



COMITÉ DE SANIDAD ACUÍCOLA DEL ESTADO DE SONORA, A.C

Manual de procedimientos para la
operación de una maternidad de
post-larva de camarón en el estado de
Sonora.



Febrero 2013, Cd. Obregón, Son, Mex.

DIRECTORIO

Ing. Reyes Eugenio Molina Moreno
Presidente del COSAES

Ing. Jorge Luis Benítez García
Gerente del COSAES

Biol. Mar. Guillermo Portillo Clark
Coordinador de Sanidad Acuícola

MVZ Baltazar Chávez Domínguez
Coordinador de Inocuidad Acuícola

AGRADECIMIENTOS

Se reconoce ampliamente a las instituciones, organismos, y técnicos especialistas en la materia que contribuyeron y apoyaron con recursos económicos y/o humanos e hicieron posible la realización de este “Manual de procedimientos para la operación de maternidades de post-larvas de camarón en el estado de Sonora, México”.

- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.
- Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Alimentaria.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Recursos Hidráulicos, Pesca y Acuicultura.
- Instituto Nacional de Pesca.
- Inca Rural.
- Fundación Produce Nuevo León, A.C.
- Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Mazatlán.
- Asociación Nacional de Productores de Larvas de Camarón, A.C.
- Personal técnico y administrativo de apoyo del COSAES.

AUTORES Y COMPILADORES:

- Ing. Jorge Sinecio Gómez Quiroz. Maricultura del Pacífico S.A. de C. V.
- Biol. Jesús Peiro López. Acuicultura Mahr S.A. de C.V.
- Ing. Aedrián Ortiz Johnson. Larvas Génesis, S.A. de C.V.
- Biol. Adán Angulo Corrales. Aquapacific, S.A. de C.V.
- B.P. José Ventura Peraza Lizárraga. Genitech, S.A. de C.V.
- M en C. Leobardo Montoya Rodríguez. CIAD Unidad Mazatlán.
- Biol. Mar. Guillermo Portillo Clark. COSAES.
- M.V.Z. Baltazar Chávez Domínguez. COSAES.
- Ing. Jorge Luis Benítez García. COSAES.

Cd. Obregón, Son. Febrero de 2013.

ÍNDICE

Página

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO DEL MANUAL.....	5
1. SELECCIÓN DEL SITIO ADECUADO	6
1.1. Selección del sitio adecuado	6
2. PLANEACIÓN Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	12
3. INFRAESTRUCTURA	14
3.1. Descripción de Infraestructura.....	14
3.1.1. Cerco perimetral y controles de acceso.....	14
3.1.2. Tipo, formas y dimensiones de tanques y reservorios	14
3.1.3. Invernaderos	15
3.1.4. Equipos de bombeo y toma de agua.....	16
3.1.5. Sistemas de aireación.....	16
3.1.6. Instalación hidráulica	18
3.1.7. Sistema de filtrado	18
3.1.8. Equipos de tratamiento de agua y desinfección	19
3.1.9. Sistemas de generación de energía de emergencia	20
3.2. Áreas de apoyo.....	20
3.2.1. Cuarto de control de calidad y oficina	20
3.2.2. Almacén.....	20
3.2.3. Espacio para generadores eléctricos	20
3.2.4. Dormitorios	20
3.2.5. Comedor.....	21
3.2.6. Baños y letrinas ecológicas	21
4. PROYECCIÓN DE POST-LARVAS A MATERNIZAR	22
4.1. Número de tinas.....	22
4.2. Suministro de agua.....	23
4.3. Dimensiones de equipo de aireación	24
4.4. Densidades de siembra	25
4.5. Logística de siembra.....	27
5. MANEJO Y CONTROL DEL AGUA.....	28
5.1. Calidad del agua	28
5.2. Filtración.....	28
5.3. Desinfección	29
5.4. Parámetros físico-químicos	29
5.5. Protocolo para monitorear la calidad del agua	29
5.6. Recambio de agua	30
5.7. Descarga de área de cultivo	30
6. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LAS POST-LARVAS.....	31
6.1. Muestreo	31
6.2. Evaluación de post-larvas al momento de la recepción en campo	32
6.2.1. Prueba de estrés osmótica.....	33
6.2.2. Talla promedio	33
6.2.3. Desarrollo branquial.....	34

6.2.4.	Movimiento.....	35
6.2.5.	Deformidad	35
6.2.6.	Necrosis.....	35
6.2.7.	Muda	36
6.2.8.	Epibiontes o parásitos.....	36
6.2.9.	Alimento en el tracto intestinal	37
6.2.10.	Signos de estrés.....	37
6.2.11.	Bacteriología en post-larvas.....	37
6.2.12.	Hepatopáncreas	39
6.2.13.	Tabla de valores para calificar la calidad de post-larvas en campo	39
6.3.	Monitoreo de organismos	40
6.4.	Análisis en fresco	42
6.4.1.	Branquias	42
6.4.2.	Hepatopáncreas.....	43
6.4.3.	Intestino.....	43
6.5.	Bacteriología.....	43
6.5.1.	Agua	43
6.5.2.	Hemolinfa	44
6.5.3.	Macerado de hepatopáncreas (Hp).....	45
6.5.4.	Preparación de los medios de cultivo para bacteriología.....	45
6.5.5.	Metodología para la realización de antibiograma.....	46
6.6.	PCR	47
6.6.1.	Selección y fijación de muestras para PCR	47
6.6.2.	Ventajas del PCR sobre otras técnicas.....	48
6.7.	Histología.....	49
6.7.1.	Selección y fijación de la muestra para histología.....	49
6.7.2.	Procedimiento de fijación con solución Davidson's	49
6.7.3.	Técnica de tinción rápida para WSSV. YHV e IHNV.....	50
6.8.	Enfermedades.....	50
6.8.1.	Examen de salud en campo	50
6.8.2.	Otras causas de enfermedad	52
6.8.2.1.	Protozoarios.....	52
6.8.2.2.	Bacterias	52
6.8.2.3.	Virus	55
7.	ACLIMATACIÓN Y SIEMBRA.....	57
7.1.	Descripción de aclimatación de post-larvas en maternidades.....	57
8.	ALIMENTACIÓN	60
8.1.	Tipos de alimentos y alimentación.....	60
9.	PROBIÓTICOS EN LA ACUACULTURA.....	63
9.1.	Modo de acción de los probióticos	63
9.1.1.	Producción de compuestos inhibidores.....	63
9.1.2.	Competencia por sitios de adhesión.....	63
9.1.3.	Modulación de la respuesta inmune del hospedero	64
9.1.4.	Competencia por químicos y energía disponible.....	64
9.1.5.	Competencia por nutrientes	64

9.1.6. Mejoramiento de la calidad del agua.....	64
9.1.7. Actividad antibacteriana	64
9.1.8. Actividad antiviral	65
9.1.9. Actividad antifúngica.....	65
9.2. Papel de los probióticos en el cultivo del camarón.....	65
9.3. Tipos de probióticos	66
10. CRECIMIENTO	67
10.1. Biometrías	67
10.1.1. Importancia	67
10.1.2. Recomendaciones	67
10.1.3. Materiales	68
10.1.4. Consecuencias de hacer un mal cálculo de población y biometrías.....	69
10.1.5. Posibles consecuencias por no desinfectar o realizar una mala desinfección.....	69
11. TRANSFERENCIAS DE JUVENILES DE CAMARÓN	70
11.1. Recomendaciones	70
11.2. Descripción de cosecha y transferencia de post-larvas a estanques de engorda.....	71
12. MONITOREO SANITARIO	75
13. BIOSEGURIDAD.....	77
13.1. Importancia.....	77
13.2. Principales factores a considerar en los programas de bioseguridad	79
13.3. Consideraciones para la elaboración e implementación del plan de bioseguridad	79
13.4. Limpieza y desinfección	80
13.4.1. Productos desinfectantes.....	80
13.4.2. Selección	80
13.4.3. Características de un desinfectante ideal	80
13.5. Procedimiento de limpieza y desinfección	81
13.5.1. Limpieza	81
13.5.2. Desinfección.....	81
13.5.3. Desinfección y flujo de personal	81
13.5.4. Equipos y utensilios.....	83
13.6. Buenas prácticas de limpieza y desinfección	84
13.7. Seguridad del personal.....	84
13.8. Verificación.....	85
13.9. Buenas prácticas de producción para medidas de bioseguridad.....	85
13.10. Reglamento general de la maternidad.....	86
LISTA DE TABLAS	88
ANEXOS.....	89

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO DEL MANUAL.

La acuicultura representa un importante sector de la producción alimentaria y constituye una fuente esencial de proteínas, empleo e ingresos, siendo la base del sustento de una parte de la población mundial. En particular, el camarón es un producto de alto valor, que se produce principalmente en Asia y América Latina. En donde se han presentado en las últimas dos décadas problemas de enfermedades virales en el cultivo del camarón blanco *L. vannamei*. A partir de los esfuerzos realizados en la búsqueda de soluciones para combatir dichos problemas, se ha señalado que la siembra de post-larvas sanas y libres de patógenos virales, es un factor esencial en la mejora de la supervivencia durante la producción camaronícola. Sin embargo, para producir con éxito dicha post-larvas y mantener el estatus de libre, es necesaria la asimilación y aplicación de los principios básicos sobre el manejo sanitario y la bioseguridad en laboratorios, maternidades, pre-crías y estanquerías.

