntos críticos de control. Las siguientes etapas pueden ser consideradas como CCP. Es necesario tener en cuenta que éstas pueden no ser las únicas y que pueden variar de un sitio a otro.

- **Entrada a la instalación:** Controlar la entrada de operarios, administrativos, vehículos y otros vectores de enfermedad, para prevenir la propagación de infecciones procedentes de otros laboratorios de postlarvas y del ambiente en general.
- **Tratamiento del agua:** Todo el agua utilizada en las unidades de producción tiene que ser tratada (cloro, ozono, filtración, etc.) apropiadamente (en función de la etapa) para eliminar los patógenos y a sus portadores.
- **Maduración:** La cuarentena de los reproductores recibidos; la inspección y desinfección del alimento fresco; la limpieza de los estanques y de las conducciones de agua y aire; y la desinfección de los reproductores, los huevos, los nauplios y el equipo.
- **Laboratorio:** Períodos de secado regulares; limpieza y desinfección de edificios, tanques, filtros, conducciones de agua y aire y equipo; control de calidad y desinfección de los alimentos frescos; separación de los materiales de trabajo en cada sala y en cada estanque.

- **Algas:** Entrada restringida de personal al laboratorio y a las instalaciones de tanques de algas; desinfección de equipo, agua y aire; saneamiento y control de la calidad de las algas y de los productos químicos usados.
- **Artemia:** Desinfección de cistes, y de nauplios, limpieza y saneamiento de los tanques y el equipo.
- **Restricción de la entrada al laboratorio en general y a cada área en particular al personal autorizado:** Todos los empleados y el personal administrativo que entre en las áreas de producción tienen que cumplir los SOP.

**Los trabajadores del laboratorio tienen que permanecer en su área de trabajo específica**

Los trabajadores del laboratorio tienen que permanecer en sus áreas específicas de trabajo y no deben estar autorizados a moverse libremente a otras áreas que no les han sido asignadas. Una forma práctica de lograrlo es proporcionando uniformes de colores diferentes para cada área. Esto permitirá la rápida identificación de la gente que se encuentre en áreas que no le son permitidas.

**Los SOP deben plantear los riesgos debidos a los empleados cuyas funciones requieran de su paso a través de áreas del laboratorio con distintas clasificaciones de bioseguridad**

Por ejemplo, se puede mantener la comunicación entre los empleados que trabajan en diferentes áreas, mientras se limita el movimiento entre las diferentes áreas del laboratorio, mediante la habilitación de un área central donde los empleados puedan reunirse para discutir y planear los programas de trabajo, y mediante la comunicación por sistemas de intercomunicación, radios, mensajes de texto, teléfonos móviles, o una red de área local (LAN) para el sistema de ordenadores.

**Todos los empleados tienen que tomar las precauciones sanitarias adecuadas al entrar y salir de la unidad de producción**

Los empleados tienen que llevar botas de goma para entrar en las áreas de producción. Las unidades de producción (cultivo larvario, maduración, cultivo de algas, *Artemia*, etc.) tienen que tener una sola entrada/salida para evitar tráfico innecesario a través de la sala. La entrada tiene que disponer de un lavapies con una solución de hipoclorito de calcio (o sodio) con una concentración final de ingrediente activo no inferior a 50 ppm.

Esta solución desinfectante tiene que ser remplazada cada vez que sea necesario. Al lado de la puerta de entrada, cada habitación tiene que tener un recipiente con una solución de yodo-PVP (yodo povidona) de 20 ppm y/o con un 70% de alcohol, y el personal tiene que lavarse las manos en la solución(es) al entrar o salir de la sala.

**Se tiene que tener especial cuidado con la entrada de vehículos (personales o para el transporte de camarones) ya que pueden haber visitado otros laboratorios de postlarvas y granjas de camarón antes de su llegada**

Todos los vehículos tienen que pasar por una zona de lavado de ruedas con las dimensiones suficientes como para asegurar su limpieza completa. Esta zona de lavado tiene que ser rellenada regularmente con una solución desinfectante efectiva (como hipoclorito de sodio (o de calcio) con >100 ppm de ingrediente activo).

**La entrada de vectores potenciales de enfermedad dentro de las instalaciones del laboratorio tiene que ser controlada**

Algunos virus del camarón son encontrados en animales terrestres, tales como insectos y aves (Lightner, 1996; Lightner *et al.*, 1997; Garza *et al.*, 1997). Aunque no es posible controlar todos los vectores potenciales de origen animal, su entrada puede ser minimizada mediante el uso de barreras físicas como cercados. Así mismo, se pueden usar redes o mallas para impedir la entrada de aves e insectos.

Por otro lado, se puede evitar el paso de animales acuáticos asegurando la no-existencia de vías directas con las aguas abiertas, especialmente a través de conductos de entrada y canales de drenaje. Todo el agua que entre en las instalaciones debe ser filtrada y desinfectada, y todos los canales de drenaje deben ser revisados y/o cubiertos, donde sea posible, para prevenir la entrada y el alojamiento de animales acuáticos salvajes.

### **3.6 Uso de productos químicos durante el proceso de producción en laboratorio**

**Los productos químicos tienen que ser usados de forma responsable durante el proceso de producción en el laboratorio**

Los productos químicos (por ejemplo desinfectantes, drogas, antibióticos, hormonas, etc.) son utilizados de varias formas en el proceso de producción en el laboratorio, donde aumentan la eficiencia y reducen los residuos de otros recursos. Son con frecuencia, componentes esenciales en actividades rutinarias como la construcción de tanques; la manejo de la calidad del agua; el transporte de reproductores, nauplios y PL; la formulación de dietas; la manipulación y mejora de la reproducción; el desarrollo del crecimiento; el tratamiento de enfermedades, y el manejo sanitario general.

Sin embargo, los productos químicos tienen que ser usados de una manera responsable, ya que representan determinados riesgos para la salud humana, otros sistemas de producción acuáticos y terrestres, y el medio natural.

- Riesgos para el medio ambiente, como los efectos potenciales de los productos químicos de la acuicultura en la calidad del agua y los sedimentos (enriquecimiento de nutrientes, carga de materia orgánica, etc.), las comunidades acuáticas naturales (toxicidad, cambios en la estructura de la comunidad y los correspondientes impactos en la biodiversidad), y los efectos en los microorganismos (alteración de las comunidades microbianas)
- Riesgos para la salud humana, como los peligros a los que se ven sometidos los trabajadores de la acuicultura al manejar los aditivos de las dietas, terapéuticos, hormonas, desinfectantes y vacunas; el riesgo de desarrollar cepas de patógenos resistentes a los antibióticos utilizados en

medicina humana; y los peligros para los consumidores por la ingestión de productos acuícolas que contengan niveles altos de residuos químicos que sean inaceptables.

- Riesgos para los sistemas de producción de otras especies domésticas, como a través del desarrollo de bacterias resistentes a drogas que puedan causar la enfermedad en aves de corral o ganado.

Por estas razones, se considera esencial lo siguiente: que sólo se le permita el manejo de estos productos químicos al personal de laboratorio cualificado y adecuadamente formado; que los productos químicos usados para una situación particular sean los más adecuados; y que se usen de la manera correcta (Ej. cantidad, duración y condiciones del tratamiento).

Antes de usar los productos químicos, se debe siempre considerar si otras intervenciones más respetuosas con el medio ambiente pudieran ser igualmente efectivas. El uso y almacenaje seguro y efectivo de los productos químicos debe ser un componente integral de los Procedimientos de Operaciones Estándar (SOP) de los laboratorios de postlarvas. Una revisión detallada del uso de productos químicos en el cultivo del camarón, y en otros sistemas acuícolas, se puede encontrar en Arthur *et al.* (2000). La Oficina internacional de epizootias (Organización Mundial de la Salud Animal– <http://www.oie.int>), proporciona en su manual de pruebas de diagnóstico y vacunas de animales acuáticos, las dosis aceptables y recomendadas de varios productos químicos y desinfectantes que son usados en el cultivo de camarón ([http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A\\_summry.htm](http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A_summry.htm)) (OIE, 2003).

El Cuadro 1 presenta un resumen de los nombres de los productos químicos mencionados en este documento y de cómo son usados en la producción en laboratorio de *P. vannamei* en América Latina. Algunas de las dosis (concentraciones y tiempos de exposición) ofrecidos en esta cuadro son ligeramente diferentes a aquellos dados en OIE, 2003. Las dosis de la Cuadro 1 se han probado más efectivas en la producción en laboratorio de *P. vannamei* en América Latina donde fueron acordadas por los expertos que participan en la producción de este documento.

### 3.7 Evaluación sanitaria

**Las evaluaciones sanitarias rutinarias deben ser un componente de un buen manejo del laboratorio**

Las técnicas de evaluación sanitaria para laboratorios de postlarvas de camarón descritas abajo, están divididas en tres categorías (niveles) basadas en la experiencia adquirida durante las pasadas actividades de manejo sanitario de animales acuáticos en Asia. El sistema fue desarrollado para medir la capacidad de diagnóstico necesaria para identificar enfermedades de los animales acuáticos. De esta manera, las técnicas comúnmente empleadas en laboratorios de postlarvas de camarón se encuentran dentro de estas tres mismas categorías básicas. Los detalles de los diferentes niveles de técnicas de evaluación son mostrados en FAO/NACA, (2000, 2001a, 2001b), que ofrecen una simple y conveniente clasificación basada en la complejidad de las técnicas utilizadas (Cuadro 2).

**Cuadro 1. Resumen de productos químicos y usos mencionados en este documento.**

<b>USO EN LABORATORIOS</b>	<b>PRODUCTOS QUÍMICOS</b>	<b>CONCENTRACIÓN RECOMENDADA (PARTES DE INGREDIENTE ACTIVO)</b>
Desinfección del flujo entrante de agua de mar	Hipoclorito de sodio <sup>2</sup>	20 ppm durante mínimo 30 min (o 10 ppm durante mínimo 30 min)
Quelación de metales pesados en el flujo entrante de agua de mar	EDTA	Depende de las concentraciones de metales pesados en el agua
Desinfección del agua residual	Hipoclorito de sodio	>20 ppm durante mínimo 60 min
Determinación de la presencia de cloro en el agua	Orto-toluidina	3 gotas en 5 mL de muestra de agua <sup>3</sup>
Neutralización del cloro en el agua residual	Tiosulfato de sodio	1 ppm por cada 1ppm de cloro residual
Quelación de metales pesados en: agua de los tanques de reproductores y agua del tanque de eclosión	EDTA	Se determina en función de la carga de metales pesados en cada lugar, hasta 20ppm o ambos 20-40 ppm
Desinfección de los reproductores a la entrada de la cuarentena	Yodo-PVP Formalina	20 ppm 50-100 ppm
Desinfección de reproductores siguiendo al desove	Yodo-PVP	20 ppm durante 15 sg (baño)
Lavado y desinfección de los huevos	Yodo-PVP o Formalina, y Treflan	50-100 ppm durante 1-3 min, (o durante 10-60 sg) 100 ppm durante 30 sg 0.05-0.1 ppm (para reducir las infecciones por hongos)
Eliminación de las larvas desechadas	Hipoclorito de sodio	20 ppm
Retirada del fouling epibionte de las postlarvas	Formalina	Hasta 20-30 ppm durante 1 hora con fuerte aireación
Test de estrés de las postlarvas	Formalina <sup>4</sup>	30 min
Descapsulación de los cistes de <i>Artemia</i>	Sosa cáustica (NaOH) y Cloro líquido <sup>5</sup>	40 g en 4 mL (8-10% de ingrediente activo)
Desinfección de nauplios de <i>Artemia</i>	Solución de hipoclorito de sodio y/o Cloramina-T	20 ppm 60 ppm durante 3 min

<sup>2</sup> o hipoclorito de calcio

<sup>3</sup> La presencia de cloro se indica por un color amarillo

<sup>4</sup> El cambio de salinidad también puede ser usado

<sup>5</sup> Ver la página 48 para más detalles

**Cuadro 1. Continuación.**

<b>USO EN LABORATORIOS</b>	<b>PRODUCTOS QUÍMICOS</b>	<b>CONCENTRACIÓN RECOMENDADA (PARTES DE INGREDIENTE ACTIVO)</b>
Tratamiento de agua en los tanques de desove y eclosión	Treflan	0.05-0.1 ppm
Lavapies	Solución de hipoclorito de sodio (Calcio)	>50 ppm (o >100 ppm)
Desinfección del equipo (contenedores, mangueras, redes, etc.)	Hipoclorito de sodio o Ácido muriático	20 ppm (o 30 ppm) 10% solución
Desinfección de las manos	Yodo-PVP o Alcohol	20 ppm 70%
Limpieza y desinfección de los tanques de desove, eclosión, nauplios y postlarvas, eclosión de <i>Artemia</i>	Hipoclorito de sodio y/o Ácido muriático <sup>6</sup>	30 ppm (o 20-30 ppm) 10% solución (pH 2-3)
Desinfección de los tanques previamente limpiados y desinfectados antes de empezar un nuevo ciclo	Ácido muriático	10% solución
Desinfección de los tanques de cultivo de algas	Hipoclorito de sodio seguido de Ácido muriático	10 ppm 10% solución
Desinfección de los filtros de arena	Hipoclorito de sodio o Ácido muriático	20 ppm 10% solución (pH 2-3)
Desinfección de los filtros de cartucho	Hipoclorito de sodio o Ácido muriático	10 ppm 10% solución (pH 2-3) durante 1 hora
Lavado del equipo de preparación de dietas (cuchillos, mesas, mezcladores, peletizadores, etc.)	Yodo-PVP	20 ppm

<sup>6</sup> En el pasado, el ácido muriático se refería a 3:1 HCl y HNO<sub>3</sub>, pero actualmente se refiere a 34-37% HCl

**Cuadro 2. Descripciones del nivel de diagnóstico adaptadas para su uso en los sistemas de laboratorio de camarón.**

<b>Nivel 1</b>	Observación del animal y su entorno. Examen basado en características observables a simple vista
<b>Nivel 2</b>	Examen más detallado usando microscopio de luz, montajes en fresco con o sin tinción y bacteriología básica
<b>Nivel 3</b>	Uso de métodos más complejos como técnicas moleculares y de inmunodiagnóstico (Ej. PCR, dot blots etc.)

**Técnicas de evaluación sanitaria de Nivel 1**

Las técnicas de Nivel 1 se emplean habitualmente en la mayoría de los laboratorios de postlarvas. El examen detallado de grandes cantidades de larvas no es práctico y los operadores y técnicos de laboratorio usan frecuentemente la técnica de Nivel 1 para adquirir una idea preliminar del estado de salud de las larvas y ordenar el examen más detallado atendiendo a las prioridades definidas. Las observaciones de Nivel 1 también son con frecuencia, suficientes para tomar una decisión sobre el destino de un estanque o lote de larvas de laboratorio. La selección de nauplios, por ejemplo, incluye generalmente una decisión basada en la respuesta fototáctica sin la necesidad de un examen microscópico más detallado. Si en un lote de nauplios se observa poca fototaxis y un comportamiento natatorio débil, se rechazará sin más examen.

**Técnicas de evaluación sanitaria de Nivel 2**

Las técnicas de Nivel 2 también son utilizadas con frecuencia en el proceso de toma de decisiones para la gestión de laboratorios de postlarvas de camarón. Todos o la mayoría de los laboratorios de postlarvas dispondrán de un microscopio utilizado para realizar exámenes más detallados de la condición de las larvas de camarón, y observar directamente distintos aspectos relacionados con el estado de salud (limpieza, comportamiento alimenticio, digestión, etc.). Muchos laboratorios de postlarvas también emplean bacteriología básica de forma rutinaria, para adquirir conocimiento sobre la flora bacteriana de los tanques y para identificar posibles patógenos cuando las larvas se debilitan o enferman. Esta información puede ser luego usada para decidir si el estanque debe ser rechazado o tratado.

**Técnicas de evaluación sanitaria de Nivel 3**

Las técnicas de Nivel 3 están empezando a ser utilizadas más comúnmente en los laboratorios de postlarvas de camarón. Los métodos de Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR), dot blot y otros tests de inmunodiagnóstico son usados para el chequeo de enfermedades virales en postlarvas y reproductores. Los distintos usos de estas diferentes técnicas de diagnóstico en los laboratorios de postlarvas de camarón son presentados en la Cuadro 3.

**Cuadro 3. Uso de Niveles 1, 2 y 3 de diagnóstico en laboratorios de postlarvas de camarón.**

<b>Nivel 1</b>	Examen del estado de salud general de los reproductores, determinación del sexo, estadio de desarrollo ovárico, estadio de muda, retirada de ejemplares enfermos/moribundos.
	Selección de nauplios por respuesta fototáctica, observación de la alimentación en el estadio de zoea/mysis a través de las hebras fecales, actividad larval, actividad y comportamiento de postlarvas, tests de estrés.
<b>Nivel 2</b>	Examen de la calidad de los huevos a través del microscopio. Chequeo de la flora bacteriana de los animales normales o moribundos.
	Examen microscópico de la calidad de los nauplios. Examen microscópico rutinario de la condición de las larvas y de la calidad de las postlarvas. Chequeo de la flora bacteriana o del agua de cría y larvas.
<b>Nivel 3</b>	Chequeo de los reproductores mediante dot blot o PCR.
	Chequeo de los nauplios y las postlarvas mediante dot blot o PCR.

## 4. Proceso de predesove

Para facilitar la consulta de esta guía técnica sobre el manejo sanitario y mantenimiento de la bioseguridad en los laboratorios de postlarvas de camarón, ha sido organizada de acuerdo con el proceso básico de producción en el laboratorio, desde la selección de los reproductores hasta el transporte de las postlarvas fuera de las instalaciones. El proceso ha sido dividido en dos categorías generales: el proceso de predesove y proceso de postdesove. Los procesos de predesove incluyen los procedimientos de selección de los reproductores, mantenimiento, maduración, aclimatación, desove y eclosión. Las guías para el mantenimiento de las instalaciones están descritas para las diferentes instalaciones específicas del proceso de producción de larvas. Así mismo, se presentan la manipulación, la nutrición y la alimentación de reproductores.

