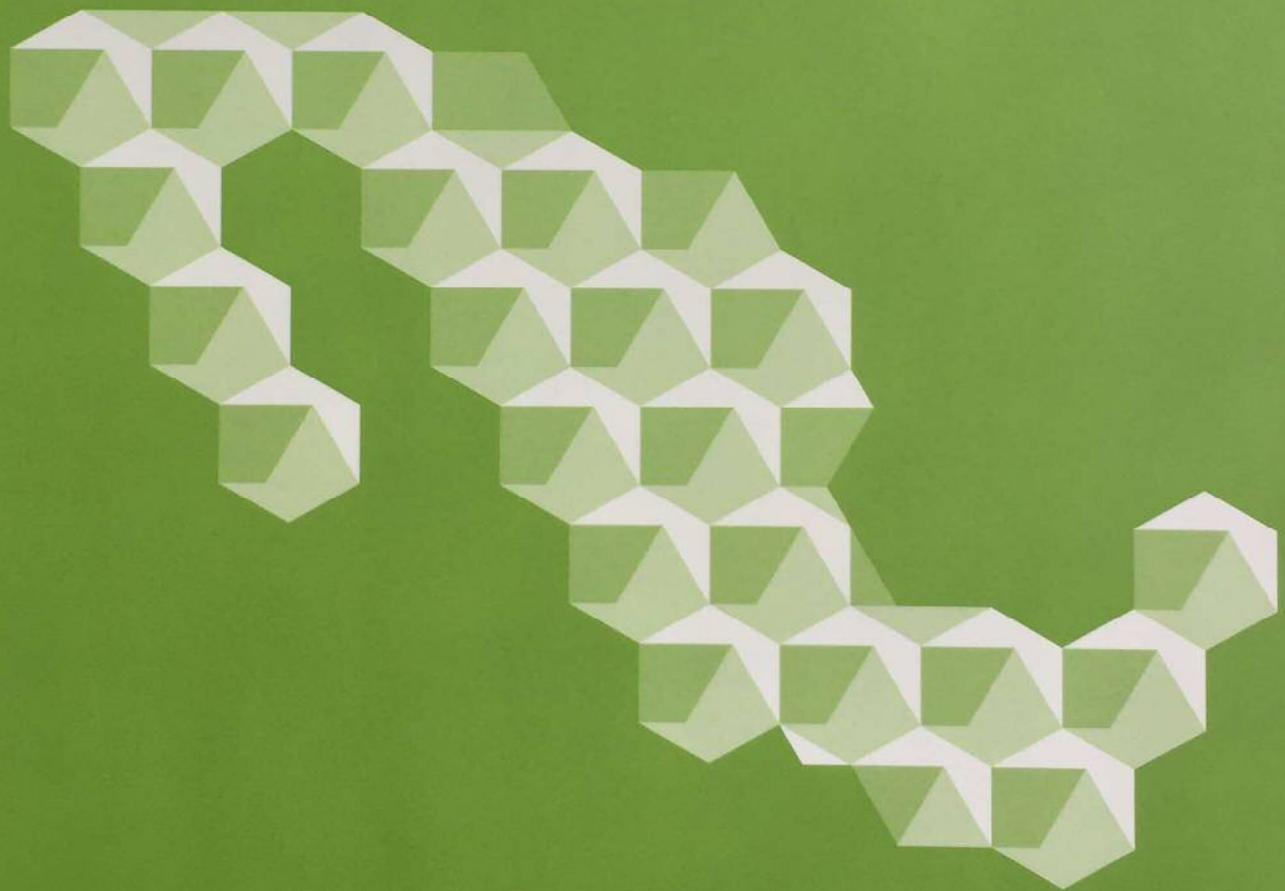


# La Virología en México

Situación Actual, Retos y Oportunidades



DR © 2017, Academia Mexicana de Ciencias, AC  
Km 23.5 Carretera Federal México – Cuernavaca  
Cipreses s/n, Col. San Andrés Totoltepec  
C.P. 14400 Tlalpan, Ciudad de México, México  
[aic@unam.mx](mailto:aic@unam.mx)  
[www.amc.mx](http://www.amc.mx)

ISBN 978-607-8379-27-9

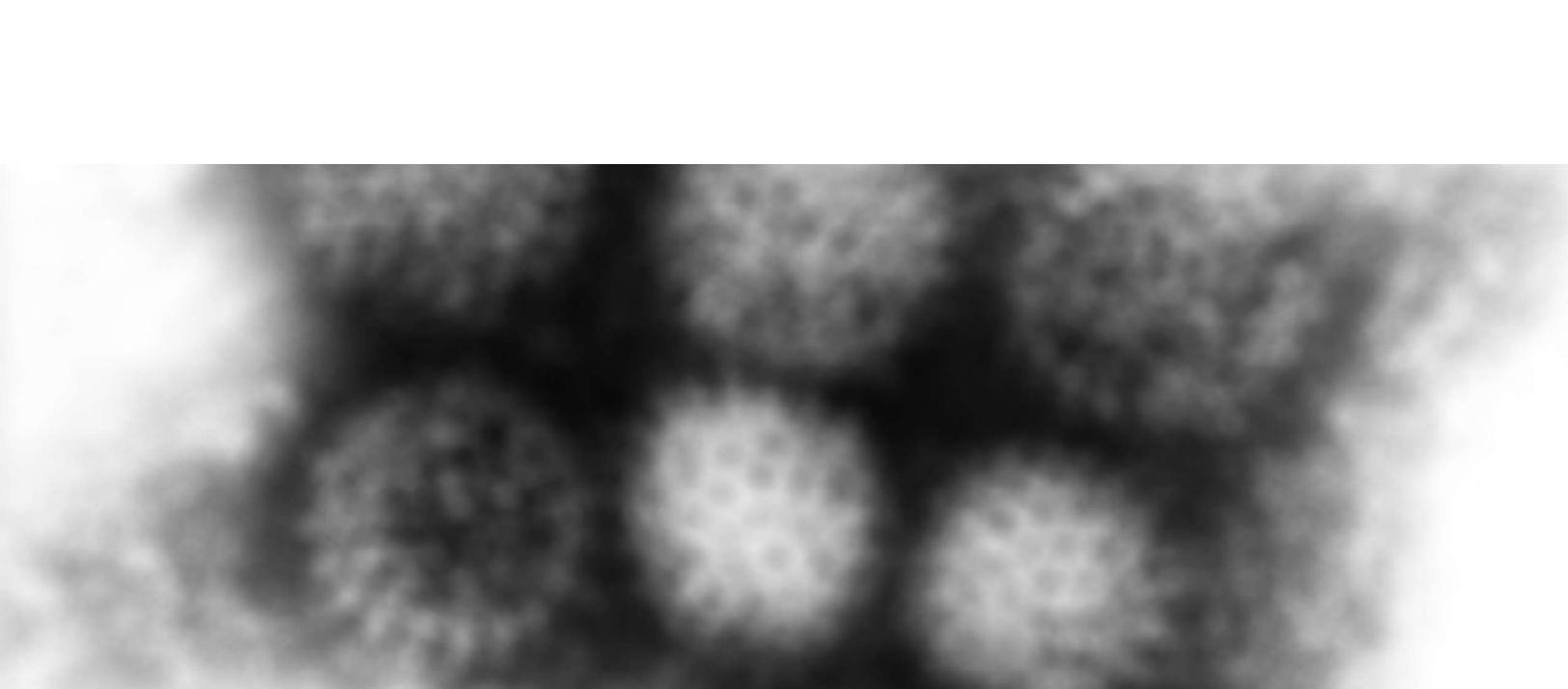
Queda prohibida la reproducción total o parcial  
de esta publicación para fines comerciales.

Carlos F. Arias  
(Coordinador General)

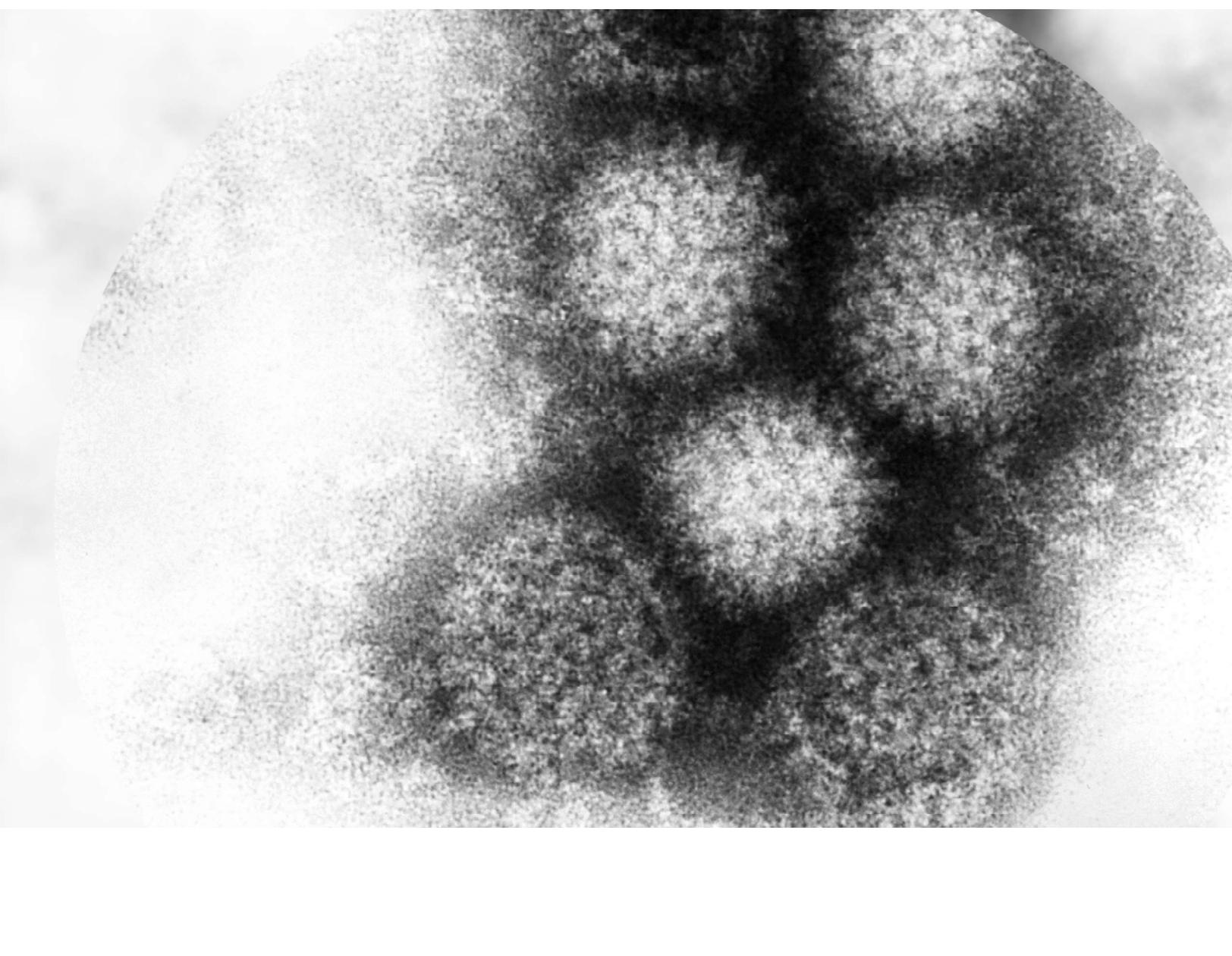
# La Virología en México: Situación Actual, Retos y Oportunidades

Gerardo Argüello Astorga \* Carlos F. Arias \* Rolando Beltrán Figueroa  
\* Jaime Berúmen Campos \* Miguel Blanco Ochoa \* Dan Jafhet Bolaños  
López \* Jorge Cáceres Martínez \* Felipa Castro Peralta \* Federico Chávez  
Maya \* Juan F. Contreras \* Mayra Cruz Rivera \* Esmeralda Cuevas Juárez  
\* Rosa María del Ángel \* Oscar del Moral \* César Marcial Escobedo Bonilla  
\* Gary García Espinosa \* Julián Everardo García Rejón \* Gabriel Ernesto  
García Peña \* Ramón A. González García-Conde \* Ana Lorena Gutiérrez  
Escolano \* María Fernanda Gutiérrez Escolano \* Susana López Charretón  
\* Juan E. Ludert \* Carlos Machain Williams \* Hilda Montero \* Rafael Ojeda  
Flores \* César Ortega Santana \* Laura A. Palomares \* Fernando I. Puerto  
\* Oscar Rico Chávez \* Rafael Rivera Bustamante \* Juan Salas Benito \*  
Carlos Sandoval Jaime \* Rosa Elena Sarmiento Silva \* Laura Silva Rosales \*  
Jesús Sotomayor Bonilla \* Gerardo Suzán Azpiri \* Maria Elena Trujillo Ortega  
\* Rebeca Vàsquez Yeomans \* Gilberto Vaughan \* Martha Yocupicio \* Selene  
Zarate Guerra





**CAPÍTULO 1**  
**INTRODUCCIÓN**





**CAPÍTULO 7**  
**VIRUS Y ACUACULTURA**



## Contenido

7.1 Resumen

7.2 Introducción

7.3 Áreas estratégicas

7.3.1 Virología de peces

7.3.2 Virología de crustáceos

7.3.3 Virología de moluscos

7.4 Conclusiones y recomendaciones generales

7.5 Bibliografía

**César Marcial Escobedo-Bonilla\***

**Jorge Cáceres-Martínez**

**César Ortega-Santana**

**Rebeca Vásquez-Yeomans**

**\*Coordinador del capítulo**

## 7.1 RESUMEN

La acuicultura es una actividad primaria con gran importancia por su capacidad de producir alimentos con alta calidad nutricional. Desde el punto de vista económico es una industria primordial ya que genera empleo para sectores vulnerables de la población y riqueza para países en desarrollo.

Actualmente se cultivan varias especies de animales, vegetales y microorganismos acuáticos que contribuyen al aporte de alimentos para consumo humano y animal. En 2014, la acuicultura de especies animales a nivel mundial produjo casi 74 millones de toneladas (69% del volumen capturado por pesca ese año) con un valor de 160 mil millones de dólares. No obstante, muchas especies animales cultivadas han sido afectadas por enfermedades infecciosas de origen viral, las cuales han sido las más dañinas a la producción. Los principales grupos animales cultivados son peces, crustáceos (camarones) y moluscos (bivalvos).

En México, la acuicultura tiene gran importancia y mucho potencial de desarrollo, pero también es afectada por problemas sanitarios debido a enfermedades. Este capítulo se refiere a algunas de las enfermedades virales más importantes registradas en el cultivo de peces, crustáceos y moluscos en México y se abordan algunos aspectos de las necesidades particulares de investigación, infraestructura, normatividad y el apoyo que se requiere de las instituciones sanitarias gubernamentales, así como de los sectores académico y productivo para promover estrategias coordinadas para reducir y/o controlar el impacto de las enfermedades virales que afectan a los organismos acuáticos cultivados en el país.

## 7.2 INTRODUCCIÓN

La acuicultura, o el cultivo de organismos acuáticos, es una actividad milenaria que en sus inicios se centró en el cultivo de la carpa común, ostras y otras especies en Asia y Europa (Cifuentes et al., 1997; Pillay y Kutty 2005). En el siglo XX la acuicultura se desarrolló como una de las actividades de producción de alimentos de origen animal más importantes. En ese siglo se desarrollaron tecnologías de cultivo larvario de varias especies, y surgieron las granjas acuícolas comerciales semi-intensivas e intensivas en Asia y Latinoamérica (Bardach et al., 1986). En las décadas de 1980 y 1990 la acuicultura creció a tasas de 10.8 y 9.5%, respectivamente (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, FAO, 2016a). En el siglo XXI la acuicultura ha ganado gran importancia como una fuente de alimento complementaria a la pesca. Esta actividad genera empleo en sectores vulnerables de la población y riqueza a varios países en desarrollo (FAO), 2012).

En el periodo 2000-2012 la tasa de crecimiento de la acuicultura (6.3% promedio) fue algo menor que en las dos últimas décadas

del siglo XX. En el periodo 2013-2015 la acuicultura mundial produjo por primera vez en la historia un volumen mayor de peces y bivalvos que lo capturado por pesca (FAO 2016a).

Es posible que la pesca haya llegado al límite de su producción. Factores como el cambio climático o el agotamiento de las poblaciones silvestres pueden contribuir a la reducción del volumen actual de producción pesquera (FAO 2016b). Por ello, la acuicultura puede ser la actividad que genere la mayor parte de alimentos de origen animal para consumo humano.

Actualmente se cultivan 580 especies animales y vegetales acuáticas; de éstas, 362 son peces, 104 moluscos, 62 crustáceos, 9 invertebrados acuáticos, 6 anfibios y reptiles y 37 plantas. En 2014 las especies más cultivadas incluyeron 22 tipos de peces, 4 crustáceos, 4 moluscos bivalvos y una especie de tortuga (FAO 2016a). Todas estas especies son susceptibles a diferentes factores externos que pueden causar pérdidas en su producción. Las enfermedades infecciosas posiblemente son el factor más importante que limita el desarrollo de la acuicultura y con frecuencia han causado grandes daños a diferentes cultivos (Walker y Subasinghe 2000).

Las enfermedades infecciosas que afectan a los organismos cultivados son causadas por agentes patógenos que se encuentran en el ambiente acuático; estos incluyen protozoarios y varios metazoarios parásitos, hongos, bacterias y virus (Bondad-Reantaso et al., 2005).

Los virus son los microorganismos más abundantes en el ecosistema marino y contribuyen a la función y regulación de las redes tróficas microbianas (Zemb et al., 2008); en consecuencia, influyen directa o indirectamente en los ciclos biogeoquímicos, en la capacidad del océano de captar carbono y en el intercambio gaseoso entre la superficie marina y la atmósfera (Danovaro et al., 2011).

Muchos virus son patógenos para diversos organismos acuáticos silvestres y cultivados. Las enfermedades infecciosas causadas por virus son las que más daños han provocado a diversas operaciones de acuicultura en varios países (Lightner., 2011). Estos cultivos incluyen peces (salmónidos), crustáceos (camarones, cangrejos) y moluscos (bivalvos y gasterópodos). Debido al impacto negativo que los virus han generado sobre la acuicultura mundial y regional, se han realizado investigaciones sobre algunos aspectos básicos de su patogénesis y también se han desarrollado estrategias para reducir los daños y para su control.