En México, los principales estados productores de este crustáceo son: Sonora, Sinaloa, Nayarit y Baja California Sur, y un gran porcentaje se destina a la exportación, generando importantes divisas para el país. Sin embargo la industria acuícola, ha pasado por diversos problemas sanitarios por la presencia de patógenos nocivos, que han obligado a diseñar estrategias, tomar medidas para proteger las producciones e inversiones realizadas, por ello las prácticas de cultivo están cambiando de forma drástica. Una de las alternativas identificadas por los productores para disminuir el impacto por WSSV, es acortar los ciclos de cultivo sembrando los estanques con organismos de mayor tamaño (superior a 100 mg.). El uso de maternidades y/o pre-crías, se ha convertido en una necesidad para la engorda de camarón, ya que existen evidencias de que un buen manejo permite alcanzar tallas comerciales en menor tiempo. Es por lo anterior que este Manual tiene la finalidad de proveer las herramientas para que el productor o técnico que quiera construir un área de maternidades o pre-crías, conozcan los aspectos más importantes para minimizar problemas que aseguren una producción con calidad y rentabilidad y tener éxito en el cultivo

El Comité de Sanidad Acuícola del Estado de Sonora (COSAES), presenta este Manual como una importante guía técnica sobre cómo mantener y/o mejorar la sanidad y la calidad de los organismos sembrados en las maternidades, fue desarrollado por personal técnico - científico de la ANPLAC, el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, A.C. Unidad Mazatlán) y COSAES.

El documento fue diseñado de tal manera que busca la optimización de los recursos en las diferentes etapas del proceso de producción incluyendo, desde la calidad de la post-larva, la infraestructura, alimentación, calidad del agua, bioseguridad y manejo sanitario. También proporciona la posibilidad de desarrollar y aplicar Procedimientos Operativos Estándar (POES) durante la producción de organismos en las maternidades. Este documento pretende apoyar a los directivos y operarios de las mismas, en sus esfuerzos por producir organismos de calidad, sanos y libres de enfermedades, mejorando de esta manera, la producción en general y la sustentabilidad del cultivo de camarón en el Estado. Así mismo, presenta información para la reducción del riesgo de aparición y diseminación de enfermedades virales durante el periodo de cría larval, con el correspondiente incremento en la producción. Lo anterior contribuirá al desarrollo estatal y regional, mejorando el nivel de vida de la población, a través de la generación de ingresos, la creación de empleo, y la disponibilidad de camarón de calidad para el mercado nacional e internacional.

1. SELECCIÓN DE SITIO ADECUADO.

1.1 Selección del sitio adecuado.

Una de las cosas más importantes de cualquier operación acuícola es la selección del sitio adecuado para establecer el área de producción, (en este caso el área de maternidades y/o pre-crías) ya que haciéndolo de la mejor manera se reducen considerablemente los problemas generados principalmente por la calidad de agua.

Para seleccionar el sitio adecuado se deben considerar los siguientes puntos:

- Agua oceánica.

Ubicar el área lo más cercano al agua oceánica, para poder colocar ahí la toma de agua, la cual, tiene como característica que los parámetros físico-químicos son más estables debido al movimiento constante por el oleaje, salinidad promedio de 35 ‰, temperatura que va de los 10°C en invierno hasta los 33°C en verano, pH que va de los 7.5 a 8.4, baja turbidez, oxígeno estable, etc.



- Sustrato arenoso



Es recomendable que el lugar en que se instalará la succión cuente con sustrato arenoso para poder enterrarla con peines ranurados en forma vertical para realizar el primer filtrado natural. La presencia de arcillas en abundancia puede representar un problema para este caso. Para este tipo de suelos se recomienda la excavación de una fosa en donde se colocan los peines horizontales cubiertos por una cama de arena. Esta instalación debe realizarse con la marea más baja del año.

- Alejado de descargas contaminantes.

Procurar que la toma se encuentre lejos de las descargas contaminantes, drenes acuícolas, drenes agrícolas, descargas urbanas, etc. Se debe tener cuidado de que las operaciones de dragado en escolleras y canales de llamada no afecten las tomas de agua, ya que se forman bancos de materia orgánica que pueden causar un bajo o nulo filtrado de los peines, además que pueden presentar fuentes potenciales de contaminación para su cultivo.



- Energía eléctrica.

Estar cerca de una fuente de energía comercial de CFE lo cual reduce hasta en un 40% el costo de operación con respecto al uso de generadores. Si no se cuenta con esta fuente de energía se tendrá que trabajar mínimo con dos plantas generadoras y tener una más para emergencia, considerando que el mantenimiento preventivo (cambio de aceite y filtros) se realiza cada 4 a 7 días dependiendo el tipo de planta. Se debe tener la planta de emergencia siempre lista para operar, por lo que se recomienda rotarla en el proceso de trabajo.



- Diagrama de instalaciones.

El siguiente diagrama (Figura 1) muestra las principales instalaciones con que debe de contar un módulo de maternidad y/o pre-crías, considerando 8 tanques de 100 m³ para abastecer a una granja de 100 Ha. Los cálculos que se presentan en este manual estarán relacionados para una unidad de producción con éstas características cuyo cultivo se realice con 15 organismos por metro cuadrado, iniciando con un peso promedio de 250 mg.

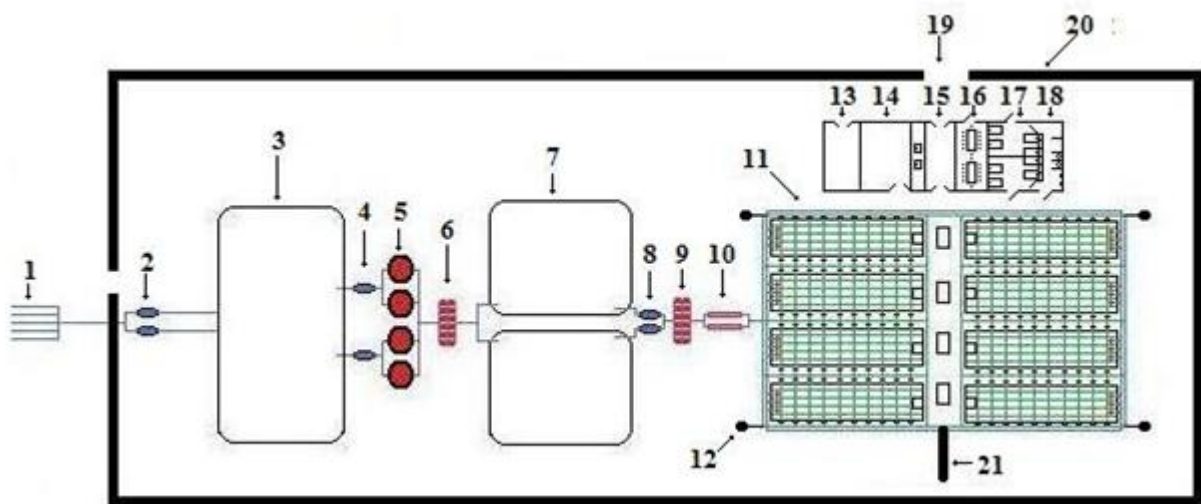


Figura 1. Diagrama General de Instalaciones sugerida para un módulo de maternidad.

Donde:

1. Peine de 3" para succión.
2. Dos bombas de 5 Hp con tubería de pvc de 4".
3. Tanque de sedimentación con capacidad de 500 M3, (solo si el agua presenta alta turbidez).
4. Una bomba de 5 Hp (dos bombas de 3 Hp).

5. Filtros de arena sílica #20 Filtrando a 40 micras.
6. Filtros de bolsa de 10 micras. (4 a 6 bolsas por cada 3 Hp).
7. Dos tanques reservorios con capacidad de 300 m³ c/u, para uso de cloro como desinfectante, con aireación y cubiertos con estructura y plástico y/o malla antiáfida. En el caso de uso de ozono como desinfectante, los reservorios podrían ser de 100 m³.
8. Una bomba de 5 Hp (dos bombas de 3 Hp)
9. Filtros de Bolsa de 5 micras. (4 a 6 bolsas por cada 3 Hp)
10. Equipo de radiación UV de 6 a 8 lámparas con un flujo de 120 a 160 galones/min.
11. Ocho tanques con geomembrana con capacidad de 240 m³, o su equivalente en volumen.
12. Ocho sopladores de 10 Hp.
13. Cuarto para generadores eléctricos de emergencia o generadores eléctricos de trabajo si no se cuenta con energía eléctrica.
14. Almacén de insumos.
15. Cuarto de observación y oficina.
16. Comedor.
17. Dormitorio.
18. Baños con letrinas ecológicas.
19. Acceso principal con equipo de bioseguridad, registros y vado sanitario.
20. Cerco perimetral.
21. Dren a fosa de sedimentación.