### 4.1 Selección de reproductores

**Se han de seleccionar reproductores saludables que no sean portadores de patógenos importantes para conseguir una producción de laboratorio satisfactoria**

Se cree que algunas enfermedades virales como la necrosis infecciosa de la hipodermis y tejido hematopoyético (IHHN), son transmitidas verticalmente desde los progenitores a su descendencia (Motte *et al.*, 2003). Dichas enfermedades transmitidas verticalmente pueden ser eliminadas del sistema de producción de laboratorio mediante el uso de camarón domesticado que esté libre de estos patógenos a través de un programa apropiado libre de patógenos específicos (SPF) (ver abajo).

Si no se dispone de camarón SPF (o «high health») libre de virus conocidos, los reproductores deben pasar un test apropiado de diagnóstico para comprobar si son portadores de alguna infección y los individuos infectados deben ser destruidos. El camarón que tengan un resultado negativo en el test de enfermedad o patógenos, se debe aún así considerar un riesgo y si es posible, se debe situar en la instalación de cuarentena hasta que su estado de salud sea completamente comprobado.

Incluso después de que los reproductores hayan sido transferidos desde la unidad de cuarentena, algunos laboratorios mantienen un chequeo sanitario rutinario mediante un seguimiento mensual de las postlarvas producidas. Se realizan los tests de PCR y hemolinfa sobre las muestras recogidas de una proporción de la población (Ej. 0.1%), y en función de los resultados de estos tests, se toman las medidas apropiadas. El número de animales sometidos a este proceso debe ser determinado de acuerdo con una cuadro de muestreo que incluye el tamaño de la población y la supuesta prevalencia de los patógenos (ver, por ejemplo, OIE [2003]).

Donde sea posible, los animales seleccionados como reproductores deben proceder de un ciclo cerrado, de forma que su historial y su estado sanitario puedan ser conocidos. Lo ideal sería que éstos procedieran de granjas de camarón situadas en áreas con características físico-químicas (salinidad, temperatura, etc.) similares a aquellas donde las postlarvas serán sembradas. Los criterios utilizados para la selección de los reproductores dependen de la fuente de los reproductores (salvajes o domesticados).

**Reproductores salvajes:** Anteriormente se preferían los reproductores de origen salvaje debido a la creencia de que engendraban nauplios mejores y más fuertes. Sin embargo, en los últimos tiempos, la cría de reproductores en cautividad se ha visto potenciada por las siguientes razones: por un lado, no se disponen de registros del rendimiento y crecimiento de los stocks salvajes por lo que no es posible mejorarlos, y se ha demostrado que su utilización conlleva un alto riesgo de introducción de patógenos víricos; y por el otro, existe un creciente reconocimiento del necesario papel que los stocks domesticados desempeñan en la mejora de la maduración, la cría larvaria y el rendimiento en los estanques. En el caso de *Penaeus vannamei*, son preferidos los reproductores salvajes pescados mediante las redes de barcos pequeños, puesto que los capturados por pesqueros de arrastre sufren daños mayores. Las hembras salvajes para las instalaciones de maduración deben tener un peso corporal de 60 g y los ovarios desarrollados, mientras que los machos deben tener un peso corporal de 40 a 50 g aproximadamente.

**Reproductores domesticados:** En los últimos 10 años, las fuentes de camarón domesticado se han hecho más comunes, estando ahora disponibles comercialmente los stocks tanto de *P. vannamei* como de *P. stylirostris*. La talla de los reproductores de ciclo cerrado es generalmente menor que la de los de animales salvajes, con machos de 30 g de peso aproximadamente y hembras de no menos de 30-35 g y normalmente >40 g. Las hembras que son normalmente suministradas no están fecundadas. Los stocks domesticados pueden proceder de una o varias fuentes. Algunos países tienen programas de domesticación bien establecidos mientras que otros dependen de stocks importados. Los stocks domesticados pueden ser bien mejorados genéticamente mediante un programa específico de mejora genética para seleccionar los rasgos deseables o bien simplemente seleccionados de stocks que están libres de, o se sospecha su resistencia o tolerancia a, patógenos específicos.

Se han desarrollado varios tipos de reproductores domesticados para reducir los riesgos de enfermedad. Los stocks Libres de Patógenos Específicos (SPF) son mantenidos generalmente en instalaciones de alta bioseguridad y su descendencia (denominada «high health» en vez de SPF) es suministrada a la industria. Los camarones Resistentes a Patógenos Específicos (SPR) son aquellos no propensos a infectarse por uno o varios patógenos específicos, mientras que los Tolerantes a Patógenos Específicos (SPT), son aquellos que han sido criados intencionadamente para desarrollar resistencia a enfermedades causadas por uno o varios patógenos específicos pero pueden ser infectados por estos. Por ejemplo, se puede disponer de cepas de camarón (*P. stylirostris*) resistentes al IHHNV.

**Si se usa camarón doméstico es esencial obtener la información adecuada sobre la procedencia y el rendimiento pasado de los stocks**

Se tienen que obtener los detalles de las diferentes familias o de los orígenes de los stocks, ya sean locales o procedentes de otra zona, para evitar los problemas genéticos potenciales y el bajo crecimiento y grado de supervivencia asociados a la consanguinidad.

Es igualmente útil disponer de un registro con datos sobre el rendimiento y el desarrollo de las familias o cepas candidatas, bajo un rango de condiciones ambientales. El protocolo de selección utilizado es también importante, como por ejemplo, que los stocks sean seleccionados bien de los estanques con mejor rendimiento, o bien que hayan sobrevivido a un brote de enfermedad. Al mismo tiempo es preciso tener en cuenta el momento escogido para el proceso de selección. Algunos criterios que son usados para la selección fenotípica (que se realiza en un principio en función de la talla en el momento de la cosecha y posteriormente cuando las hembras tienen >30 g y los machos >25 g), son los siguientes: talla relativa, apariencia física general, ausencia de

necrosis u otros signos (clínicos o sub-clínicos) de enfermedad o mal estado de los músculos y el exoesqueleto, pleópodos limpios, sin deformidades en rostrum o un cuerpo translúcido.

## 4.2 Procedimientos de cuarentena de los reproductores

**A la llegada al laboratorio, los reproductores potenciales deben ser mantenidos en aislamiento hasta que su estado de salud sea determinado**

Las instalaciones de cuarentena son esencialmente áreas de mantenimiento cerradas, donde los camarones son depositados en tanques individuales hasta que se conozcan los resultados del chequeo para la detección de virus (y de bacterias, cuando sea oportuno).

La unidad de cuarentena de reproductores debe ser aislada físicamente del resto de las instalaciones del laboratorio. Si esto no es posible, el diseño del laboratorio debe ser alterado de manera que no haya posibilidad de contaminación desde el área de cuarentena o mantenimiento a otras áreas de producción. Se debe tener especial cuidado con la eliminación de residuos y el tratamiento de efluentes. A los empleados que trabajan en este área no se les debe permitir entrar en otras secciones de producción y deben seguir los protocolos sanitarios en todo momento.

### **La unidad de cuarentena deben tener las siguientes características:**

- Debe estar aislada adecuadamente de todas las áreas de cría y producción para evitar cualquier tipo de contaminación cruzada.
- Debe estar en un edificio cerrado y cubierto con acceso no directo al exterior.
- Se deben suministrar medios de desinfección para los pies (lavapies con solución de hipoclorito a >50 ppm de ingrediente activo) y las manos (botellas con yodo-PVP de 20 ppm y/o 70% de alcohol) para su uso a la entrada y salida de la unidad.
- La entrada al área de cuarentena se debe restringir exclusivamente al personal asignado.
- Los empleados de la unidad de cuarentena deben entrar a través de un vestuario, donde deben quitarse las ropas de calle y ducharse antes de entrar en otro vestuario, donde ya se vistan con la ropa de trabajo y las botas. Al terminar el turno de trabajo, se invierte la secuencia.
- Un número adecuado de cubos de plástico y/o contenedores similares deben estar disponibles en la sala de cuarentena para facilitar el movimiento rutinario de camarones dentro y fuera del área.
- Las instalaciones de cuarentena deben disponer de un suministro independiente de agua y aire con sistemas de tratamiento y desinfección separados y un sistema para el tratamiento de efluentes, para prevenir cualquier escape potencial de patógenos al medio.
- El agua de mar usada en las instalaciones tiene que entrar a un tanque de almacenamiento donde será tratada con una solución de hipoclorito (20 ppm de ingrediente activo durante un mínimo de 30 minutos) antes de ser inactivada mediante tiosulfato sódico (1 ppm por cada ppm de cloro residual) y una fuerte aireación.
- Todo el agua residual tiene que ser recogida en otro tanque para su cloración (20 ppm durante un mínimo de 60 minutos) y de cloración antes de ser vertida al medio.
- Todos los animales muertos o infectados tienen que ser incinerados o eliminados de otra manera que haya sido aprobada.
- Los contenedores de plástico y las mangueras tienen que ser lavadas y desinfectadas con una solución de hipoclorito (20 ppm) antes de volver a ser utilizadas.

- Todos los utensilios empleados en la unidad de cuarentena tienen que ser claramente marcados y deben permanecer siempre en este área. Se debe facilitar medios para la desinfección de todo el equipo al final de cada día.

**La unidad de cuarentena debe estar estructurada de manera que los camarones puedan ser trasladados de áreas «sucias» a «limpias» en base a su estado de salud**

Las secciones individuales del área de cuarentena deben ser designadas como «sucias» o «limpias» dependiendo de si contienen camarones que no han sido aún sometidos a un chequeo para la detección de infecciones (prechequeo) o de si ya lo han pasado (postchequeo). Los camarones deben ser sólo trasladados en una dirección dentro de las instalaciones de cuarentena, desde la sección «sucia» a la «limpia», y todos los movimientos deben ser controlados para asegurar que no se produce una mezcla entre las dos áreas.

A la entrada del área de cuarentena, los reproductores son sometidos a un baño en una solución de yodo-PVP (20 ppm) o formalina<sup>7</sup> (50-100 ppm). En el tercer día de la cuarentena, se extrae un pleópodo de cada camarón (si se mantienen individualmente) o de una muestra de la población (si se mantienen por grupos) para su análisis. Si los camarones son mantenidos de forma colectiva, se deben tomar muestras aleatorias de cada recipiente para evaluar la condición general de la población contenida en cada uno de ellos.

Se pueden analizar grupos de diez pleópodos como una muestra. Cualquier grupo con un resultado positivo en el test puede ser desechado. En el caso de una muestra conjunta de animales mantenidos individualmente, los camarones pueden entonces ser chequeados individualmente para identificar y desechar sólo los animales que hayan dado positivo en el test. Los animales infectados deben ser eliminados mediante su incineración o a través de algún otro método (ej. Autoclavar y enterrar en profundidad) para prevenir la propagación potencial de virus.

Más detalles sobre la construcción y funcionamiento de las instalaciones de cuarentena se pueden encontrar en MAF (2001), Anon. (2002) y AQIS (2003)

**Los reproductores no tienen que ser liberados de la cuarentena hasta que su estado de salud sea claramente conocido**

El período de cuarentena variará en función del tiempo necesitado para completar el procedimiento de chequeo sanitario. En todos los casos, los animales deben ser mantenidos bajo observación en las instalaciones de cuarentena hasta que los tests sean completados, y por lo menos un mínimo de 20 días antes de ser transferidos al área de aclimatación. Dependiendo del diseño de la instalación y de la localización de la unidad de cuarentena con respecto a las instalaciones de aclimatación, esto puede implicar el reempaquetado de los reproductores para su envío a un emplazamiento lejano o su traslado a una sección separada de la misma instalación usando cubos desinfectados con agua del área de aclimatación.

---

<sup>7</sup> Cuando se use formalina, evitar el uso de sedimento blanquecino del fondo del contenedor (formaldehído), puesto que es altamente tóxico

En cualquiera de los casos, el equipo utilizado para la transferencia debe mantenerse separado de aquel usado en la sala de cuarentena y desinfectado antes y después del transporte. Todo el equipo utilizado en el área de cuarentena debe permanecer en dicha área y al final de cada día, ser desinfectado en tanques especiales designados para este propósito.

**Las instalaciones de laboratorios de diagnóstico y los expertos asociados tienen que ser establecidos en base a las necesidades específicas del laboratorio**

La instrumentación básica de un laboratorio (Ej. microscopio, equipo de microbiología, etc.) será necesaria para llevar a cabo las inspecciones sanitarias rutinarias del camarón. Para utilizar una instrumentación más compleja con la que realizar otro tipo de tests, como por ejemplo el PCR, se precisará la construcción de instalaciones exclusivas para evitar la posibilidad de contaminación. El diseño y funcionamiento de estas instalaciones no se encuentra dentro del alcance de los objetivos este documento.

### 4.3 Aclimatación

**Los camarones que pasan la inspección inicial de cuarentena tienen que ser aclimatados a las nuevas condiciones de las instalaciones de maduración**

Durante la aclimatación, la cual dura de siete días a unas pocas semanas, los reproductores deberán ser acostumbrados a las condiciones ambientales de las instalaciones de maduración y a los tipos de dieta que les serán proporcionados. Esto es especialmente importante cuando las dietas formuladas vayan a sustituir a las dietas naturales.

**Las instalaciones de aclimatación tienen que tener suficiente espacio en el tanque para mantener a los camarones que serán introducidos en las instalaciones de maduración**

Tales instalaciones también permitirán la optimización de la producción en el sistema de maduración. Los camarones bien aclimatados deben estar preparados para empezar pronto a producir nauplios justo después de su introducción en el sistema de maduración, evitando períodos delicados excesivamente largos (el número de días entre la introducción de la hembra en el sistema de maduración y el primer desove).

**Los reproductores deben emplear un período mínimo de siete días (y hasta varias semanas) en aclimatarse antes de ser almacenados en tanques de maduración**

Durante este período cualquier diferencia de temperatura y/o salinidad entre el área de cuarentena y la de maduración es reducida gradualmente. Los protocolos de alimentación también son ajustados de manera que los camarones se acostumbren a aquellos utilizados en las instalaciones de maduración. Es necesario tener en cuenta el estadio de muda de manera que sólo las hembras en un período de entre-mudas sean sometidas a la ablación cuando estén preparadas. De esta manera, se habrá realizado ya la ablación a las hembras que son transferidas a la unidad de maduración, pudiendo empezar a producir nauplios casi de inmediato.

## 4.4 Maduración

El primer paso en la producción de larvas es la maduración y cruce de los camarones maduros. Los protocolos que se adoptan, dependen en cierta medida de si el procedimiento es parte de un programa controlado de cruce, o de si su intención prioritaria es la de producir postlarvas para el cultivo comercial en estanques.

Dependiendo de esta distinción, el sistema de maduración será diseñado bien para maximizar la producción de nauplios para la producción comercial de postlarvas o bien para permitir un control máximo sobre el apareamiento y los cruces genéticos. Es posible controlar las parejas en una unidad de maduración convencional. No obstante, para conseguir un buen control de padrotes se precisa de cultivos unisex e inseminación artificial, con cultivos de larvas y sistemas de criaderos diseñados para un número elevado de lotes con relativamente pocas larvas en cada uno de ellos. Esto presenta retos técnicos muy diferentes de los encontrados en laboratorios de postlarvas comerciales o sistemas de criaderos (Jahncke *et al.*, 2002).

La infraestructura apropiada para el manejo de los reproductores consiste en instalaciones de cuarentena, de aclimatación y las principales de producción (maduración, desove y eclosión), con sus correspondientes sistemas de soporte.

**El edificio de maduración tiene que ser lo suficientemente grande para contener los tanques de maduración necesarios y la infraestructura de soporte según los requisitos del laboratorio**

Los factores que se han de considerar en el diseño de las instalaciones son: el nivel requerido de producción de nauplios, la densidad de siembra y la proporción de sexos de los reproductores usados, la tasa estimada de desove de las hembras, la tasa estimada de eclosión, el número estimado de huevos y nauplios por hembra, y el sistema de producción empleado (lotes o continuo).

**Las condiciones de la sala de maduración tienen que ser controladas atentamente**

La sala de maduración debe ser mantenida bajo una luz tenue, preferiblemente con un sistema para controlar el fotoperíodo. Dicho fotoperíodo debe constar de unas 10-12 horas de oscuridad y 12-14 horas de luz, con una transición gradual entre ambos en un período de una a dos horas. El acceso a la sala de maduración debe ser restringido, y el ruido (particularmente alto o intermitente), los movimientos y otras molestias reducidos al mínimo.

Preferiblemente, la sala de maduración debe tener tanques redondeados, de colores oscuros, de paredes lisas, y con un diámetro aproximado de 5 metros. Los reproductores deben ser mantenidos con una tasa de renovación de agua (nueva y/o reciclada) de 250-300% al día y un suministro de aire continuo aunque no demasiado vigoroso. La profundidad del agua es generalmente de 0.5-0.7 metros. Los camarones son sembrados a una tasa de unos 6-8 camarones por metro cuadrado de superficie de fondo con una proporción de macho a hembra de 1-1.5:1. Por tanto, un tanque de 5 metros de diámetro puede acomodar unas 60-80 hembras y unos 60-100 machos. Las temperaturas del agua son controladas normalmente para que se mantengan en un rango de 28-29°C, con una salinidad de 30-35 ‰ y un pH de 8.0-8.2.

**El área de preparación del alimento debe ser adyacente, pero separada de la sala de maduración**

Debe estar equipada con los utensilios para la preparación de los alimentos (cuchillos, cucharas, cuencos/cubos, cuadros para cortar, mezcladores, peletizadores, etc.) y un frigorífico y un congelador para almacenar los ingredientes de la comida.