En México, la acuicultura es una actividad que tiene varios años desarrollándose y actualmente se le considera una industria muy importante desde los puntos de vista económico y de producción de alimento para poblaciones humanas y de insumos para consumo animal. Además, la acuicultura tiene gran potencial de desarrollo en varias zonas del país. Por ello, es una prioridad estudiar a los agentes virales que la afectan, con el fin de proponer estrategias y métodos de control que contribuyan a reducir estas pérdidas.

En este capítulo se abordan algunas de las enfermedades virales más importantes registradas en el cultivo de peces, crustáceos y moluscos en México. También se describen, brevemente, algunas de las necesidades particulares de investigación, infraestructura, normatividad y apoyo que se requieren en el área. La colaboración entre las instituciones sanitarias gubernamentales, la academia y los productores es necesaria para que la virología en acuicultura contribuya a la solución de estos problemas.

### 7.3 ÁREAS ESTRATÉGICAS

#### 7.3.1 Virología de Peces

##### Introducción

La piscicultura mundial ha logrado un incremento notable no sólo en el volumen total (toneladas/año), sino también en el número de especies cultivadas en sistemas de agua dulce y marinos, así como en el establecimiento de sistemas de cultivo en lugares poco propicios para otro tipo de producciones agropecuarias (Ortega y Valladares, 2015). Sin embargo, el incremento de la acuicultura mundial y la globalización han favorecido la diseminación de microorganismos acuáticos infecciosos y la aparición de enfermedades que limitan la producción y afectan el sostenimiento de la biodiversidad (Murray, 2006). Por ello, las enfermedades infecciosas son una amenaza para el éxito de la acuicultura.

Muchas enfermedades virales provocan alta mortalidad en peces jóvenes y poca o ninguna pérdida en adultos, pero estos últimos generalmente permanecen como portadores (Wolf, 1988); por ello, se recomienda evitar su introducción, ya que son de difícil control (Crane y Hyatt, 2011; OIE, 2016a). Las enfermedades virales de mayor importancia sanitaria en animales tienen regulación internacional y son de declaración obligatoria; por lo general están geográficamente delimitadas; por ello se restringe la movilización o transporte de peces infectados y requieren certificación sanitaria mediante pruebas específicas para su movilización o comercio. El Código Sanitario Internacional para los Animales Acuáticos (Código Acuático) de la OIE, establece cuales son las enfermedades de alto riesgo para peces y dicta recomendaciones para su prevención y control (OIE, 2016a; OIE, 2016c).

Los virus que afectan peces generalmente son específicos para cada especie, se restringen a ese grupo y no presentan riesgos para los manipuladores o consumidores. La capacidad de aislar y multiplicar virus en cultivos celulares ha permitido estudiarlos profundamente, así como las enfermedades que causan (Wolf, 1988; Crane y Hyatt, 2011). Actualmente hay reportes de “nuevos virus” o virus que afectan a “nuevas especies” de peces, incluyendo virus de peces ornamentales, algunos de los cuales son de notificación obligatoria (OIE, 2016a).

Para el diagnóstico de virus, las instancias sanitarias internacionales y locales de países líderes en producción de peces consideran el cultivo de células como la prueba dorada o “golden test”; es así que el aislamiento viral es parte fundamental del diagnóstico sanitario (OIE, 2015) y de la investigación de estos agentes, permitiendo conocer su biología, patogenicidad y características.

En peces existen pocos tratamientos o vacunas eficaces contra las enfermedades virales, por lo que su control consiste en excluir la entrada del patógeno y la erradicación por sacrificio sanitario ante brotes de enfermedad (Crane y Hyatt, 2011; OIE, 2016a). Los antibióticos no son eficaces contra virus, pero pueden usarse para controlar infecciones bacterianas secundarias, reforzado con medidas de manejo que minimicen el estrés y el hacinamiento. Asimismo, mejorar las medidas de bioseguridad, y en lo posible manipular la temperatura, pueden ayudar a controlar infecciones virales, ya que si bien los virus de peces se replican dentro de intervalos de temperatura amplios, su tolerancia a este factor es más restringida. La variación de la temperatura puede reducir la replicación y promover su control, pero a menudo induce a la latencia (Wolf, 1988).

El aumento de operaciones acuícolas también incrementa las oportunidades de transmitir virus acuáticos (Ortega, 2012). Apparentemente estos agentes infecciosos han estado presentes desde la aparición de las células (Koonin et al., 2006), y considerando que el cultivo de peces data de hace más de 3000 años, es factible suponer que varias de las enfermedades virales descritas durante y después de la década de 1950 pudieron haber sido observadas varios siglos antes (Crane y Hyatt, 2011). En 1904, Bruno Hefer, considerado el padre de la patología de peces, publicó que documentos medievales dejaron constancia de la existencia de la viruela de la carpa (*Cyprinus spp*) desde el año 1563 (Wolf, 1988).

Los antecedentes sanitarios oficiales o científicos sobre la piscicultura de México son escasos (Ortega y Valladares, 2015); el primer reporte de enfermedad viral en peces del país data del año 2001 (Cedillo et al., 2001). Esta sección proporciona información de los patógenos virales que han sido documentados e identificados en peces de México, incluso cuando no ha sido declarado oficialmente por las autoridades correspondientes.

#### Enfermedades causadas por virus en peces de México

##### *Virus de la Enfermedad de Linfocistis (LCDV)*

La enfermedad de linfocistis (LCD) en peces tetra fantasma (*Parambassis baculis*) obtenidos de acuarios comerciales de la Ciudad México fue reportada en el año 2001 (Cedillo et al., 2001), aunque después de este único reporte no se ha informado de la situación de esta enfermedad en el país. Datos no confirmados en el sector productivo mencionan que la LCD también está presente en *Carasius spp*.

La linfocistis es una enfermedad crónica y autolimitante de baja mortalidad y de distribución cosmopolita. Fue una de las primeras enfermedades de peces reportadas en el siglo XIX (Wolf, 1988). Este padecimiento se ha observado en más de 125 especies (Paperna, 1973), siendo más común en algunas especies de cíclidos de acuario, aunque también se ha reportado en peces comerciales de agua dulce y marina, cautivos y de vida libre (Xiuzhen et al., 2007), pero no se ha encontrado en ciprínidos, salmónidos o silúridos (Borrego et al., 2015). Es causada por un virus de DNA de la familia *Iridoviridae* y su etiología viral fue demostrada por microscopía electrónica (Walker, 1962) y aislamiento en 1962 (Wolf, 1988).

La principal característica de peces afectados por LCD es la aparición de nódulos o tumores de color blancuzco o cremoso en piel, aletas u opérculos, los cuales se presentan en forma simple o múltiple, pudiendo aparecer en otras partes del cuerpo, incluso internamente. Estos tumores, usualmente de color blanquecino, pueden tornarse grisáceos u oscuros cuando afectan tejidos con cromatóforos abundantes (Wolf, 1988; Xiuzhen et al., 2007).

Aunque la enfermedad raramente es fatal, los peces que presentan estos signos no pueden ser comercializados. Su prevalencia en sistemas de cultivo suele ser muy alta, asociada a la transmisión horizontal del virus. La incidencia puede alcanzar 70%, afectando significativamente la producción (Borrego et al., 2015). Dependiendo de la especie y de las condiciones ambientales, la enfermedad puede persistir por periodos de tiempo variables (Williams et al., 1996). En peces de agua fría las lesiones asociadas a LCD pueden permanecer evidentes hasta por un año, mientras que en especies de agua templada pueden desaparecer en semanas (Paperna, 1973; Xiuzhen et al., 2007).

### **Virus de Necrosis Pancreática Infecciosa (IPNV)**

El IPNV fue el primer agente viral aislado y confirmado como causa de enfermedad de peces en 1957, cuando se estableció el cultivo *in vitro* de células de peces, que permitieron el aislamiento e identificación de éste y otros virus (Wolf, 1988).

La necrosis pancreática infecciosa (IPN) es una enfermedad sistémica aguda y contagiosa que afecta a varias especies de salmónidos jóvenes. La enfermedad clínica también puede observarse en el salmón del Atlántico (*Salmo salar*) en etapa de post-smolt (juveniles capaces de migrar al mar) (Roberts y Pearson, 2005) y en otras especies de peces (Wolf, 1988). IPN es la enfermedad viral de peces con mayor distribución mundial (Ortega et al., 2016), reconocida como la de mayor impacto en los países líderes en cultivo de salmónidos. Los animales que sobreviven la enfermedad clínica y los que se infectan después de 6 meses de edad, se convierten en portadores asintomáticos, representando un riesgo para la salud de poblaciones de peces y al ambiente (Wolf, 1988; Murray, 2006).

En condiciones experimentales, la enfermedad clínica ocurre a 12°C (Wolf, 1988). El cuadro clínico y el nivel de mortalidad, que puede ir de 10 a 90 %, dependen de factores como nivel de virulencia de la cepa involucrada, la carga viral, edad y el estado inmuno-fisiológico de los peces y las características del entorno (Wolf, 1988; Roberts y Pearson, 2005). Se ha demostrado que la resistencia es inversamente proporcional a la edad de los animales; conforme se incrementa su peso aumenta su resistencia, pero son portadores asintomáticos (Wolf, 1988).

El cuadro clínico más característico de la IPN se presenta en la trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), trucha de arroyo (*Salvelinus fontinalis*), trucha café (*Salmo trutta fario*), salmón del Atlántico (*Salmo salar*) y varias especies de salmón del Pacífico (Roberts y Pearson, 2005). En crías que normalmente completan la primera alimentación, el brote suele ser agudo, alcanzando pérdidas del 70% o más en un periodo de dos meses. Las pérdidas en animales más grandes pueden ser del 10 al 20% (Roberts y Pearson, 2005). Los peces afectados manifiestan oscurecimiento corporal, abdomen distendido y prominente (fig. 7.1), natación en espiral, exoftalmia, palidez branquial, y hemorragias en vientre y la base de aletas algunas veces.

El IPNV es el virus prototipo de la familia *Birnaviridae*, que clasifica a un grupo de virus que como característica particular presentan un genoma de RNA de doble hebra (RNA<sub>dc</sub>) bisegmentado, empaquetado en una cápside icosaédrica de aproximadamente 60 nm de diámetro.



Figura 7.1. Crías de trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) afectadas por IPN; se muestra oscurecimiento corporal, distensión abdominal (fotografía de Ortega-Santana).

La IPN fue identificada en México en el año 2000 en peces importados como huevo oculado (estadio del desarrollo embrionario donde el huevo presenta la formación ocular) de los Estados Unidos (Ortega et al., 2002). Se ha demostrado que actualmente el virus está presente en casi todos los estados productores de trucha del país (Ortega et al., 2016), pero no se conoce la prevalencia y el comportamiento de la infección en las zonas productoras debido a la ausencia de acciones sanitarias para controlar la infección (Ortega et al., 2002; Ortega et al., 2016).

Pese a la alta prevalencia observada en el país, muy pocos casos corresponden a enfermedad clínica, lo que aparentemente se debe a que los aislados mexicanos de IPNV están relacionados con la cepa VR-299 de origen norteamericano inicialmente reportada por Ortega et al. (2002), considerada de baja virulencia (Barrera-Mejía et al., 2011).

### **Virus de la Enfermedad del Bagre de Canal (CCVD)**

El CCVD o *Herpesvirus ictaluri 1* fue aislado en Estados Unidos en 1960 (Camus, 2004), y se reconoce como el más severo entre los herpesvirus que afectan peces. Este virus provoca una enfermedad septicémica en el bagre de canal causando severas pérdidas económicas por mortalidad y costos de manejo. La enfermedad clínica se presenta como una septicemia hemorrágica y principalmente ocurre en peces menores de un año de edad o menores de 15 cm de longitud.

La infección es influenciada por factores de estrés ambiental. La mortalidad es más alta cuando la temperatura del agua supera los 25°C y disminuye cuando ésta se reduce. Las condiciones estresantes, como temperaturas superiores a 25°C, mala calidad de agua, hipoxia o alimentación deficiente, favorecen los brotes, con mortalidades cercanas a 100% entre 3 y 7 días después del inicio del brote (Camus, 2004; Sánchez-Martínez et al., 2007).

El virus se transmite por vía horizontal y también podría hacerlo por vía vertical pasando de los reproductores infectados al huevo. Los peces afectados por CCVD bajan su consumo de alimento o dejan de comer, a lo cual puede seguir alta mortalidad en crías y juveniles; presentan nado errático y episodios de hiperactividad, seguidos por largos períodos de letargo; se ubican en lugares poco turbulentos del estanque, donde permanecen con poco movimiento; presentan abdomen abultado, exoftalmia, hemorragia en base de aletas y áreas ventrales. Los sobrevivientes generalmente tienen aspecto normal pero se convierten en portadores y a largo plazo pueden presentar mala conversión alimenticia (Camus, 2004).



Figura 7.2. Pez ángel (*Pterophilum scalare*) con tumoración en región frontal, el cual histológicamente corresponden a odontoma (fotografía de Ortega-Santana).

Durante el verano de 2005 se reportó un brote de alta mortalidad en crías de bagre de canal en una granja en Tamaulipas (Sánchez-Martínez et al., 2007), donde hubo incremento súbito de mortalidad en crías de bagre con signos de CCVD. El diagnóstico se hizo mediante la interpretación de los signos clínicos, las lesiones histopatológicas y PCR. Hasta ahora no se han reportado casos en otros lugares o en el mismo estado. El cultivo de esta especie es importante en los estados de Nayarit, Nuevo León, Sinaloa, Michoacán, Morelos y Tamaulipas (CONAPESCA, 2013).

### **Viremia Primavera de la Carpa (SVC)**

El virus de la SVC (SVCV) es un miembro del género *Vesiculovirus*, dentro de la familia *Rhabdoviridae*. Ocasiona una enfermedad severa y contagiosa en varias especies de carpas, especialmente carpa común (*Cyprinus carpio carpio*); otras especies no ciprínidas también son susceptibles a la infección. Los peces pueden portar el virus con o sin signos, siendo más susceptibles al desarrollo de signos clínicos los peces de un año de edad (Ahne, 1977; Ahne et al., 2002).

Los peces afectados tienden a nadar y respirar lentamente y reaccionan tardíamente a estímulos. Los signos clínicos corresponden a una enfermedad septicémica que incluyen distensión abdominal, exoftalmia, inflamación o edema del conducto anal y hemorragias pетеquiales de piel, branquias y ojos. El cuerpo es más oscuro, con branquias pálidas y pérdida de equilibrio (Fijan, 1999). Las infecciones bacterianas secundarias influyen en la signología y en el índice de mortalidad (Negale, 1977; Dikkerboom et al., 2004).

El genoma del SVCV es de RNA de sentido negativo de una sola cadena. Fue aislado por primera vez en la década de 1970 en Yugoslavia y hasta el momento se ha encontrado en la mayoría de los países de Europa, en el Oriente Medio, Estados Unidos, China, Canadá y Brasil; la enfermedad está inscrita en la lista de enfermedades de peces de la OIE (Liu et al, 2004; OIE, 2016b; OIE 2016c) y es considerada exótica para México (SAGARPA, 2016).

En octubre de 2015 se presentó un caso asociado a esta enfermedad en carpa común (*Cyprinus carpio carpio*) de aproximadamente 300 g en una laguna del Altiplano de México. Los peces presentaron signos clínicos y lesiones características de la enfermedad, lo cual fue confirmado por el aislamiento del virus en células epithelioma papulosum cyprini (EPC) y bluegill fry (BF-2) y posteriormente mediante RT-PCR (Cañas et al., 2016).

### **Odontoma en peces de ornato**

En el pez ángel *Pterophilum scalare* del centro de México se ha presentado una manifestación de tumores en la región anterior de la boca, en el maxilar superior (fig. 7.2), que histopatológicamente se ha caracterizado como odontoma. Esta patología ha sido

observada en el país y en la misma especie desde el año 2003, pero no se le había dado la atención que tiene ahora.

A nivel internacional son escasos los antecedentes de esta patología en pez ángel, pero hay otras patologías asociadas con odontomas en otras especies de peces de agua dulce y salada que se relacionan con una infección por *Iridovirus* (Schlumberger y Katz, 1956; Rodger et al., 1997; Coffee et al., 2012). Después de un exhaustivo estudio de diagnóstico sanitario integral en la UAEMex, no se tuvo éxito en el aislamiento viral, quedando como alternativa la evidencia del agente mediante microscopia electrónica, en desarrollo.

### Tendencias internacionales

En años recientes la producción y el consumo mundial de peces se ha incrementado, y países en desarrollo como México podrían convertirse en los principales productores acuícolas (Ortega y Valladares, 2015); se estima que para el año 2030 el 65% de los peces consumidos serán obtenidos por piscicultura, pero el incremento de esta actividad favorece la diseminación de microorganismos y la aparición de enfermedades, por lo que se debe contar con servicios de diagnóstico eficientes para evitar la introducción de patógenos importantes, y en su caso una detección oportuna (Murray, 2006).

El estado sanitario de las poblaciones animales se considera tema prioritario para la mayoría de los países, apoyándose para su control en el Código Acuático de la OIE, que establece las normas para mejorar la sanidad y el bienestar de los peces de cultivo, así como el comercio internacional seguro de éstos y de sus productos derivados (OIE, 2016a). El documento de referencia es el Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos de la OIE (en esta sección, este documento es en adelante llamado Manual Acuático) (OIE, 2015); la adopción de los métodos de diagnóstico recomendados contribuirá a reforzar la eficacia de los laboratorios y a mejorar la situación sanitaria de las poblaciones de animales acuáticos en todo el mundo.

Varios laboratorios de referencia de la OIE para enfermedades de peces pertenecen a universidades o institutos de investigación que cuentan con reconocimiento de las autoridades de sus países y de la propia OIE, ya que realizan diagnósticos de acuerdo a lo establecido en el Manual Acuático. Por recomendación de la OIE, las pruebas moleculares por sí solas no son las más adecuadas para estudios de monitoreo, y no pueden utilizarse como base para regionalizar áreas libres de enfermedades (OIE, 2015).