A continuación en las figuras 2, 3 y 4, se muestran tres modelos de distribución de diferentes tipos de tinas de uso más común:

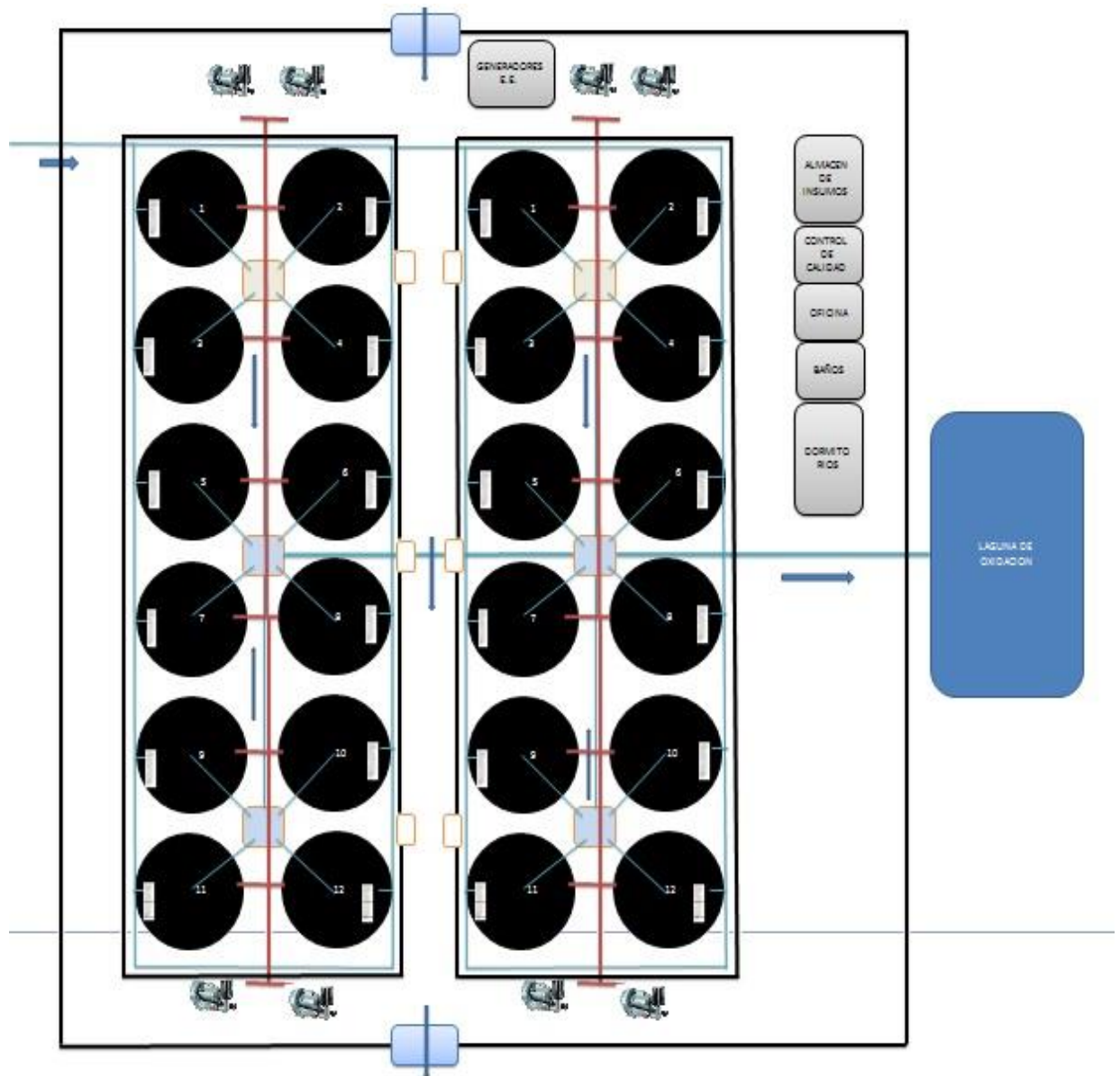


Figura 2. Modelo de distribución de tinas de tipo circular.