**Los tanques de maduración se tienen que sifonar diariamente y limpiar regularmente**

Debido a las altas tasas de alimentación empleadas, los tanques de maduración precisan de un sifonado diario de la comida no ingerida, las heces y las mudas. El sifón consiste de dos partes, un tubo de PVC y una manguera. Cada tanque de maduración debe tener su propio tubo de PVC, pero la misma manguera puede ser usada para todos los tanques. La manguera debe ser enjuagada con agua limpia tratada antes de que cada tanque sea sifonado.

Los sedimentos y los residuos sifonados de los tanques pueden ser recogidos en una bolsa de malla situada al final de la manguera e incinerada después de la operación de limpieza. Al final del día de trabajo, la manguera debe ser lavada y permanecer inmersa en un tanque con una solución de hipoclorito sódico (20 ppm).

Así mismo, se tiene que realizar un frotado periódico de las paredes y los fondos de los tanques si existe una excesiva acumulación de algas y otros organismos del fouling, incluyendo protozoos. Este proceso de limpieza se puede efectuar a menudo mediante el descenso de los niveles del agua del tanque sin sacar a los reproductores, aunque en ocasiones, es necesario transferirlos a nuevos tanques. Es recomendable dejar por lo menos un tanque vacío para este tipo de procedimientos, lo cual puede ser programado para llevarse a cabo de forma regular. Durante estas operaciones de limpieza se tiene que intentar que los reproductores sean manipulados lo menos posible, ya que una alteración excesiva de los individuos maduros interferirá en los ritmos de desove.

**El equipo utilizado para capturar las hembras maduras debe ser lavado antes de chequear cada tanque**

Las redes de mano usadas para capturar las hembras maduras deben ser mantenidas en recipientes con soluciones de yodo-PVP y/o hipoclorito (20 ppm de ingrediente activo).

**Se debe mantener una densidad de población óptima para el apareamiento natural**

La densidad de población preferida para el apareamiento natural de los reproductores de *P. vannamei* es de unos 6-8 animales por metro cuadrado. Si se va a realizar inseminación artificial, el número puede ser incrementado a 16 animales por metro cuadrado. Es importante considerar también la biomasa en peso, mejor que en número de reproductores por metro cuadrado que pueden ser mantenidos en un tanque sin causar deterioro en la calidad del agua por las dietas usadas. Se recomienda una biomasa por unidad de área de 0.2-0.3 kg por metro cuadrado.

**Se debe utilizar una proporción de siembra óptima para machos y hembras**

La mayoría de los sistemas sembrarán las hembras y los machos juntos, normalmente con una proporción de 1-1.5:1. Ocasionalmente, los dos sexos son mantenidos por separado. Esto tiene ventajas, incluyendo: la reducción de costes de alimentación en los tanques únicamente con machos, puesto que pueden ser criados mediante dietas más baratas (inicialmente calamares y con dietas artificiales enriquecidas); el incremento de la calidad del esperma a través del mantenimiento de los machos en temperaturas más bajas (25-27 °C) cuando sea posible; el aumento de la densidad de machos; y la facilitación de la inseminación artificial, si esta técnica es usada.

Sin embargo, la separación de machos y hembras conlleva la captura y movimiento de las hembras dos veces por cada noche de desove (la primera para transferirlas al tanque de los machos, y la segunda para pasarlas al tanque de desove), lo que ocasiona un estrés excesivo durante una etapa muy vulnerable. Adicionalmente, el apareamiento tiende a ser mejor en tanques mixtos, debido a la excitación de los camarones producida por las altas concentraciones hormonales existentes. Como dato orientativo, los reproductores salvajes producen normalmente tasas de desove de un 4-8% de hembras por noche, mientras que los stocks domesticados tienden a ser más productivos, generando un 10-15% o más, de hembras por noche.

## 4.5 Desove

**Se debe usar una sala de desove separada**

El desove debe tener lugar en una sala separada del área de maduración con el objeto de mantenerla limpia y de posibilitar el lavado y desinfección diarios de los tanques sin molestar a los reproductores. La sala de desove debe tener una infraestructura apropiada y suficiente para el nivel requerido de producción de nauplios.

**Cuando sea posible, el desove se debe llevar a cabo de forma individual**

Esto reducirá el riesgo de transferencia horizontal de enfermedades entre hembras. Ha sido demostrado que los tejidos exudados durante el desove y las heces, pueden contener altos niveles de algunos virus (IHHNV, HPV, BP, MBV, etc.) que pueden infectar a hembras sanas durante el desove colectivo. Si este desove colectivo tiene que llevarse a cabo, el número de hembras por tanque debe ser lo más bajo posible para limitar la cantidad de hembras expuestas a infecciones potenciales (Ej. una hembra en 200-300 litros de agua).

**Los tanques de desove pueden ser de cualquier tamaño, desde 300 litros hasta 5-8 mt, dependiendo de tipo de desove usado (individual o colectivo)**

Los tanques pueden ser de fondo plano, aunque si son ligeramente cónicos, o al menos inclinados hacia el desagüe, permiten un cosechado de los huevos más fácil y menos agresivo. Los tanques deben permitir la cosecha de los huevos de una forma en la que después de su recolección puedan ser sometidos a un lavado o baño de desinfección con formalina (100 ppm durante 30 seg), o yodo-PVP (50-100 ppm durante 1-3 min). Se puede añadir también Treflan a

0,05-0,1 ppm para combatir las infecciones por hongos. Esta desinfección ayudará a reducir los riesgos de transmisión de enfermedad.

**Los sistemas de desove deben tener agua de la mejor calidad posible**

Se debe realizar la purificación del agua para los tanques de desove y eclosión. Este proceso incluye normalmente el tratamiento con luz UV, el paso a través de carbón activado, y la filtración de cartucho a  $<1 \mu\text{m}$ . Preferiblemente, la calidad del agua debe ser mantenida a una temperatura de 28-29 °C y una salinidad de 30-35‰, como en los tanques de maduración. Con frecuencia, al agua del tanque de desove se le añade EDTA como agente quelante, en la dosis recomendada según la carga de metales pesados del lugar.

**Como un principio general, los reproductores deben ser manejados únicamente cuando sea necesario para evitar el estrés excesivo de los camarones**

La persecución excesiva de camarones individuales debe ser evitada. Al manejar los reproductores, se sujetan con el abdomen doblado de manera que los urópodos y el telson estén metidos entre los periópodos para minimizar su flexión y el riesgo de caída del animal. Evitar que los reproductores sean mantenidos fuera del agua por extensos períodos de tiempo. Por ejemplo, cuando las hembras son transferidas al tanque de desove, deben ser sujetas de la manera descrita manteniéndolas en vasos de precipitados o cubos llenos con agua del tanque de maduración.

**La búsqueda de hembras grávidas se debe llevar a cabo a última hora de la tarde**

Las hembras fecundadas deben ser seleccionadas al final de la tarde o en la tarde/noche (tan pronto como oscurezca), o en el momento más apropiado según el fotoperíodo empleado. Durante la búsqueda, utilizar una linterna fuerte, preferiblemente impermeable, para ver qué hembras del tanque parecen estar fecundadas (aquellas con los ovarios más desarrollados o en estadio IV). Cuando una hembra fecundada es localizada, usar la red para capturarla lo más delicadamente posible y llevarla a un lateral. La hembra es entonces inspeccionada para comprobar si tiene un espermatóforo en el telicum. Si el espermatóforo está presente, la hembra es situada en un recipiente y transferida a la sala de desove. Si el espermatóforo no está presente, la hembra es situada en otro recipiente y llevada a otro lugar para practicarle la inseminación artificial (si ésta es empleada) antes de ser transferida a los tanques de desove.

**Se debe monitorear la fecundidad, la tasa de desove (número de desoves por hembra) y el período de tiempo que las hembras son mantenidas en maduración**

Para evitar el deterioro en la calidad de los nauplios, las hembras sometidas a ablación deben ser normalmente retiradas de la unidad de maduración después de un período máximo de 3 meses o 15 desoves, dependiendo del régimen de alimentación usado y de la salud de las hembras. Las hembras no sometidas a la ablación pueden desovar durante todo un año. Esto requiere normalmente, que las hembras sean identificadas individualmente mediante etiquetado o con algún otro método.

**El recuento de huevos y de espermatozoides debe hacerse para determinar la buena producción de huevos y la fertilización**

Como dato orientativo, la cantidad de huevos por puesta y por hembra debe estar en un rango de 100 000 a 140 000 huevos por hembra de 30 a 35 g de peso corporal, y hasta 150 000 a 200 000 huevos para hembras de 40 a 45 g.

Para asegurar una buena fertilización, el espermatozoides debe ser observado y cuantificado regularmente mediante recuentos de espermatozoides utilizando un microscopio de luz de alta resolución.

**Se debe emplear un sistema apropiado para la recogida de huevos**

El desove debe ser recogido, bien de forma colectiva, con dos o más hembras en el tanque de desove, o bien de forma individual. En cualquiera de los dos casos, es necesario un sistema apropiado para la recogida de los huevos, excluyendo las heces de los reproductores y los tejidos de los ovarios (usando por ejemplo, un prefiltro de 300-500  $\mu\text{m}$  de malla).

Los huevos deben ser recogidos en un receptáculo con una malla grande, sumergida en su mayor parte, de un tamaño de poro de  $<100\mu\text{m}$ , con el objeto de retenerlos sin causarles daño. Una vez cosechados, los huevos deben ser lavados con agua de mar tratada adecuadamente (filtrada y esterilizada) y luego desinfectados usando yodo-PVP (50-100ppm/10-60sg) antes de enjuagarlos de nuevo con abundante agua de mar limpia en otro recipiente.

**Se deben monitorizar las tasas de fertilización y de eclosión**

Seguidamente a la recolección, los huevos deben ser transferidos a los tanques de eclosión en la unidad de eclosión. Una muestra de huevos cosechados debe ser examinada para determinar la tasa de fertilización y se debe realizar un recuento para permitir una estimación de la tasa de eclosión. La tasa de fertilización debe ser al menos de un 50% y es normalmente  $>75\%$ . Cuando las tasas de fertilización estén por debajo del 50%, se debe considerar la posibilidad de descartar el lote completo y empezar una investigación para determinar la causa del problema.

## 4.6 Eclosión

**La eclosión debe tener lugar en una sala limpia y aislada**

Los tanques de eclosión (300-1 000 litros) tienen normalmente unos fondos cónicos pronunciados para permitir la buena circulación del agua y aireación y facilitar el cosechado. Los tanques varían en tamaño desde decenas de litros a 1mt, y se pueden sembrar hasta 4 millones de huevos/mt. La calidad del agua debe ser mantenida a 29-32 °C y 32-35 ‰ de salinidad para conseguir una óptima cosecha. Se añaden normalmente EDTA (hasta 20 ppm) y Treflan (0,005-0,1 ppm) al agua de los tanques de eclosión, por las mismas razones que a los de desove.

Se le suministra al tanque la suficiente aireación para mantener los huevos en suspensión. Los nauplios deben aparecer aproximadamente ocho horas después de la siembra de los huevos. Después de este punto (normalmente después de 12-15 horas), se para la aireación con el objeto de cosechar los nauplios. Se sitúa entonces, una cubierta oscura o tapa con un pequeño agujero

en el centro sobre el que se suspende una bombilla. Durante un período de 20-30 minutos, los nauplios saludables van concentrándose debajo de este agujero y son luego recogidos mediante un cubo o un sifón y se pasan a otro cubo o colector de nauplios, donde éstos son lavados y desinfectados. Posteriormente, son mantenidos en tanques o cubos separados con aireación o enviados directamente a las instalaciones de cría de larvas. Los huevos no cosechados y los nauplios más débiles que permanecen en el tanque son desechados y el tanque es limpiado y desinfectado. Los tanques de desove y eclosión son lavados diariamente con una solución de hipoclorito de calcio (sodio) (30 ppm de ingrediente activo), y enjuagados con abundante agua tratada antes de volver a ser rellenados.

## 4.7 Chequeo sanitario de los reproductores

**A parte del chequeo sanitario general, los reproductores seleccionados para la maduración se deben someter a un chequeo de WSSV, IHNV, TSV y YHV**

Cuando exista un número elevado de reproductores, los tests se deben realizar en lotes de 10 individuos procedentes de diferentes grupos de reproductores. Se debe llevar a cabo un muestreo mínimo de 150 animales por cada grupo de 1 000 camarones y dividirlos en grupos de 10 camarones para cada análisis. Cuando son seleccionados para programas genéticos, se realiza un chequeo de enfermedades más riguroso, para asegurar la no existencia de patógenos. Aunque el test PCR se debe efectuar sobre los reproductores a su llegada durante la cuarentena, compensa repetir este test (por lo menos para WSSV) después del desove. Esto es debido a que existen evidencias de que los reproductores con un test PCR negativo para WSSV durante la cuarentena pueden dar positivo si son analizados seguidamente a una situación de estrés como la del desove.

## 4.8 Nutrición de los reproductores

**Una buena dieta y un protocolo de alimentación deben ser componentes esenciales de un programa de maduración**

Una buena dieta y un protocolo de alimentación de los reproductores son factores claves en la producción de nauplios de buena calidad. Se tiene que determinar la cantidad apropiada de las dietas en relación a la biomasa del tanque. En general, la tasa de alimentación debe ser de hasta un 20-30% de la biomasa de los reproductores (de acuerdo al peso húmedo o cuando se usa alimento fresco o congelado). Cuando se utilizan dietas secas, la tasa será menor. La cantidad exacta de alimento se debe ajustar frecuentemente, en base a la tasa de consumición de cada tanque. Los reproductores deben alimentarse de forma continua durante dos horas y que sólo una pequeña cantidad de comida no ingerida permanezca en el tanque. La dieta suministrada debe ser equilibrada, centrada en el uso de alimentos con alto contenido en vitaminas, minerales, pigmentos y ácidos grasos (como el 20:5n3 y el 22:6n3), los cuales son esenciales para la producción de huevos.

**Se tiene que evitar la contaminación cruzada de los alimentos durante su preparación**

La preparación de los alimentos debe ser llevada a cabo mediante el uso de buenos estándares de higiene. Los utensilios (cuchillos, cuadros, mezcladores, peletizadores, etc.) se tienen que mantener limpios, y antes de su uso, ser lavados con una solución de yodo-PVP (20 ppm) y aclarados con agua limpia.

**Los alimentos frescos deben ser realmente frescos, y certificados como libres de virus importantes o estar esterilizados**

Cuando se usan dietas frescas como calamares, poliquetos, *Artemia*, krill, mejillones, ostras, almejas, etc., se tienen que intentar que el alimento sea lo más fresco posible. Para asegurar que el alimento fresco no es un riesgo para la bioseguridad, se debe pedir un certificado en el momento de la compra de que esté libre de los virus TSV, WSSV y YHV mediante el análisis PCR. Alternativamente, las dietas deben ser esterilizadas o pasteurizadas (recomendado) para inactivar cualquier virus, siempre que esto no afecte a la palatabilidad o calidad nutricional del alimento. Lo ideal sería que los diferentes tipos de alimentos congelados fueran almacenados en congeladores separados.

**Los alimentos frescos deben ser troceados hasta un tamaño que sea adecuado para la ingestión**

Los alimentos frescos necesitan ser troceados hasta un tamaño que sea adecuado para su ingestión por parte de los reproductores, lavados con agua limpia, y pesados antes de la toma. Se alimentará a los reproductores generalmente cada tres o cuatro horas durante el día y la noche.

**Las dietas artificiales deben ser enriquecidas con aditivos nutricionales**

Las dietas artificiales deben ser enriquecidas con aditivos como vitaminas C y E, inmunoestimulantes, astaxantina, carotenoides, ácidos grasos poliinsaturados, etc., si se pretende complementar la dieta fresca con pellets secos o húmedos. Varias compañías comerciales producen dietas artificiales para suplementar los alimentos frescos usados en la maduración, aunque todavía ninguna puede reemplazarlas totalmente. Las dietas secas o húmedas pueden ser también extrusionadas en frío de forma económica (mediante un pelletizador o un extrusionador) en el propio emplazamiento, usando las dietas de camarón habituales molidas e incorporando los diferentes aditivos mencionados arriba, más un conglomerante como gelatina o alginato. La selección de las dietas apropiadas depende de los requisitos específicos de las instalaciones de maduración.

**Las dietas secas se deben de dar separadamente de los alimentos frescos y dos o tres veces al día (hasta un 2-3% de la biomasa de camarón/día), utilizando tasas bajas de alimentación cada vez para asegurar que son consumidas completamente**

Los *Penaeus vannamei* domesticados tienen una ventaja sobre sus homólogos salvajes o los *P. monodon*, puesto que han sido criado con dietas a base de pellets y por lo tanto, están acostumbrados a consumirlas. Los reproductores salvajes frecuentemente, son reacios a comer dietas secas y tienen que ser aclimatados muy gradualmente. Como en todas las prácticas de manejo de los reproductores, cualquier cambio debe ser minimizado para evitar estresar a los animales. Cualquier cambio del régimen de alimentación, los tipos, las cantidades y los tiempos, deben ser minimizados en lo posible. De esta forma, en todo momento se deben mantener stocks de todos los ingredientes de las dietas.

## 5. Proceso de postdesove

Los procesos de postdesove incluyen: mantenimiento de las instalaciones, manejo de la calidad del agua; manejo de los reproductores; lavado, selección, mantenimiento y transporte de los nauplios; cría de las postlarvas, mantenimiento, manejo sanitario, evaluación del estado, selección y valoración del riesgo para la siembra, transporte y transferencia; y documentación y recogida de datos.

### 5.1 Mantenimiento de las instalaciones

**Para lograr una producción constante de larvas de alta calidad, las instalaciones de producción tienen que ser mantenidas en óptimas condiciones**

Las instalaciones deben ser mantenidas de forma que se optimicen las condiciones para el crecimiento, supervivencia y salud de los reproductores, larvas y PL de camarón, minimizando el riesgo de brotes de enfermedad. Para facilitar esto, deben ser redactados por la dirección del laboratorio, una serie de protocolos como parte del Procedimientos de Operaciones Estándar (SOP) y seguidos estrictamente por todos los empleados en todo momento.