El uso de vacunas es uno de los principales métodos para el control de enfermedades en animales; en el caso de peces, las vacunas disponibles y más usadas son las dirigidas contra infecciones bacterianas. Existen algunas vacunas contra enfermedades virales en peces, pero en general con una baja relación costo-beneficio; esto, porque varias de ellas usan virus inactivos, y se requieren altas concentraciones por inyección o inmersión para que sean

eficaces, lo cual hace que su costo sea muy alto. Por el contrario, vacunas con virus activos/atenuados han reportado ser muy eficaces para proveer protección contra virus, pero suponen un riesgo ecológico-biológico en sistemas acuáticos, debido al hecho de que estas puedan infectar otros hospederos en el ambiente (Sommerset et al., 2005).

Algunos factores que limitan el desarrollo de nuevas vacunas y/o sistemas de administración basadas en estrategias no empíricas, son la gran diversidad de especies de peces y el limitado conocimiento que hay de su sistema inmune (Sommerset et al., 2005). Debido a estas limitantes, existen pocos tratamientos o vacunas eficaces contra algunas enfermedades virales, por lo que aún se recurre a medidas de control como la exclusión de patógenos en los sistemas de cultivo y la erradicación por sacrificio sanitario ante brotes de enfermedad (Crane y Hyatt, 2011; OIE, 2016a). El estudio de medidas para el control de enfermedades virales es un tema importante a nivel internacional.

### Estado de desarrollo de la virología de peces en México

En el contexto internacional, el diagnóstico de enfermedades causadas por virus está basado principalmente en su aislamiento en cultivo de células e identificación inmunológica o génica (OIE, 2015 y 2016b). En este sentido, si bien la autoridad responsable de la salud animal de México cuenta con laboratorios de referencia para el diagnóstico en salud animal (SAGARPA, 2007; SAGARPA, 2016), en realidad no dispone de laboratorios que realicen un diagnóstico sanitario integral para la identificación de agentes virales de peces que esté de acuerdo con lo requerido por la OIE.

En México, los laboratorios oficiales de salud animal relacionados con enfermedades virales de peces únicamente realizan el diagnóstico mediante pruebas moleculares, con lo que no se cumplen las recomendaciones, ya que en cada caso particular, y dependiendo de la situación de las enfermedades (casos clínicos o portadores), se debe proponer el uso de las técnicas de diagnóstico que ofrezcan mejores resultados de acuerdo a la OIE.

Una situación de riesgo latente para la piscicultura del país es la dependencia a la importación de organismos acuáticos para consumo u ornato (Ortega y Valladares, 2015). Por regulación internacional, los organismos importados deben acompañarse de un certificado sanitario que indique que están libres de enfermedades de alto riesgo; además, el país importador debe hacer una cuarentena y estudios de diagnóstico antes de liberar dicha cuarentena.

En caso de huevo embrionado, lo recomendado es esperar a la absorción del saco vitelino y realizar el diagnóstico en crías (organismos en movimiento), de las que se puede obtener una muestra confiable para cultivo celular. Trabajar con huevo embrionado tiene el inconveniente de que la cáscara está contaminada; además, el tamaño del huevo dificulta extraer de su interior una

muestra que garantice que el agente identificado estaba dentro del huevo, e igualmente importante, la muestra no es representativa, ya que el muestreo (n) debe basarse en una probabilidad de población en movimiento. Los huevos son estáticos y generalmente se transportan en canastillas separadas; además, el huevo no es recomendado para diagnóstico en cultivo celular porque el vitelo es citotóxico.

Debido a estas variables, la detección de virus de alto riesgo es informador, pero si la detección es negativa no se puede certificar el resultado. Hasta donde sabemos, en México el diagnóstico en las unidades de cuarentena se realiza en huevo embrionado y está exclusivamente basado en técnicas moleculares, omitiendo pruebas inmunológicas, serológicas y/o de cultivo celular.

En relación a lo anterior, en una convocatoria emitida en mayo del año 2016 por SENASICA, para obtener la "Aprobación como Laboratorio de Pruebas en Materia de Diagnóstico en Sanidad Acuícola" referida principalmente a enfermedades causadas por virus (SAGARPA, 2016), se establece a la PCR como única prueba diagnóstica requerida. Esto dista de la realidad del diagnóstico internacional, en el cual se deben de tomar en cuenta diversos factores propios de cada caso para decidir cuál o cuáles pruebas se deben utilizar.

Es importante aclarar que no se pretende demeritar el trabajo ni la competencia de los profesionales-técnicos de los laboratorios oficiales, los resultados emitidos, ni a las propias técnicas; en realidad la inconsistencia está en que para realizar el diagnóstico no se siguen los lineamientos y recomendaciones descritos en el Manual Acuático de la OIE, tal como incluso se establece en la Ley General de Pesca y Acuicultura Sustentables (SAGARPA, 2007). Por ejemplo, en el Manual Acuático de la OIE, en el caso de herpesvirus de la carpa koi se considera al PCR como la prueba de diagnóstico más sensible (OIE, 2015).

Varios laboratorios de referencia de la OIE pertenecen a universidades e institutos de investigación, y tienen reconocimiento de la propia OIE y de autoridades locales. Ante esta realidad, la autoridad sanitaria de México debería apoyarse en aquellos laboratorios que demuestren competencia en diagnóstico de enfermedades de peces basados en principios veterinarios y recomendaciones de la OIE. A este respecto, el Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA) de la UAEMex es un laboratorio que está acreditado por la Entidad Mexicana de Acreditación (EMA) en el diagnóstico de IPNV basado en cultivo de células e identificación inmunológica (Ortega y Valladares, 2015; Ortega et al., 2016). SENASICA debiera respaldar procesos similares para diagnóstico de otras enfermedades virales de peces. El hecho de que la autoridad no brinde este reconocimiento pone en riesgo la continuación o sostenimiento de este proceso, implementado justamente para apoyar a la piscicultura del país.

Por otro lado, la convocatoria ya citada (SAGARPA, 2016) deja de lado a otras enfermedades o agentes infecciosos que están impactando a la piscicultura del país, tales como la Weisselosis, Franciselosis o enfermedades causadas por *Streptococcus spp*, ya que se solicita únicamente el diagnóstico para cinco enfermedades virales de peces, cuatro de ellas incluidas en la lista OIE (2016c), de las cuales sólo existe evidencia de su presencia en el país para el IPNV y el SVCV.

Con relación a lo anterior, no es práctico pedir que todos los laboratorios que realizan diagnóstico en piscicultura deban acreditarse en enfermedades de la lista OIE que no se han documentado en México. Prevenir la entrada de enfermedades de alto riesgo es básicamente una responsabilidad de las autoridades, mientras que los estudios de diagnóstico de rutina deben correr sin contratiempos, en lo posible apoyándose en otros laboratorios de universidades, institutos de investigación o particulares que cuenten con las herramientas de diagnóstico adecuadas.

### **Oportunidades y prioridades de la virología en la piscicultura de México**

En este capítulo se han descrito las enfermedades virales de peces presentes en México, de las cuales únicamente la causada por el SVCV está incluida en la lista de enfermedades de la OIE. Por esta razón, los esfuerzos y estrategias de las autoridades deberían enfocarse a evitar la entrada de otros virus que no existen en el país; esto podría representar una ventaja, que en otro escenario incluso podría convertirlo en exportador de peces o sus productos, una situación que requiere estudios de diagnóstico de situación de éstas y otras enfermedades mediante pruebas recomendadas (OIE, 2016a y 2016b).

Si bien la autoridad sanitaria del país dispone de laboratorios de diagnóstico sanitario veterinario para animales terrestres que inclusive cuentan con reconocimiento internacional, en éstos no se realiza un diagnóstico sanitario integral para detectar enfermedades de peces, y principalmente basa su fortaleza en el diagnóstico molecular. Esto, además de que no cumple la recomendación internacional, no permite realizar un trabajo que fortalezca y proteja a la piscicultura del país; por tanto es necesario que se cuente con especialistas en las diferentes áreas del diagnóstico piscícola. Por ejemplo, enfermedades como la inflamación del músculo esquelético y del corazón (HSMI, por sus siglas en inglés) en el Salmón del Atlántico (*Salmo salar*), han sido diagnosticadas por evidencia histológica (Kongstorp et al., 2004); lo mismo que el síndrome de la marca roja (RMS por sus siglas en inglés) en donde, ante el fracaso en el aislamiento o identificación antigénica y molecular del posible agente etiológico, el diagnóstico se basa en las lesiones histológicas.

A diferencia de países que documentan el comportamiento de las enfermedades de peces en áreas y tiempos determinados

(Murray, 2006), en México no se lleva a cabo un ejercicio similar, por lo que es difícil conocer la condición sanitaria real de la piscicultura. Dentro de las enfermedades listadas por la OIE, hasta ahora únicamente se ha descrito en México la SVC, la cual aún no está reconocida por la autoridad sanitaria del país, por lo que se presenta la oportunidad de declarar la ausencia de otros virus que causan severas pérdidas económicas a la piscicultura mundial. Aparentemente la SVC está limitada a una región, por lo que se deberían enfocar esfuerzos y recursos a determinar que realmente así sea, de lo contrario se corre el riesgo de que suceda lo mismo que con la IPN (Ortega et al., 2016).

Las enfermedades representan uno de los principales obstáculos para el desarrollo de la piscicultura, y aunque pueden ocurrir indistintamente del nivel de desarrollo, producción o tecnificación de la actividad, son de mayor impacto cuando se carece de una estructura sanitaria sólida, que considere sistemas de diagnóstico y manejo eficientes (OIE, 2016a).

### Conclusiones y recomendaciones

El incremento de la demanda de productos piscícolas y en consecuencia de la producción, obligará al aumento de actividades comerciales de peces y sus productos, lo que en el caso de México, por ser un país importador, representará amenazas para el sector, aunado a la influencia del cambio climático.

El país debe prepararse para atender emergencias sanitarias y proteger a la piscicultura de las enfermedades de la lista de la OIE (2016c), que principalmente son causadas por virus.

En esta sección se ha hablado del diagnóstico de enfermedades virales de peces y de la infraestructura con que se cuenta en el país para realizarlo; sin embargo, respecto a los virus aquí comentados, únicamente se ha investigado la posible procedencia del IPNV, las características del agente y su distribución en el país (Ortega y Valladares, 2015), por lo que es recomendable y necesario para el bien de la piscicultura nacional llevar a cabo estudios para conocer la distribución e impacto de los agentes infecciosos que se han identificado, así como fortalecer las acciones para evitar la introducción de otras enfermedades que representan riesgo para la piscicultura nacional.

La salud animal es asunto que debe estar bajo vigilancia y acción sostenida de la autoridad sanitaria, que debe tener capacidad de gestión y reacción para atender casos sospechosos, y dar seguimiento y monitoreo a los casos positivos; considerando que la epizootiología en acuicultura enfrenta retos diferentes a la de animales terrestres, es necesario que disponga de expertos en todos los campos de la sanidad acuícola y con laboratorios de diagnóstico homólogos a las exigencias internacionales, tal como establece la Ley General de Acuicultura y Pesca Responsables.

En su defecto, si las instancias oficiales no tienen posibilidad de cubrir los aspectos necesarios, como es montar cultivos celulares (proceso que establece OIE), será recomendable dar entrada y reconocimiento a aquellos laboratorios que tengan esa facilidad y que estén dispuestos a colaborar.

### 7.3.2 Virología de Crustáceos

#### Introducción

El cultivo de camarón o camaronicultura es posiblemente la actividad de producción animal más reciente. Nació en 1933 en Japón cuando fue posible producir y mantener los diferentes estadios larvarios del camarón kuruma (*Marsupenaeus japonicus*), completando su ciclo de vida en condiciones de laboratorio (Schafer, 1971).

Actualmente se cultivan alrededor de 62 especies de crustáceos en el mundo, pero los camarones peneidos son los más importantes tanto por volumen como por su valor (Fishstat 2015). En 2014 la producción de crustáceos cultivados fue de 6.9 millones de toneladas (9.3% del volumen total de especies producidas por acuicultura), con un valor de 36 mil millones de dólares. Los camarones peneidos aportaron 4.3 millones de toneladas (62% del total de crustáceos) con un valor mayor a 22 mil millones de dólares (FAO 2016a, 2016b).

No obstante, desde el 2013 grandes productores de camarón, como Tailandia y China, redujeron su producción debido a problemas sanitarios (FAO, 2016b). En ese mismo año, México sufrió una reducción del 50% de su producción por enfermedades infecciosas (Soto-Rodríguez et al., 2015). En la actualidad, éstas son un factor primordial que afecta la producción camaronícola y amenaza su desarrollo en varias partes del mundo (FAO, 2003).

Desde sus inicios la camaronicultura ha sufrido pérdidas por enfermedades infecciosas. Las enfermedades virales a menudo se han manifestado como grandes epizootias y graves pérdidas a los productores (Flegel 1997; Lightner & Redman 1998).

En 1974 se descubrió el primer virus de camarón (*Baculovirus penaei* [BP]) en la especie *Farfantepenaeus duorarum* en las costas del norte del Golfo de México (Couch, 1974). Poco después se reportaron en países de Asia y América más especies de virus que infectan camarones peneidos y otros crustáceos decápodos (Lightner 2011, Escobedo-Bonilla 2013). Algunos de ellos han causado grandes mortalidades a poblaciones en cultivo y silvestres en varios países (Cuadro 7.1). Es posible que los virus se encuentren en baja prevalencia en poblaciones silvestres de crustáceos, pero cuando los hospederos son mantenidos en condiciones de cultivo en grandes densidades y sometidos a estrés (manejo, calidad de agua, alimentación), pueden ocasionar graves epizootias.

Cuadro 7.1. Principales patógenos virales y su impacto a la camaronicultura mundial (Lightner, 2011; Escobedo-Bonilla, 2013).

Virus	Familia	Tamaño (nm) y/o forma de virión	Año de primer registro	Origen geográfico	Impacto económico global
Baculovirus penaei (BP)	<i>Baculoviridae</i>	312-320 L, 75-87 W, tetraédrico	1974	Golfo de México	desconocido
Monodon baculovirus (MBV)	<i>Baculoviridae</i>	267-326 L, 73-78 W, baciliforme	1981	Taiwan	desconocido
Baculovirus de la necrosis de la glándula digestiva (BMNV)	<i>Baculoviridae</i>	260-330 L, 50-70 W, baciliforme	1981	Japón, Korea	desconocido
Virus de la necrosis infecciosa hematopoyética e hipodérmica (IHHNV)	<i>Parvoviridae</i>	18-26, icosaedro	1981	Hawai	0.5-1.0 billones USD
Parvovirus hepatopancreático (HPV)	<i>Parvoviridae</i>	18-26, icosaedro	1984	China, Singapur	desconocido
Virus del síndrome de cabeza amarilla (YHV)	<i>Roniviridae</i>	150-170 L, 40-50 W, baciliforme	1990	Tailandia	0.1-0.5 billones USD
Virus del síndrome de Taura (TSV)	<i>Dicistroviridae</i>	31-32, icosaedro	1992	Ecuador	1.0-2.0 billones USD
Virus del síndrome de mancha blanca (WSSV)	<i>Nimaviridae</i>	210-380 L, 70-167 W, baciliforme	1992	Taiwán	> 7.0 billones USD
Virus de mionecrosis infecciosa (IMNV)	<i>Totiviridae</i>	40 ± 1.3 nm, icosaedro	2002	Brasil	desconocido

En México, la camaronicultura como industria comenzó en la década de 1970 en sistemas de canales en Sonora, con el cultivo del camarón azul *Litopenaeus stylirostris* y el camarón café *F. californiensis*. En 1972 se inició el cultivo de camarón con post-larva silvestre en Sinaloa y en 1982 en Nayarit (Cabrera-Jimenez y García-Calderón, 1982). En esos años la producción de camarón dependía básicamente de hacer un buen manejo de los animales y cuidar la alimentación para obtener buena producción.

Desde mediados de la década de 1980 apareció el virus de la necrosis infecciosa hipodérmica y hematopoyética (IHHNV) en el noroeste de México y causó pérdidas a la acuicultura del camarón azul (Pantoja et al., 1999). Este patógeno contribuyó a que el camarón blanco *L. vannamei* se estableciera en varios cultivos del noroeste de México, ya que es menos susceptible a la infección por este virus (Lightner et al., 1983; Morales-Covarrubias y Chávez-Sánchez 1999). El IHHNV no causó mortalidad en cultivos de camarón blanco; solamente en infecciones agudas deforma el rostro y retarda el crecimiento (fig. 7.3). Por ello fue posible desarrollar cultivos semi-intensivos de camarón blanco y se redujo el cultivo de camarón azul.

En 1995 apareció el virus del síndrome de Taura (TSV), el cual provocó mortalidades de hasta 90% en el camarón blanco cultivado y en poblaciones silvestres (Escobedo-Bonilla 1999; Zarain-Herzberg et al., 2001). En contraste, el camarón azul resultó ser poco susceptible a este virus, por lo que los productores cambiaron la especie de cultivo al camarón azul, e incluso se generaron líneas de camarón resistentes a patógenos específicos (SPR) contra TSV tanto de camarón blanco como azul (Escobedo-Bonilla 1999; 2016). Con esto la camaronicultura en el noroeste de México superó el severo impacto que tuvo el TSV.



Figura 7.3. La infección por IHHNV retrasa el crecimiento y hace que la población de camarones tenga tallas muy diferentes, lo cual causa pérdidas a los productores aún cuando IHHNV no provoque mortalidad (fotografía de Escobedo-Bonilla).

No obstante, en 1999 otra epizootia causada por el virus del síndrome de mancha blanca (WSSV) causó altas mortalidades y grandes pérdidas a los productores del noroeste de México (figs. 7.4 a - c) (Galaviz-Silva et al., 2004), sin importar la especie o línea de camarón que cultivaron. Este virus sigue afectando la camaronicultura en México y en el mundo (Escobedo-Bonilla et al., 2008).

Debido al impacto que tienen las enfermedades causadas por virus en el cultivo de camarón y otros crustáceos, es importante contar con recursos humanos, técnicos e infraestructura especializados en virología, con el fin de estudiar dichas enfermedades y proponer métodos de diagnóstico y control que puedan contribuir

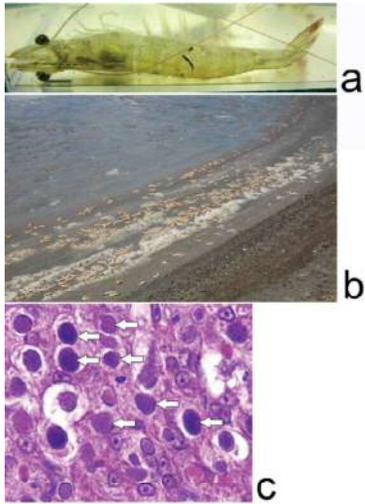


Figura 7.4. a) Signos clínicos (letargia, anorexia y coloración rojiza de urópodos) de un camarón infectado con WSSV. b) Apariencia de un brote infeccioso de WSSV en una granja. Los camarones muertos por la infección son llevados por oleaje a la orilla del estanque. c) cambios celulares (hipertrofia nuclear y cuerpos de inclusión basofílicos [flechas]) provocados por la infección de WSSV en estómago (fotografías de Escobedo-Bonilla).

a reducir el impacto de estos patógenos en la producción. Esta sección abordará algunos aspectos sobre la investigación virológica en el sector camaronícola del noroeste de México.