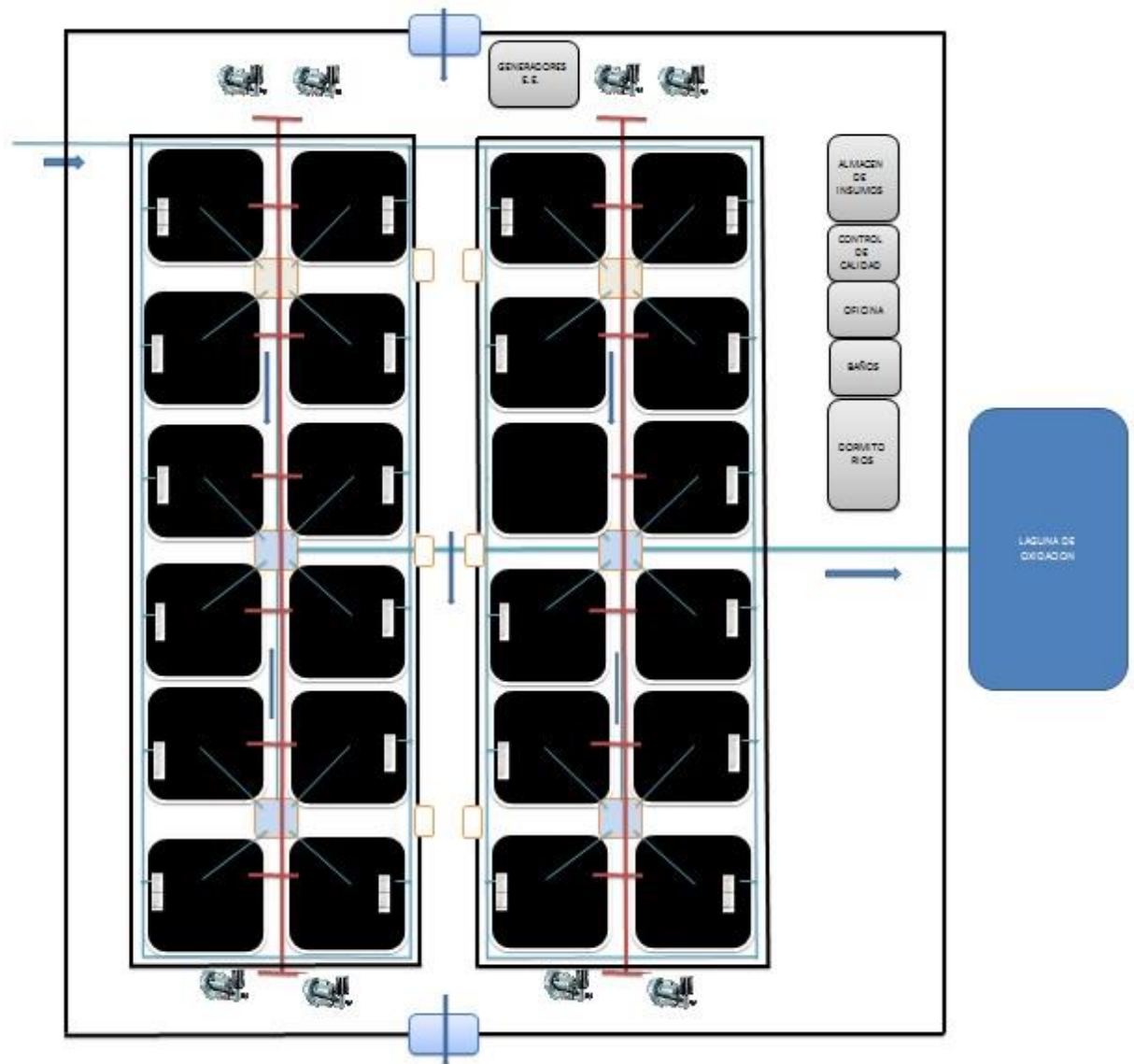


Figura 3. Modelo de distribución de tinas de tipo cuadrangular / rectangular

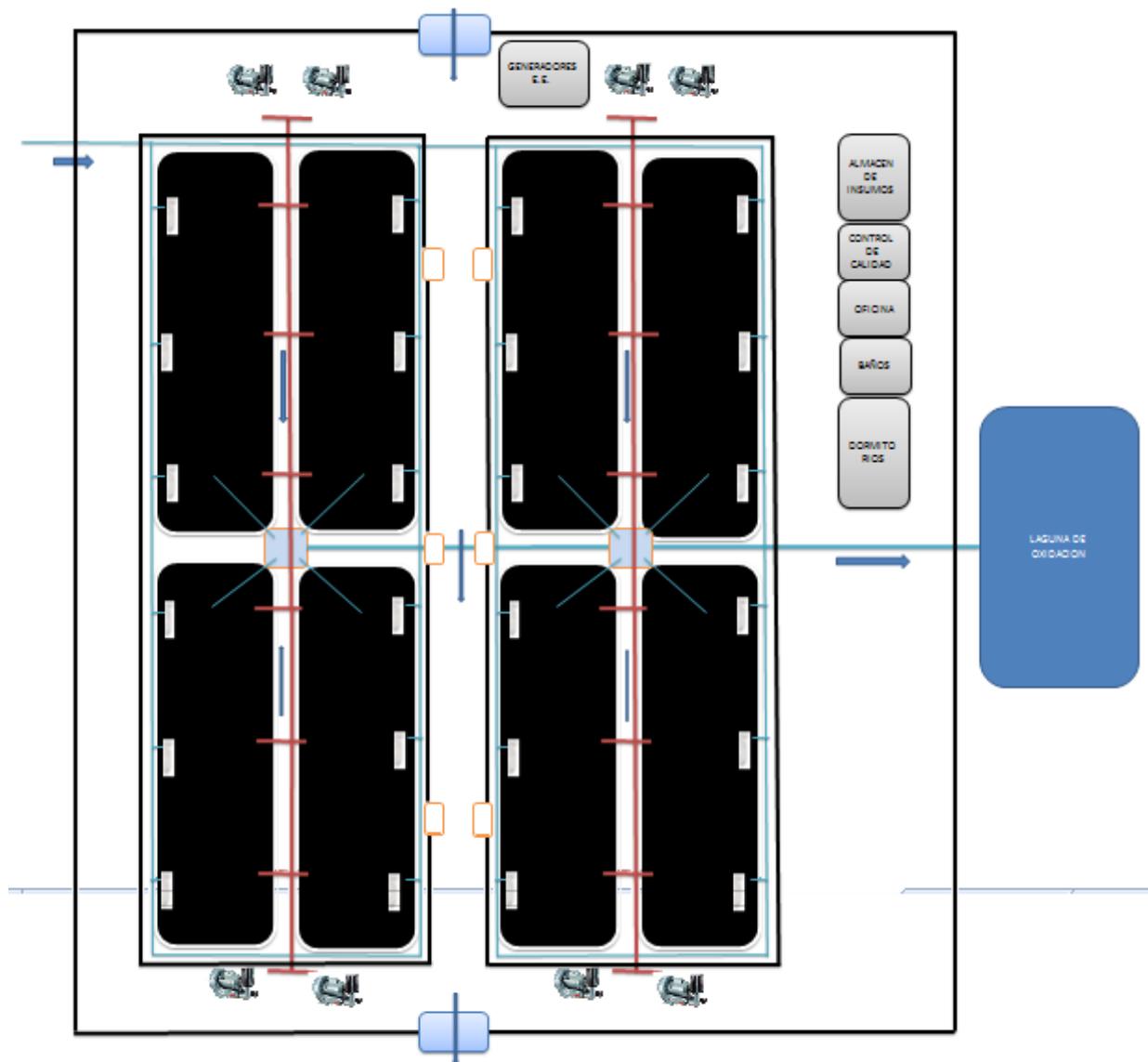


Figura 4. Modelo de distribución de race ways

2. PLANEACIÓN Y CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

Cuando se quiere iniciar con la construcción de una unidad de producción maternidades y/pre-crías, desde el momento que se inician los movimientos de tierra se debe de realizar una planeación, acompañada de un cronograma de actividades, y más aún, si se tiene planeado que terminando la construcción inmediatamente se va a iniciar la producción en dicha área.

La tabla 1 es un ejemplo de un cronograma de los trabajos principales que se deben tomar en cuenta. Está dividido en 4 partes por el tamaño que tiene.

Tabla 1. Cronograma de trabajo Parte 1.

FECHAS / DÍAS	SEMANA 1							SEMANA 2							SEMANA 3						
	23-dic	23-dic	24-dic	25-dic	26-dic	27-dic	28-dic	29-dic	30-dic	31-dic	01-ene	02-ene	03-ene	04-ene	05-ene	06-ene	07-ene	08-ene	09-ene	10-ene	11-ene
TRABAJOS A REALIZAR	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
Construcción de plataforma	X	X	X	X	X	X	X														
Construcción de tanques								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Construcción de zapatas para domos																					X
Construcción de tanques reservorios																					
Construcción de drenes														X	X	X	X	X	X	X	X
Colocación de estructuras domos																					
Colocación de geomembrana en tanques y reservorios																					
Armado y colocación de sistema hidráulico																					
Armado y colocación de sistema de aire																					
Ubicación y colocación de sopladores																					
Instalación de sistema eléctrico																					
Instalación de malla antiafidos y plásticos																					
Ubicación de plantas de emergencia																					
construcción de edificios de apoyo																					
Instalación de bombas																					
Instalación de equipos de filtrado																					
Pruebas a sistema hidráulico																					
Curado de geomembrana																					
Preparación de tanques para siembra																					
Siembra de post-larva																					

Tabla 1. Cronograma de trabajo Parte 2.

FECHAS / DÍAS	SEMANA 4							SEMANA 5							SEMANA 6						
	12-ene	13-ene	14-ene	15-ene	16-ene	17-ene	18-ene	19-ene	20-ene	21-ene	22-ene	23-ene	24-ene	25-ene	26-ene	27-ene	28-ene	29-ene	30-ene	31-ene	01-feb
TRABAJOS A REALIZAR	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42
Construcción de plataforma																					
Construcción de tanques	X	X	X	X	X	X	X														
Construcción de zapatas para domos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X							
Construcción de tanques reservorios								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Construcción de drenes	X	X	X	X	X	X	X								X	X	X	X	X	X	X
Colocación de estructuras domos									X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Colocación de geomembrana en tanques y reservorios																			X	X	X
Armado y colocación de sistema hidráulico																					
Armado y colocación de sistema de aire																					
Ubicación y colocación de sopladores																					
Instalación de sistema eléctrico																					
Instalación de malla antiafidos y plásticos																					
Ubicación de plantas de emergencia																					
construcción de edificios de apoyo						X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Instalación de bombas																					
Instalación de equipos de filtrado																					
Pruebas a sistema hidráulico																					
Curado de geomembrana																					
Preparación de tanques para siembra																					
Siembra de post-larva																					

Tabla 1. Cronograma de trabajo Parte 3.

FECHAS / DÍAS	SEMANA 7							SEMANA 8							SEMANA 9						
	02-feb	03-feb	04-feb	05-feb	06-feb	07-feb	08-feb	09-feb	10-feb	11-feb	12-feb	13-feb	14-feb	15-feb	16-feb	17-feb	18-feb	19-feb	20-feb	21-feb	22-feb
TRABAJO A REALIZAR	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
Construcción de plataforma																					
Construcción de tanques																					
Construcción de zapatas para domos																					
Construcción de tanques reservorios																					
Construcción de drenes	X																				
Colocación de estructuras domos	X	X	X	X	X	X	X														
Colocación de geomembrana en tanques y reservorios	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
Armado y colocación de sistema hidráulico								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Armado y colocación de sistema de aire								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Ubicación y colocación de sopladores								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Instalación de sistema eléctrico								X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Instalación de malla antifidos y plásticos				X	X	X	X	X	X	X											
Ubicación de plantas de emergencia														X							
construcción de edificios de apoyo	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
Instalación de bombas													X	X	X	X	X	X	X	X	X
Instalación de equipos de filtrado													X	X	X	X	X	X	X	X	X
Pruebas a sistema hidráulico																					
Curado de geomembrana																					
Preparación de tanques para siembra																					
Siembra de post-larva																					

Tabla 1. Cronograma de trabajo Parte 4.

FECHAS / DÍAS	SEMANA 10							SEMANA 11							SEMANA 12						
	23-feb	24-feb	25-feb	26-feb	27-feb	28-feb	01-mar	02-mar	03-mar	04-mar	05-mar	06-mar	07-mar	08-mar	09-mar	10-mar	11-mar	12-mar	13-mar	14-mar	15-mar
TRABAJO A REALIZAR	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84
Construcción de plataforma																					
Construcción de tanques																					
Construcción de zapatas para domos																					
Construcción de tanques reservorios																					
Construcción de drenes																					
Colocación de estructuras domos																					
Colocación de geomembrana en tanques y reservorios																					
Armado y colocación de sistema hidráulico	X	X	X	X	X	X	X														
Armado y colocación de sistema de aire	X	X	X	X	X	X	X														
Ubicación y colocación de sopladores																					
Instalación de sistema eléctrico																					
Instalación de malla antifidos y plásticos																					
Ubicación de plantas de emergencia																					
construcción de edificios de apoyo																					
Instalación de bombas	X	X	X																		
Instalación de equipos de filtrado	X	X	X																		
Pruebas a sistema hidráulico				X	X	X															
Curado de geomembrana				X	X	X	X	X	X	X											
Preparación de tanques para siembra											X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Siembra de post-larva																					X

Este cronograma está hecho en días y semanas, considerando sembrar el 15 de marzo. A cada una de las actividades propuestas se deberá de asignar un responsable de obra a quien se le dejará por escrito el trabajo a realizar y se le solicitará un informe de avance semanal.

Lo importante de los cronogramas es que se calculen bien los tiempos para cada obra, o dejar mayor tiempo entre la fecha de término y la fecha de preparación de los tanques para la siembra, ya que con esto, se pueden evitar muchos problemas, principalmente en el suministro de la post-larva.

Como parte de la planeación de la construcción y operación de una maternidad debe considerarse tener el resolutivo de impacto ambiental, la solicitud de los permisos de construcción ante la SEMARNAT, permisos de operación ante la SAGARHPA y los permisos de siembra ante el COSAES y la SAGARHPA.

3. INFRAESTRUCTURA.

Infraestructura es el conjunto de elementos o servicios que son necesarios para la producción, en este caso, de los juveniles de camarón. Ver figura 1.

3.1. Descripción de infraestructura.

3.1.1. Cerco perimetral y controles de acceso.

La finalidad del cerco perimetral es tener control del área, bioseguridad, que solo se pueda entrar al área por la entrada principal, por eso, un cerco de alambre de púas, no es suficiente ya que se puede entrar fácilmente. Se recomienda utilizar malla ciclónica con la cual hay más control.

En el acceso principal, se debe de poner un tapete sanitario para desinfectar las botas de hule en agua con algún químico desinfectante, si se tiene entrada de vehículos, debe tener un vado sanitario, y se deben tener botellas de alcohol para desinfección de manos.

Esto lo tiene que hacer tanto el personal operario como las visitas.

3.1.2. Tipo, forma y dimensiones de tanques y reservorios.

Los tanques y reservorios para producción de maternidad y/o pre-cría, pueden ser de la forma y dimensiones que sean, siempre y cuando el tamaño sea manejable y se pueda instalar una estructura para cubrirlo. Ver figura 2, 3, 4 y 5.