Los SOP del laboratorio deberán incluir el procedimiento de secado sanitario que sigue a cada ciclo de cultivo (para la cría de larvas), o al menos cada tres o cuatro meses (para las instalaciones de maduración), con un período mínimo de secado de siete días. Esto ayudará a prevenir la transmisión de agentes infecciosos de un ciclo a otro.

**Todos los tanques y equipos deberán ser minuciosamente limpiados regularmente, lavados y desinfectados después de cada uso, así como antes de empezar un nuevo ciclo de producción**

Los tanques usados para el desove de los reproductores, la eclosión de huevos, y el manejo de los nauplios y postlarvas deben ser minuciosamente limpiados después de cada uso. Los procedimientos usados para la limpieza y desinfección serán básicamente los mismos para todos los tanques y equipos. Estos incluirán un frotado con agua limpia y detergente hasta retirar toda la suciedad y sedimentos, la desinfección se realizará con una solución de hipoclorito (20-30 ppm de ingrediente activo) y/o una solución de ácido muriático<sup>8</sup> (pH 2-3), aclarando con abundante agua limpia para eliminar cualquier traza de cloro y/o ácido, y después dejar secar. Las paredes de los tanques también pueden ser limpiadas con ácido muriático; tanto los tanques exteriores como los pequeños pueden esterilizarse secándose al sol.

Los siguientes puntos deben ser considerados:

- Los tanques deben ser lavados y desinfectados al final de cada ciclo de producción.
- Todo el equipo de laboratorio debe ser regularmente limpiado y desinfectado.

---

<sup>8</sup> Anteriormente, el ácido muriático ha sido referido como 3:1HCl y HNO<sub>3</sub>, pero actualmente se refiere como 34-37% HCl

- Los tanques de cemento pintados con epoxi marino o forrados con plástico son más fáciles de limpiar y mantener que los de los tanques de cemento sin tratar.
- Después de cosechar las larvas de su tanque de cría, éste y todo el equipo debe ser desinfectado. De igual forma, una vez que todos los tanques de una sala hayan sido cosechados, la propia sala y todos los equipos deben ser desinfectados.
- Los tanques pueden ser llenados al máximo y añadir una solución de hipoclorito hasta alcanzar una concentración mínima de 20-30 ppm de ingrediente activo. Después de 48 horas, los tanques pueden ser vaciados y se deben dejar secar hasta el comienzo del siguiente ciclo.
- Todos los equipos y cualquier otro material usado en una sala (filtros, mangueras, vasos conducciones de agua y aire etc.), después de una primera limpieza con una solución al 10% de ácido muriático, pueden ser introducidos en uno de los tanques que contengan la solución de hipoclorito.
- Los tanques de maduración de los reproductores y todos sus equipos asociados, deben ser limpiados y desinfectados siguiendo el procedimiento típico cada tres o cuatro meses.
- Las tuberías de agua, conducciones de aire y sus piedras etc., deben ser lavados cada mes (o durante el secado) con la misma concentración de cloro y/o una solución al 10% de ácido muriático (pH 2-3) mediante el bombeo desde un tanque central.
- Todos los edificios del laboratorio (suelos y paredes) se deben desinfectar periódicamente (se recomienda una vez por ciclo).
- Todo el resto del equipo debe ser minuciosamente limpiado entre ciclos.
- Antes de sembrar los tanques para un nuevo ciclo, estos deben ser de nuevo, lavados con detergente, aclarados con agua, limpiados con ácido muriático al 10% y otra vez aclarados con agua tratada antes del llenado.
- Los procedimientos de desinfección pueden requerir ajustes de acuerdo con las necesidades especiales de la instalación.
- Se deben tomar medidas de seguridad apropiadas cuando se manejen productos químicos para la desinfección. Los procedimientos acerca el uso y almacenamiento de productos químicos, tales como llevar equipos de protección, etc. deben estar incluidos en los Procedimientos de Operaciones Estándar (SOP).

Los productos, concentraciones y frecuencias recomendados para la desinfección de varios elementos de laboratorio también han sido definidos en la OIE (2003).

## 5.2 Manejo de la calidad del agua

**La infraestructura del laboratorio debe permitir una apropiada limpieza y desinfección del agua entrante**

El agua entrante debe ser limpiada y desinfectada mediante cloración y filtración antes de ser distribuida a las diferentes áreas de trabajo (laboratorio, cultivo de algas, *Artemia*, etc.). La distribución debe ser diseñada para evitar el riesgo de contaminación cruzada. Los sistemas de distribución de agua y aire a su vez, deben ser instalados de manera que permitan el bombeo de soluciones desinfectantes a través del sistema así como permitir un completo secado al final del ciclo.

**Idealmente, las instalaciones de maduración y cría de larvas deben ser construidas de manera que se aprovechen los aportes de agua oceánica**

No obstante, es posible el uso de agua de mar traída a las instalaciones desde otro lugar, así como de agua de mar subóptima sometida a las técnicas apropiadas de filtración y desinfección. En general, un sistema de recirculación cerrado es más bioseguro que un sistema de agua abierto, aunque requiere adicionalmente, de filtración biológica y mecánica, y de desinfección para mantener una calidad óptima de agua.

**Se deben usar pozos excavados en la arena en la playa para la filtración primaria del agua**

El sistema de filtración mas común del agua marina sin tratar, que entra en el laboratorio desde el mar, es a través del uso de pozos excavados en la arena en la playa. Éstos consisten en una serie de galerías de filtración, pozos, etc. que permiten una filtración primaria antes de la entrada al laboratorio. Además limitan el paso de organismos del fouling, patógenos portadores, mareas rojas y otros patógenos, que en sistemas de toma directa no serían detenidos.

**Si el agua lleva una alta carga de sedimentos, debe pasar a través de tanques de sedimentación para retirar los sólidos suspendidos**

Se requiere un mínimo de capacidad de almacenaje del 50% sobre la capacidad total, cuando los reservorios puedan ser rellenados dos veces al día.

**El agua entrante debe ser desinfectada para destruir cualquier patógeno remanente y los metales pesados presentes retirados por quelación**

Se debe usar hipoclorito de calcio o de sodio (con 10 ppm de ingrediente activo durante por lo menos 30 min), y/u ozono, o luz UV, para desinfectar el agua entrante después de la filtración inicial y la sedimentación. Después del tratamiento con cloro, se tiene que examinar el agua del reservorio con Orto-toluidina (3 gotas en 5 mL de agua de muestra) para asegurar que no existe cloro residual (indicado por un color amarillo) antes de usar el agua. La fecha y duración de los tratamientos así como, los resultados de dichos tests, se tienen que registrar en un gráfico o cuadro y ser firmados por el responsable del tratamiento del agua. Una vez que el cloro se ha disipado o neutralizado con tiosulfato de sodio (1 ppm por cada 1 ppm de cloro restante), se puede adicionar EDTA para inducir la quelación de los metales pesados presentes en el agua (las cantidades dependen de las concentraciones de metales pesados y del uso).

**La temperatura del agua debe ser ajustada antes de su entrada a las unidades de producción**

Puede ser necesaria una caldera y un sistema de intercambio de calor, cuya localización típica es entre el reservorio y las unidades de producción, para ajustar las temperaturas del agua dentro del rango requerido (generalmente entre 28 y 32 °C dependiendo del área y la etapa, ver Cuadro 4).

El sistema de filtración de agua que sigue a los reservorios, debe estar constituido por filtros de arena, carbón activo, y otros elementos como filtros de cartucho o de membrana, en el caso de que el agua requiera una filtración más fina.

**Los filtros de arena tienen que ser mantenidos adecuadamente**

Los filtros de arena tienen que ser lavados en sentido contrario por lo menos dos veces al día (o según se requiera en función de la carga de sólidos en suspensión del agua entrante) por un período suficiente de tiempo que asegure el limpiado del filtro.

Es una ventaja poder abrir los filtros para chequear la canalización y realizar un retrolavado minucioso. Al principio de cada ciclo de producción, la arena debe ser sustituida por otra limpia que haya sido previamente lavada con una solución de hipoclorito sódico a 20ppm de ingrediente activo o una solución al 10% de ácido muriático (pH 2-3). El carbón activo debe ser cambiado por lo menos una vez cada ciclo del laboratorio para mantener su eficiencia.

**Los filtros de cartucho tienen que ser cambiados diariamente**

En el caso de los filtros de cartucho, se tiene que disponer de dos juegos de elementos filtradores, que se deben recambiar diariamente. Los filtros usados son lavados y desinfectados en una solución de hipoclorito de calcio (sodio) con 10ppm de ingrediente activo o en una solución al 10% de ácido muriático durante una hora. Algunos materiales de los filtros son sensibles al ácido muriático, de manera que, se tiene que tener sumo cuidado cuando este desinfectante es usado. Los filtros son posteriormente aclarados con abundante agua tratada y sumergidos en un recipiente con una solución 10ppm de tiosulfato de sodio para neutralizar el cloro (si ha sido utilizado). En cada ciclo del laboratorio, se deben usar dos o más juegos de filtros, en función de la carga de sólidos en suspensión del agua de mar.

El tamaño final de filtración recomendado depende de los usos del agua que se muestran en la Cuadro 4.

**Cuadro 4. Estándares recomendados para la filtración y temperatura del agua según los diferentes usos.**

USO DEL AGUA	TAMAÑO DE FILTRO (µM)	TEMPERATURA (°C)
Maduración	15	28 a 29
Cría larvaria	5	28 a 32
Desove y eclosión	0,5-1,0	29 a 32
Cultivo de algas (interior/puro)	0,5	18 a 24

**Si se utilizan sistemas de recirculación, se debe usar una filtración biológica adicional**

Para prevenir una posible contaminación cruzada entre diferentes áreas del laboratorio, se deben usar sistemas de recirculación separados para cada área que lo requiera. Los sistemas de recirculación son los más eficientes para la maduración de los reproductores, ya que reduce la

necesidad de recambio de agua y las descargas de agua residual. Por otro lado, ayudan a mantener estables los parámetros físico-químicos del agua, mantiene la concentración de hormonas de apareamiento, y además ofrecen una mejor bioseguridad.

Si se requiere recircular el agua del mar para cualquier área del laboratorio, se precisará de una filtración biológica adicional para la retirada de cualquier material orgánico disuelto. Hay muchos tipos de biofiltros, todos ellos incorporan elementos vivos (bacterias desnitrificadoras) que tienen que ser cultivados o añadidos al filtro antes de su uso, de manera que sus efectos sean óptimos en todas las etapas del ciclo. Hay que considerar que estos filtros requieren limpiezas periódicas, de tal forma que no se maten a dichas bacterias beneficiosas.

**El agua que se usa en los tanques de desove y eclosión y en las instalaciones de cultivo de algas tiene que ser de la misma calidad**

Los tanques de desove y eclosión y las instalaciones de cultivo puro de algas tienen que recibir agua de la misma calidad y tratada de la misma forma que la usada en las unidades de maduración y cría de larvas (Ej. esterilización por luz UV y filtración al 0,5 o 1  $\mu\text{m}$ ). Adicionalmente, para la eclosión y desove, es frecuente el uso de EDTA de hasta 20-40 ppm, para asegurar la quelación de los metales pesados, de manera que no estén disponibles. También se usa Treflan al 0,05-0.1 ppm para combatir los hongos.

**La distribución del agua debería ser diseñada de tal forma que cada área del laboratorio pueda ser desinfectada de manera independiente**

La distribución del agua desde el reservorio hasta las distintas áreas del laboratorio debe estar diseñada de tal forma que cada zona pueda ser desinfectada sin comprometer otras áreas. De esta forma, se pueden programar desinfecciones regularmente, según convenga en cada zona y se evite el riesgo de contaminación cruzada. La regulación de temperatura y salinidad puede variar entre diferentes sectores y será facilitada por un sistema de distribución bien diseñado. Además, cada área tiene sus requerimientos específicos de filtración, los cuales pueden ser establecidos anteriormente al punto de uso. Las bombas, tuberías y equipos de filtración deberán ser dimensionados para asegurar que la tasa máxima de intercambio de agua esperada, pueda ser mantenida en óptimas condiciones en todo momento.

### **5.3 Desinfección de los reproductores**

Después de retirar las hembras que hayan desovado de los tanques correspondientes, estas deben ser inmersas en yodo-PVP (20 ppm/15 sg) antes de devolverlas al tanque de origen.

### **5.4 Lavado de los nauplios**

Los nauplios cosechados en el estadio 4 pueden ser tratados mediante un baño en Treflan (0.05-0.1 ppm) para prevenir la contaminación por hongos, seguido por un minucioso lavado en agua filtrada y esterilizada y volverlos a sumergir en una solución yodo-PVP (50-100 ppm durante 1-3 min) o en una solución de cloramina-T (60 ppm durante 1 min). Inmediatamente a continuación, son lavados en agua de mar limpia.

Se han descrito otras rutinas de lavados usando formalina y yodo-PVP. Chen *et al.*, (1992) y Brock y Main (1994) también describieron un método en el cual los nauplios son sumergidos

durante 30 segundos en formalina (300 ppm) y yodoforo (100 ppm) y posteriormente aclararlos con agua de mar filtrada y esterilizada durante tres minutos antes de la siembra. Esto puede ser efectivo para retirar sedimentos y organismos del fouling como bacterias y protozoos, y pudiendo minimizar la transmisión de enfermedades virales.

## 5.5 Selección de los nauplios

**Los nauplios deben ser cosechados usando una luz para traerlos hacia la superficie del agua**

Como los nauplios presentan una fuerte fototaxis positiva, aquellos que están sanos, pueden ser cosechados usando una luz para atraerlos hasta la superficie del agua. Aquellos que permanezcan en el fondo del tanque son descartados, reduciendo el porcentaje de nauplios débiles y deformes. Después de la cosecha, se efectúa el recuento de los nauplios aptos, para establecer la tasa de eclosión. En un buen lote, la tasa de eclosión debe ser  $>70\%$ . Si nos encontramos ante una tasa menor se considerará la posibilidad de desechar todo el lote e iniciar investigaciones para hallar la causa del problema.

**Se debe evaluar la actividad y color de los nauplios y estimar el porcentaje de deformidades**

Una tasa de deformidad  $<5\%$  se considera generalmente aceptable. Se estima el estado de los nauplios a partir del alcance de la fototaxis positiva. Para llevar a cabo este test, una muestra de larvas es situada en un recipiente translúcido junto a una fuente de luz y se observa el desplazamiento de los animales. Si el 95% o más de las larvas se mueven claramente hacia la luz, el lote se considera bueno, intermedio si el 70% o más responden, y pobre si menos del 70% se dirige hacia la luz. Los lotes pobres pueden ser descartados, dependiendo de los criterios de selección de cada laboratorio.

## 5.6 Mantenimiento de los nauplios

**Los nauplios cosechados tienen que ser mantenidos bajo condiciones óptimas hasta que son depositados**

Los nauplios cosechados pueden ser mantenidos a una densidad de 20 000-40 000/litro, con luz continua, agua limpia y aireación hasta que estén preparados para ser sembrados en los tanques del laboratorio. Como con los huevos, los nauplios (estadio 4) pueden ser tratados con Treflan y/o desinfectados. El material y equipo usado para cosechar nauplios debe ser lavado diariamente con una solución de hipoclorito de calcio o sodio (30 ppm de ingrediente activo) para prevenir la contaminación en los siguientes lotes.

## 5.7 Transporte de los nauplios

**Los nauplios deben ser transportados a densidades de 15 000–30 000 nauplios/litro, dependiendo de la distancia o tiempo hasta el laboratorio**

El transporte se realiza normalmente en bolsas dobles de plástico, conteniendo 10-15 litros de agua y rellenas con oxígeno puro. Las bolsas son posteriormente empaquetadas en cajas de cartón o styrofoam, aunque a veces se usan tanques y cubos de plástico. La temperatura del agua en el empaquetado y transporte es ajustada desde 28-30 °C hasta un rango de entre 18 a 25 °C (aunque a veces no es necesario), según el tiempo y la distancia del viaje hasta el laboratorio receptor. La salinidad es mantenida a 32-35 ‰. A la llegada del laboratorio comprador, los nauplios deben ser desinfectados de nuevo.

Si es posible, el vehículo de transporte debe ser primero desinfectado, antes de entrar a las instalaciones del laboratorio. Después de desempaquetar los nauplios, el material de embalaje tiene que ser incinerado.

## 5.8 Cría y mantenimiento de las larvas

**La cría de larvas debe producir postlarvas de la más alta calidad y en el mejor estado sanitario posible**

En muchos casos, donde los laboratorios de postlarvas y las granjas forman diferentes unidades económicas, la calidad de la larva es frecuentemente sacrificada por economizar. Aunque en realidad, la estrategia más económica es producir postlarvas que crezcan rápidamente, que estén libres de enfermedades y que tengan una alta tasa de supervivencia y producción en las instalaciones de engorde. Para alcanzar dichos objetivos, todas las áreas involucradas en la cría de larvas tienen que estar diseñadas para una óptima eficiencia, higiene y productividad.

**La entrada a la zona(s) de cría de larvas debe ser restringida**

La entrada a las instalaciones de cría de larvas, debe estar restringida al personal que trabaja en dichas áreas. Se tienen que colocar alfombras sanitarias o lavapiés con soluciones desinfectantes (Ej. hipoclorito de calcio o sodio con >50 ppm de ingrediente activo) a la entrada de cada sala del laboratorio. La solución desinfectante tiene que ser reemplazada cuando sea necesario. En cada entrada a la sala(s) de cría de larvas debe estar disponible un recipiente(s) con iodo-PVP (20 ppm) y/o 70% alcohol para que todo el personal tenga que lavarse las manos con la solución(es) desinfectante cada vez que entre o salga de las salas.