### Tendencias internacionales

A nivel mundial, las investigaciones sobre enfermedades infecciosas causadas por virus en camaronicultura están enfocadas a cinco áreas principales: Líneas celulares de camarón, nuevos métodos de diagnóstico, interacción patógeno-hospedero a nivel molecular y celular, epizootiología molecular y metagenómica viral, y métodos de control. A continuación se describen estas áreas:

#### Líneas celulares de camarón

En vertebrados (incluyendo peces) e insectos existen líneas celulares continuas. En contraste, en invertebrados acuáticos (crustáceos o moluscos) no ha sido posible obtenerlas (Rinkevich 2005; Jayesh et al., 2012).

Desde hace 30 años se ha intentado producir cultivos primarios de células del camarón tigre negro *Penaeus monodon* con explantes de gónada y corazón (Chen et al., 1986). Desde entonces, diversos órganos y tejidos (linfoide, ovario, hepatopáncreas, hemocitos, etc.) han sido usados para explantes y cultivos celulares primarios (Wenfeng 2015). Con estos cultivos primarios se ha estimado el título infeccioso de virus como WSSV, el virus de cabeza amarilla

(YHV) y otros (Jayesh et al., 2012; Wenfeng 2015). El órgano linfoide de camarón es análogo al bazo de los vertebrados y ha sido usado exitosamente para producir cultivos celulares primarios y secundarios para estudiar el ciclo de replicación de WSSV (Itami et al., 1999; Jose et al., 2012; Wenfeng 2015).

Es seguro que continuarán los esfuerzos para obtener líneas celulares de camarón. Contar con cultivos celulares es muy importante para avanzar en el conocimiento de la patogénesis y otras características biológicas de virus que infectan invertebrados. Estos conocimientos ayudarán a entender los mecanismos de enfermedad, y servirán para proponer medidas de control eficaces contra ellas.

### Métodos de diagnóstico

Métodos de diagnóstico rápidos, sencillos y altamente específicos son la alternativa de elección en áreas con poca infraestructura, especialmente en países en desarrollo o en lugares remotos como las granjas de camarón. El diagnóstico temprano de enfermedades virales representa la primera línea del manejo de enfermedades y estrategias de control (Yang et al., 2014).

Los nuevos métodos de diagnóstico incluyen inmunoensayos de flujo lateral (flow-through immunoassay [FTA]), los cuales son rápidos y sensibles para uso en campo (Patil et al., 2013). El FTA permite detectar patógenos virales como WSSV (Sithigorngul et al., 2006; Cheng et al., 2007) en una suspensión de tejidos de camarón, de forma semejante a las pruebas de embarazo caseras (Sajid et al., 2015). El FTA es semejante al formato dot-blot con anticuerpos y puede ser tan sensible como el PCR punto final (Patil et al., 2013). Por otro lado, la amplificación isotérmica de ácidos nucleicos en sus diversas versiones, es una técnica más simple y barata que el PCR y podría reemplazarla en campo (Craw y Balachandran 2012). Estas incluyen la amplificación isotérmica mediada por un lazo (loop-mediated isothermal amplification [LAMP]) (Kono et al., 2004; Jaroenram et al., 2009) y la amplificación de oligos cruzados (crosspriming amplification [CPA]) (Yang et al., 2014).

Ambas técnicas han detectado WSSV en camarón y son una opción de diagnóstico para uso en granjas. La amplificación con polimerasa-recombinasa (recombinase polymerase amplification [RPA]) es una técnica rápida cuantitativa que amplifica exponencialmente copias de DNA a temperaturas de 39 a 42 °C sin necesidad de preparar o tratar el DNA genómico. El RPA puede ser cuantitativo y tan sensible como el qPCR y se ha usado también para detectar WSSV (Xia et al., 2014).

### **Interacción patógeno-hospedero a nivel molecular y celular**

Las nuevas tecnologías como la genómica, proteómica y metabolómica han sido aplicadas en varios aspectos de la acuicultura en los últimos 12 años, en programas de reproducción y selección de características de calidad, marcadores genéticos, aspectos inmunológicos, fisiológicos y de resistencia a enfermedades (Marks 2005; Dhar et al., 2008; Robalino et al., 2009; Rodrigues et al., 2012).

Actualmente se dispone de gran número de secuencias del DNA mitocondrial de varias especies de camarón incluyendo *L. vannamei*, *L. stylirostris* y *P. Monodon*. La caracterización de genes y sus productos se ha usado en los últimos años en el área de la camaronicultura como herramienta de selección reproductiva (Dhar et al., 2008) para conocer mecanismos moleculares en nutrición, sistema de defensa y estado de salud de especies de camarón (Robalino et al., 2009; Flegel y Sritunyalucksana 2011; Rodrigues et al., 2012). También se han generado miles de marcas de secuencias expresadas (expressed sequence tags [ESTs]) de especies de camarón y otros crustáceos que han contribuido a descubrir genes con función de defensa (Aoki y Hirono, 2005; Robalino et al., 2009). En cuanto a patógenos en camaronicultura, se han caracterizado proteínas estructurales y de regulación de la transcripción del virus WSSV (Tsai et al., 2004; Marks et al., 2005). A través de hibridación de supresión substractiva (suppression subtractive hybridization [SSH]) se han identificado mRNAs que están sobre- o sub-regulados en infecciones virales (Wang et al., 2006; Robalino et al., 2009). Con esta técnica se ha determinado la sobre-regulación de genes del sistema de defensa del camarón y la sub-regulación de otros en camarones infectados con WSSV (Wang et al., 2006).

Estudios en genómica y transcriptómica han permitido determinar la variación genómica de aislados de WSSV y así conocer el patrón de dispersión del virus e identificar genes relacionados con la virulencia de diferentes aislados de este virus (Marks 2005). Por otro lado, a través de estudios proteómicos se han detectado patógenos virales y se han caracterizado las proteínas estructurales de WSSV (Huang et al., 2002; Tsai et al., 2004). Igualmente, se identificaron genes que regulan la replicación viral (Li et al., 2003) y la alteración de proteínas en el órgano linfóide de camarones infectados con YHV (Bourchookarn et al., 2008).

### **Epizootiología molecular y metagenómica viral**

La epizootiología molecular en camaronicultura comenzó en 2004 cuando se evaluaron seis regiones variables (ORF23/24, ORF14/15, ORF75, ORF94, ORF125, transposasa) y una región parcial de la DNA polimerasa del genoma de WSSV como marcadores genéticos (Marks et al., 2004) para identificar diferentes aislados de WSSV en ocho regiones de Vietnam. Se encontró que las regiones variables ORF75 y ORF125 son adecuadas para estudiar la dispersión del virus a nivel local o regional (Dieu et al., 2004). Además, se encontraron diferencias en la estructura genética de WSSV en diferentes áreas de cultivo de camarón, sobre todo en el número de

repeticiones en tandem de las regiones variables. Hubo correlación entre la estructura de la población de WSSV, el estatus de brotes infecciosos y el sistema de cultivo. El número de repeticiones en la región ORF94 de WSSV se correlacionó estadísticamente con brotes infecciosos. La presencia de genotipos mixtos de WSSV se correlacionó con menos brotes infecciosos en los estanques. El uso de marcadores moleculares como ORF94 y ORF125 puede predecir el resultado de infecciones de WSSV en estanques (Dieu 2010).

En estudios de metagenómica viral utilizando secuenciación masiva se encontró un nuevo circovirus y dos nodavirus en el camarón rosado (*F. duorarum*). La metagenómica viral puede aumentar el conocimiento de virus en la acuicultura/maricultura y mejorar los programas de monitoreo rutinario de patógenos en esta actividad (Alavandi y Poornima 2012).

### **Métodos de control**

Desde los inicios de la camaronicultura han aparecido enfermedades virales que han causado pérdidas a la producción, y casi simultáneamente se han evaluado estrategias y productos con potencial antiviral para controlar epizootias.

Es posible que existan mecanismos antivirales específicos en el camarón, distintos al de vertebrados (Huang y Song, 1999). Observaciones en campo registraron que algunos animales supervivientes a brotes de WSSV son más resistentes a una segunda infección; esto se comprobó en condiciones experimentales, donde camarones supervivientes a una infección natural de WSSV tuvieron menor mortalidad que camarones sin exposición previa al virus cuando fueron inoculados con WSSV. Esto sugiere que el sistema de defensa del camarón puede activarse específicamente contra algún factor viral (Venegas et al., 2000). En esta lógica, se evaluaron distintas proteínas recombinantes virales (Witteveldt et al., 2004) o partículas virales inactivadas (Namikoshi et al., 2004) para activar el sistema de defensa antiviral. Estos trabajos reportaron mayor supervivencia en los camarones tratados.

Otros productos con posible efecto antiviral contra WSSV incluyen inmunoestimulantes (Sritunyalucksana et al., 1999) y probióticos (Ninawe y Selvin 2009). También se han evaluado plásmidos de DNA con genes que codifican proteínas estructurales de WSSV, los que mostraron una protección de 23 - 50% y el efecto antiviral duró hasta 50 días después del tratamiento (Rout et al., 2007).

El sistema de RNA de interferencia (RNAi) puede ser utilizado como una tecnología eficaz contra virus de camarón. En 2004 se demostró su presencia en el camarón y ha sido evaluado contra virus como TSV, YHV y WSSV (Robalino et al., 2004; Yodmuang et al., 2006; Escobedo-Bonilla et al., 2015). Se han propuesto formas de producir masivamente estas moléculas y de administrarlas por vía oral (Sarathi et al., 2010) para activar el sistema RNAi en camarón. Se ha reportado que tanto siRNAs como RNAdc activan este sistema.

En México se han producido moléculas de RNA de interferencia contra genes que codifican por proteínas estructurales (Mejía-Ruíz et al., 2011) y no estructurales (Escobedo-Bonilla et al., 2015) de WSSV. Las moléculas de RNAdc fueron las más efectivas contra el virus. El RNAi podría ser un método muy eficaz para reducir el impacto de enfermedades virales en campo, el cual podría ser económicamente viable una vez que se puedan producir a gran escala y administrar de forma masiva en los estanques.

### **Estado del desarrollo del área en el país. Necesidades particulares y prioridades para México**

La zona noroeste de México concentra el 88 % de la producción de camarón por acuicultura y el 95% de la superficie de cultivo en el país. En 2013 la producción de camarón cultivado tuvo un valor de casi cuatro mil millones de pesos (Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca, CONAPESCA, 2014).

A pesar de que la camaronicultura es una de las principales actividades de producción primaria, hay muchos rezagos en aspectos de sanidad animal donde incide la virología. Es evidente la falta en las granjas de personal técnico con conocimientos en patología/virología. También hay pocos investigadores expertos en estas áreas y son escasos tanto los laboratorios como los equipos disponibles para llevar a cabo investigación básica en diferentes aspectos de la replicación viral y de la interacción patógeno-hospedero, o bien para desarrollar y evaluar productos biotecnológicos para control viral.

Es necesario resolver estas deficiencias en el corto plazo, las cuales representan algunas de las necesidades más apremiantes en este campo, con el fin de ofrecer alternativas de manejo y control de las enfermedades virales en camaronicultura. Para esto, es necesario contar con apoyos económicos, académicos y de difusión para incentivar que estudiantes de nivel licenciatura y posgrado se interesen por las áreas de patología/virología/epizootiología de enfermedades virales en camarón.

Las técnicas de diagnóstico que se utilizan actualmente están basadas en PCR punto final y únicamente algunos centros de investigación cuentan con equipos y personal entrenado para hacer análisis con PCR tiempo real para cuantificar carga viral o medir la expresión de genes virales o genes de defensa del hospedero.

También es necesario desarrollar e implementar otras técnicas virológicas y moleculares para el diagnóstico y monitoreo de enfermedades virales en camaronicultura. Estas incluyen inmunoensayos (ELISA, inmunofluorescencia indirecta [IIF], inmunohistoquímica [IHC]), que son técnicas usadas como estándares de oro en virología, y que actualmente ningún centro de investigación relacionado con camaronicultura está aplicando en el noroeste de México.

También podrían desarrollarse métodos rápidos de diagnóstico como el inmunoensayo de flujo lateral. Técnicas moleculares como hibridación *in situ* [ISH] y tinciones dobles (anticuerpo-sonda de DNA), pueden también aplicarse en la investigación de la interacción hospedero-patógeno en camaronicultura. Otras técnicas moleculares para diagnóstico rápido que podrían aplicarse en campo serían el dot-blot con sondas de DNA marcadas con cromóforos.

Los productos para el control de virus en camaronicultura cuyo potencial se está estudiando actualmente son los probióticos y el RNA. Los probióticos pueden secretar una serie de moléculas que estimulen al sistema de defensa y con ello dificultar la entrada de patógenos al organismo, contribuyendo a mantener la salud del animal.

Actualmente, se estudia el efecto de la aplicación de probióticos en estanques como parte de bioflocs en sistemas de cultivo semi-intensivo hasta super-intensivo. Los bioflocs son la comunidad de microorganismos (bacterias, hongos, algas, protozoarios, zooplancton) que existe en sistemas de cultivo con alta densidad de siembra y bajo recambio de agua. Como resultado de estos sistemas, se producen grandes cantidades de nutrientes, y por el bajo recambio de agua, los nutrientes se acumulan en los sistemas, contribuyendo a la proliferación de la comunidad de microorganismos.

En México se han hecho estudios con RNAi como estrategia de control y se han obtenido resultados muy alentadores, pero hace falta apoyo económico del gobierno así como de los productores para avanzar en la producción masiva y de bajo costo de las moléculas efectoras de RNA de doble cadena, y evaluar su eficacia en condiciones de campo. Esta estrategia es muy prometedora como método preventivo contra WSSV y otros patógenos virales en camaronicultura.

Respecto a infraestructura, no existe un laboratorio regional de virología/patología en la zona norte de Sinaloa para hacer investigación y desarrollo tecnológico en virología y control. Esta zona representa la mayor superficie de cultivo de camarón del noroeste y del país (45%) y se produce alrededor del 30% de todo el camarón cultivado en México. Ha habido esfuerzos para establecer un Laboratorio de Virología y Patología Molecular en el CIIDIR-IPN Sinaloa, pero no se ha podido concretar. Se considera prioritario contar con este laboratorio para fortalecer la investigación en enfermedades virales de camarón en áreas de patogénesis, interacción patógeno-hospedero y control, y donde se pueden hacer estudios de virología en camaronicultura, implementar técnicas virológicas para estudiar enfermedades y aplicar métodos de control viral en camarón y otras especies, así como capacitar personal técnico en centros de investigación y en las granjas de producción. El apoyo de la Red Mexicana de Virología para gestionar este proyecto es muy importante.

Actualmente se está formando un Cluster Acuícola que agrupa a distintos actores (productores, proveedores, centros de investigación y órganos del Estado, entre otros) del sistema camarón en Sinaloa para resolver los diferentes problemas que afectan a la camaronicultura, incluyendo las enfermedades. En este Cluster, la academia apoyará los proyectos que los miembros definan como prioritarios para el desarrollo e impulso de la actividad. Se espera que aspectos de sanidad y control de enfermedades sean temas prioritarios y que incluyan proyectos como el desarrollo y evaluación de productos antivirales como moléculas de dsRNA, o el uso de probióticos, entre otros.

## Conclusiones y recomendaciones

La camaronicultura en México es una actividad relevante porque genera empleo en sectores vulnerables y produce alimento de alta calidad proteica. El país tiene la capacidad de aumentar la superficie de cultivo y el volumen de producción, pero antes tiene que resolver varios problemas, incluyendo el de las enfermedades virales.

Con el fin de reducir el impacto de infecciones virales se han desarrollado y evaluado experimentalmente algunas estrategias prometedoras, pero aún falta evaluarlas en campo. La necesidad de la industria de recursos humanos que hagan frente a las enfermedades y propongan métodos profilácticos o de control eficaces, hacen que la investigación en las áreas de patología/virología de camarón sea una herramienta valiosa para el desarrollo de esta actividad. Por ello es necesario motivar a los estudiantes de nivel licenciatura y posgrado para incorporarse a proyectos en las áreas de patología/virología/epizootiología de enfermedades virales en camarón, y contar con la infraestructura adecuada para llevar a cabo las tareas de investigación, formación de recursos humanos y vinculación con el sector productivo.

Se considera imperativo generar un laboratorio regional de virología y patología molecular en la zona norte de Sinaloa para contribuir con dichos objetivos.

### 7.3.3 Virología de Moluscos

#### Introducción

Los moluscos bivalvos y gasterópodos son invertebrados que se caracterizan por tener un cuerpo blando cubierto; en el caso de los moluscos bivalvos, por una concha formada por dos valvas unidas por una charnela o bisagra, mientras que los gasterópodos están cubiertos por una concha simple. Los moluscos bivalvos incluyen ostiones, mejillones y almejas mientras que los moluscos gasterópodos incluyen a los abulones. Ambos grupos habitan los litorales de todo el mundo y han sido utilizados como fuente de alimento rico en proteínas, además de ser usados como ornamento.

La enorme demanda de alimentos que actualmente requiere la población humana (> 7.5 mil millones de personas) ha propiciado la sobre-explotación de las poblaciones naturales de estos animales y ha impulsado su cultivo. Los moluscos bivalvos, por ser consumidores primarios filtro-alimentadores, no requieren de alimentación artificial para su engorda y se cultivan exitosamente en todo el mundo. Los abulones, por su parte, son herbívoros, y su cultivo se ha desarrollado con éxito especialmente en Asia.

De acuerdo con las estadísticas de la FAO (2012), en 2010 los moluscos representaron el 23.6% de la producción pesquera mundial, incluyendo pesca y acuicultura. La producción de moluscos bivalvos por pesca y acuicultura se ha incrementado en los últimos 50 años de casi 1 millón de toneladas en 1950 a cerca de 13.1 millones de toneladas en 2010.