Circulares



Cuadrangular / rectangular



Raceways

Figura 5. Modelos de tanques y reservorios

¿Cómo podemos decidir qué forma y qué dimensiones deben tener los tanques?. Puede ser el que mejor se adapte al terreno disponible. Cada modelo de tanques tiene sus ventajas y desventajas como se observa en la siguiente tabla.

Tabla 2. Ventajas y desventajas de los tipos de tanques.

FORMA	CIRCULARES	RECTANGULARES
VENTAJAS	<ul style="list-style-type: none">• Presentan menos áreas muertas.• Facilita más la aireación.• Facilita la circulación.• Mejor distribución de los organismos.• Mejor distribución del alimento.• Mayor facilidad para sifonear.• Fácil instalación.	<ul style="list-style-type: none">• Facilita la aireación.• Mayor aprovechamiento de espacios.• Existen estructuras prefabricadas resistentes a vientos.• El costo de infraestructura es menor por metro cuadrado.
DESVENTAJAS	<ul style="list-style-type: none">• Ocupa más área de terreno.• Mayor área desaprovechada con un costo por metro cuadrado.• Se dificulta cubrirlo con plásticos.• El costo de infraestructura es más alto por metro cuadrado.	<ul style="list-style-type: none">• Se complica el control de la circulación.• Pueden presentar más áreas muertas.• Baja homogeneidad en la distribución de organismos.

Si el espacio es pequeño lo mejor es utilizar tanques cuadrados o rectangulares con que se cuenta para hacer el proyecto, entre más chicos se tiene mejor control de ellos. Esta decisión debe considerar la inversión que se está dispuesto a realizar. Si el propósito es cosechar organismos mayores de 250 miligramos, se recomienda consultar y visitar instalaciones que ya estén operando con pesos promedio arriba de medio gramo.

Para la profundidad, solo hay que tomar en cuenta que en la que se decida, que funcione bien la aireación y no se tenga que utilizar mayor número de sopladores para abastecerlo.

Existen criterios para decir que unos son mejores que otros, dependiendo su forma y tamaño, pero en la realidad con cualquier forma se puede producir.

Existen empresas que se dedican a la construcción de tanques, se recomienda que pidan antecedentes de la empresa antes de contratar, ya que algunas pueden no ser muy serias.

3.1.3. Invernaderos.



Figura 6. Infraestructura de invernaderos.

Los invernaderos es una estructura cerrada generalmente con plástico entre transparente y blanco para mantener una condición artificial de temperatura más alta en invierno, y en el verano se tienen que levantar cortinas y abrir ventanas para que se pueda ventilar y la temperatura del agua no pase de los 33°C, para ello, el invernadero tiene que contar con cortinas y ventanas que estén cubiertas de malla antiáfida, para que continúe cerrado.

Así como los tanques, la infraestructura de invernaderos existe de varios tipos de formas: altos, bajos, planos, con arco, etc.

Para escoger el más adecuado se debe de tomar en cuenta la ubicación y la forma del terreno.

También es recomendable, que si se contrata alguna empresa para la construcción de la infraestructura, se pida referencia de ellos a otras granjas que los conozcan.

3.1.4. Equipos de bombeo y toma de agua.

Si el proyecto se construye en una zona cerca del mar y cuenta con fondos arenosos, ahí se puede enterrar un sistema de succión con peines, que son tubos de 3" o 4", dependiendo de la cantidad de agua a bombear, ranurados y enterrados en la zona donde con marea baja aún se pueda bombear, por eso es recomendable enterrar los peines cuando se tenga la marea más baja.

Si el proyecto se construye al margen del canal de llamada o del cárcamo de bombeo de la granja, es recomendable que se utilice el mismo tipo de succión pero la diferencia será que los peines se tendrán que instalar flotantes o a media agua y contar con filtros de 300 micras y pasar el agua por filtros de arena sílica #20 de 40 micras. Ver figura 1.

Se utilizarán 2 bombas 5 hp de succión con tubería de PVC de 3" a 4" (ver capítulo 5.2 Suministro de agua).

3.1.5. Sistema de aireación.

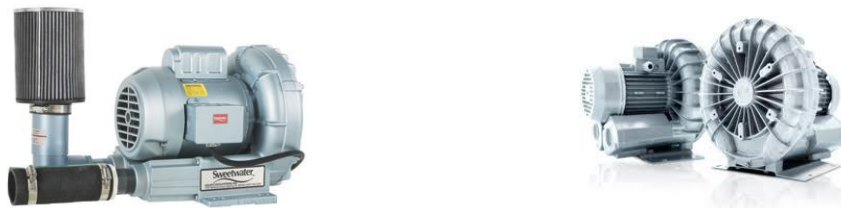


Figura 7. Sopladores.

El sistema de aireación consiste en la generación de aire con 3 sopladores de 10 hp y 1 soplador de la misma capacidad para emergencia como remplazo por si falla alguno. (ver capítulo 5.3 Dimensiones de Equipo de aireación).



Figura 8. Sistema de aireación.

El aire es dirigido primero por un tubo de de hierro como enfriador y posteriormente por tubería de pvc para distribuir por todo el sistema para terminar con manguera porosa o algún otro tipo de aireación, la finalidad es poder airear toda la columna de agua del tanque.

Existen diferentes tipos de sistema de aireación en el mercado, se ha visto que el mejor sistema es utilizando manguera porosa, ya sea en paneles o instalada la manguera en todo lo largo y lo ancho del tanque.

Se recomienda que todo el sistema de aireación se encuentre comunicado, en un sistema cerrado, para que en el siguiente ciclo de producción se pueda hacer limpieza de tubería por medio de recirculación de cloro y/o ácido.

Las siguientes fotografías se pueden ver los diferentes tipos de difusores para aireación, que actualmente se están utilizando para manejos de maternidades y pre-crías.



Figura 9. Tipos de difusores de aireación

3.1.6. Instalación hidráulica.



Figura 10. Bombas hidráulicas.

Para esta instalación hidráulica se requiere el uso de bombas de 5 Hp para abastecer el sistema.

La instalación hidráulica, se construye con PVC cédula 40 de 3" o 4". Se recomienda que por lo menos cada tanque contemple la instalación en la entrada de 2 a 3 válvulas de 3" con anillo de retención (brida o reducción) para instalar ahí un filtro de bolso de 1 micra.

El sistema hidráulico debe estar comunicado para poder realizar un tratamiento de desinfección con recirculación en toda el área cuando se requiera.

3.1.7. Sistema de filtrado.

El sistema de filtrado es el proceso de retención por un medio poroso (medio filtrante), de partículas orgánicas o inorgánicas en suspensión, que pueden contaminar el área de producción.

Los filtros de arena son los que más se utilizan para filtrar el agua, por muy buenas razones: son simples y efectivos.

Los filtros de arena atrapan las partículas grandes y pequeñas, tan pequeñas que el ojo humano no las puede detectar. Con el transcurso del tiempo, la suciedad se acumula en los espacios que se encuentran entre las partículas de arena, causando que la presión del recipiente se eleve a medida que el paso del agua se hace más difícil. Esto significa que debe "cambiar la dirección del lavado del filtro". Simplemente devuelva el flujo del agua y elimine la suciedad retro lavado.

Existen varios tipos de filtros:

- Filtros de arena



Figura 11. Tipos de filtros de arena

Existen diferentes tipos de filtros de arena sílica, los más comúnmente usados son los que utilizan arena del # 20 que filtran hasta 40 micras.

- Filtros de bolso



Figura 12. Filtros de bolso

Se pueden usar este tipos de filtros para instalarse después del los filtros de arena, la primer batería de filtros son de bolsos de 10 micras y se colocan antes de la entrada a los reservorios, después se coloca otra batería que contiene bolsos de 5 micras antes de pasar por el sistema de radiación UV, después de y antes de caer a los tanques de producción se colocan en las válvulas de entrada, bolsos de 1 micra.

3.1.8. Equipos de tratamiento de agua y desinfección.

Los tratamientos del agua y la desinfección se realizan principalmente en los reservorios, por eso es muy importante que se tengan por lo menos dos y que tengan instalado su sistema de aireación, para poder operarlo después de los tratamientos.

Se recomienda el uso de lámparas UV previo al llenado de reservorios.

- Lámparas UV.

Su función es esterilizar el agua que pasa a través de ellos, usando rayos UV, los cuales no alteran las características físico-químicas del agua.

El funcionamiento de una lámpara UV es muy sencillo. Básicamente consiste en irradiar el agua con rayos UV. Esta radiación altera la estructura del ADN, matando protozoos, bacterias, virus, algas y hongos, básicamente todos los agentes causantes de enfermedades.

Para que tengan un correcto funcionamiento, el agua que pase por ellas debe de ser muy clara, por eso, es casi el último proceso del agua antes de caer a los tanques de producción.



Figura 13. Lámparas UV

Es importante dimensionar bien el equipo de bombeo con el sistema UV ya que de esto depende la efectividad del mismo.

3.1.9. Sistema de generación de energía de emergencia.

La generación de energía eléctrica, es vital para un sistema de producción como éste. Se requiere de un generador de 150 KVA, siempre y cuando se cuente con energía eléctrica de CFE, si no es así, se necesitaría que por lo menos se cuenten con 2 generadores de 150 KVA a 440 volts y estar rotando el uso de ellos constantemente.

3.2. Áreas de apoyo. (Ver Figura 1)

3.2.1. Cuarto de control de calidad y oficina.

Se recomienda contar con un espacio cuyas medidas sean de 5.0 x 4.0 m, que cuente con una mesa con tarja de 2 tinas para lavar materiales, suficientes conectores eléctricos para microscopio, balanza, lámparas de iluminación, escritorio con archivero y computadora para captura de datos.