**Cada sala debe tener un juego completo de materiales para las operaciones rutinarias**

Cada sala debe tener un juego completo de materiales para operaciones rutinarias (filtros, mallas, cubos, etc.). Se debe habilitar un tanque (500-600 litros) con desinfectante (solución de hipoclorito 20 ppm de ingrediente activo) para sumergir las mangueras, cubos, etc. Los equipos de uso común se pueden dejar en el tanque de desinfección al final de cada día y aclararse antes de volver a ser usados al día siguiente. El desinfectante de este tanque debe ser sustituido diariamente o cuando se requiera.

**Todos los materiales y equipos deben ser de uso exclusivo para cada sala, y no deben salir de ella o ser usados en otro lugar**

Adicionalmente, los vasos de precipitado, las redes, etc. usados en cada tanque se deben mantener en un cubo lleno de una solución de hipoclorito de sodio (20 ppm de ingrediente activo), y se deben dedicar exclusivamente a cada tanque para prevenir contaminaciones cruzadas dentro de la misma unidad.

**La calidad de las larvas y postlarvas debe ser comprobada rutinariamente**

Se deben tomar muestras de larvas y postlarvas para realizar comprobaciones rutinarias en recipientes de plástico desechable (vasos de papel o vasos de precipitado de plástico de 300 ml) que serán eliminados tras un solo uso. Después de que el chequeo diario ha sido completado, las larvas y postlarvas deben ser desechadas a un recipiente de plástico con hipoclorito de sodio (20 ppm de ingrediente activo) u otro desinfectante apropiado. Las larvas y postlarvas usadas en estos chequeos diarios nunca deben retornar a los tanques o salas de cría de las larvas

**La infraestructura para el cultivo de larvas debe incluir una o más unidades de tanques de cría de forma cónica o en «V»**

Las infraestructuras para el cultivo de larvas consisten principalmente en una o más unidades de tanques de cría de forma cónica o en «V» (los tanques a veces se encuentran en dos fases: una de nauplios a PL4-5, y después, tanques mayores de fondo plano, o «raceways», para las postlarvas o el cultivo en criadero). Las infraestructuras de soporte (comentadas con más detalle en otros apartados) incluyen: almacenamiento, tratamiento, calentamiento y sistema de distribución de agua; sistema de aireación; instalaciones para la producción de alimento vivo como algas y *Artemia* (y otros); laboratorios de postlarvas para inspecciones sanitarias, bacteriología y preparación de dietas; oficinas y un área para el empaquetado y transporte de postlarvas.

## 5.9 Nutrición de las larvas y manejo alimenticio

**Se deben mantener altos estándares en la preparación de las dietas**

Toda la preparación de dietas, especialmente las vivas (algas, *Artemia* y otros), es un punto crítico de control (CCP), debido a que el alimento puede ser contaminado por un manejo inapropiado. Todas las fuentes de comida viva, fresca o congelada, deben ser consideradas como un riesgo de patógenos. La fuente, tratamiento, almacenaje y uso de los elementos de los alimentos, deben ser revisados y se deben tomar medidas para asegurar que éstas son manejadas de forma apropiada y segura.

**La entrada a las salas de cultivo de algas y *Artemia* tiene que estar restringida únicamente a personal autorizado**

Los empleados de estas áreas no deben entrar en ninguna otra zona de producción. En la entrada de cada sala debe colocarse un lavapies con una solución desinfectante (hipoclorito de calcio o sodio con >50 ppm de ingrediente activo). Esta solución debe reemplazarse tan frecuentemente como sea necesario. Como en otras áreas, el recipiente(s) de solución desinfectante (20 ppm de iodo-PVP y/o 70% alcohol) debe estar situado en las puertas, para que todos los empleados laven sus manos cada vez que entren o salgan de la sala.

Está fuera del objetivo de este manual, detallar los protocolos exactos de alimentación para la cría de larvas. Las dietas deben estar basadas en los requerimientos específicos de los distintos estadios larvarios, y refrendadas en el examen frecuente y detallado de la actividad alimenticia de las larvas en cada tanque. En esta sección se ofrecen indicaciones sobre los puntos significativos que se deben tener en cuenta.

## ***Algas***

**Tienen que ser mantenidos unos estándares de higiene extremadamente altos en el cultivo de microalgas**

El cultivo de microalgas requiere de una higiene extrema en las fases de laboratorio, incluyendo una minuciosa desinfección y filtración ( $a < 0.5 \mu\text{m}$ ) de todos los suministros de agua y aire, desde el uso de esterilizadores para todo el equipo y el agua, hasta el uso de fertilizantes químicos puros de grado de laboratorio, así como aire acondicionado para mantener temperaturas de entre 18-24°C.

**Los cultivos puros de algas tienen que ser mantenidos usando los procedimientos sanitarios y microbiológicos apropiados**

Las algas unicelulares tales como Chaetoceros, Thalassiosira, Tetraselmis, Isochrysis y Dunaliella, son las más comúnmente utilizadas. De cada especie de alga usada, se deben mantener, cultivar y subcultivar cepas puras, en todos los estados (desde placas de agar y tubos/botellas en el laboratorio para la producción masiva en el exterior). Se deben usar procedimientos sanitarios y microbiológicos apropiados para asegurar la calidad del cultivo. Se deben evitar las contaminaciones por protozoos que se alimentan de algas, otras especies de algas y bacterias (en particular la dañina *Vibrio* spp.). Alternativamente, pueden comprarse cultivos iniciales de cepas puras de laboratorios de postlarvas acreditados especializados para su desarrollo en los tanques de gran tamaño del laboratorio usando los procedimientos habituales. No se recomienda el procedimiento basado en la compra de un lote de cepa pura para subcultivarlo continuamente a lo largo de cada ciclo de cultivo larval, puesto que las algas pueden contaminarse fácilmente y finalmente, contaminar a las propias larvas.

**Todos los tanques de cultivos de algas tienen que ser lavados y desinfectados después de cada cosecha**

Para la desinfección de los tanques de cultivo de algas se usa una solución de hipoclorito de calcio (sodio). Posteriormente, éstos deben ser aclarados con agua limpia y tratada, y finalmente lavados con ácido muriático al 10% antes de dejarlos secar.

Es común alimentar a las larvas en los últimos estadios de nauplios con microalgas planctónicas, de forma que durante la metamorfosis hasta el primer estadio de alimentación (zoea 1), las larvas empezarán a alimentarse inmediatamente. Las concentraciones se mantienen usualmente entre 80 000–130 000 células/ml a lo largo de los estadios zoea 1 y mysis, y posteriormente disminuyen a medida que las larvas se van haciendo más carnívoras. Durante el cultivo postlarval y de criadero se usan frecuentemente algas bentónicas ya que las postlarvas comienzan a comer de las paredes de los tanques.

## ***Artemia***

**Se deben tomar medidas para asegurar que la *Artemia* no sea un riesgo de introducción de enfermedades**

Se debe solicitar un certificado de que todos los cistes de *Artemia* comprados, hayan sido sometidos al análisis por PCR, para asegurar que no son portadores de virus TSV, WSSV y YHV.

**La *Artemia* debe ser descapsulada**

Aunque los cistes de *Artemia* pueden no ser portadores de patógenos virales importantes (Sahul Hameed *et al.*, 2002), si que son fuentes significativas de enfermedades producidas por bacterias, hongos y protozoos. Por tanto, se recomienda la descapsulación de los cistes para evitar contaminar el agua del cultivo de la *Artemia* y la posterior propagación al agua de cría de las larvas.

La decapsulación se lleva a cabo usando 40 g de soda cáustica (NaOH) y 4 litros de cloro líquido (8-10% de ingrediente activo) en 4 litros de agua de mar por cada 1 kg de cistes de *Artemia*. Durante el proceso, toda esta mezcla tiene que mantenerse por debajo de 20 °C usando hielo para evitar los daños en los cistes. Tan pronto como los cistes se empiezan a volver naranjas (señal de que la decapsulación es correcta), se debe añadir una solución con 100 g de tiosulfato sódico para neutralizar la clorinización. Los cistes ya descapsulados pueden ser lavados con agua dulce limpia y mantenidos en una solución de agua salada super-saturada hasta que se necesiten para ser eclosionados

**La *Artemia* debe ser eclosionada en una proporción de 1-2 kg de cistes/tonelada de agua de mar, bajo una luz constante y aireación fuerte durante 24 horas o hasta la eclosión completa**

Los nauplios de *Artemia* son posteriormente cosechados y desinfectados con una solución de hipoclorito sódico a 20 ppm, o mejor con cloramina-T a 60 ppm durante 3 min, y lavados con agua dulce. Posteriormente, pueden ser ofrecidos como alimento vivo, o bien, ser congelados para utilizarlos cuando sea necesario. Por otro lado, se pueden disponer en tanques separados para ser enriquecidos (durante 3-12 horas), o también pueden ser engordados para alimentar diferentes estadios de las postlarvas.

**Después de cosechar la *Artemia*, los tanques deben ser minuciosamente limpiados**

Después de cosechar, los tanques usados para eclosionar *Artemia* tienen que ser lavados con detergente y agua, y posteriormente desinfectados usando una esponja mojada en una solución de hipoclorito sódico (20 ppm de ingrediente activo), para posteriormente aclarar con abundante agua tratada (filtrada y esterilizada) y volver a lavar otra vez con una solución al 10% de ácido muriático.

Los nauplios o los adultos de *Artemia* congelados deben ser almacenados en un congelador exclusivo y separado. Los protocolos (SOP) de higiene básica tienen que ser implementados en todo momento.

### ***Dietas artificiales***

**Aunque las dietas artificiales generalmente no conllevan un riesgo sanitario, tienen que ser adecuadamente usadas y almacenadas**

Se dispone de muchos tipos de dietas formuladas o artificiales durante la cría de las larvas. Estos tipos de dietas generalmente no tienen tantos riesgos para la salud como los alimentos vivos, ya que es muy sencillo mantenerlos libres de cualquier contaminación. Dentro de las dietas artificiales se incluyen: algas secas, dietas líquidas y microencapsuladas, copos y pellets desmenuzados, enriquecedores y suplementos de minerales y vitaminas.

Se elegirán tanto el tamaño de éstos, en función del estadio de desarrollo de la larva, como las diferentes combinaciones, dependiendo de las preferencias del laboratorio, la calidad del agua y los requerimientos nutricionales. Sin embargo, se suelen usar principalmente como suplementos para los alimentos vivos.

Generalmente, las dietas de alta calidad no deben representar ningún problema sanitario siempre que, hayan sido seleccionadas y almacenadas correctamente en un ambiente frío y seco, consumidas con celeridad una vez que el recipiente ha sido abierto, y no usadas en exceso (ya que esto puede afectar a la calidad del agua).

## **5.10 Manejo sanitario de las larvas**

**Para la producción de un buen número de larvas de alta calidad, se debe mantener un estricto control en los muchos factores involucrados en el manejo sanitario de la larva en el laboratorio**

Hay muchos factores involucrados en el manejo sanitario de las larvas en el laboratorio. Para producir una elevada cantidad de larvas de alta calidad, es preciso mantener un estricto control de todos éstos, a lo largo de todo el ciclo de cría de la larva. En la Cuadro 5 son expresados algunos de los factores más comunes que afectan al estado sanitario de la larva durante el ciclo de su cultivo (asumiendo que nauplios de alta calidad han sido sembrados de acuerdo con los métodos definidos anteriormente en esta sección).

**Cuadro 5. Algunos factores que afectan al estado sanitario de las larvas y sus posibles medidas de control.**

<b>FACTOR</b>	<b>EFECTOS</b>	<b>MEDIDAS DE CONTROL</b>	<b>ESTÁNDAR</b>
Densidad de siembra excesiva	Estrés Canibalismo Baja calidad del agua	Reducir la densidad de siembra	100 a 250 nauplios/litro
Baja calidad del agua Agua de mar (A) Agua de tanques (B)	Mortalidades Muda tardía Deformidades	Mejorar la calidad del agua por filtración, cloración y/o esterilización (A) Incrementar la tasa de renovación del agua (B)	Filtro < 5 µm Carbón activado Cloración (10 ppm) seguida de neutralización Ozono y UV 20-100% renovación de agua por día
Períodos largos de siembra	Incremento de las tasas de infección en las últimas larvas sembradas	Limitar el número de días de siembra en laboratorio	3-4 días por unidad
Dieta pobre (Calidad y/o frecuencia)	Canibalismo Desnutrición Fouling epibionte Baja calidad del agua	Programa de alimentación apropiado Chequeos frecuentes en el consumo de alimento y la calidad del agua	Alimentar cada 2 ó 4 horas hasta la saciedad con dietas de alta calidad
Calidad y/o cantidad de algas	Mortalidad en estadio zoea Fouling de las larvas	Recuentos rutinarios y controles de calidad	Chaetoceros o Thalassiosira 80 000 a 130 000 células/ml
Nauplios de <i>Artemia</i>	Fuente de bacterias con incremento de la mortalidad	Desinfección de los nauplios de <i>Artemia</i>	Hipoclorito 20 ppm de ingrediente activo

### ***Densidad de siembra***

**La densidad a la cual los nauplios son sembrados no debe ser excesiva**

Un exceso en la densidad de siembra puede aumentar el estrés y en posteriores etapas, puede degenerar en canibalismo y disminución de la calidad del agua, especialmente cuando las tasas de supervivencia son altas. En general, las densidades de siembra para los nauplios deber encontrarse en un rango de 100-250 nauplios/litro de agua (100 000-250 000 por tonelada). Se usan densidades menores si las larvas van a crecer hasta el tamaño de cosecha en el mismo tanque, mientras que se puede aumentar la densidad si se utiliza un sistema de dos tanques. En este último sistema, las larvas son cultivadas generalmente en tanques cónicos o «V» o también en tanques de fondo plano o «U», a altas densidades hasta el estadio PL4-5 y posteriormente transferidos a tanques planos para los siguientes estadios bentónicos, reduciendo la densidad hasta los 100 PL/litro.

Una baja supervivencia puede reducir la densidad de larvas en el tanque hasta un nivel donde el coste por alimentación deje de ser rentable (debido a que los tanques de cría de larvas son alimentados según el volumen de agua más que por el número de larvas).

### ***Calidad del agua***

#### **Se debe mantener una buena calidad de agua**

La calidad del agua tiene un impacto fundamental en la salud y rendimiento de los lotes de larvas. Una baja calidad del agua puede acarrear una baja supervivencia y crecimiento, retraso en la muda/estadio, incremento del fouling epibionte y deformidades. El agua para la cría de larvas debe ser filtrada a unos 5 µm y desinfectada con cloro, ozono y/o UV. Las temperaturas deben ser mantenidas entre 28 y 32 °C y la salinidad por encima de 30 ‰, por lo menos hasta que se alcanza la etapa de postlarvas. Los niveles de oxígeno disuelto se deben mantener lo más cercanos a la saturación (6,2 ppm a 30°C) o al menos por encima de 5 ppm. Se debe mantener un pH en tono a 8. La sobrealimentación es una de las causas más comunes del deterioro de la calidad del agua y debe ser evitada en lo posible.

La calidad del agua se mantiene si existe una aireación suficiente que impida que la comida sobrante y las heces se asienten en el fondo del tanque (normalmente se requieren de tanques con el fondo en ángulo). El sifonado regular del tanque previene la formación de un sedimento anaerobio en el fondo.

#### **El intercambio de agua debe ser realizado con cuidado**

Generalmente, no se produce ningún intercambio de agua hasta que se alcanza el estadio mysis, aunque habitualmente sí que se incrementa el nivel de agua a lo largo del estadio zoea. Esto se puede llevar a cabo, puesto que los nauplios son normalmente sembrados en tanques que se han rellenado sólo hasta la mitad de su capacidad. Después del estadio mysis, la tasa habitual de renovación de agua es del 20-100% al día, dependiendo de la densidad de siembra y los parámetros de calidad del agua. Se debe asegurar que el agua usada para completar el volumen de los tanques y para la renovación, tenga una temperatura, salinidad y pH similar a la del tanque, y que además, esté libre de cloro para evitar un estrés innecesario a las larvas.

#### **Los laboratorios de postlarvas deberán considerar también el uso de probióticos y enzimas bacterianas**

En el esfuerzo por mantener la calidad del agua, prevenir bloom bacteriano y reducir o eliminar las necesidades de antibióticos durante el cultivo de las larvas, los laboratorios de postlarvas están tendiendo al uso de polvos o soluciones probióticas de bacterias beneficiosas y enzimas bacterianas. Para todos estos productos y suplementos se tiene que tener mucho cuidado en seleccionar cuales no suponen un riesgo sanitario y cuales son eficaces y rentables.

## ***Período de siembra***

**Cada unidad independiente de tanques de cría en el laboratorio o, preferiblemente todo el laboratorio, debería sembrarse con nauplios en el menor período de tiempo posible**

Cada unidad independiente de tanques de cría en el laboratorio o, preferiblemente todo el laboratorio, debería sembrarse con nauplios en el menor período de tiempo posible, normalmente limitado a tres o cuatro días. Prolongar dicho período, resulta con frecuencia en un incremento de la incidencia de enfermedades en las últimas larvas sembradas, presumiblemente por contaminación bacteriana desde los tanques más antiguos a los más recientes.

Este fenómeno está asociado frecuentemente con el llamado «síndrome zoea-2», en el que los estadios zoea 1 tardío y el zoea 2 temprano dejan de comer y sufren unas altas mortalidades asociadas a problemas bacteriológicos. Este problema puede ser controlado reduciendo el tiempo de siembra a menos de cuatro días, usando probióticos y manteniendo siempre una buena limpieza de todas las zonas del laboratorio.

## ***Nutrición y alimentación***

**La cantidad, calidad y manejo del alimento debe ser monitoreado con atención**

La cantidad, calidad y manejo del alimento pueden tener un impacto muy importante en la salud de la larva y su supervivencia. No proveer de suficiente comida de la calidad correcta puede retrasar el crecimiento e incrementar el estrés, la mortalidad, el canibalismo, las deformidades y el nivel de fouling epibionte. Esto es especialmente cierto cuando una parte importante de la dieta es artificial. Cuando se usan dietas formuladas como complemento de las vivas, es importante dosificarlas en intervalos frecuentes y en pequeñas cantidades. Además, éstas deben ser de alta calidad, tener el tamaño apropiado y no ser contaminantes. Como guía, los tamaños de partículas deben ser entre 10-50  $\mu\text{m}$  para zoea, 100-200  $\mu\text{m}$  para mysis, y 200-300  $\mu\text{m}$  para los primeros estadios postlarvarios. Una frecuencia de alimentación de entre dos y cuatro horas se considera generalmente suficiente.