Los principales componentes de la producción de moluscos en 2010 fueron las almejas, los ostiones y los mejillones. Entre los principales productores de moluscos cultivados están China, Japón, Estados Unidos, la República de Corea, Tailandia, Francia, España, Chile y México. El cultivo de moluscos bivalvos en América Latina y el Caribe alcanzó en el 2005 128,410 toneladas con un valor estimado en 432 millones de dólares (Lovatelli et al., 2008). Por otra parte, el cultivo de moluscos gasterópodos, representados por los abulones (*Haliotis* spp.), ha cobrado gran importancia a nivel mundial por su elevado precio en el mercado y la generación de divisas. En 2013 su producción por cultivo a nivel mundial alcanzó las 103,464 toneladas (Cook, 2014; Hoshino et al., 2015).

Las enfermedades en el cultivo de los moluscos bivalvos y gasterópodos resultan devastadoras, y es importante comprender esto para que esta actividad continúe con éxito. Estos grupos de moluscos se ven afectados por diversas enfermedades infecciosas causadas por virus, bacterias, hongos, protozoos y metazoos. De éstas, las enfermedades virales son de especial importancia por el efecto negativo que tienen sobre las poblaciones y su muy difícil prevención y control.

Entre las enfermedades que mayores pérdidas causan en la producción de ostreidos y haliótidos cultivados en el mundo, están las causadas por el herpesvirus del ostión HVOs-1 y el herpesvirus de la ganglioneuritis del abulón, ambos de la familia *Malacoherpesviridae* (Davison et al., 2009; Savin et al., 2010). El HVOs-1 y sus variedades han causado pérdidas catastróficas. En Francia, la producción del ostión del Pacífico, *Crassostrea gigas*, cayó de 130,000 toneladas en 2008 a 80,000 toneladas en 2011 después de la aparición de un brote del HVOs-1 $\mu$  Var (Richez, 2012).

Por otra parte, el virus de la ganglioneuritis que afecta al sistema nervioso del abulón de labio verde (*Haliotis laevis*), abulón de labio negro (*Haliotis rubra*) y a los híbridos de dichas especies, provocó mortalidades que alcanzaron del 70 al 80% entre los abulones cultivados en Taiwán en 2003 (Chang et al., 2005).

Hoy se sabe que además de *Herpesvirus*, existen miembros de las familias *Iridoviridae*, *Papovaviridae*, *Togaviridae*, *Retroviridae* y *Reoviridae* que afectan a los moluscos bivalvos y gasterópodos (Farley et al., 1972; Comps et al., 1976; Meyers, 1979; Elston, 1997; Elston y Wilkinson, 1985; Kitamura et al., 2002). Si bien los estudios de virología en moluscos se han visto limitados por la carencia de líneas celulares apropiadas, la epizootiología y la virología molecular han permitido tener importantes avances que han servido para implementar estrategias de mitigación de las enfermedades virales.

Por otro lado, se están evaluando nuevos métodos de control de enfermedades en moluscos, como el uso de bacteriófagos, lo que representa otra vertiente prometedora de la virología en este campo. Hay que destacar que en el medio acuático, las condiciones propias del cultivo de moluscos en aguas costeras abiertas hacen particularmente difícil prevenir y/o controlar este tipo de enfermedades. A continuación se describen los principales grupos de virus, su efecto en la producción y su posible control.

## Principales virus de moluscos

### *Herpesvirus del ostión HVOs-1*

La primera descripción de un virus tipo herpes en moluscos fue documentada por Farley et al. (1972) en el ostión Americano *Crassostrea virginica* sin que llamara mucho la atención de productores e investigadores. En 1991 un herpesvirus fue considerado el agente causal de altas mortalidades de larvas del ostión del Pacífico *C. gigas* en Francia y en Nueva Zelanda (Hine et al., 1992; Nicolas et al., 1992). En el verano de 1992 y 1993 episodios esporádicos de altas mortalidades (80-100%) de larvas se registraron en varios laboratorios larvarios en Francia, que nuevamente se asociaron con la presencia de herpesvirus (Renault et al., 1994). Otras infecciones por herpesvirus fueron registradas en Francia en semillas y larvas en la ostra plana *Ostrea edulis* (Comps y Cochenec 1993; Renault et al., 2001). Este tipo de virus también se encontró en adultos de la ostra australiana *O. angasi* (Hine y Thorne, 1997), en larvas de la ostra chilena *Tiostrea chilensis* en Nueva Zelanda (Hine, 1997; Hine et al., 1998), en larvas de la almeja Manila *Ruditapes philippinarum* y en larvas de los pectínidos *Pecten maximus* en Francia y *Chlamys farreri* en China (Renault y Lipart, 1998; Arzul et al., 2001a; Arzul et al., 2001b; Renault y Arzul, 2001; Tang et al., 2010). También se ha encontrado en juveniles de la almeja mano de león *Nodipecten subnodosus* (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2011) y en semilla del ostión Kumamoto *Crassostrea sikamea* en México (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2013).

El herpesvirus del ostión fue clasificado como miembro de la familia *Herpesviridae*, bajo el nombre de Herpesvirus del Ostión 1 (HVOs-1) (Minson et al., 2000). En 2005, Davison et al. caracterizaron morfológica y genéticamente al HVOs-1 utilizando técnicas de crio-microscopía electrónica y de biología molecular. La secuenciación de las proteínas de la cápside mostró que el

HVOs-1 representa un tercer tipo de herpesvirus, comprendido dentro de la familia *Malacoherpesviridae*. En el verano del 2008 se registraron en Francia mortalidades dramáticas (80 al 100%) de *C. gigas* (Cochennec-Laureau et al., 2009). El análisis genético demostró que se trataba de una forma más virulenta del mismo virus, que se denominó como HVOs-1  $\mu$ Var (Segarra et al., 2010). Actualmente se sugiere que existen distintas variedades del HVOs-1 en Francia y otras regiones del mundo, pero su completa caracterización y sus posibles diferencias en virulencia no se han establecido con claridad (Friedman et al., 2005; Moss et al., 2007; Chávez-Romero et al., 2011; Martenot et al., 2011).

La patogénesis de este herpesvirus se demostró por transmisión experimental de la enfermedad a larvas axénicas de *C. gigas* (Le Deuff et al., 1994). Le Deuff et al. (1996) encontraron que altas temperaturas (25-26°C) promovieron una producción temprana de partículas virales, asociadas con elevadas mortalidades de larvas del ostión del Pacífico *C. gigas*, con respecto a menores temperaturas (22-23 °C). Este trabajo, y otros (Le Deuff et al., 1996; Sauvage et al., 2009), sugieren que un incremento rápido en la temperatura del agua debe considerarse como un factor crítico en el desarrollo de la enfermedad. Por su parte, Arzul et al. (2001c) demostraron la transmisión viral interespecífica del herpesvirus entre la almeja manila *Ruditapes philippinarum* y *C. gigas*, así como de *C. gigas* a larvas de los ostreidos *Crassostrea angulata*, *Crassostrea rivularis* y *Ostrea edulis*. Se desconoce si esta transmisión se presenta en poblaciones silvestres o sólo en laboratorios de producción larvaria.

Los herpesvirus se han encontrado en larvas y semillas y en muy pocos casos en adultos, lo que sugiere que los adultos son menos susceptibles a la enfermedad, pero podrían actuar como portadores asintomáticos (Arzul et al., 2002; Vásquez-Yeomans et al., 2010). Se ha sugerido que después de la infección primaria, el virus es capaz de permanecer en su hospedero sin inducir la enfermedad o mortalidad (Arzul et al., 2002). Esta capacidad de persistir es común en todos los miembros de la familia *Herpesviridae* (Davison, 2010).

También se sospecha de una posible transmisión vertical ya que Hine et al. (1992) encontraron infecciones de HVOs-1 en larvas de seis días de edad provenientes de padres infectados, pero no así en larvas de otros reproductores de diferente origen. En contraste, Barbosa et al. (2005) reportaron que la detección de DNA viral en progenitores no corresponde sistemáticamente a una infección de la progenie, y también sugieren que las hembras infectadas por el HVOs-1 pueden transmitir algún tipo de protección o resistencia a su progenie contra la infección viral. Se requieren más estudios para confirmar si existe o no transmisión vertical.

Otro factor a destacar en los episodios de mortalidad de ostión asociados a herpesvirus (HVOs-1 y HVOs-1  $\mu$ Var) es que se han encontrado infecciones concurrentes con *Vibrio splendidus* y otros vibrios (Dégremont, 2011; Renault, 2011).

### *Herpesvirus del ostión en México*

Las primeras evidencias de la presencia de virus tipo herpes en *C. gigas* cultivado en Baja California fueron hechas por microscopía electrónica de transmisión (Vásquez-Yeomans et al., 2004a) (fig. 7.5). Posteriormente se confirmó mediante pruebas moleculares (PCR e hibridación *in situ*) que el virus corresponde al herpesvirus del ostión HVOs-1 (Vásquez-Yeomans y Cáceres-Martínez, 2004b; Vásquez-Yeomans, 2006; Vásquez-Yeomans et al., 2010). Más tarde se reportó la posible existencia de diferentes variedades del HVOs-1 en el noroeste de México (Chávez, 2011; Chávez et al., 2011).

El seguimiento de episodios de mortalidad en el noroeste de México mediante análisis moleculares ha permitido observar su asociación directa con el HVOs-1 (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans, 2013). Los episodios de mortalidades son recurrentes; en Baja California suceden principalmente en verano-otoño y en Baja California Sur y Sonora en invierno-primavera, coincidentes con cambios abruptos de temperatura, confirmando las observaciones de Le Deuff et al. (1996) y Sauvage et al. (2009) mencionadas anteriormente. Los organismos afectados son fundamentalmente semilla, con rango de talla de 2 a 30 mm. También son afectados los "juveniles" de hasta 60 mm de longitud total de la concha, lo cual también coincide con los reportes con relación a que los ostiones adultos son menos susceptibles a la enfermedad.

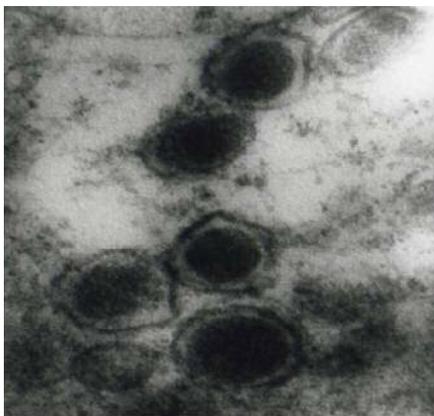


Figura 7.5.- Herpesvirus del ostión Japonés *Crassostrea gigas* cultivado en Baja California, México, observado por microscopía electrónica de transmisión (fotografía de Cáceres-Martínez).

En Francia, Irlanda, Australia y otros países en donde se ha detectado al HVOs-1 y/o sus variedades, se han establecido programas de manejo y control de la enfermedad (Richez, 2012).

En México, Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans (2013) han sugerido las siguientes medidas de manejo para prevenir y controlar al herpesvirus del ostión:

- Evitar la introducción de moluscos bivalvos provenientes de zonas con antecedentes de presencia de HVOs-1y HVOs-1  $\mu$ Var y evitar la exportación de organismos provenientes de zonas con antecedentes de presencia HVOs-1y HVOs-1  $\mu$ Var hacia zonas libres de herpesvirus.

- Después de la aparición del HVOs-1  $\mu$ Var, nuevas variantes siguen emergiendo (Martenot et al., 2011; Chávez, 2011; Chávez et al., 2011). El número de mutaciones depende del número de ciclos de replicación durante la fase infectiva del virus (Shors, 2008); por lo tanto, es sumamente importante controlar los eventos de mortalidad ya que estos pueden favorecer la aparición de mutantes.

- En la medida de lo posible, después de un brote de herpesvirus del ostión es necesario sanitizar la instalación y/o antes del cultivo. Los ostiones muertos, incluyendo las conchas, deben ser retirados y tratados con cloro.

- Solicitar los certificados sanitarios para la comercialización de moluscos bivalvos.

- Vigilar el cumplimiento de las buenas prácticas de producción acuícola.

- Evitar la introducción de especies exóticas sin un estudio previo de carga parasitaria.

### *Ganglioneuritis viral del abulón (GVA)*

El primer registro de un episodio de mortalidad masiva de abulones cultivados asociados a un herpesvirus ocurrió en Taiwán en enero de 2003 (Chang et al., 2005). La mortalidad del abulón *Haliotis diversicolor supertexta* fue de 70 - 80% y afectó tanto a juveniles como adultos. Análisis por histopatología, microscopía electrónica de transmisión e infectología demostraron la presencia de un herpesvirus que afectaba a los ganglios del sistema nervioso. El análisis genético del virus, mostró un alto grado de similitud de secuencia en tres regiones comunes y parecen compartir ascendencia con el HVOs-1 del ostión (OIE, 2012; Savin et al., 2010). Este virus del abulón se ha incorporado tentativamente, como el segundo miembro de la clase *Malacoherpesviridae*. En este sentido, Savin et al. (2010) sugieren la creación del género *Haliotivirus*.

A esta enfermedad se le denominó ganglioneuritis viral del abulón (GVA) y se trata de una enfermedad aguda altamente contagiosa para diferentes especies de abulón (*Haliotis laevis*, *Haliotis rubra*, su híbrido y *H. diversicolor supertexta*), como se reportó en Australia y Taiwán (Chang et al., 2005; Crane et al., 2013; Hooper et al., 2007; OIE, 2012). Los signos externos de la enfermedad comprenden retracción del manto y rigidez muscular; a nivel tisular se aprecia que el sistema nervioso es el tejido blanco primario para la infección. También se observan lesiones en el tejido

nervioso y en el tejido muscular del pie así como en el esófago e intestino (Chang et al., 2005).

Los ensayos de infectología, realizados por los mismos autores, utilizando el sobrenadante de un filtrado de tejido infectado de *H. diversicolor supertexta*, indujeron el 100% de mortalidad tres días después de la aparición de signos clínicos. Este mismo cuadro clínico asociado con mortalidades inusuales en el abulón de labio verde *Haliotis laevis*, y de labio negro *Haliotis rubra*, así como sus híbridos, se presentó en el sur de Australia en diciembre de 2005 y enero de 2006.

No se conocen tratamientos antivirales y, si los hubiera, su aplicación en condiciones de cultivo representa todo un reto tecnológico, ya que es prácticamente imposible suministrar el medicamento vía inyección a organismos que viven dentro de su concha o disueltos en el agua en ambientes costeros abiertos en donde es imposible controlar a las corrientes y mareas. En su caso, un tratamiento antiviral solamente podría ser utilizado en condiciones de producción de moluscos en laboratorio. Por ello, la prevención y el extremar medidas de bioseguridad en granja y en las pesquerías representan la mejor opción para controlar esta enfermedad. La OIE recomienda controlar estrictamente el movimiento de lotes y, en caso de que se produzca un brote, se recomienda la destrucción del lote afectado, la desinfección del agua y equipos y extremar las medidas de bioseguridad (OIE, 2012).

#### *Iridovirus*

El primer reporte de observaciones ultraestructurales de virus asociados a mortalidades masivas en el ostión portugués, *C. angulata*, se debe a Comps et al. (1976), que mencionan la presencia de zonas con partículas virales en el citoplasma de células hipertrofiadas o células gigantes polimórficas. Las características mostradas, y en particular su modo de desarrollo, lo relacionan con el grupo de los iridovirus. Estos virus causaron mortalidades tan significativas que destruyeron casi totalmente los cultivos del ostión *C. angulata* en Francia. Posteriormente esta enfermedad se reportó en *C. angulata* y *C. gigas* de España y Portugal, aunque no se obtuvo información sobre el modo de transmisión del virus ni se indujo experimentalmente la enfermedad. Mortalidades masivas en larvas de *C. angulata* en Francia entre 1970 y 1973 también fueron atribuidas a un Iridovirus. Esta enfermedad se denominó infección hemocítica viral o HIV. Los organismos mostraron una decoloración en la glándula digestiva, ruptura del tejido conectivo e infiltración hemocítica (Comps et al., 1976).

En 1978, Leibovitz et al. atribuyeron mortalidades de larvas de *C. gigas* a un virus tipo iridovirus. El virus afectó a larvas de 150 µm y causó lesiones en el velo y otros epitelios ciliados, por lo que se conoce como enfermedad del velo del ostión (Oyster Velar Virus Disease, OVVD). La presencia estacional de la OVVD sugiere que existe uno o varios hospederos secundarios que funcionan

como reservorios y que permiten reinfectar a las larvas de ostión. Una posibilidad del hospedero alternativo pudieran ser los ostiones adultos, pero no se han encontrado evidencias de la presencia del virus en los organismos adultos. Actualmente se desconocen los factores ambientales que afectan la susceptibilidad de las larvas a esta enfermedad y no ha habido nuevos reportes de mortalidades inusuales asociadas con este tipo de virus.

#### *Papilomavirus*

La presencia de un virus de la familia *Papillomaviridae* se ha asociado con la hipertrofia en células gonádicas en el ostión americano *C. virginica* en Estados Unidos y Canadá (Farley, 1976; McGladdery y Stephenson, 1994). La replicación viral provoca una hipertrofia masiva de los gametos y del epitelio germinal, lo que se conoce como hipertrofia gametocítica viral (HGV). Aunque se aprecia una respuesta celular del hospedero con la agregación de hemocitos, su presencia no se ha asociado a mortalidades masivas (Meyers, 1981; Winstead et al., 1998; McGladdery, 1999). Infecciones similares se reportan en *C. gigas* cultivado en México sin consecuencias en la producción (Cáceres-Martínez y Vásquez- Yeomans 2003).

#### *Otros virus*

Virus de la familia *Birnaviridae* han sido aislados de la glándula digestiva de *Tellina tenuis*, *C. gigas*, *C. virginica* y *O. edulis* utilizando líneas celulares de peces. Infecciones experimentales con estos virus en ostión causaron extensas infiltraciones hemocíticas y necrosis en la glándula digestiva, pero no se ha determinado con claridad su efecto en la mortalidad de los hospederos y por tanto su relación con pérdidas económicas.

Las enfermedades virales en moluscos comienzan a emerger, no porque no existiesen anteriormente, sino porque hay nuevas y mejores herramientas que ayudan a detectar y estudiar los virus de invertebrados. Hoy se sabe que virus de las familias *Togaviridae*, *Retroviridae* y *Reoviridae* también afectan a los moluscos (Vásquez- Yeomans, 2006).