3.2.2. Almacén.

Se recomienda contar con un almacén exclusivo para alimentos e insumos, con medidas aproximadas de 5.0 x 6.0 m y con puerta corrediza de 2 m de ancho y 2.2 m de altura.

3.2.3. Espacio para generadores eléctricos.

Se debe considerar un espacio lo suficientemente grande para tener la capacidad de contener un generador de 150 KVA y su tablero de conexión, o si es necesario, para contener 2 generadores por si no se cuenta con energía eléctrica CFE. Ver figura 14.



Figura 14. Plantas generadoras de energía.

3.2.4. Dormitorios.

Los dormitorios deben de ser lo suficientemente grandes para albergar de 10 a 12 personas, en cuyo caso se recomienda que existan 2 habitaciones, para que en cada una duerman de 5 a 6 personas, y que cuente con acceso directo al baño.

3.2.5. Comedor.

El comedor les ayuda a tener sólo un área destinada a este fin. Debe de ser con capacidad para 12 personas. La idea es que el personal no tenga que desplazarse a los campamentos de las granjas, por cuestiones de bioseguridad.

3.2.6. Baños y letrinas ecológicas.

Los baños son las áreas de apoyo que más hacen falta en este tipo de unidades de producción y es común que no se cuente con ellos.

Se pueden fabricar unos baños con letrinas ecológicas y recoger los desechos constantemente.

Los baños y/o letrinas ecológicas, son considerados como baños secos, que tienen la finalidad de manejar las excretas humanas para su disposición final como fertilizantes de jardines, sin problemas de contaminación y con un excelente ahorro de agua.

Existen empresas que se dedican a la construcción de este tipo de baños, si no se quiere hacer la inversión, se recomienda que durante la temporada de las maternidades y/o pre-crías, se renten baños portátiles que son de mucha ayuda.

4. PROYECCIÓN DE POST-LARVAS A MATERNIZAR.

4.1 Número de tinas.

El número de tinas a instalar, o bien, el volumen de m³ que se requieren para este proyecto va a depender de tres variables básicas: cantidad de hectáreas a cultivar, densidad de siembra y el peso promedio de los organismos a sembrar.

En este caso se va a proyectar para sembrar 100 hectáreas, a 15 organismos por m² y con un peso promedio de 0.25 gramos y/o 250 miligramos.

En la tabla 2 se puede observar cómo calcular la necesidad de post-larvas que se va a adquirir para maternizar; también se pueden ver los escenarios de sobrevivencia con rango del 75 al 90 %, suficiente para realizar una siembra con la densidad proyectada.

Tabla 3. Cálculo de la densidad de siembra en la maternidad

GRANJA CAMARONERA

SUPERFICIE A SEMBRAR	100	HECTÁREAS
DENSIDAD A SEMBRAR	15	CAM/m ²
TOTAL DE PL A SEMBRAR	15,000,000	POST-LARVAS(PL)
SOBREVIVENCIA EN MATERNIZACION	75%	DURANTE 25 A 30 DÍAS
PESO PROMEDIO	0.25	GRAMOS O 250 mg
MORTALIDAD	25%	TEÓRICA
COMPRA DE POST-LARVAS	18,750,000	PL A FACTURAR
LABORATORIO ENTREGA	10%	DESCUENTO
TOTAL DE PL CON EXCEDENTE 10%	20,625,000	A MATERNIZAR

SOBREVIVENCIA TEORICA	PL A SEMB. GRANJA	CAM/m²
75%	15,468,750	15.5
80%	16,500,000	16.5
85%	17,531,250	17.5
90%	18,562,500	18.6

Una vez determinada la cantidad de post-larvas a maternizar y conociendo el peso promedio que se está buscando para iniciar nuestro cultivo, es importante determinar en cuanto volumen de agua vamos a maternizar las post-lavas, para que alcancen la sobrevivencia y la talla proyectada.

También es importante estar convencidos del diseño y tipo de tinas o tanques a construir, tomando en cuenta las ventajas y desventajas de cada uno. Los cuales pueden ser tinas circulares, cuadradas o rectangulares y raceways confeccionados con geomembrana, malla metálica, en tierra o con block y concreto.

Entonces ¿Cómo se sabrá el número de tinas o el volumen requerido? Véase el ejemplo a continuación:

Tabla 4. Ejemplo de cálculo de volumen de tinas

PL/L	PL A SEMB.	M ³	M ³ /TINA	No. TINAS
12	20,625,000	1,719	80	21.5

Si el cálculo da 21.5 tinas entonces redondearía a **22 tinas de 80 m³** o bien a **18 tinas de 100 m³**; el criterio es manejar en pares la cantidad de tinas y no perder de vista el volumen que se requiere para la necesidad proyectada.

Se recomienda manejar un margen de seguridad y decidir por múltiplos de 4 y en lugar de 22 serían **24 tinas de 80 m³**. El uso de tanques de mayor volumen permite optimizar recursos y espacio, con la ventaja de obtener organismos de tallas promedio mayores a 250 mg, sembrando menores densidades, obteniendo mejores sobrevivencias con la ventaja de mantener tallas homogéneas que difícilmente se pueden obtener en tanques pequeños.

4.2. Suministro de agua.

El gasto de agua va estar en función del volumen que se va a manejar y en función del porcentaje (%) de recambio máximo proyectado en el protocolo.

Para esto, ya se conoce el volumen total de llenado y este es: 1,900 m³, con este dato, ahora se puede tomar la decisión de qué tipo de bombas y qué gasto se va a generar desde la toma de agua, considerando la pérdida que se tenga por el uso de filtros y el número de reservorios proyectados. Se recomienda que el llenado no sea tan rápido o violento para que el sistema de filtración y desinfección sea eficiente.

Se recomienda para el suministro de agua, seleccionar bien el sitio y tomando en cuenta: la calidad, tipo de toma de agua, sustrato, distancia a la maternidad y al campamento base y distancia de la energía comercial o a otra fuente de energía.

Para un proyecto de 1,900 m³ se requieren de 5 bombas con una capacidad de gasto volumétrico de 180 a 220 GPM, es decir, de 680 a 830 litros por minuto; pueden ser bombas de 5 Hp, con entrada y salida de 3", con sus respectivos "kit" de refacciones, incluyendo un par de motores de la misma capacidad como respaldo. (Ver figura 15).

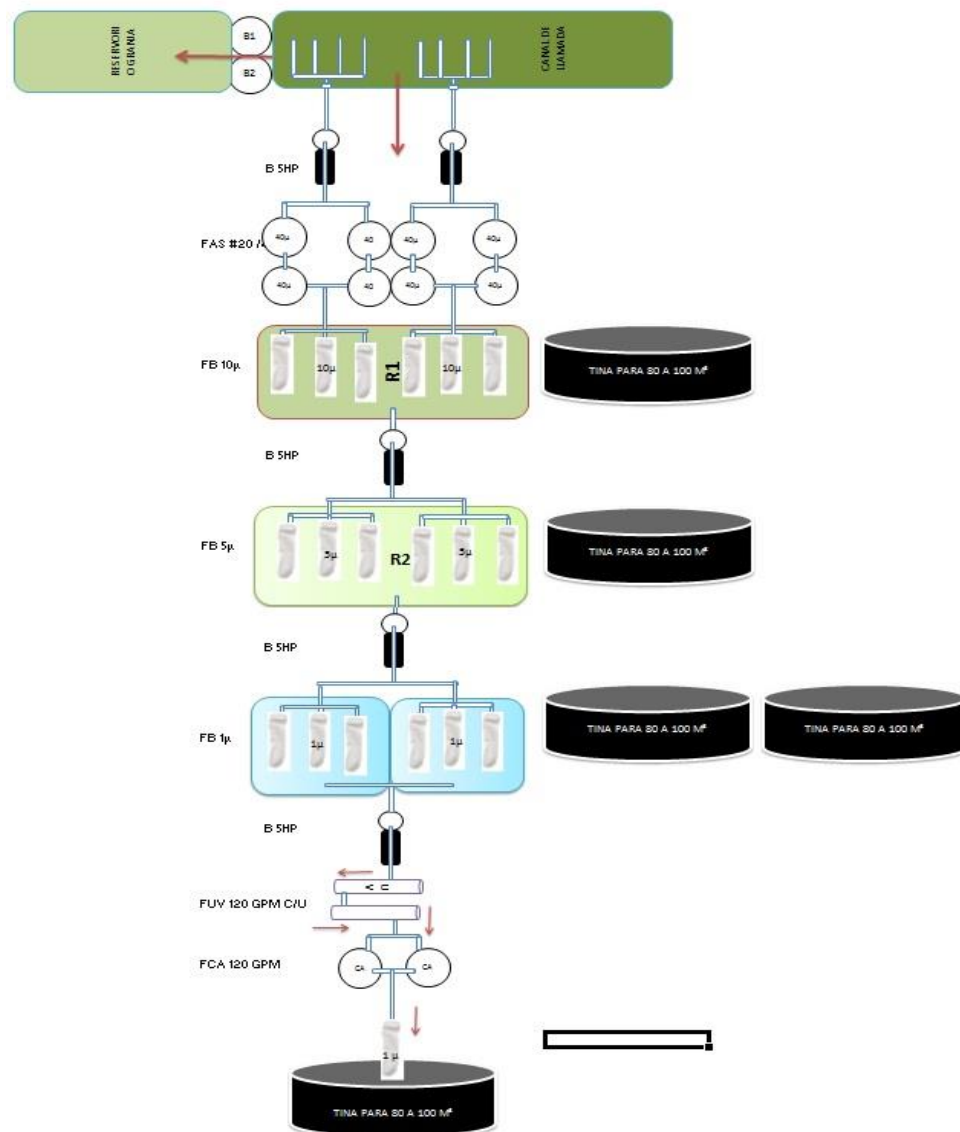


Figura 15. Proceso de suministro, filtración y desinfección del agua para maternización.