**Para la mayoría de los requerimientos alimenticios de las larvas, se debe confiar en alimentos vivos de alta calidad, incluyendo algas y *Artemia***

Sin embargo, una insuficiente o baja calidad de las algas pueden tener también importantes consecuencias para la salud de la larva. Por ejemplo, en el estadio zoea se han asociado unas altas mortalidades con la calidad de las algas. Una insuficiente concentración de algas durante ese estadio (<80 000-130 000 células/ml) pueden producir una falta de las reservas necesarias para completar la muda a mysis. Las concentraciones y calidad de las algas deben ser regularmente controladas para asegurar que son suficientes para la apropiada alimentación de cada estadio.

## 5.11 Evaluación general de las condiciones de las larvas

**La evaluación de las condiciones de las larvas debe ser una de las principales actividades llevadas a cabo en un laboratorio**

La evaluación de las condiciones de las larvas es habitualmente realizada por la mañana, tomándose decisiones sobre la renovación de agua, alimentación y otras actividades, de tal forma que por la tarde puedan llevarse a la práctica. Las larvas de cada tanque deben ser inspeccionadas de dos a cuatro veces cada día. Inicialmente se hace una inspección visual de la larva, de las condiciones del agua y de la comida. Se puede tomar una muestra de larvas con un vaso de precipitado e inspeccionarlas a simple vista. Se hacen observaciones sobre el estadio de la larva, salud, actividad, comportamiento y abundancia de comida y heces en el agua. También se deben guardar registros de los parámetros de calidad del agua y de la cantidad de comida en el tanque.

La misma muestra de larvas u otra diferente, debe ser también llevada al laboratorio para un examen más detallado al microscopio. Esto proporcionará la información sobre el estadio, condición, alimentación y digestión, así como de la presencia de cualquier enfermedad o deformidad física.

Se pueden enviar muestras, una o dos veces durante el ciclo, para el análisis en un laboratorio de PCR para la búsqueda de enfermedades virales.

El tipo de observaciones que se realizan, pueden ser clasificadas en tres niveles, basados en los grados de evaluación del estado sanitario descritos en la Cuadro 2.

### ***Observaciones de Nivel 1***

Las observaciones de Nivel 1 están basadas en aspectos visuales de la larva y las condiciones del agua que puedan ser apreciadas fácilmente a simple vista, tomando animales del tanque en un vaso de precipitado de cristal. Hay que prestar especial atención primeramente al comportamiento o actividad de las larvas, comportamiento natatorio (de acuerdo con su estadio), calidad del agua, presencia de comida y heces; y posteriormente, en la disparidad y homogeneidad de tamaño. Estas observaciones y el sistema de puntuación usado se describen en la Cuadro 6.

### **Actividad natatoria**

La actividad natatoria de las larvas cambia espectacularmente a lo largo del ciclo aunque de forma característica. Los estadios zoea 1 nadarán rápida y constantemente hacia delante, normalmente en círculos, para alimentarse filtrando fitoplancton. El estadio mysis, por comparación, nada hacia atrás mediante sacudidas intermitentes de sus colas, manteniéndose en la columna de agua y alimentándose de fito y zooplancton. PL, de nuevo vuelve a nadar rápida y constantemente hacia delante. Los primeros estadios son planctónicos, aunque por lo menos desde PL4-5 en adelante, migrarán al bentos para buscar alimento, a menos de que sean mantenidos en la columna de agua mediante una fuerte aireación. Dentro de cada uno de estos distintos modos de nadar, si observamos que el >95% de las larvas nadan activamente, entonces son puntuadas con un 10; si están activas del 70-95%, se puntúa 5; y si son <70% las activas entonces se puntúa 0.

**Cuadro 6. Resumen de las evaluaciones de Nivel 1 del estadio sanitario de la larva**

CRITERIO	PUNTAJACIÓN	ESTADIO	OBSERVACIONES
Actividad natatoria Activa (> 95%) Intermedia (70-95%) Débil (en el fondo) (< 70%)	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
Fototaxis Positiva (>95%) Intermedia (70-95%) Negativa (< 70%)	10 5 0	Zoea	Observaciones diarias (2-4x)
Hilos fecales Presente (90-100%) Intermedio (70-90%) Ausente (<70%)	10 5 0	Zoea	Observaciones diarias (2-4x)
Luminiscencia Ausente Presente (<10%) Abundante (>10%)	10 5 0	Mysis	Observación nocturna del tanque
Homogeneidad del estadio Alto (80-100%) Intermedio (70-80%) Bajo (< 70%)	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
Contenido intestinal Lleno (100%) Medio lleno (50%) Vacío (<20%)	10 5 0	Mysis	Observaciones diarias (2-4x)

### Fototaxis

El estadio zoea debe mantener una fototaxis positiva muy fuerte y moverse hacia la luz. Para comprobar esto, se toma una muestra de larvas y se colocan en un recipiente translúcido cerca de una fuente de luz y se observa el desplazamiento de los animales. Si el 95% o más de las larvas resultan fuertemente atraídas hacia la luz, las larvas se encuentran en buen estado y se puntúa 10. Si el 70-95% responde, se consideran aceptables y se anota 5; para menos del 70% se consideran débiles y se puntúa 0.

### Hilos fecales

Durante el estadio zoea 1, cuando se alimenta a los zoea casi exclusivamente con algas, se pueden observar largos hilos fecales colgándoles del ano y suspendidos en la columna agua. Cuando el 90-100% de las larvas tienen esos hilos largos y continuos a lo largo de todo su tubo digestivo, y continuando fuera de su cuerpo, se les considera bien alimentados y se puntúa 10. Cuando entre el 70-90% tienen esos hilos, o son cortos o discontinuos, se anota 5; y cuando son <70% de las larvas las que carecen de este hilo, significa que no están comiendo y se considera 0.

## **Luminiscencia**

Este factor se observa directamente en el tanque de cría de las larvas estando en completa oscuridad. La luminiscencia de las larvas es debida a la presencia de bacterias luminiscentes como *Vibrio harveyi*. Si no se aprecia este fenómeno, se puntúa con 10, si se observa de una forma baja (hasta el 10% de la población) se anota 5; y para poblaciones con luminiscencia por encima del 10% se puntúa 0.

## **Homogeneidad del estadio**

Este factor indica la uniformidad de los estadios larvarios en el tanque. Si el 80% o más de la población está en el mismo estadio, se les puntúa con 10, si están entre un 70-80%, la puntuación es 5; y para situaciones de menos del 70%, la puntuación es 0.

Se debe tener en cuenta que cuando se produce la muda en las larvas, es normal apreciar un decrecimiento en la homogeneidad, por lo tanto hay que considerar el momento en el cual se determina. Esta consideración también es cierta para las postlarvas cuando están mudando.

## **Contenido intestinal**

Los contenidos intestinales pueden ser observados los estadios larvarios tardíos. El intestino se aprecia como una línea oscura que sale desde el hepatopáncreas, situado en la región de la cabeza de la larva y que es fácilmente visible en las larvas si éstas son observadas en recipientes limpios, como un vaso de precipitado de cristal. Esto sirve como una guía muy útil de la dieta de la larva y la disponibilidad de alimento. Si se observa que la mayoría de las larvas están llenas, se puntúa 10, si la mitad de las larvas tienen comida en el intestino, se anota 5; y para situaciones con <20% la puntuación es cero.

## ***Observaciones de Nivel 2***

Las observaciones de nivel 2 están basadas en el examen microscópico y de montaje en fresco, si es necesario, se toma una muestra aleatoria de al menos 20 larvas por tanque (más para tanques mayores). Se debe prestar especial atención: al estado del hepatopáncreas y los contenidos intestinales, necrosis y deformidades de los miembros, organismos del fouling y la presencia de baculovirus en las heces o hepatopáncreas de las larvas de los estadios superiores. Estas observaciones y el sistema de puntuación usado se recogen en la Cuadro 7.

## **Condiciones del hepatopáncreas y contenido intestinal**

Las condiciones del hepatopáncreas ofrecen una indicación de la alimentación y la digestión. Esto se observa haciendo un montaje en fresco de una muestra de larvas sobre un portaobjetos y observándola en el microscopio con un aumento de 40X. En larvas sanas que muestran una alimentación y digestión activa, el hepatopáncreas e intestino medio estarán llenos de pequeñas burbujas muy visibles (vacuolas digestivas o «lipídicas») y se apreciará una fuerte peristalsis en el intestino. Si el 90% o más de los animales muestreados presenten abundantes vacuolas lipídicas y/o el intestino lleno, se puntúa 10; si el porcentaje de individuos con vacuolas y/o el intestino moderadamente lleno está comprendido entre el 70-90%, se anota 5; y si son menos del 70% y/o el intestino está vacío, se puntúa 0.

**Cuadro 7. Resumen de las evaluaciones de Nivel 2 del estadio sanitario de la larva**

CRITERIO	PUNTAJACIÓN	ESTADIOS	OBSERVACIONES
Hepatopáncreas (vacuolas lipídicas) Alto (>90%) Moderado (70-90%) Bajo (< 70%)	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
Contenido intestinal Lleno (>95%) Moderado (70-95%) Vacío (< 70%)	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
Necrosis Ausencia (0%) Moderado (<15%) Severo (>15%)	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
Deformidades Ausencia (0%) Moderado (<10%) Severo (>10%)	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
Epibiontes Ausencia (0%) Moderado (<15%) Severo (>15%)	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
«Bolitas»● Ninguna 1 a 3 >3	10 5 0	Todos los estadios	Observaciones diarias (2-4x)
Baculovirus Ausencia (0%) Moderado (<10%) Severo (>10%)	10 5 0	Mysis	Observaciones diarias (2-4x)

- Células epiteliales desprendidas del hepatopáncreas y/o del intestino expresadas como número de «bolitas» en el tracto digestivo.

### **Necrosis**

La necrosis del cuerpo y miembros de las larvas, la cual es una indicación de canibalismo o una posible infección bacteriana, se puede observar a la luz de un microscopio de baja potencia. Si no presentan necrosis se puntúa 10; donde <15% de los animales presenten alguna necrosis se anota 5; y donde >15% muestren necrosis, lo que indica que existe una infección severa, se puntúa 0

### **Deformidades**

Las deformidades pueden indicar una baja calidad de los nauplios, si aparecen en los primeros estadios, e infecciones bacterianas o manejo inapropiado y estrés si lo hacen en estadios posteriores. Típicamente las finas setae de los miembros o del rostrum pueden aparecer torcidas, rotas o no estar presentes; la cola puede estar doblada; o el intestino terminarse antes de llegar al

ano. Normalmente no existen remedios para estos problemas (salvo para el manejo descuidado), y las larvas deformes morirán. En determinados casos severos, puede ser preferible desechar todo el tanque lo más pronto posible y prevenir la propagación a otros tanques. Cuando no existan deformidades se puntúa 10, para <10% de casos se anota 5; y si son >10% entonces se puntúa 0.

### **Fouling epibionte**

Las larvas pueden hospedar un amplio rango de organismos que pueden ser desde bacterias y hongos hasta protozoos de muchas especies. Estos atacarán normalmente el exoesqueleto de la cabeza y el cuerpo, y especialmente alrededor de las branquias de las larvas. Cuando las infecciones son ligeras, en la siguiente muda puede deshacerse del fouling sin mayores problemas, pero en casos severos el fouling persistirá o reaparecerá en el siguiente estadio, siendo indicativo de una baja calidad del agua y siendo necesario tomar medidas. Cuando el fouling está ausente se puntúa 10; si <15% tienen temporal o permanente fouling, se anota 5; y si son >15% de los organismos que están colonizados permanentemente, se puntúa 0.

### **Baculovirus**

Los Baculovirus pueden ser normalmente detectados en preparaciones de hepatopáncreas enteros o aplastados (teñido con verde malaquita para el *Monodon* baculovirus) o de hilos fecales en el caso de larvas de mayor tamaño. Se usan microscopios de luz de alta potencia para identificar los cuerpos virales característicos (los cuales, en el caso de MBV, son tetraédricos y de color oscuro). La aparición de Baculovirus está frecuentemente asociada al estrés, y vemos, que la reducción de los niveles de estrés puede hacer disminuir con frecuencia, la prevalencia y los problemas asociados a la depresión del crecimiento. Cuando los baculovirus están ausentes se puntúa 10; si <10% lo tiene, se anota 5; y si >10% están infectados, puntúa 0.

### **«Bolitas»**

Las «Bolitas» es el nombre que recibe el síndrome en el que las células epiteliales del intestino y hepatopáncreas se desprenden y aparecen como pequeñas esferas dentro del tracto digestivo. Se cree que está causado por bacteria y puede ser letal. Para prevenir dicho síndrome han tenido éxito determinadas prácticas tales como sembrar rápidamente todo el laboratorio (entre tres y cuatro días), uso de probióticos y un manejo sanitario y alimenticio correcto.

### **La importancia de las puntuaciones de Nivel 1 y 2**

Cuando se realizan todas estas observaciones de Nivel 1 y 2 y son recogidas para cada estadio de cada tanque de larvas y se puntúa apropiadamente en cada caso, podemos describir una visión general del estado sanitario de las larvas, con las puntuaciones más altas para aquellas larvas más sanas y viceversa. Con la experiencia, se hace más fácil juzgar la salud general de cada tanque y así poder recomendar el curso de las acciones para combatir los problemas encontrados, dependiendo de las puntuaciones obtenidas.

### ***Observaciones de Nivel 3***

Las observaciones de Nivel 3 consisten en la utilización de técnicas moleculares e inmunodiagnósticos y no son normalmente requeridas hasta que las postlarvas no están preparadas para ser transferidas a las instalaciones de engorde. Las técnicas de PCR y/o dot-blot son las más comunes para realizar tests de la mayoría de los patógenos virales. No obstante, se recomienda el PCR por ser más sensible que el dot-blot.

## 5.12 Selección de las postlarvas para la siembra

**Se debe practicar un buen manejo en el laboratorio para asegurar la alta calidad de las postlarvas**

Muchos factores afectan a la calidad de las PL. Pueden tener un impacto en la calidad de las postlarvas producidas por el laboratorio: la calidad y cantidad de alimento, mudas, calidad de agua (temperatura, salinidad, amonio, sólidos en suspensión, heces), el uso de antibióticos, enfermedades y prácticas de manejo deficientes. Estos factores pueden ser regulados mediante buenas prácticas en el laboratorio, y esto tendrá un importante impacto en la calidad de las postlarvas producidas.

Como se ha mencionado anteriormente, el plan de producción de larvas debe estar enfocado a la producción de animales de la máxima calidad posible, lo cual está directamente relacionado con el posterior rendimiento en la fase de engorde. Es por tanto, en esta fase donde la calidad de la postlarva es de la mayor importancia.

Hay muchos indicadores sanitarios y de calidad que pueden ser usados para determinar la selección de la postlarva. Estos indicadores se pueden clasificar en tres categorías (anteriormente mencionadas, ver Cuadro 2) o niveles, y son detallados en las Cuadros 8, 9 y 10.

**Cuadro 8. Resumen de la evaluación de la calidad de las postlarvas usando procedimientos de Nivel 1**

CRITERIO	OBSERVACIONES	EVALUACIÓN DE LA CALIDAD	PUNTUACIÓN
Muda	Mudas en el agua Mudas no adheridas a la cabeza de las PL	< 5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Actividad natatoria	Nivel de actividad del comportamiento natatorio de la larva	Activo	10
		Intermedio	5
		Bajo	0
Observación directa de la luminiscencia	Observación del tanque durante la noche	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Tasa de supervivencia e Historial clínico del tanque	Estimación de la tasa de supervivencia en cada tanque	>70%	10
		40-70%	5
		<40%	0

### Mudas

Se debe comprobar que las postlarvas mudan con facilidad, aunque no se debe intentar cosechar y transportar durante este período crítico, ya que esto reducirá la tasa de supervivencia. También se debe comprobar que las PL no tengan mudas adheridas a su cabeza, que les terminen doblando las antenas e impidiendo alimentarse, hasta la inanición y muerte. Esto está normalmente causado por dietas inadecuadas, baja calidad de los alimentos y/o enfermedades

bacterianas asociadas generalmente a la baja calidad del agua. Por tanto, se puede incrementar la tasa de renovación de agua y revisar los protocolos de alimentación para combatir este problema.

## ***Evaluación de la calidad de las postlarvas usando procedimientos del Nivel 1***

### **Actividad natatoria**

El vigor de la actividad natatoria debe ser evaluado como una guía de la salud de la postlarva, usando las técnicas descritas en la Sección 7.12.1. Las larvas también pueden ponerse en un cuenco, y dándole vueltas al agua con el dedo, las postlarvas sanas deberán resistir la corriente y no ser arrastradas hacia el fondo del recipiente. También deben responder saltando ante el golpeo repetitivo en los bordes del cuenco.

### **Luminiscencia**

La prevalencia de luminiscencia como un indicador de una infección potencialmente patógena *Vibrio* spp. debe ser determinada usando los sistemas descritos en la Sección 7.12.1 o usando las técnicas de Nivel 2 descritas abajo. La presencia de éste fenómeno requiere de un tratamiento inmediato (el uso de probióticos puede a veces ser efectivo) para prevenir infecciones más severas.

### **Tasa de supervivencia**

La tasa de supervivencia de las postlarvas de cada tanque debe ser estimada como un indicador del estado sanitario general, historial clínico y la ausencia de problemas durante el ciclo.

Cada evaluación de la calidad postlarval del Nivel 1 es llevada a cabo visualmente sobre unas muestras aleatorias de más de 20 animales (donde convenga) y puntuando según el sistema detallado en la Cuadro 8.