Sin duda alguna la importancia de estas enfermedades de invertebrados de gran valor económico, como el camarón, han impulsado su estudio en otras especies.

#### **Tendencias internacionales**

A principios del siglo XX se sugirió el uso de bacteriófagos como agentes terapéuticos para bacterias patógenas como una alternativa ante la aparición de resistencias a los antibióticos. Actualmente, la preparación de fagos purificados y el conocimiento molecular de los mismos hacen que esta sea una alternativa terapéutica viable (Ronda et al., 2003).

En la acuicultura se han logrado aislar los fagos de la familia *Siphoviridae* PLGY y PLGW, que infectan a *Lactococcus garviae*, bacteria oportunista que ha causado graves pérdidas del jurel (*Seriola quinqueradiata*), pez marino muy apreciado en Japón. Los resultados han sido promisorios (Nakai et al., 1999; Nakai y Park, 2002). También se han aislado los fagos PPpW-3 (*Myoviridae*) y PPp-W4 (*Siphoviridae*) y se han usado experimentalmente contra *Pseudomonas plecoglossicida*, bacteria altamente patógena para el ayu (*Plecoglossus altivelis*), un pez de agua dulce muy valorado en Japón y los resultados han sido también prometedores (Park et al., 2000). Recientemente se ha descubierto a un bacteriófago del orden *Caudovirales*, provisionalmente considerado dentro de la familia *Siphoviridae* (Cruz-Flores y Cáceres-Martínez, 2016), que infecta a la procarionta intracelular del orden *Rickettsiales* (*Candidatus Xenohalotis californiensis*) y que es el agente causal del síndrome de deshidratación del abulón (enfermedad de declaración obligatoria ante la OIE), que podría ser usado en fagoterapia para controlar esta enfermedad (Friedman et al., 2014).

Otra de las líneas de investigación obligadas en materia de virus en moluscos es la obtención de líneas celulares apropiadas que permitan estudiar a los virus. Si bien para el estudio de vertebrados, y en particular de peces, existen diversas líneas celulares (Pandey, 2013), en el caso de moluscos solo existe una línea celular del caracol de agua dulce *Biomphalaria glabrata* y no se ha usado para el estudio de virus (Yoshino et al., 2013).

Existen algunos trabajos para obtener líneas primarias celulares o líneas inmortales de abulón (*Haliotis* spp.) (Van Der Merwe et al., 2010; Kim et al., 2014), pero se requiere mayor investigación para lograr obtener dichas líneas. Las herramientas moleculares disponibles hoy en día, sin duda ayudarán a impulsar el avance de la virología en moluscos bivalvos y gasterópodos. En este sentido, es indispensable la colaboración entre grupos que se dedican al estudio de la virología en toda la escala zoológica (mamíferos, vertebrados e invertebrados).

Finalmente, es importante destacar que en particular los moluscos bivalvos, al ser filtro-alimentadores, pueden retener virus que sin ser patógenos para ellos sí pueden ser zoonóticos; tal es el caso del virus de la hepatitis humana, por lo cual es altamente recomendable consumir moluscos bivalvos únicamente de zonas certificadas por las autoridades sanitarias correspondientes.

### Estado del desarrollo de la virología de moluscos en México

El desarrollo de la virología de moluscos en México país es incipiente. Los pocos estudios hechos se deben al herpesvirus de ostión HVOs-1.

Los primeros indicios sobre la presencia de enfermedades virales en ostiones cultivados ocurrió en 1997–1998, cuando se realizaron muestreos de *C. gigas* afectados por mortalidades inusuales

en la Bahía de San Quintín, Baja California (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans 2003). La revisión de las muestras indicó una alta prevalencia e intensidad de ejemplares con las branquias erosionadas cuyo análisis histológico reveló la presencia de células gigantes. Estas lesiones mostraron una gran similitud con aquellas asociadas a una infección por iridovirus en el ostión portugués *C. angulata* (Comps et al., 1976). Posteriormente se demostró que se trataba del herpesvirus del ostión HVOs-1 (Vásquez-Yeomans et al., 2004a; Vásquez-Yeomans et al., 2010).

A partir de su descubrimiento, los escasos estudios realizados sobre el HVOs-1 en México se han orientado a estimar su estacionalidad, impacto en la producción y a establecer medidas de manejo, por parte de los productores, para su control (Cáceres-Martínez y Vásquez-Yeomans 2013).

### Prioridades de investigación en la virología de moluscos en México

Se considera prioritario hacer estudios sobre la caracterización molecular de herpesvirus de ostión, debido al efecto negativo que tiene en la producción ostrícola del noroeste de México. También es necesario determinar si las variedades encontradas están asociadas con una mayor virulencia. Se requiere entender la dinámica de la infección viral en cultivos y diseñar estrategias para su control.

Se requiere de un programa multidisciplinario de investigación a nivel del noroeste de México, que es la zona en donde se encuentra el HVOs-1, para generar los conocimientos básicos y aplicados para controlar a este virus. Es necesario ampliar el estudio de la virología de moluscos a virus emergentes y a virus que sin ser patógenos para los moluscos, sí puedan ser zoonóticos.

Finalmente, es importante el estudio de los virus con fines terapéuticos, tal como lo podría ser el uso de bacteriófagos para el control de enfermedades bacterianas de moluscos, como el caso del bacteriófago hiperparásito de la rickettsia que afecta al abulón.

### Conclusiones y recomendaciones

El aumento en la demanda de moluscos bivalvos y gasterópodos en México y en el mundo para consumo humano, y la necesidad de proteger los bancos naturales de estas especies, ha favorecido el desarrollo de tecnologías de cultivo; sin embargo, inherente a este desarrollo está el conocimiento, prevención y control de las enfermedades que les afectan directamente y de aquellas que pueden ser transmitidas al ser humano por su consumo.

Entre estas enfermedades, las causadas por virus son de muy alto impacto, no sólo por la naturaleza propia de infecciones virales, sino también por la dificultad de implementar medidas de control

en ambientes costeros. La principal enfermedad viral que afecta a la producción de moluscos en México es el herpesvirus del ostión HVOs-1. En este sentido, se requiere de un programa multidisciplinario de investigación que genere las bases científicas para entender con precisión la dinámica de esta enfermedad y lograr su prevención y control. Este programa podría ser apoyado por la Red Mexicana de Virología, mediante la participación de expertos.

Es necesario el reconocimiento y fortalecimiento, por parte de SENASICA, de los laboratorios de diagnóstico virológico especializado que ya operan en el noroeste de México y retomar la figura de laboratorio de referencia de enfermedades de moluscos que existía dentro del Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE) antes de que las atribuciones en materia de sanidad acuícola se transfirieran al SENASICA en 2007.

Es urgente actualizar la normatividad vigente que data de principios de los años 90s, ya que han aparecido nuevas enfermedades y existen nuevas técnicas de diagnóstico y control que no se conocían entonces. Asimismo, es indispensable fortalecer la capacitación de productores, técnicos y autoridades pertinentes enfocada a los virus que afectan a los moluscos.

Es necesario que se conforme un sistema de vigilancia sanitaria para la detección temprana de posibles enfermedades virales emergentes; este sistema podría formar parte del programa multidisciplinario de investigación que se mencionó anteriormente. El estudio de los bacteriófagos que se encuentran en moluscos puede orientarse hacia la terapéutica de enfermedades bacterianas de los propios moluscos bajo un enfoque novedoso y prometedor ante el creciente uso de antibióticos. Esta temática de investigación podría apoyarse a través de las líneas prioritarias dentro de los diferentes programas de financiamiento que ofrece el CONACYT. Finalmente, es necesario abordar el tema de posibles enfermedades virales zoonóticas con apoyo de Centros de Investigación-CONACYT, la Comisión Federal para la Protección de Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) y la Red Mexicana de Virología.

#### 7.4 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES GENERALES

La acuicultura es una actividad con expansión acelerada en varios países en desarrollo debido a la creciente demanda de alimentos de alta calidad proteica y al mayor comercio de estos productos y subproductos. Varios de estos países aún no cuentan con servicios de sanidad acuícola con los cuales hacer un control de la calidad sanitaria para evitar el riesgo de enviar o introducir patógenos hacia o desde otras regiones.

En el caso de México, la importación de especies acuícolas o sus productos sin certificado sanitario representa una amenaza para la pesca y acuicultura nacional. En este sentido, SENASICA, a

través de los Comités Estatales de Sanidad Acuícola y de laboratorios reconocidos por dicha institución, se encargan de atender dicha certificación; es necesario sin embargo ampliar y fortalecer su capacidad instalada y nivel de especialización hacia enfermedades virales con la participación de universidades y centros de investigación que estudian dichas enfermedades y prestan servicios de diagnóstico a productores.

Derivado de lo anterior, se propone fortalecer la red de laboratorios de diagnóstico de SENASICA mediante la incorporación de centros de investigación y universidades con reconocida experiencia en el estudio de enfermedades virales. Así, la autoridad sanitaria nacional contaría con los mejores elementos científicos para el correcto diagnóstico de las enfermedades de notificación obligatoria ante la OIE, las consideradas por la legislación nacional y otras emergentes o endémicas de la región.

Varios centros de investigación en todo el país cuentan con personal académico experimentado para enfrentar los retos de enfermedades virales en acuicultura tanto de peces, crustáceos y moluscos, así como promover acciones de investigación, servicio al productor y capacitación técnica. No obstante, el CIIDIR-IPN Sinaloa, debido a que se encuentra en el municipio de Guasave (que tiene la mayor superficie de cultivo de camarón en el país), tiene especialmente este gran potencial para incidir directamente en las áreas de investigación en virología, servicios de diagnóstico y capacitación al personal técnico de granjas y laboratorios de producción en la zona norte de Sinaloa. La Red Mexicana de Virología podría apoyar a fortalecer estas acciones a través de una recomendación al SENASICA y para gestionar la instalación de un laboratorio regional de investigación y diagnóstico en el CIIDIR-IPN Sinaloa.

La formación de recursos humanos en virología es una tarea importante para el área acuícola. Los estudiantes en esta área son escasos y podrían tener un amplio campo de estudio en acuicultura. En esta actividad, como hemos visto en los apartados anteriores, existen muchos patógenos virales que afectan a diversas especies de animales cultivados, de los cuales se desconocen muchos aspectos de su biología y ciclo de replicación. Se conoce poco de otros virus emergentes en especies animales cultivadas así como de virus que pueden afectar a especies vegetales acuícolas.

Aunado a esto, se podrían desarrollar estrategias de capacitación, tales como talleres sobre técnicas virológicas y de diagnóstico, dirigido a personal relacionado con la sanidad acuícola tanto de la autoridad sanitaria nacional y sus comités de sanidad acuícola, como a personal de unidades de producción que realizan monitoreos sanitarios.

Desde el punto de vista académico y de investigación, es necesario profundizar los estudios sobre herpesvirus en moluscos y de otros patógenos virales en peces y crustáceos; también es importante

conocer la patogénesis de IHNV de camarón y de otros virus emergentes que son dañinos para la acuicultura de otras regiones, como el nodavirus de camarón (PvNV) y el totivirus causante de mionecrosis (IMNV), entre otros.

Además, es prioritario hacer estudios para obtener líneas celulares de organismos acuáticos que permitan el estudio de los virus, así como el desarrollo de métodos de control de patógenos virales. A la fecha se han descrito diversas estrategias, cuya eficacia antiviral se ha evaluado a nivel laboratorio o a pequeña escala, como el uso de inmunoestimulantes, vacunas y herramientas biotecnológicas como el RNAi. Se requiere un apoyo mayor para hacer estudios que puedan evaluar en campo éstos y otros métodos antivirales que puedan tener posible aplicación en acuicultura.

Otra área de investigación novedosa es el posible uso de bacteriófagos para el control de enfermedades bacterianas que afectan a los propios organismos acuáticos. Finalmente, también es necesario abordar el tema de posibles zoonosis de enfermedades virales causadas por organismos acuáticos.

## 7.5 BIBLIOGRAFIA

- Ahne, W., 1977. Evidence for the systemic character of *Rhabdovirus carpio* infection. Bull. Off. Int. Épizoot. 87, 435-436
- Ahne, W., Bjorklund, H.V., Essbauer, S., Fijan, N., Kurath, G., Winton, J.R., 2002. Spring viremia of carp (SVC). Dis. Aquat. Org. 52:261-272
- Alavandi, S.V., Poornima, M., 2012. Viral Metagenomics: A Tool for Virus Discovery and Diversity in Aquaculture. Indian J. Virol. 23, 88-98.
- Arzul, I., Renault, T., Lipart, C., 2001a. Experimental herpes-like viral infections in marine bivalves: demonstration of interspecies transmission. Dis. Aquat. Org. 46, 1-6.
- Arzul, I., Nicolas, J.L., Davison, A.J., Renault, T., 2001b. French Scallops: A new host for ostreid herpesvirus-1. Virology 290, 342-349.
- Arzul, I., Renault, T., Lipart, C., Davison, A.J., 2001c. Evidence for interspecies transmission of oyster herpesvirus in marine bivalves. J. Gen. Virol. 82, 865-870.
- Arzul, I., Renault, T., Thebault, A., Andre, G., 2002. Detection of oyster herpesvirus DNA and proteins in asymptomatic *Crassostrea gigas* adults. Virus Res. 84, 151-160.
- Aoki, T., Hirono, I., 2005. Characterization of Gene Expression of Biodefence-Related Genes of Kuruma Shrimp, *Marsupenaeus japonicus* Using Real-Time PCR Technology, in: Walker, P., Lester, R., Bondad-Reantaso, M.G. Eds., Diseases in Asian Aquaculture V. Fish Health Section, Asian Fisheries Society Manila, Philippines, pp. 437-446.
- Barbosa-Solomieu, V., Dégremont, L., Vazquez-Juarez, R., Ascencio-Valle, F., Boudry, P., Renault, T., 2005. Ostreid herpesvirus 1 detection among three successive generations of Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). Virus Res. 107, 47-56.
- Bardach, J.E., Ryther, J.H., McLaren, W.O., 1986. Acuicultura. Crianza y cultivo de organismos marinos y de agua dulce. Ed. AGT editor 741 p.
- Barrera-Mejía, M., Martínez, S., Ortega, C., Ulloa-Arvizu, R., 2011. Genotyping of infectious pancreatic necrosis virus isolates from Mexico State. J. Aquat. Anim. Health 23, 200-206.
- Batista, F.M., Arzul, I., Pepin, J.-F., Ruano, F., Friedman, C.S., Boudry, P., Renault, T., 2007. Detection of ostreid herpesvirus 1 DNA by PCR in bivalve molluscs: A critical review. J. Virol. Methods 139, 1-11.
- Bondad Reantaso, M.G., Subasinghe, R.P., Arthur, R.J., Ogawa, K., Chinabut, S., Adlard, R., Tan, Z., Shariff, M., 2005. Disease and health management in Asian aquaculture. Vet. Parasitology 132, 249-272
- Borrego, J.J., Valverde, E.J., Labella, A.M., Castro, D., 2015. Lymphocystis disease virus: its importance in aquaculture. Rev. Aqua. 0: 1-15.
- Bourchoukarn, A., Havanapan, P.-O., Thongboonkerd, V., Krittanai, C., 2008. Proteomic analysis of altered proteins in lymphoid organ of yellow head virus infected *Penaeus monodon*. Biochimica et Biophysica Acta 1784, 504-511.
- Cabrera-Jimenez, J.A., García-Calderón, J.L., 1986. Estado de la Acuicultura en México al término de 1982, in: AGT Ed., Acuicultura. Crianza y cultivo de organismos marinos y de agua dulce, México, D.F., pp. 721-741.
- Cáceres-Martínez, J., Vásquez-Yeomans, R., 2003. Presence of giant polymorphic cells in *Crassostrea gigas* cultured in Bahía Falsa, Baja California NW Mexico. J. Shellfish Res. 22, 711-714.
- Cáceres-Martínez, J., Vásquez-Yeomans, R., 2011. Informes de resultados sanitarios en almeja Mano de león *Nodipecten subnodosus* en la Laguna Ojo de Liebre (Reserva del Vizcaíno, B.C.S.). Documento interno. Instituto de Sanidad Acuicola, A. C.
- Cáceres-Martínez, J., Vásquez-Yeomans, R., 2013. Enfermedades, parásitos y episodios de mortalidad de ostiones de importancia comercial en México y sus implicaciones para la producción. Ciencia Pesquera 21, 5-48.
- Camus, A.C., 2004. Channel Catfish Virus Disease. Southern Regional Aquaculture Centre, Publication No. 4702. Aquatic Diagnostic Laboratory, College of Veterinary Medicine, Mississippi State University
- Cañas, L.L., Avendaño-Herrera, R., Fajardo, M.R., Valladares, C.B., Ortega, S.C., 2016. Caracterización de daños patológicos por el Rhabdovirus de la viremia primaveral de la carpa (SVCV) obtenido de carpa común (*Cyprinus carpio carpio*). XXV Congreso Nacional de Patología Veterinaria. Zacatecas, México. Mayo 2016.
- Cedillo, C., Rosalez, L.M., Constantino, F., 2001. Linfocitosis en peces tetra fantasma (*Parabassia baculis*) de la ciudad de México. Vet. Mex. 32, 73-76.
- Chang, P.H., Kuo, S.T., Lai, S.H., Yang, H.S., Ting, Y.Y., Hsu, C.L., Chen, H.C., 2005. Herpes-like virus infection causing mortality of cultured abalone *Haliotis diversicolor supertexta* in Taiwan. Dis. Aquat. Org. 65, 23-27.
- Chávez-Romero, Y.A., Cáceres-Martínez, J., Vásquez-Yeomans, R., García-Ortega, A.M., 2011. Genetic characterization of ostreid herpesvirus associated with mortalities of pacific oyster *Crassostrea gigas* in Northwestern México. 44rd Annual Meeting of the Western Society of Malacologists, La Paz, B.C.S., México, June 27-30.
- Chávez-Romero, Y.A., 2011. Caracterización genética del Herpesvirus del ostión asociado con mortalidades de *Crassostrea gigas* en el Noroeste de México. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, B. C., México.
- Chen, S., Chi, S.C., Kou, G.H., Liao, I.C., 1986. Cell culture from tissues of grass prawn, *Penaeus monodon*. Fish Pathol. 21, 161-166.
- Cheng, Q.-Y., Meng, X.-L., Xu, J.-P., Lu, W., Wang, J., 2007. Development of lateral-flow immunoassay for WSSV with polyclonal antibodies raised against recombinant VP (19+28) fusion protein. Virologica Sinica 22, 61-67.
- Cifuentes, L.M., Torres-García, P., Frías, M.M., 1997. El Océano y sus recursos. X. Pesquerías. Ed. Fondo de Cultura Económica, México. 160 p.
- Coffee, L.L., Bogdanovic, L.B., Cushing, T.L., Bowser, P.R., 2012. Pharyngeal Odontoma in an Adult Walleye (*Sander vitreus*). Vet. Pathol. 50, 483-487.
- CONAPESCA, 2013. Anuario estadístico de acuicultura y pesca, edición 2012, SAGARPA, Av. Camarón Sábalo s/n esquina Tiburón. Col. Sábalo Country Club, C.P. 82100. Mazatlán, Sinaloa México. Available from URL: <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadístico-de-acuicultura-y-pesca>.
- CONAPESCA, 2014. Anuario Estadístico de Acuicultura y Pesca, edición 2013, Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. SAGARPA, Av. Camarón Sábalo s/n esquina Tiburón Col. Sábalo Country Club, C.P. 82100. Mazatlán, Sinaloa México, p. 295. Available from URL: <https://www.gob.mx/conapesca/documentos/anuario-estadístico-de-acuicultura-y-pesca>.
- Cochenec-Laureau, N., Baud, J.P., Bedier, E., Boudry, P., Huvet, A., Nicolas, J.L., Pepin, J.F., Petton, B., 2009. Review of "Oysters *Crassostrea gigas* mortality days" Program P7 "Sustainable Aquaculture" December 8 - 9, 2009. Journées Sur mortalité des huîtres creuses du Programme P7 2009.
- Comps, M., Cochenec, N., 1993. A herpes-like virus from the European oyster *Ostrea edulis* L. J. Invertebr. Pathol. 62, 1-3.
- Comps, M., Bonami, J.R., Vago, C., Campillo, A., 1976. Une virose de l'huître portugaise (*Crassostrea angulata*). C. R. Acad. Sci. Paris Ser. D 282, 1991-1993.
- Cook, P.A., 2014. The worldwide abalone industry. Modern Economy 5, 1181-1186.
- Couch, J.A., 1974. An enzootic nuclear polyhedrosis virus of pink shrimp: Ultrastructure, prevalence, and enhancement. J. Invertebr. Pathol. 24, 311-331.