4.3. Dimensiones de equipo de aireación.

El cálculo de la aireación necesaria para las tinas o tanques, va estar en función de la carga biológica máxima y el tipo de aireación más eficiente y práctico para las necesidades de cada caso; también es importante inducir una circulación del agua para llevar el aire disuelto a la mayor parte del tanque o tina.

Se presenta un ejercicio para encontrar la cantidad en metros lineales a utilizar por tina o tanque si se decide por la manguera porosa/micro-burbuja, así como el total de metros para todo el proyecto.

Manguera de 0.4 Pie³/min (óptimo)

Se convierten Metros a Pies

20 m manguera X 3.3 Pie/m = 66 Pies

Para conocer los Pies cúbicos estándar por minuto (SCFM), se multiplican los Pies de manguera X 0.4 Pies cúbicos/min.

Ejemplo:

66 X 0.4 = **26.4 Pies SCFM**

Ahora hay que conocer el rendimiento de cada Soplador de aire (Blower):

10 HP = 345 Pie³

20 HP = 485 Pie³

10 HP 345/26.4 = 13.06

20 HP 485/26.4 = 18.37

Lo que resulte de esta operación se multiplica por los 20 m de manguera, por ejemplo:

10 HP 13.06 X 20 = 272 m de manguera porosa

20 HP 18.37 X 20 = 367.4 m de manguera porosa

Si cada rejilla o parrilla está confeccionada con 20 m de manguera porosa entonces cada soplador de aire soporta:

Blower 10 HP 272/20 = 13.6 redondeando sería: 14 parrillas (280 m)

Blower 20 HP 367.4/20 = 18.37 redondeando sería: 18 parrillas (360 m)

Este dato también indica que es más conveniente un soplador de 10 HP, es decir 2 sopladores de 10 HP dan mucho mas aire que uno de 20 hp.

Para cada 100 m³ se requieren 60 m lineales de manguera porosa, es decir, 3 parrillas con 20 m cada una.

4.4. Densidades de siembra

La densidad de siembra se tiene que decidir en función de cuantas semanas queremos tener de ventaja en el cultivo de engorda y en este caso regularmente se decide por 250 mg y/ó 0.25 gr.

En el mismo periodo de cultivo la densidad es proporcional a la sobrevivencia, esto es, entre más densidad, menor sobrevivencia, entonces, para obtener sobrevivencias y pesos promedio aceptables o proyectados, habría que revisar la tabla que continuación de presenta. (Ver tabla 5)

Tabla 5. Curvas de Crecimiento

MATERNIZACIÓN			CRECIMIENTO Gr. DENSIDAD PL/L																
DÍAS	% SOB.	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	100	0.006									0.006					0.0066			
2	99	0.009									0.007					0.0073			
3	98	0.010									0.008					0.0081			
4	97	0.015									0.009					0.0088			
5	96	0.021									0.010					0.0095			
6	95	0.026									0.011					0.0097			
7	94	0.031									0.012					0.01			
8	93	0.037									0.016					0.0102			
9	92	0.042									0.019					0.0117			
10	91	0.054									0.023					0.0132			
11	90	0.066									0.026					0.0146			
12	89	0.078									0.030					0.0161			
13	88	0.090									0.033					0.02			
14	87	0.102									0.037					0.0215			
15	86	0.114									0.043					0.032			
16	85	0.126									0.049					0.0337			
17	84	0.156									0.055					0.0353			
18	83	0.186									0.061					0.037			
19	82	0.216									0.067					0.0475			
20	81	0.246									0.097					0.064			
21	80	0.276									0.127					0.069			
22	79	0.306									0.157					0.073			
23	78	0.336									0.187					0.089			
24	77	0.436									0.217					0.105			
25	76	0.536									0.247					0.121			
26	75	0.636									0.277					0.137			
27	74	0.736									0.307					0.153			
28	73	0.836									0.337					0.169			
29	72	0.936									0.367					0.185			
30	71	1.036									0.397					0.201			

Este formato de tabla ha sido diseñado de forma dinámica para que pueda ser de mayor utilidad y se encuentra el archivo *tablas dinámicas* en CD adjunto al presente manual.

4.5. Logística de siembra.

Algunas consideraciones que deberán tomarse en cuenta son:

- El calendario de mareas para la proyección de la siembra.
- Coordinación con el laboratorio proveedor de post-larvas.
- Programación de llenado, filtrado y desinfección del agua de cultivo.
- Contar de manera oportuna con el personal, equipo e insumos necesarios para la operación de la maternidad.

UNA VEZ REALIZADA LA PROYECCIÓN DE LOS ORGANISMOS NECESARIOS PARA LA SIEMBRA DE LA MATERNIDAD, SE DEBERÁN PLANIFICAR LOS TRÁMITES CORRESPONDIENTES PARA EL PERMISO DE OPERACIÓN, CERTIFICADO SANITARIO DE LOS ORGANISMOS, LA CONSTANCIA DE BUENAS PRÁCTICAS EMITIDA POR EL COSAES Y PERMISO DE SIEMBRA, CONSIDERANDO ADEMÁS EL CUMPLIMIENTO DEL PROTOCOLO SANITARIO DE CULTIVO DE CAMARÓN PUBLICADO EN EL BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO.

5. MANEJO Y CONTROL DEL AGUA.

5.1. Calidad de agua.

La calidad de agua es un punto muy importante para obtener altos rendimientos, ya que las tinas son comúnmente contaminadas por el uso incorrecto del alimento, desechos de los organismos y mal manejo. También es la primera y principal fuente de contaminación bacteriana o viral.

Entre más clara está el agua, mayor eficiencia tienen los equipos y químicos de desinfección.

En las maternidades se manejan biomásas muy altas y por consiguiente las tasas de alimentación también son altas por lo que el recambio debe ser suplido con aireación para mantener un nivel aceptable de oxígeno. También es buena práctica usar el método heterotrófico de cultivo, para reducir la necesidad de agua nueva en el cultivo.

5.2 Filtración.

El agua será filtrada a través de filtros de arena calibre #20, y por filtros de cartucho de 5 micras. Para el llenado de las tinas se usan filtros de bolsa de 1 micra. Para desinfectar el agua se agrega cloro en una concentración de 20 ppm. Se deja actuar el cloro por 12 hrs. Con aireación constante.

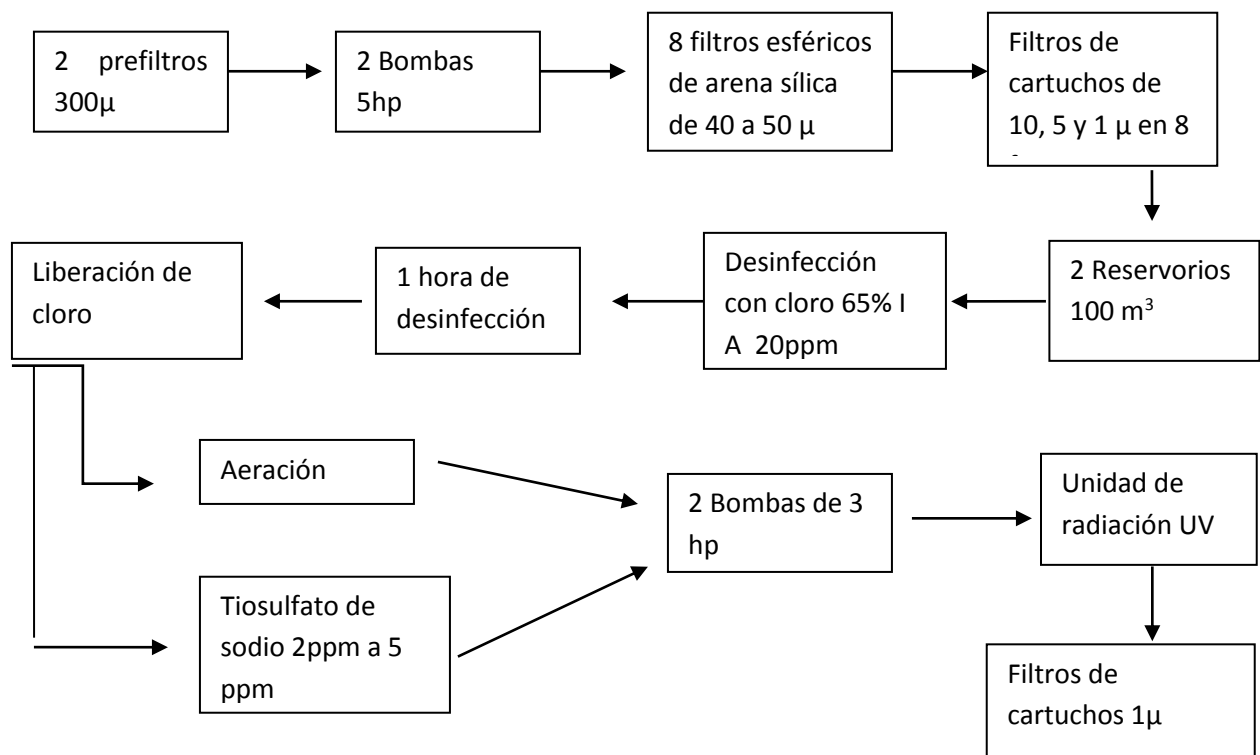


Figura 16. Diagrama de un sistema de filtrado y desinfección de agua.