## ***Evaluación de la calidad de las postlarvas usando procedimientos del Nivel 2***

Las evaluaciones de Nivel 2 son llevadas a cabo sobre muestras aleatorias de >20 postlarvas por tanque, siendo examinadas usando un microscopio de luz de baja y alta potencia. El sistema de puntuación está detallado en la Cuadro 9 y es usado para calificar la calidad de cada de cada lote de postlarvas producido.

### **Opacidad muscular**

Se debe examinar el cuerpo de la PL, concentrándose en la curvatura de la cola, en torno a los segmentos abdominales 4° y 5°. Los músculos normalmente transparentes se vuelven opacos debido a varias razones, incluidas las infecciones bacterianas. Este problema puede ser bastante serio y potencialmente letal si se deja sin tratamiento.

### **Deformidades**

Para estimar el estado sanitario general de las postlarvas, éstas deben ser examinadas en búsqueda de varias deformidades como rostrum curvado, alargamiento de la cabeza como consecuencia de

problemas de muda, pérdida o deformidad de miembros debidos a infecciones bacterianas. Algunas deformidades son letales.

### **Dispersión de tamaños**

Para determinar la dispersión de tamaños se debe medir individualmente la longitud de por lo menos 50 postlarvas y calcular la longitud media y la desviación estándar. El coeficiente de desviación (CV) es obtenido de dividir la desviación estándar entre la media. Si el CV es igual o menor al 15% la dispersión se considera baja (puntuá 10); si el CV está entre el 15% y el 25%, la dispersión es moderada (puntuá 5); y si es mayor del 25% la dispersión es alta (puntuá 0).

Cuando se produce la muda, es normal que el CV aumente, de manera que se debe tener en cuenta el momento en que éste es determinado. Si un CV es considerado elevado, el test debe ser repetido al día siguiente para dar tiempo a toda la población a completar la muda.

### **Contenido intestinal**

Los exámenes de la apariencia del tubo digestivo (no sólo el color) y contenido deben ser hechos para evaluar el nivel de alimentación de las PL, de acuerdo con los criterios mostrados en la Cuadro 9. La presencia de intestinos vacíos puede ser los primeros signos de una enfermedad, o simplemente de una alimentación inadecuada. En ambos casos, esto debería ser investigado con celeridad. Es muy importante examinar las postlarvas inmediatamente después de la recogida de muestras.

### **Color del hepatopáncreas**

El hepatopáncreas no debe ser transparente y debe tener una buena coloración. Generalmente, debe ser de color amarillo oscuro ferroso u ocre, aunque, el color puede estar muy influenciado por la calidad y color de las dietas y del tanque utilizado. Un hepatopáncreas de color más oscuro generalmente indica una mejor salud. Se debe tener cuidado con determinados piensos, ya que pueden contener colorantes que tiñen el hepatopáncreas prácticamente de negro, sin contribuir necesariamente a la salud del animal.

### **Condición del hepatopáncreas**

Se debe examinar el estado general del hepatopáncreas de las postlarvas, que viene indicado primeramente por el número de vacuolas y su tamaño en general. La presencia de un hepatopáncreas relativamente grande con numerosas vacuolas lipídicas es considerado como un signo de buena salud. Las postlarvas que lo tengan pequeño y con pocas vacuolas es signo de desnutrición, por lo que se debería mejorar su alimentación para incrementar su calidad antes de cosecharlos.

### **Fouling epibionte**

Las postlarvas deben ser examinadas en busca de cualquier fouling de materia orgánica o epibionte en el exoesqueleto o las branquias (que normalmente consisten en protozoos como Zoothamnium, Vorticella, Epistylis o Acineta, bacterias filamentosas, o suciedad y materia orgánica). El fouling puede ser normalmente desprendido con la muda o tratado con formalina de hasta 20-30 ppm durante una hora (con fuerte aireación).

## **Melanización**

Las postlarvas deben ser examinadas en busca de melanización, la cual se origina con frecuencia donde los miembros han sido sometidos a canibalismo, o donde se han producido infecciones bacterianas. Una excesiva melanización es causa de preocupación y precisa de un tratamiento a través de la mejora de la calidad del agua y del régimen alimenticio, y a veces, de reducciones en la densidad de la siembra, para prevenir el canibalismo y reducir la carga bacteriana.

## **Desarrollo branquial**

El estado de desarrollo branquial debe ser examinado, puesto que ofrece una buena idea del momento en el que las postlarvas son capaces de tolerar cambios de salinidad, los cuales ocurren con frecuencia cuando los camarones son transferidos a las instalaciones de engorde. Cuando las lamelas branquiales se ramifican como un árbol de Navidad, aproximadamente entre PL9-10, son generalmente capaces de tolerar cambios bastante rápidos de salinidad (con salinidades de agua superiores al 5‰, toleran un cambio de 1‰/hora, por debajo del 5‰, pueden tolerar un cambio de 0.01‰/hora) y se pueden aclimatar fácilmente a las condiciones de engorde. Cuando las lamelas branquiales permanecen sin ramificar, los camarones no deben ser sometidos a grandes y rápidos cambios, y no se pueden considerar preparados para ser transferidos desde los tanques de postlarvas.

## **Peristalsis intestinal**

Se debe realizar un examen microscópico de alta potencia del tracto intestinal de las postlarvas con el objeto de determinar la actividad peristáltica de los músculos intestinales. Una fuerte peristalsis, en combinación con un intestino lleno, es una indicación de buena salud y de un alto estado nutricional.

## **Baculovirus**

Referirse a la página 51.

## **Relación musculatura/intestino**

Se debe realizar el examen microscópico del espesor relativo de la musculatura ventral abdominal y del intestino en el sexto segmento abdominal de la cola de las postlarvas, para determinar la proporción de musculatura/intestino. Esta medida ofrece una indicación útil del estado nutricional del animal. Son preferibles las proporciones musculatura/intestino elevados (ver Cuadro 9).

**Cuadro 9. Resumen de la evaluación de la calidad de la postlarva usando procedimientos del Nivel 2.**

<b>CRITERIO</b>	<b>OBSERVACIONES</b>	<b>EVALUACIÓN DE LA CALIDAD</b>	<b>PUNTAJÍA</b>
Opacidad muscular	Músculo opaco en la cola de la PL	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Deformidades	Deformidades en miembros y cabeza	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Dispersión de tamaños (CV)	Cálculo del CV del tamaño de la postlarva	<15%	10
		15-25%	5
		>25%	0
Contenido intestinal	Grado de contenido del tracto digestivo	Lleno	10
		Moderado	5
		Vacío	0
Color del hepatopáncreas	Coloración relativa del hepatopáncreas	Oscuro	10
		Pálido	5
		Transparente	0
Condición del hepatopáncreas	Cantidad relativa de vacuolas lipídicas	Abundante	10
		Moderado	5
Fouling epibionte	Grado de fouling por epibiontes	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
Mecanización	Melanización del cuerpo o miembros	<5%	10
		5-10%	5
		>10%	0
		Ninguno	0
Desarrollo branquial	Grado de ramificación de las lamelas branquiales	Completo	10
		Intermedio	5
		Ligero	0
Peristalsis intestinal	Movimiento del músculo intestinal	Alto	10
		Bajo	5
Baculovirus	Observación diaria (2-4x) de Mysis	Ausente (0%)	10
		Moderado (<10%)	5
		Severo (>10%)	0
Relación músculo/intestino	Comparación de la proporción entre los grosores del músculo y del intestino	>3:1	10
		1-3:1	5
		<1:1	0
«Bolitas» (células desprendidas del hepatopáncreas y intestino)	Número de bolitas en el tracto digestivo	Ninguno	10
		1 a 3	5
		>3	0
Test de estrés	Si < 75%, se recomienda otro test	>75%	10

## «Bolitas» (células desprendidas del hepatopáncreas e intestino)

Referirse a la pág. 51.

### Test de estrés

Al cosechar, o una vez que la postlarva alcanza el PL10, se puede llevar a cabo un test de estrés. Existen varios tests de estrés, y el método más común es el de situar una muestra seleccionada aleatoriamente de unos 300 animales en un vaso de precipitado con agua de 0 ‰ de salinidad, dejarlos durante 30 minutos, y luego, devolverlos al agua de 35 ‰ (o ambiental) durante otros 30 minutos. Seguidamente a esto, se efectúa un recuento de los supervivientes y se calcula el porcentaje de los individuos que han resistido. Los tests de estrés no se deben realizar cuando las postlarvas están mudando, ya que éstas se encuentran excesivamente estresadas durante esta etapa. Algunos laboratorios de postlarvas han usado 100 ppm de formalina durante 30 minutos como test de estrés, con resultados igualmente satisfactorios.

### *Evaluación de la calidad de las postlarvas usando procedimientos de Nivel 3*

Las evaluaciones de Nivel 3 se deben llevar a cabo en un número de postlarvas determinado estadísticamente (normalmente 150 en una población de > 10 000) por cada tanque (con el objeto de proporcionar un resultado con un 95% de nivel de confianza para una prevalencia del 2%) usando técnicas PCR para la detección de patógenos virales importantes. Este test tiene que ser realizado, de acuerdo a los protocolos estándares, por laboratorios de postlarvas de diagnóstico competentes, siguiendo las normas para la recogida, preservación y transporte de las muestras. Una discusión más detallada del muestreo para la detección de enfermedades, se encuentra en OIE (2003).

El único resultado aceptable para cualquiera de estos patógenos virales es el negativo (el cual se puntúa con un 10 –ver Cuadro 10), donde ambos, los controles negativos y positivos han dado simultáneamente los resultados esperados. Todos los lotes con resultado positivo deben ser destruidos.

**Cuadro 10. Resumen de la evaluación de la calidad de las postlarvas usando procedimientos de Nivel 3.**

ANÁLISIS	OBSERVACIONES	DETERMINACIÓN CUALITATIVA	PUNTUACIÓN
PCR	WSSV/YHV	Negativa	10
	IHHNV	Negativa	10
	TSV	Negativa	10

### *Evaluación de riesgos para la siembra*

**Se debe usar una cuadro que resuma los tres niveles de calidad de las postlarvas y la puntuación obtenida, para determinar el destino de las PL**

Al igual que en la evaluación de la calidad de las larvas, se debe realizar una tabla resumen de los tres niveles de calidad de las postlarvas y de los puntos del sistema empleado (usando algunos o

todos los indicadores anteriores, dependiendo de las circunstancias). Esta tabla es usada entonces para determinar los tanques de postlarvas que serán seleccionados para el engorde, los que pueden precisar de tratamiento antes de la selección, y los que serán rechazados. Como antes, el responsable seleccionará según su propia experiencia, los indicadores y el límite de puntuación por debajo del cual, el lote de postlarvas puede ser tratado o rechazado.

**El riesgo de sembrar un determinado lote de postlarvas tiene que ser evaluado cuidadosamente**

La decisión de sembrar o no un lote de postlarvas, es en última instancia, una evaluación de riesgo. No se pueden ofrecer directrices o estándares fijos, puesto que esto generalmente viene determinado por la experiencia, aunque se puede usar la siguiente guía para reducir el riesgo de mortalidad o de bajo crecimiento del cultivo en estanque de *Penaeus vannamei*. En este análisis de riesgo, el orden de importancia de la evaluación es Nivel 3 > Nivel 2 > Nivel 1.

Se pueden usar los siguientes criterios:

- Las postlarvas tienen que pasar la evaluación de Nivel 3:
  - Las postlarvas tienen que dar negativo en el PCR o dot-blot para YHV, IHNV, WSSV y TSV.
- En el supuesto de que las postlarvas pasen la evaluación de Nivel 3, se puede usar la siguiente guía para el Nivel 2:
  - Una puntuación superior a 100 representa un bajo riesgo de problemas severos de enfermedad, y por tanto, se recomienda.
  - Una puntuación de 65-100 representa un riesgo moderado de problemas severos de enfermedad
  - Una puntuación menor de 65 representa un alto riesgo de problemas severos de enfermedad, y por tanto, no se recomienda
- En el supuesto de que los animales pasen la evaluación de Nivel 2, se puede usar la siguiente guía para el Nivel 1:
  - Una puntuación mayor de 30 representa un bajo riesgo de problemas severos de enfermedad, y por tanto, se recomienda.
  - Una puntuación de 20-30 representa un riesgo moderado de problemas severos de enfermedad.
  - Una puntuación menor de 20 representa un alto riesgo de problemas severos de enfermedad, y por tanto, no se recomienda.

### 5.13 Transporte y transferencia de postlarvas

**Las postlarvas tienen que ser empaquetadas apropiada y cuidadosamente para su transporte a las instalaciones de engorde**

Las postlarvas pueden ser transportadas en tanques grandes o en cajas con bolsas de plástico, en densidades que pueden variar de 500 a 1200 PL/litro, dependiendo de la duración y del método de transporte. Se utilizan normalmente dos bolsas de plástico (una dentro de la otra) de 25-30 litros de capacidad, conteniendo 10-15 litros de agua filtrada, y tras añadir la cantidad deseada de postlarvas, se rellenan con oxígeno puro mediante inyección en el agua. Como fuente alimenticia, se añaden normalmente, unos 15-20 nauplios vivos de *Artemia* por cada postlarva, por cada 4

horas de transporte. Se pueden añadir también en cada bolsa, unos pocos gránulos nuevos, lavados, de carbón activado, para ayudar a mantener bajos niveles de amonio en los transportes de larga duración. Posteriormente, las bolsas son selladas con bandas elásticas e introducidas en cajas selladas de cartón para las distancias cortas y/o poliestireno con el que se consigue un mejor aislamiento para las distancias largas.

La temperatura usada y las densidades de siembra empleadas durante el transporte variarán de acuerdo con la distancia y duración del traslado. Normalmente, no se necesita descender la temperatura si el laboratorio está cerca de la granja, mientras que se reducirán a 25-28 °C para transportes de 3-12 horas de duración, y a 18-23 °C para los de más de 12 horas. Dicha reducción de temperatura es usada para descender la tasa metabólica de las larvas, de manera que éstas consuman menos oxígeno, excreten menos residuos y permanezcan en calma durante el transporte. La salinidad del agua debe ser aquella en la cual las postlarvas hayan sido aclimatadas, que debe ser parecida a la esperada en las instalaciones de engorde.

**Se deben seguir unas estrictas medidas de bioseguridad**

Los recipientes y el equipo de transporte (redes, piedras de aireación, tubos de aireación, etc.) deben ser desinfectados antes y después de su uso (ver las secciones apropiadas para los procedimientos en este documento). Si las bolsas de plástico son utilizadas, deben de ser incineradas a continuación; y no se deben reutilizar para transportar postlarvas o reproductores de camarón.

Los vehículos de reparto de las postlarvas son una fuente potencial de contaminación, puesto que pueden visitar varias granjas y laboratorios de postlarvas en su recorrido para realizar las entregas. Si es posible, el empaquetado de las larvas se debe realizar en un lugar aislado de las instalaciones de producción, y los camiones de transporte (por lo menos las ruedas y neumáticos) deben ser desinfectados antes de entrar en el laboratorio.

## **5.14 Documentación y recogida de datos**

**Se debe establecer un sistema de documentación y de recogida de datos detallado y actualizado**

Una buena documentación y recogida de datos es fundamental para cualquier sistema de buena práctica de manejo. Es importante que un conjunto detallado de procedimientos de operaciones estándar (SOP) sea desarrollado y que se establezcan programas regulares de formación de los empleados. Es importante así mismo, que los SOP sean revisados y actualizados regularmente.



## 6. Referencias

- Anon. 2002. Import health standard for the importation into New Zealand of ornamental fish and marine invertebrates from all countries. 24 May, 2002, 13 pp.
- AQIS. 2003. Quarantine premises criteria. 7.1 Fresh water and marine ornamental fin fish. Quarantine Premises Register. Class Criteria. Class 7.1, 22/06/2003, 6 pp.
- Arthur, J.R., Lavilla-Pitago, C.R. y Subasinghe, R.P. (eds.) 2000. Use of Chemicals in Aquaculture in Asia. Proceedings of the Meeting on the Use of Chemicals in Aquaculture in Asia, 20–22 May 1996, Tigbauan, Iloilo, Philippines, SEAFDEC-AQD, Tigbauan, Iloilo, Philippines, 235 pp.
- Brock, J.A. y Main, K.L. 1994. A Guide to the Common Problems and Diseases of Cultured *Penaeus vannamei*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. 242 pp.
- Chen, S.N., Chang, P.S. y Kou, G.H. 1992. Infection route and eradication of *Penaeus monodon* baculovirus (MBV) in larval giant tiger prawns, *Penaeus monodon*. pp. 177–184. In W. Fulks and K.L. Main. (eds.) Diseases of Cultured Penaeid Shrimp in Asia and the United States. Publ. Oceanic Institute, Honolulu, HA, USA.
- FAO. 2003. Review of the state of world aquaculture. FAO Fisheries Circular 886, Revision 2. FAO, Rome, Italy, 95 pp.
- FAO/NACA. 2000. Asia Regional Technical Guidelines on Health Management for the Responsible Movement of Live Aquatic Animals and the Beijing Consensus and Implementation Strategy. FAO Fish. Tech. Pap. No. 402. Publ. FAO, Rome, Italy, 53 pp.
- FAO/NACA. 2001a. Manual of Procedures for the Implementation of the Asia Regional Technical Guidelines on Health Management for the Responsible Movement of Live Aquatic Animals. FAO Fish. Tech. Pap. No. 402/1. Publ. FAO Rome, Italy, 106 pp.
- FAO/NACA. 2001b. Asia Diagnostic Guide to Aquatic Animal Diseases. FAO Fish. Tech. Pap. No. 402/2. Publ. FAO, Rome, Italy, 237 pp.
- Fegan, D.F. y Clifford, H.C. III. 2001. Health management for viral diseases in shrimp farms. pp. 168–198. In C.L. Browdy and D.E. Jory. (eds.) The New Wave: Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Farming. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA, USA..
- Garza, J.R., Hasson, K.W., Poulos, B.T., Redman, R.M., White, B.L. y Lightner, D.V. 1997. Demonstration of infectious Taura syndrome virus in the feces of sea gulls collected during an epizootic in Texas. J. Aquat. Animal Health, 9: 156–159.