- Crane, M.S.J., Corbeil, S., Williams, L.M., McColl, K.A., Gannon, V., 2013. Evaluation of abalone viral ganglioneuritis resistance among wild abalone populations along the Victorian coast of Australia. *J. Shellfish Res.* 32, 67-72.
- Crane, M., Hyatt, A., 2011. Viruses of Fish: An Overview of Significant Pathogens. *Viruses*. 3: 2025-2046. doi:10.3390/v3112025.
- Craw, P., Balachandran, W., 2012. Isothermal nucleic acid amplification technologies for point-of-care diagnostics: a critical review. *Lab Chip* 12, 2469-2486.
- Cruz-Flores, R., Cáceres-Martínez, J., 2016. The hyperparasite of the rickettsiales-like prokaryote, *Candidatus Xenohalotis californiensis* has morphological characteristics of a *Siphoviridae* (Caudovirales). *J. Invertebr. Pathol.* 133, 8-11.
- Danovaro, R., Corinaldesi, C., Dell'Anno, A., Fuhman, J.A., Middelburg, J.J., Noble, R.T., Suttle, C.A., 2011. Marine viruses and global climate change. *FEMS Microbiol. Review* 35: 993-1034.
- Davison, A.J., Trus, B.L., Cheng, N., Steven, A.C., Watson, M.S., Cunningham, C., Le Deuff, R.M., Renault, T., 2005. A novel class of herpesvirus with bivalve hosts. *J. Gen. Virol.* 86, 41-53.
- Davison, A.J., Eberle, R., Ehlers, B., Hayard, G.S., McGeoch, D.J., Minson, A.M., Pellett, P.E., Roizman, B., Studdert, M.J., Thiry, E., 2009. The order Herpesvirales. *Arch. Virol.* 154, 171-177.
- Davison, A.J., 2010. Herpesvirus systematics. *Vet. Microbiol.* 143, 52-69.
- Dégremont, L., 2011. Evidence of Herpesvirus (OsHV-1) resistance in juvenile *Crassostrea gigas* selected for high resistance to the summer mortality phenomenon. *Aquaculture* 317, 94-98.
- Dhar, A.K., Read, B., Bullis, R.A., 2008. Shrimp, in: Kocher, T.D., Kole, C. Eds., *Genome mapping and genomics in fishes and aquatic animals*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, p. 174.
- Dieu, B.T.M., 2010. On the epidemiology and evolution of white spot syndrome virus of shrimp, Department of Plant Sciences. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, p. 142.
- Dieu, B.T.M., Marks, H., Siebenga, J.J., Goldbach, R.W., Zuidema, D., Duong, T.P., Vlak, J.M., 2004. Molecular epidemiology of white spot syndrome virus within Vietnam. *J. Gen. Virol.* 85, 3607-3618.
- Dikkerboom, A.L., Radic, C., Toohy-Kurth, K., Marcquenski, A., 2004. First report of spring viremia of carp virus (SVCV) in wild common carp in North America. *J. Aquat. Anim. Health* 16: 169-178.
- Elston, R., 1997. Special topic review: bivalve mollusc viruses. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 13, 393-403.
- Elston, R., Wilkinson, M.T., 1985. Pathology, management and diagnosis of oyster velar virus disease (OVVD). *Aquaculture* 48, 189-210.
- Escobedo-Bonilla, C.M., 1999. Susceptibilidad a un inóculo viral del síndrome de Taura en lotes de camarón blanco (*Litopenaeus vannamei* Boone 1931) y de camarón azul (*Litopenaeus stylirostris* Stimpson 1874) y su evaluación por histopatología e hibridación in situ. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlan, Sinaloa, p. 96.
- Escobedo-Bonilla, C.M., 2013. Application of RNA Interference (RNAi) against viral infections in shrimp: a review. *J. Antivir. Antiretrovirals* 5, 1-12.
- Escobedo-Bonilla, C.M., 2016. Emerging infectious diseases affecting farmed shrimp in Mexico. *Austin J. Biotechnol. Bioeng.* 3, 1062-1064.
- Escobedo-Bonilla, C.M., Alday-Sanz, V., Wille, M., Sorgeloos, P., Pensaert, M.B., Nauwynck, H.J., 2008. A review on the morphology, molecular characterization, morphogenesis and pathogenesis of white spot syndrome virus. *J. Fish Dis.* 31, 1-18.
- Escobedo-Bonilla, C.M., Vega-Peña, S., Mejía-Ruiz, C.H., 2015. Efficacy of double-stranded RNA against white spot syndrome virus (WSSV) non-structural (orf89, wsv191) and structural (vp28, vp26) genes in the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *J. King Saud Univ. - Science* 27, 182-188.
- FAO, 2003. Health management and biosecurity maintenance in white shrimp (*Penaeus vannamei*) hatcheries in Latin America, FAO Fisheries Technical Paper. No. 450. FAO Fisheries Department, Rome, Italy.
- FAO, 2012. The State of World Fisheries and Aquaculture 2012. Rome, Italy.
- FAO, 2016a. The State of World Fisheries and Aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. FAO, Rome, Italy.
- FAO, 2016b. FAO yearbook. Fishery and Aquaculture Statistics 2014, in: Statistics and Information Branch (Ed.). Fisheries and Aquaculture Policy and Resources Division, Fisheries and Aquaculture Department, Rome, Italy.
- Farley, C.A., Banfield, W.G., Kasnic, G., Forster, W., 1972. Oyster herpes-type virus. *Science* 178, 759-760.
- Fijan, N., 1999. Spring viremia of carp and other viral diseases and agents of warm water fish. *Fish diseases and disorders* P.T.K. Woo. London, CAB International. 3: 177-244.
- Fishstat Global Aquaculture Production, 2015. Fishstat, Statistics and Information Service. Fisheries and Aquaculture Department. Rome. Updated 7 April 2015. [Cited 18 July 2016].
- Flegel, T.W., 1997. Special topic review: Major viral diseases of the black tiger prawn (*Penaeus monodon*) in Thailand. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 13, 433-442.
- Flegel, T.W., 2006. Detection of major penaeid shrimp viruses in Asia, a historical perspective with emphasis on Thailand. *Aquaculture* 258, 1-33.
- Flegel, T.W., Sritunyaluksana, K., 2011. Shrimp Molecular Responses to Viral Pathogens. *Mar. Biotechnol.* 13, 587-607.
- Friedman, C.S., Estes, R.M., Stokes, N.A., Burge, C.A., Hargove, J.S., Barber, B.J., Elston, R.A., Burreson, E.M., Reece, K.S., 2005. Herpesvirus in juvenile Pacific oysters, *Crassostrea gigas* from Tomales Bay, California, coincides with summer mortality episodes. *Dis. Aquat. Org.* 63, 33-41.
- Friedman, C.S., Wight, N., Crosson, L.M., VanBlaricom, G.R., Lafferty, K.D., 2014. Reduced disease in black abalone following mass mortality: phage therapy and natural selection. *Front Microbiol.* 5, 1-10.
- Galaviz-Silva, L., Molina-Garza, Z.J., Alcocer-Gonzalez, J.M., Rosales-Encinas, J.L., Ibarra-Gamez, C., 2004. White spot syndrome virus genetic variants detected in Mexico by a new multiplex PCR method. *Aquaculture* 242, 53-68.
- Hine, P.M., Wesney, B., Hay, B.E., 1992. Herpesvirus associated with mortalities among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Dis. Aquat. Org.* 12, 135-142.
- Hine, P.M., 1997. Trends in research on diseases of bivalve molluscs. *Bull. Eur. Assn. Fish P.* 17, 181-183.
- Hine, P.M., Thorne, T., 1997. Replication of herpes-like viruses in hemocytes of adult flat oysters *Ostrea angasi*: an ultrastructural study. *Dis. Aquat. Org.* 29, 189-196.
- Hine, P.M., Wesney, B., Besant, P., 1998. Replication of a herpes-like virus in larvae of the flat oyster *Tiostrea chilensis* at ambient temperatures. *Dis. Aquat. Org.* 32, 161-171.
- Hooper, C., Hardy-Smith, P., Handlinger, J., 2007. Ganglioneuritis causing high mortalities in farmed Australian abalone (*Haliotis laevis* and *Haliotis rubra*). *Aust. Vet. J.* 85, 188-193.
- Hoshino, E., Gardner, C., Jennings, S., Hartmann, K., 2015. Examining the long-run relationship between the prices of imported abalone in Japan. *Mar. Resour. Econ.* 30, 179-192.
- Huang, C., Zhang, X., Lin, Q., Xu, X., Hu, Z., Hew, C.L., 2002. Proteomic analysis of shrimp white spot syndrome viral proteins and characterization of a novel envelope protein VP466. *Mol. Cell. Proteom.* 1, 223-231.
- Huang, C.C., Song, Y.L., 1999. Maternal transmission of immunity to white spot syndrome associated virus (WSSV) in shrimp (*Penaeus monodon*). *Dev. Comp. Immunol.* 23, 545-552.
- Itami, T., Maeda, M., Kondo, M., Takahashi, Y., 1999. Primary culture of lymphoid organ cells and haemocytes of kuruma shrimp, *Penaeus japonicus*. *Methods cell sci.* 21, 237-244.
- Jaroenram, W., Kiatpathomchai, W., Flegel, T.W., 2009. Rapid and sensitive detection of white spot syndrome virus by loop-mediated isothermal amplification combined with a lateral flow dipstick. *Mol. Cell. Probes* 23, 65-70.
- Jayesh, P., Seena, J., Bright-Singh, I.S., 2012. Establishment of Shrimp Cell Lines: Perception and Orientation. *Indian J. Virol.* 23, 244-251.
- Jose, S., Jayesh, P., Sudheer, N.S., Poulose, G., Mohandas, A., Philip, R., Bright-Singh, I.S., 2012. Lymphoid organ cell culture system from *Penaeus monodon* (Fabricius) as a platform for white spot syndrome virus and shrimp immune-related gene expression. *J. Fish Dis.* 35, 321-334.
- Kim, M.S., Nam, Y.K., Kim, D.S., Gong, S.P., 2014. Initial culture conditions for primary cell populations derived from radula tissue in abalone *Haliotis discus hannai*. *Fish Aquat. Sci.* 17, 385-390.
- Kitamura, S.-I., Tomaru, Y., Kawabata, Z., Suzuki, S., 2002. Detection of marine birnavirus in the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata* and seawater from different depths. *Dis. Aquat. Org.* 50, 211-217.
- Kongstorp, R.T., Kjerstad, A., Taksdal, T., Guttvik, A., Falk, K., 2004. Heart and skeletal

- muscle inflammation in Atlantic salmon, *Salmo salar* L.: a new infectious disease. *J. Fish Dis.* 27: 351–358.
- Kono, T., Savan, R., Sakai, M., Itami, T., 2004. Detection of white spot syndrome virus in shrimp by loop-mediated isothermal amplification. *J. Virol. Methods* 115, 59–65.
- Koonin, E.V., Senkevich, T.G., Dolja, V.V., 2006. The ancient Virus World and evolution of cells. *Biol. Direct.* 1: 1–27.
- Le Deuff, R.M., Nicolas, J.L., Renault, T., Cochenne, N., 1994. Experimental transmission of a herpes-like virus to axenic larvae of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. *Bull. Eur. Assn. Fish P.* 14, 69–72.
- Le Deuff, R.M., Renault, T., Gérard, A., 1996. Effects of temperature on herpes-like virus detection among hatchery-reared larval Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Dis. Aquat. Org.* 24, 149–157.
- Le Deuff, R.M., Renault, T., 1999. Purification and partial genome characterization of a herpes-like virus infecting the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *J. Gen. Virol.* 80(5), 1317–1322.
- Li, Q., Yang, F., Zhang, J., Chen, Y., 2003. Proteomic analysis of proteins that binds specifically to the homologous repeat regions of white spot syndrome virus. *Biol. Pharm. Bull.* 26, 1517–1522.
- Leibovitz, L., Elston, R., Lipovsky, V.P., Donaldson, J., 1978. A serious disease of larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*). *Proc. 9th Annual Meeting World Maricult. Soc.* 9, 603–615.
- Lightner, D.V., 2011. Virus diseases of farmed shrimp in the Western Hemisphere (the Americas): A review. *J. Invertebr. Pathol.* 106, 110–130.
- Lightner, D.V., Redman, R.M., 1998. Shrimp diseases and current diagnostic methods. *Aquaculture* 164, 201–220.
- Lightner, D.V., Redman, R.M., Bell, T.A., 1983. Infectious Hypodermal and hematopoietic Necrosis, a newly recognized virus disease of penaeid shrimp. *J. Invertebr. Pathol.* 42, 62–70.
- Liu, H., Gao, L., Shi, X., Gu, T., Jiang, Y., Chen, H., 2004. Isolation of spring viraemia of carp virus (SVCV) from cultured koi (*Cyprinus carpio koi*) and common carp (*C. carpio carpio*) in PR China. *Bull. Eur. Assoc. Fish. Pathol.* 24, 194–202.
- Lovatelli, A., Fariás, A., Uriarte, I., 2008. Estado actual del cultivo y manejo de moluscos bivalvos y su proyección futura: factores que afectan su sustentabilidad en América Latina. Taller Técnico Regional de la FAO. 20–24 de agosto de 2007, Puerto Montt, Chile. FAO Actas de Pesca y Acuicultura. No. 12. Rome.
- Marks, H., 2005. Genomics and transcriptomics of white spot syndrome virus. PhD Thesis, Department of Plant Sciences. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands, p. 152.
- Marks, H., Goldbach, R.W., Vlak, J.M., van Hulten, M.C.W., 2004. Genetic variation among isolates of white spot syndrome virus. *Arch. Virol.* 149, 673–697.
- Marks, H., Ren, X., Witteveldt, J., Sandbrink, H., Vlak, J.M., van Hulten, M.C.W., 2005. Transcription regulation and genomics of White Spot Syndrome Virus, in: Walker, P., Lester, R., Bondad-Reantaso, M.G. Eds., Diseases in Asian Aquaculture V. Fish Health Section. Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, pp. 363–377.
- Martenot, C., Oden, E., Travaillé, E., Malas, J.P., Houssin, M., 2011. Detection of different variants of Ostreid Herpesvirus 1 in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* between 2008 and 2010. *Virus Res.* 160, 25–31.
- McGladdery, S.E., Stephenson, M.F., 1994. A viral infection of the gonads of eastern oyster (*Crassostrea virginica*) from Atlantic Canada. *Bull. Aquac. Assoc. Can.* 94, 84–86.
- McGladdery, S.E., 1999. Shellfish diseases (viral, bacterial and fungal). In: Woo PTK, Bruno DW (eds.) *Fish Diseases and Disorders, Volume 3: Viral, Bacterial and Fungal Infections*. CABI Publishing, Wallingford, UK p 723–842.
- Mejía-Ruiz, C.H., Vega-Peña, S., Alvarez-Ruiz, P., Escobedo-Bonilla, C.M., 2011. Double-stranded RNA against white spot syndrome virus (WSSV) vp28 or vp26 reduced susceptibility of *Litopenaeus vannamei* to WSSV, and survivors exhibited decreased susceptibility in subsequent re-infections. *J. Invertebr. Pathol.* 107, 65–68.
- Meyers, T.R., 1979. A reo-like virus isolated from juvenile American oysters (*Crassostrea virginica*). *J. Gen. Virol.* 46, 203–212.
- Meyers, T.R., 1981. Endemic diseases of cultured shellfish of Long Island, New York: adult and juveniles American oysters (*Crassostrea virginica*) and hard clams (*Mercenaria mercenaria*). *Aquaculture* 22, 305–330.
- Minson, A.C., Davison, A., Eberle, R., Desrosiers, R.C., Fleckstein, B., McGeoch, D.J., Pellet, P.E., Roizman, B., Studdert, D.M.J., 2000. Family Herpesviridae. In: von Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carsten, E.B. Eds., *Virus Taxonomy, Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Academic Press, New York p 203–225.
- Morales-Covarrubias, M.S., Chávez-Sánchez, C., 1999. Histopathological Studies on Wild Broodstock of White Shrimp *Penaeus vannamei* in the Platanitos Area, Adjacent to San Blas, Nayarit, Mexico. *J. World Aquac. Soc.* 30, 192–200.
- Moss, J.A., Bureson, E.M., Cordes, J.F., Dungan, C.F., Brown, G.D., Wang, A., Wu, X., Reece, K.S., 2007. Pathogens in *Crassostrea ariakensis* and other Asian oyster species: implications for non-native oyster introduction to Chesapeake Bay. *Dis. Aquat. Org.* 77, 207–223.
- Murray, A.G., 2006. Persistence of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in Scottish salmon (*Salmo salar* L.) farms. *Prev. Vet. Med.* 76: 97–108.
- Nakai, T., Park, S.C., 2002. Bacteriophage therapy of infectious diseases in aquaculture. *Res. Microbiol.* 153, 13–18.
- Nakai, T., Sugimoto, R., Park, K.H., Matsuoka, S., Mori, K., Nishioka, T., Maruyama, K., 1999. Protective effects of bacteriophage on experimental *Lactococcus garviae* infection in yellowtail. *Dis. Aquat. Org.* 37, 33–41.
- Namikoshi, A., Wu, J.L., Yamashita, T., Nishizawa, T., Nishioka, T., Arimoto, M., Muroga, K., 2004. Vaccination trials with *Penaeus japonicus* to induce resistance to white spot syndrome virus. *Aquaculture* 229, 25–35.
- Negale, R.D., 1977. Histopathological changes in some organs of experimentally infected carp fingerlings with *Rhabdovirus carpio*. *Bull. Off. Int. Épizoot.* 87: 449–450.
- Nicolas, J.L., Comps, M., Cochenne, C., 1992. Herpes-like virus infecting Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. *Bull. Eur. Assn. Fish P.* 12, 11–13.
- Ninawe, A.S., Selvin, J., 2009. Probiotics in shrimp aquaculture: Avenues and challenges. *Crit. Rev. Microbiol.* 35, 43–66.
- OIE, 2012. Manual of diagnostic test for Aquatic Animals 2012. OIE, Paris.
- OIE, 2015. Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. OIE, Paris.
- OIE, 2016a. Código Sanitario para los Animales acuáticos, 16a ed. OIE, Paris. Available from URL: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/codigo-acuatico/acceso-en-linea/>
- OIE, 2016b. Manual de Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. OIE, Paris. Available from URL: <http://www.oie.int/es/normas-internacionales/manual-acuatico/acceso-en-linea/>
- OIE, 2016c. Código Sanitario para los Animales Acuáticos. [http://www.oie.int/index.php?id=171&L=2&htmfile=titre\\_1.10.htm](http://www.oie.int/index.php?id=171&L=2&htmfile=titre_1.10.htm)
- Ortega, C., Montes de Oca, R., Groman, D., Yason, C., Nicholson, B., Blake, S., 2002. Case report: viral infectious pancreatic necrosis in farmed Rainbow Trout from Mexico. *J. Aquat. Anim. Health* 14: 305–310.
- Ortega, C., 2012. Veterinary medical education and veterinary involvement in aquatic animal health and aquaculture in Mexico. *J. Vet. Med. Edu.* 39: 195–199.
- Ortega, C., Valladares, B., Arguedas, D., Vega, F., Montes de Oca, R., Murray, A., 2016. Distribution of Infectious Pancreatic Necrosis Virus (IPNV) based on surveillance programs in freshwater trout farms of Mexico. *J. Aquat. Anim. Health* 28(1): 21–26. DOI: 10.1080/08997659.2015.1131757
- Ortega, C., Valladares, B., 2015. Analysis on the development and current situation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farming in Mexico. *Rev. Aqua.* (online doi:10.1111/raq.12133).
- Pandey, G., 2013. Overview of fish cell lines and their uses. *Int. J. Pharm. Res. Sciences* 2(3), 580–590.
- Pantoja, C.R., Lightner, D.V., Holtschmit, K.-H., 1999. Prevalence and geographic distribution of Infectious Hypodermal and Hematopoietic Necrosis Virus (IHHNV) in wild blue shrimp *Penaeus stylirostris* from the Gulf of California, Mexico. *J. Aquat. Anim. Health* 11, 23–34.
- Paperna, I., 1973. Lymphocystis in fish from east African lakes. *J. Wildlife Dis.* 9: 331–335.
- Park, S.C., Shimamura, I., Fukunaga, M., Mori, K., Nakai, T., 2000. Isolation of bacteriophages specific to a fish pathogen, *Pseudomonas plecoglossida*, as a candidate for disease control. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 1416–1422.
- Patil, R., Shankar, K.M., Kumar, B.T.N., Kulkarni, A., Patil, P., Moger, N., 2013. Development of a monoclonal antibody-based flow-through immunoassay (FTA) for detection of white spot syndrome virus (WSSV) in black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *J. Fish Dis.* 36, 753–762.
- Pillay, T.V.R., Kutty, M.N., 2005. *Aquaculture. Principles and practices*, 2nd Ed. Blackwell Publishing Co., Oxford, U.K., p. 624.