- Jahncke, M.L., Browdy, C.L., Schwarz, M.H., Segars, A., Silva, J.L., Smith, D.C. y Stokes, A.D. 2001. Preliminary application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) principles as a risk management tool to control exotic viruses at shrimp production and processing facilities. pp. 279–284. In C.L. Browdy and D.E. Jory. (eds.) *The New Wave: Proceedings of the Special Session on Sustainable Shrimp Farming*. The World Aquaculture Society. Baton Rouge, LA, USA.
- Jahncke, M.L., Browdy, C.L., Schwarz, M.H., Segars, A., Silva, J.L., Smith, D.C. y Stokes, A.D. 2002. Application of Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) Principles as a Risk Management Tool to Control Viral Pathogens at Shrimp Production Facilities. Publication VSG-02–10, Virginia Sea Grant College Program, Charlottesville VA, USA. 36 pp.
- Lightner, D.V. 1996. The penaeid shrimp viruses IHHNV and TSV: epizootiology, production impacts and role of international trade in their distribution in the Americas. *Rev. Sci. Tech. Office Intern. Epizoot.* 15: 579–601.
- Lightner, D.V., Redman, R.M., Poulos, B.T., Nunan, L.M., Mad, J.L., Hasson, K.W. y Bonami, J.R. 1997. Taura syndrome: aetiology, pathology, hosts and geographic distribution, and detection methods. *Proc. NRIA International Workshop «New Approaches to Viral Diseases of Aquatic Animals»* Kyoto, Japan. January 21–24, 1997.
- Lotz, J.M. 1997. Disease control and pathogen status in an SPF-based shrimp aquaculture industry, with particular reference to the United States. pp. 243–254. In T.W. Flegel and I.H. MacRae. (eds.) *Diseases in Asian Aquaculture III*. Asian Fish. Soc., Fish Health Sect., Manila, Philippines.
- MAF. 2001. Transitional facilities for ornamental fish and marine invertebrates. MAF Biosecurity Authority, Animal Biosecurity, Standard 154.02.06, Ministry of Agriculture and Forestry, Wellington, 23 March 2001, 30 pp.
- Motte, E., Yugcha, E., Luzardo, J., Castro, F., Leclercq, G., Rodríguez, J., Miranda, P., Borja, O., Serrano, J., Terreros, M., Montalvo, K., Narváez, A., Tenorio, N., Cedeño, V., Mialhe, E. y Boulo, V. 2003. Prevention of IHHNV vertical transmission in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, 219: 57–70.
- OIE. 2003. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Aquatic Animals*. 4th Edn. Office International des Epizooties, Paris.  
([http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A\\_summry.htm](http://www.oie.int/eng/normes/fmanual/A_summry.htm))
- Sahul Hameed, A.S., Murthi, B.L.M., Rasheed, M., Sathish, S., Yoganandhan, K., Murugan, V. y Jayaraman, K. 2002. An investigation of *Artemia* as a possible vector for white spot syndrome virus WSSV transmission to *Penaeus indicus*. *Aquaculture*, 204: 1–10.
- Weirich, C.R., Segars, A., Bruce, J. y Browdy, C. Development and implementation of biosecurity protocols and procedures at the Waddell Mariculture Centre. In C.S. Lee and P. 'Bryen. (eds.) *Biosecurity in Aquaculture Production Systems: Exclusion of Pathogens and Other Undesirables*. Publ. World Aquaculture Society, Baton Rouge, LA, USA. (In press).

## 7. Anexo – Personas responsables de la compilación de este documento

**Dra. Victoria Alday Sanz**, Coordinadora Regional TCP/RLA/0071, INVE Technologies, Hoogveld 93, B-9200 Dendermonde, Bélgica, E-mail: [v.alday-sanz@inve.be](mailto:v.alday-sanz@inve.be)

**Sr. Marco Álvarez Gálvez**, Facultad de Ingeniería Marina y Ciencias del Mar, P. O. Box: 09–01–5863, Guayaquil, Ecuador, E-mail: [marcoalvarezgalvez@hotmail.com](mailto:marcoalvarezgalvez@hotmail.com)

**Dr. J. Richard Arthur**, 6798, Hillside Drive, Sparwood, B.C., Canada V0B 2G3, E-mail: [rarthur@titanlink.com](mailto:rarthur@titanlink.com)

**Sr. Lorenzo Becerra**, Jefe del Programa de Sanidad de Animales Acuáticos, Dirección Nacional de Acuicultura, Calle 2da Carrasquilla, Panamá, Panamá, E-mail: [lbvpa@yahoo.com](mailto:lbvpa@yahoo.com)

**Dr. Ronald Antonio Bernal Guardado**, Representante de OIRSA en El Salvador, Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA), Final 1ª. Av. Nte. Y 13 C. Ote., av. Manuel Gallardo, Nueva San Salvador, El Salvador, C.A., E-mail: [rbernal@telemovil.com](mailto:rbernal@telemovil.com)

**Sra. Melida Boada**, Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de los Estados Suere y Nueva Esparta (INIA-S/NE), Av. Carupano, sector Caignire, Cumana 6101, Venezuela, E-mail: [melidaboada@yahoo.es](mailto:melidaboada@yahoo.es)

**Dr. Mathew Briggs**, Consultor, 5/16 Fisherman Way, Vises Road, Rawai, Phuket 83130, Thailand, E-mail: [koygung101@yahoo.co.uk](mailto:koygung101@yahoo.co.uk)

**Sr. Cesáreo Cabrera**, Maricultura del Pacífico, México, E-mail: [cesareo@maricultura.com.mx](mailto:cesareo@maricultura.com.mx)

**Sr. Rodolfo Cadenas**, Jefe de la División de Acuicultura – SARPA, Ministerio de la Producción y el Comercio. Servicio Autónomo de Pesca y Acuicultura, Torre este, piso 10, parque central, Caracas, Venezuela, E-mail: [r\\_cadenas@hotmail.com](mailto:r_cadenas@hotmail.com)

**Sra. Francis Carolina Cardona Romero**, Dirección General de Pesca y Acuicultura, Av La FAO Boulevard Miraflores, Tegucigalpa, Honduras, E-mail: [jag\\_cr63@yahoo.com](mailto:jag_cr63@yahoo.com)

**Sr. Félix Carranza**, Coordinador Nacional de Sanidad de Animales acuáticos, Dirección de Salud Animal, Barreal Heredia Costa Rica, Código Postal 3–3006 Cenada, Costa Rica, E-mail: [fcarranza@protecnet.go.cr](mailto:fcarranza@protecnet.go.cr)

**Dra. María Cristina Chávez Sánchez**, Investigador Principal, Mazatlán Unidad de Acuicultura y Manejo Ambiental del CIAD, A.C. Sección de Acuicultura, Laboratorio de Histopatología, Av. Sábalo Cerritos s/n, Apdo Postal 711. Mazatlán, CP. 821010, Sinaloa, México, E-mail: [marcris@victoria.ciad.mx](mailto:marcris@victoria.ciad.mx)

**Dra. Elizabeth de la Cruz Suarez**, Directora del Programa de Maricultura, Facultad de Biología, Universidad Autónoma de Nuevo León, Cd. Universitaria 66450, San Nicolás de los Garzas, Nuevo León, México, E-mail: [lecruz@inp.semarnap.gob.mx](mailto:lecruz@inp.semarnap.gob.mx)

**Prof. Roger Doyle**, Genetic Computation Limited, 1030 Beaufort Av. Halifax, Nova Scotia, Canada B3H 3Y1, E-mail: [rdoyle@genecomp.com](mailto:rdoyle@genecomp.com)

**Sr. Jorge Erraez**, Jefe de la División de Cuarentena, INP, P.O. Box: 09-01-15131, Guayaquil, Ecuador, E-mail: [jerraez@yahoo.es](mailto:jerraez@yahoo.es)

**Sra. Flor Delia Estrada Navarrete**, Investigador, Laboratorio de Sanidad Acuícola, Instituto Nacional de Pesca, Sábalo Cerritos s/n, Col. Estero El Yugo, Mazatlán, Sinaloa, México, E-mail: [flor@ola.icmyl.unam.mx](mailto:flor@ola.icmyl.unam.mx)

**Sr. Daniel F. Fegan**, Especialista de Camarón, BIOTEC, Thailand, Apt. 1D, Prestige Tower B, 168/25 Sukhumvit 23, Klongtoey, Bangkok 10110, Thailand, E-mail: [dfegan@usa.net](mailto:dfegan@usa.net)

**Sr. Leonardo Galli**, Director Ejecutivo I+D, National Prawn Company, Arabia Saudi, E-mail: [gallimat@hotmail.com](mailto:gallimat@hotmail.com)

**Sr. Christian Graf**, Consultor en Maduración y Programas de Reproductores, Cdla Entreríos, Guayaquil, Ecuador, E-mail: [barandualab@yahoo.com](mailto:barandualab@yahoo.com)

**Dr. Lachlan Harris**, Director de Seaquest S.A, Vía San José- Curia, Guayaquil, Ecuador, E-mail: [sqharrys@telconet.net](mailto:sqharrys@telconet.net)

**Sr. Allan Heres**, Departamento de Veterinaria/Microbiología, 117 E. Lowell St. room 108, Tucson, Arizona, 85721 USA, E-mail: [aheres@u.arizona.edu](mailto:aheres@u.arizona.edu)

**Dr. Fernando Jiménez**, Director de Sanidad Animales Acuícolas, CONAPESCA – SENAICA SAGARPA, Sta. Bárbara 2212 Cal. R. Florida Monterrey N.L., México C.P. 64810, México D.F., México, E-mail: [fhjimenez@hotmail.com](mailto:fhjimenez@hotmail.com)

**Sr. Eitel Krauss V**, Director de Producción de Aqualab S.A, Aqualab S.A, Av. 9 de Octubre 1911, Ed. Finansur P-7, Guayaquil, Ecuador

**Sra. Anabel Leyva Rojo**, Super Shrimp S.A. de C.V., Av. Camarón Sábalo No. 310, Loc. 25 y 26 C.P. 82110, Zona Dorada, Mazatlán, Sinaloa, México, E-mail: [anabel.rojo@usa.net](mailto:anabel.rojo@usa.net)

**Sr. Luis Arturo López Paredes**, Especialista en Pesquerías y Acuicultura, Unidad de Manejo de la Pesca y Acuicultura (UNIPESCA), Km 22 Carretera. Pacífico Barcenás Villa Nueva, Edificio de la Ceiba, 3er nivel, Guatemala, Guatemala, E-mail: [unipesca@c.net.gt](mailto:unipesca@c.net.gt)

**Sr. Gustavo Maranges**, Director, GEDECAM, 5ta avenida y 246 Barlovento, Santa Fé, Playa, Ciudad de la Habana, Cuba.

**Sr. Leonardo Maridueña**, Director, Cámara Nacional de Acuicultura, Av. Francisco de Orellana Centro Empresarial las Cámaras, 3° Piso, Guayaquil, Ecuador, E-mail: [lmaridueña@can-ecuador.com](mailto:lmaridueña@can-ecuador.com)

**Sr. Enrique Mateo Salas**, Consejero Científico, Instituto del Mar del Perú (IMARPE), Esquina de Gamarra y Gral. Valle – Chucuito, Callao, Perú, E-mail: [ecmateos@infonegocio.net.pe](mailto:ecmateos@infonegocio.net.pe)

**Dra. Ana Bertha Montero Rocha**, Coordinadora de Proyecto, Instituto Nacional de la Pesca (INP), Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA), Pitágoras 1320, Sta Cruz Atoyac, C.P. 03310. México D.F., México, E-mail: [anabmont@servidor.unam.mx](mailto:anabmont@servidor.unam.mx)

**Sr. Leonardo Montoya Rodríguez**, Investigador, Centro de Investigación Alimentación y Desarrollo (CIAD), Unidad Mazatlán en Acuicultura y Manejo Ambiental del CIAD, A.C, Av. Sábalo-Cerritos s/n. Apdo postal 711, CP. 82010, Mazatlán, Sinaloa, México, E-mail: [montoya@victoria.ciad.mx](mailto:montoya@victoria.ciad.mx)

**Sr. Milton Moreno**, Director Nacional de Acuicultura, Ministerio de Desarrollo Agropecuario, Apdo Postal 5390 zona 5, Panamá, Panamá. E-mail: [kristin@cerco.net](mailto:kristin@cerco.net)

**Sr. Eugenio Enrique Obando Acosta**, Presidente, Acualpaca Paraguana C.A. 'Acualpaca', Calle Tabana – Puerta Maravén, Punto Fijo Edo. Falcón, Venezuela, E-mail: [acualpaca@unete.com.ve](mailto:acualpaca@unete.com.ve)

**Sr. Álvaro Otarola Fallas**, Jefe del Departamento de Acuicultura, Instituto Costarricense de Pesca y Acuicultura (INCOPECA), Guapiles, Estación los Diamantes, Guapils, Costa Rica, E-mail: [otarosana@racsa.co.cr](mailto:otarosana@racsa.co.cr)

**Sr. Teodosio Pacheco**, Jefe del Programa de Control de Calidad, Centro Regional de Investigaciones Pesqueras Unidad Mazatlán (CRIP), Calzada Sábalo-Cerritos S/N, Colonia estero El Yugo, Mazatlán, Sinaloa, C.P. 82010 México, E-mail: [tpachecq@red2000.com.mx](mailto:tpachecq@red2000.com.mx)

**Sra. Grissel Pérez**, Programa de Control de Residuos del Camarón, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (NAPESCA), Venezuela, Caracas, Venezuela, E-mail: [qualitech@etheron.net](mailto:qualitech@etheron.net)

**Dra. Melba B. Reantaso**, Investigadora Patóloga de Animales Acuáticos, Cooperative Oxford Laboratory, Maryland Department of Natural Resources, 904 S. Morris Street, Oxford, MD 21654, USA, E-mail: [MReantaso@dnr.state.md.us](mailto:MReantaso@dnr.state.md.us)

**Sra. Andrea Reneau**, Oficial Sanitario de Peces, Belize Agricultural Health Authority, Central Investigation Laboratory, Food Safety Department, P.O. Box 181, St. Joseph Street, Belize City, Belize, E-mail: [foodsafety@btl.net](mailto:foodsafety@btl.net)

**Sr. Rubén Román**, Jefe del Laboratorio de Larvicultura de Camarón, CENAIM, Km 30.5 via perimetral, la Prosperina, Guayaquil, Ecuador, E-mail: [rroman@cenaim.espol.edu.ec](mailto:rroman@cenaim.espol.edu.ec)

**Sra. Lucía Saavedra Cuadra**, ADPESCA/MIFIC, Costado Este hotel Intercontinental, Metrocentro, Nicaragua, E-mail: [liscni26@yahoo.com](mailto:liscni26@yahoo.com)

**Sra. Lorena Schwarz Gilabert**, Directora, Centro de Servicios para la Acuicultura (CSA), Km 30.5 vía perimetral, la Prosperina, Guayaquil, Ecuador, E-mail: [lschwarz@espol.edu.ec](mailto:lschwarz@espol.edu.ec)

**Sra. Raquel Silveira Coffigny**, Directora de la División de Salud de Animales Acuáticos, Centro de Investigaciones pesqueras, Cuba, E-mail: [raquel@cip.fishnavy.inf.cu](mailto:raquel@cip.fishnavy.inf.cu)

**Dr. Rohana P. Subasinghe**, (Secretario Técnico de la Consulta) Oficial Superior, Servicio de Recursos de Aguas Continentales y Acuicultura, Departamento de Pesca, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italy, E-mail: [Rohana.Subasinghe@fao.org](mailto:Rohana.Subasinghe@fao.org)

**Sr. Cleber Tailor Melo Carneiro**, Coordinador del Laboratorio Animal, Departamento de Defesa Animal, Secretaria de Defesa Agropecuaria de Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimento, Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimento, Esplanada dos Ministerios Bloco D, Anexo/Ala A sala 317, Brasilia – Distrito Federal, CEP : 70.043.900, Brasil, E-mail: [clebertm@agricultura.gov.br](mailto:clebertm@agricultura.gov.br)

**Sra. Zobeyda Valencia de Toledo**, Centro de Desarrollo de la Pesca y Acuicultura (CENDEPESCA), Final 1 avy Nte 13 Cote, Av. Manuel Gallardo, Nueva San Salvador, El Salvador C.A., E-mail: [zvalencia@mag.gob.sv](mailto:zvalencia@mag.gob.sv)

**Sra. Consuelo Vásquez Díaz**, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INPA), Apartado Aéreo 33146, Bogotá D.C., Colombia, E-mail: [consuvasquez@hotmail.com](mailto:consuvasquez@hotmail.com)

La presente publicación es una guía técnica para el manejo responsable y eficiente de los laboratorios de camarón en América Latina. La publicación es el resultado de un extenso proceso de consulta efectuado entre 2001 y 2003 entre coordinadores nacionales designados por sus respectivos gobiernos, expertos regionales e internacionales, delegados de varias organizaciones intergubernamentales, representantes del sector privado y la FAO. El proceso de consulta se llevó a cabo gracias al proyecto «Asistencia para el manejo sanitario del cultivo del camarón en América Latina» (TCP/RLA/0071 [A]) del Programa de cooperación técnica regional de la FAO, en el que participaron 14 países de la región, varias organizaciones intergubernamentales, operarios de laboratorios y camaroneros, así como otros expertos. El objetivo de esta publicación es sentar la base para la mejora del estado sanitario y de la calidad de la postlarva de *Penaeus vannamei* producida en los laboratorios de América Latina.

ISBN 92-5-305022-5

ISSN 1014-1138



9 789253 050222

TC/M/Y5040S/1/09.04/800