- Renault, T., Le Deuff, R.M., Cochenec, N., Maffart, P., 1994. Herpesviruses associated with mortalities among Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in France-Comparative study. Rev. Med. Vet. 145(10), 735-742.
- Renault, T., Lipart, C., 1998. Diagnosis of herpes-like virus infections in oysters using molecular techniques. Eur. Aquac. Soc. Sp. Publ. 26, 235-236.
- Renault, T., Arzul, I., 2001. Herpes-like virus infections in hatchery-reared bivalve larvae in Europe: specific viral DNA detection by PCR. J. Fish Dis. 24, 161-167.
- Renault, T., 2011. Les virus infectant les mollusques marins: un exemple d'actualité, les herpesvirus. B. Acad. Vet. France 164, 359-364.
- Richez, F., 2012. Report on the impact of recent *Crassostrea gigas* mortality in France and its consequences to oyster farming in Northern Ireland. Report commissioned and financed by DARD the Department of Agriculture and Rural Development, (NI) and European Fisheries Fund.
- Rinkevich, B., 2005. Marine Invertebrate Cell Cultures: New Millennium Trends. Mar. Biotechnol. 7, 429-439.
- Robalino, J., Browdy, C.L., Prior, S., Metz, A., Parnell, P., Gross, P., Warr, G., 2004. Induction of antiviral immunity of double-stranded RNA in a marine invertebrate. J. Virol. 78, 10442-10448.
- Robalino, J., Carnegie, R.B., O'Leary, N., Ouvre-Patat, S.A., de la Vega, E., Prior, S., Gross, P., Browdy, C.L., Chapman, R.W., Schey, K.L., Warr, G., 2009. Contributions of functional genomics and proteomics to the study of immune responses in the Pacific white leg shrimp *Litopenaeus vannamei*. Vet. Immunol. Immunopathol. 128, 110-118.
- Roberts, R.J., Pearson, M.D., 2005. Infectious Pancreatic Necrosis in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. J. Fish Dis. 28: 383-389.
- Rodger, H.D., Kobs, M., Macartney, A., Frerichs, G.N., 1997. Systemic iridovirus infection in freshwater angelfish, *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein). J. Fish Dis. 20: 69-72.
- Rodrigues, P.M., Silva, T., Dias, J., Jessen, F., 2012. PROTEOMICS in aquaculture: Applications and trends. J. Proteomics 75, 4325-4345.
- Ronda, C., Vázquez, M., López, R., 2003. Los bacteriófagos como herramienta para combatir infecciones en Acuicultura. Rev. Aquat. 18, 3-10.
- Rout, N., Kumar, S., Jaganmohan, S., Murugan, V., 2007. DNA vaccines encoding viral envelope proteins confer protective immunity against WSSV in black tiger shrimp. Vaccine 25, 2778-2786.
- SAGARPA, 2007. Ley general de pesca y acuicultura sustentable, Mexico (LGPAS) Available from URL: [http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LGPAS\\_040615.pdf](http://www.diputados.gob.mx/LeyesBiblio/pdf/LGPAS_040615.pdf).
- SAGARPA, 2016. Convocatoria: Aprobación como Laboratorio de Pruebas en Materia de Diagnóstico en Sanidad Acuicola. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/99686/ConvocatoriaparaobtenerlaaprobacioncomolaboratoriodepruebasenmateriadediagnosticoenSanidadAcuicola.pdf>.
- Sajid, M., Kawde, A.-N., Daud, M., 2015. Designs, formats and applications of lateral flow assay: A literature review. J. Saudi Chem Soc. 19, 689-705.
- Sánchez-Martínez, J.G., Aguirre-Guzmán, G., De La Cruz-Hernández, N.I., Martínez-Burnes, J., Pérez-Castañeda, R., Rábago-Castro, J., Vázquez-Sauceda, M., 2007. First detection of channel catfish virus associated with mortality of cultured catfish (*Ictalurus punctatus*, Rafinesque) in Mexico. Aqua. Res. 38, 1428-1431.
- Sangsuriya, P., Senapin, S., Huang, W.-P., Lo, C.F., Flegel, T.W., 2011. Co-interactive DNA-binding between a novel, immunophilin-like shrimp protein and VP15 nucleocapsid protein of white spot syndrome virus. PLoS ONE 6, e25420.
- Sarathi, M., Simon, M.C., Venkatesan, C., Thomas, J., Ravi, M., Madan, N., Thiyagarajan, S., Sahul-Hameed, A.S., 2010. Efficacy of bacterially expressed dsRNA specific to different structural genes of white spot syndrome virus (WSSV) in protection of shrimp from WSSV infection. J. Fish Dis. 33, 603-607.
- Sauvage, C., Pépin, J.F., Lapègue, S., Boudry, P., Renault, T., 2009. Ostreid herpes virus 1 infection in families of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, during a summer mortality outbreak: difference in viral DNA detection and quantification using real-time PCR. Virus Res. 142, 181-187.
- Savin, K.W., Cocks, B.G., Wong, F., Sawbridge, T., Cogan, N., Savage, D., Warner, S., 2010. A neurotropic herpesvirus infecting the gastropod, abalone, shares ancestry with oyster herpesvirus and a herpesvirus associated with the amphioxus genome. Virol. J. 7, 308.
- Schafer, H.J., 1971. Advances in Pacific shrimp culture. Proceedings of the Twenty-Third Annual Gulf and Caribbean Fisheries Institute. The Gulf and Caribbean Fisheries Institute, Coral Gables, Florida, USA, pp. 133-138.
- Schlumberger, H.G., Katz, M., 1956. Odontogenic tumors of salmon. Cancer Res. 16, 369-370.
- Segarra, A., Pépin, J.F., Arzul, I., Morga, B., Faury, N., Renault, T., 2010. Detection and description of a particular Ostreid herpesvirus 1 genotype associated with massive mortality outbreaks of Pacific oysters, *Crassostrea gigas*, in France in 2008. Virus Res. 153, 92-99.
- Shors, T., 2008. Understanding viruses. Jones and Bartlett Publishers.
- Sithigorngul, W., Rukpratanporn, S., Pecharaburanin, N., Longyant, S., Chaivisuthangkura, P., Sithigorngul, P., 2006. A simple and rapid immunochromatographic test strip for detection of white spot syndrome virus (WSSV) of shrimp. Dis. Aquat. Org. 72, 101-106.
- Sommerset, I., Krossay, B., Biering, E., Frost, P., 2005. Vaccines for fish in aquaculture. Expert Review Vaccines 4, 89-101.
- Soto-Rodríguez, S.A., Gomez-Gil, B., Lozano-Olvera, R., Betancourt-Lozano, M., Morales-Covarrubias, M.S., 2015. Field and Experimental Evidence of *Vibrio parahaemolyticus* as the Causative Agent of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease of Cultured Shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in Northwestern Mexico. Appl. Environ. Microbiol. 81, 1689-1699.
- Sritunyalucksana, K., Sithisarn, P., Withayachumnarkul, B., Flegel, T.W., 1999. Activation of prophenoloxidase, agglutinin and antibacterial activity in haemolymph of the black tiger prawn, *Penaeus monodon*, by immunostimulants. Fish Shellfish Immunol. 9, 21-30.
- Tan, J., Lancaster, M., Hyatt, A., van Driel, R., Wong, F., Warner, S., 2008. Purification of a herpes-like virus from abalone (*Haliotis* spp.) with ganglioneuritis and detection by transmission electron microscopy. J. Virol. Methods 149, 338-341.
- Tang, B., Liu, B., Wang, X., Yue, X., Xiang, J., 2010. Physiological and immune responses of Zhikong *Chlamys farreri* to the acute viral necrobiosis virus infection. Fish Shellfish Immunol. 29, 42-48.
- Tsai, J.M., Wang, H.C., Leu, J.H., Hsiao, H.H., Wang, A.H.J., Kou, G.H., Lo, C.F., 2004. Genomic and proteomic analysis of thirty-nine structural proteins of shrimp white spot syndrome virus. J. Virol. 78, 11360-11370.
- Van der Merwe, M., Auzoux-Bordenave, S., Niesler, C., Roodt-Wilding, R., 2010. Investigating the establishment of primary cell culture from different abalone (*Haliotis midae*) tissues. Cytotechnology 62, 265-277.
- Vásquez-Yeomans, R., Cáceres-Martínez, J., Figueras, A., 2004a. Herpes-like virus associated with eroded gills of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* adults in México. J. Shellfish Res. 23, 417-419.
- Vásquez-Yeomans, R., Cáceres-Martínez, J., 2004b. Herpesvirus y mortalidades del ostión *Crassostrea gigas*, en el Noroeste de México. Bol. Prog. Nac. Sanidad Acuic. Red Diag. UAM - SAGARPA Año 7, 1(25), 10-11.
- Vásquez-Yeomans, R., 2006. Agentes patógenos asociados con las mortalidades masivas en el ostión Japonés *Crassostrea gigas*, cultivado en el Noroeste de México. Tesis de Doctorado. Departamento de Acuicultura. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Ensenada, B. C., México.
- Vásquez-Yeomans, R., García-Ortega, M.A., Cáceres-Martínez, J., 2010. Gill erosion and herpesvirus in *Crassostrea gigas* cultured in Baja California, México. Dis. Aquat. Org. 89, 137-144.
- Vatanavicharn, T., Prapavorarat, A., Jaree, P., Somboonwiwat, K., Tassanakajon, A., 2014. PmVRP15, a Novel Viral Responsive Protein from the Black Tiger Shrimp, *Penaeus monodon*, Promoted White Spot Syndrome Virus Replication. PLoS ONE 9, e91930.
- Venegas, C.A., Nonaka, L., Mushiake, K., Nishizawa, T., Muroga, K., 2000. Quasi-immune response of *Penaeus japonicus* to penaeid rod-shaped DNA virus (PRDV). Dis. Aquat. Org. 42, 83-89.
- Walker, P., Subasinghe, R., Eds. 2000. DNA-based molecular diagnostic techniques: research needs for standardization and validation of the detection of aquatic animal pathogens and diseases. Report and proceedings of the Joint FAO/NACA/CSIRO/ACIAR/DFID Expert Workshop. Bangkok, Thailand, 7-9 february 1999, Rome, Italy.
- Walker, R., 1962. Fine structure of lymphocystis virus of fish. Virol. 18, 503-505.
- Wang, B., Li, F., Dong, B., Zhang, X., Zhang, C., Xiang, J., 2006. Discovery of the genes in response to white spot syndrome virus (WSSV) infection in *Fenneropenaeus chinensis* through cDNA microarray. Mar. Biotechnol. 8, 491-500.
- Wenfeng, L., 2015. Development of Primary and Secondary Cell Cultures from the Lymphoid Organ of *Penaeus vannamei* to Study the Replication Cycle of White

- Spot Syndrome Virus (WSSV), PhD Thesis. Laboratory of Virology, Faculty of Veterinary Medicine. Ghent University, Ghent, Belgium, p. 154.
- Williams, H.E., Grizzle, J.M., Bunkley-Williams, L., 1996. Lymphocystis in Indian glassfish *Chanda ranga* imported from Thailand to Puerto Rico. *J. Aquat. Anim. Health*, 8, 173-175.
- Winstead, J.T., Overstreet, R.M., Courtney, L.A., 1998. Novel parasites in the eastern oyster *Crassostrea virginica* from two Gulf of Mexico bays. *J. Shellfish Res.* 17, 341-342.
- Witteveldt, J., Cifuentes, C.C., Vlaskovits, J.M., van Hulten, M.C.W., 2004. Protection of *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus by oral vaccination. *J. Virol.* 78, 2057-2061.
- Wolf, K., 1988. Infectious Pancreatic Necrosis. In "Fish Viruses and Fish Diseases", Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, pp. 115-157.
- Xia, X., Yu, Y., Weidmann, M., Pan, Y., Yan, S., Wang, Y., 2014. Rapid detection of shrimp white spot syndrome virus by real time, isothermal recombinase polymerase amplification assay. *PLoS ONE* 9, e10466.
- Xiuzhen, S., Wenbin, Z., Songjuan, X., Shunfeng, C., 2007. Histopathological observation of Lymphocystis Disease and Lymphocystis Disease Virus (LCDV) detection in cultured diseased *Sebastes schlegelii*. *J. Ocean. Univer. China* 6, 378-382.
- Yang, H.L., Huang, J., Yang, B., Liu, F., Zhang, Q.L., 2014. The establishment and application of isothermal crosspriming amplification techniques in detecting penaeid shrimp white spot syndrome virus. *Letters Appl. Microbiol.* 59, 200-206.
- Yodmuang, S., Tirasophon, W., Roshorn, Y., Chinnirunvong, W., Panyim, S., 2006. YHV-protease dsRNA inhibits YHV replication in *Penaeus monodon* and prevents mortality. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 341, 351-356.
- Yoshino, T.P., Bickham, U., Bayne, C.J., 2013. Molluscan cells in culture: primary cell cultures and cell lines. *Can. J. Zool.* 91, 391-404.
- Zarain-Herzberg, M., Ascencio-Valle, F., 2001. Taura syndrome in Mexico: Follow-up study in shrimp farms of Sinaloa. *Aquaculture* 193, 1-9.
- Zemb, O., Urios, L., Coetsier, C., P., L., 2008. Efficient method to isolate and purify viruses of bacteria from marine environments. *Letters Appl. Microbiol.* 47, 41-45.