5.3. Desinfección.

La desinfección del agua puede ser por diferentes métodos, como es explicado en la sección de desinfectantes. Lo importante es que el agua que va hacia el llenado de las tinas esté desinfectada. La desinfección del agua se hace adicionando cloro en una concentración de 20 ppm, 2 a 12 horas. Después de ese tiempo se mide la concentración de cloro presente en el agua, esto se hace utilizando un kit convencional para medir cloro en albercas, el resultado tiene que ser cero (nula presencia de cloro). En caso de que se detecte cloro en el agua, se debe adicionar 3 g. de Vitamina C (ácido ascórbico) por tonelada de agua, o bien otro neutralizador de cloro como el tiosulfato de sodio, esto va a depender de las necesidades de la maternidad.

5.4. Parámetros físico-químicos.

Los factores que más afectan al camarón son las variables de calidad de agua. No obstante, el efecto negativo es menor si la calidad del agua es manejada correctamente y se mantienen buenas condiciones. Para que esto sea posible se debe llevar un buen manejo en la toma de parámetros físico-químicos como son: temperatura, oxígeno, pH, salinidad, concentración de amonio total (NH_4), amonio no ionizado y/o amoniacal (NH_3) y nitritos (NO_2).

5.5. Protocolo para monitorear la calidad de agua.

Se toman los parámetros físico-químicos normales: temperatura, pH, y oxígeno (con los equipos convencionales). Esto se hace cada 2 hrs. Además diariamente se toman muestras de agua en la mañana (6:00 am) para determinar amonio, nitritos y nitratos. Los resultados se deben tener a más tardar a las 8:00 am, esto para poder tomar decisiones en cuanto a la aplicación de probióticos, recambios de agua, sifoneo, etc. Para hacer estas mediciones se recomienda contar con un espectrofotómetro. Ver tabla 6.

Tabla 6. Frecuencia para monitorear parámetros físico-químicos y compuestos nitrogenados en maternidades.

Parámetro	Frecuencia	Mínima	Máxima
Temperatura	cada 2 horas	28°C	30°C
Oxígeno	Cada 2 horas	mayor a 3 mg/lit	
pH	Diariamente 6 am	7	8.5
N total	Cada tercer día		
NH_4	Cada tercer día	0 mg/lit	0.26 mg/lit
NH_3	Cada tercer día	0.96 mg/lit	1.0 mg/lit
NO_2	Cada tercer día	0.006 mg/lit	0.66 mg/lit

La efectividad del uso de probióticos va a determinar la frecuencia de muestreo de compuestos nitrogenados (amonio total (NH_4), amonio no ionizado y/o amoniacal (NH_3) y nitritos (NO_2)).

Para controlar la temperatura se utiliza el invernadero, para aumentar o mantener la temperatura se cierran los plásticos y se realiza poco o nulo recambio de agua.

En caso de bajas de oxígeno, dependiendo del caso se puede: bajar ración de alimento, sifoneo de fondos, administrar oxígeno, realizar recambios de agua, aplicación de liberador de oxígeno, etc.

NOTA: El personal de cada módulo toma las muestras de agua y parámetros físico-químicos ya que cada uno tiene su propio oxímetro, potenciómetro, frascos para muestra de agua e implementos de muestreo.

Así mismo, debe haber una cubeta con agua clorada a 20 ppm para desinfectar cada material que se meta a la tina (1 cubeta /módulo).

5.6. Recambio de agua.

El recambio de agua en los tanques se da cuando los parámetros físico-químicos de calidad están fuera del rango óptimo. Se realiza descargando agua del tanque hacia el registro y posteriormente a la laguna de oxidación y recuperando niveles en la tina bombeando agua del reservorio. El porcentaje de recambio que se maneja es del 10 %.

Cuando se observa alimento no consumido o heces fecales en el fondo del tanque, se hace un sifoneo para evitar que se incremente el porcentaje de materia orgánica y pueda contaminar. Después del sifoneo se recupera el nivel de agua que se tenía anteriormente.

Es importante llevar un registro de los parámetros físico-químicos y de compuestos nitrogenados, por lo que se proponen los formatos del Anexo 1 al 4. (Ver sección de anexos).

5.7. Descarga de agua de cultivo.

La descarga de agua de la maternidad es canalizada a una laguna de oxidación o a un dren que debe permanecer sellado mientras se encuentre operando dentro del periodo de vacío sanitario. Será necesario tratar esta agua con algún químico previo a su liberación al medio ambiente. La línea de conducción del agua a la laguna es por tubería de pvc de 10". Cada tanque descarga al dren principal en tubería de 4" en el centro, mismo que tiene un tubo de PVC de nivel como protección y va a dar a un registro fuera de la tina.



Figura 17. Sistema de drenaje.



Figura 18. Laguna de oxidación.

6. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LAS POST-LARVAS.

A pesar de que el camarón ha demostrado ser un animal muy resistente al manejo, no es inmune a todos los patógenos, ni al estrés o a un maltrato. El camarón puede debilitarse fisiológicamente por mala calidad de agua, cambios ambientales extremos, contaminantes, mala nutrición y ciertos patógenos.

Con el fin de minimizar problemas patológicos que afecten el crecimiento y la sobrevivencia del camarón, se recomienda que se mantenga una buena calidad de agua durante el cultivo como una estrategia preventiva, y a la vez un programa rutinario de monitoreo de salud, para así detectar el inicio de la enfermedad que permita un régimen de medidas correctivas en el momento adecuado.

Se recomienda, realizar el primer monitoreo de salud desde el momento en que la post-larva llega a su maternidad o granja, para evaluar morfológicamente y fisiológicamente de forma cuantitativa y cualitativa, la calidad del lote de post-larvas que está recibiendo; así mismo se sugiere la aplicación de monitoreo sucesivo en la etapa de engorda de los juveniles. Esta metodología de evaluación para post-larvas y organismos juveniles, se basa en análisis realizados mediante técnicas tales como: análisis en fresco, bacteriología, PCR e histología.

Además de estas técnicas, se contemplan procedimientos de evaluación mediante la aplicación de estrés y observaciones morfométricas y de comportamiento. Junto con estos procesos, la calidad de la post-larva tiene como herramienta el análisis en fresco, misma que es de gran utilidad para llevar a cabo el monitoreo de salud en juveniles. Se recomienda la incorporación de un laboratorio de bacteriología dentro de las instalaciones de su misma granja, donde se puedan llevar a cabo análisis bacteriológicos de forma inmediata durante el ciclo productivo, desde la recepción hasta la cosecha de los organismos. En caso de no contar con el equipo necesario, el cliente podrá solicitar los servicios de un laboratorio de bacteriología a su elección.

La herramienta decisiva en la determinación de la calidad de post-larva y monitoreo de salud a juveniles en cuanto a la detección de WSSV, es el diagnóstico por PCR.

6.1. Muestreo.

Para que el monitoreo de salud sea representativo, el proceso de colección de muestras se realiza de forma aleatoria en diferentes puntos del tanque de transporte, con la finalidad de obtener de 4,000 a 6,000 post-larvas, que se mantendrán en una cubeta de 20 litros con agua del mismo transporte, agregándole alimento y aireación por un mínimo de 5 minutos. Dependiendo el tipo de análisis al que se quiera someter la muestra, se pueden utilizar dos criterios distintos con el mismo intervalo de confianza. Estos criterios están sujetos a cambio según los acuerdos de las instituciones reguladoras.

El primer criterio que se aplica para diagnóstico por PCR, es coleccionar de forma aleatoria, de la cubeta de 20 litros con los 4,000 a 5,000 organismos, un mínimo de 150 post-larvas para su análisis, esto nos daría un intervalo de confianza del 95% sobre el resultado de la misma en el caso de tener una prevalencia del 2% de organismos afectados.

El segundo criterio es coleccionar de forma aleatoria 60 organismos procedentes de esta misma cubeta de 20 litros, para mantener un intervalo de confianza del 95%, pero con un 5% de prevalencia de organismos infectados.

Ambos criterios se pueden manejar en el caso de que en número total de organismos sea mayor o igual a 100,000. En la siguiente tabla se muestra el número de organismos que es necesario analizar, según el tipo de análisis, para mantener un intervalo de confianza del 95% de los resultados con un porcentaje del 2 y 5 de prevalencia.

Tabla 7. Tamaño de la muestra requerida según tipo de análisis con un nivel de confianza de 95%.

No organismos	Tipo de análisis	Prevalencia.	Colección y traslado
60	Estrés osmótico	5%	Se coleccionan directamente de la cubeta de 20 litros, la cual se puede mantener en el laboratorio con aireación, para su inmediato análisis.
60	Talla y Coef. Var.	5%	
60	Desarrollo Branquial Actividad Deformidad Necrosis y Melanosis Signos de estrés Muda Epibiontes Contenido Alimento	5%	
60	Bacteriología	5%	
150	PCR	2%	Análisis de WSSV fijados en Alcohol 95% Análisis de WSSV y TSV empacados en agua

Si la granja no cuenta con un laboratorio de bacteriología, y se decide enviar muestras para su análisis bacteriológico, éstas deberán ser enviadas vivas y debidamente empaquetadas en agua a 20°C del mismo transporte, dentro de bolsas de plástico en hieleras y saturadas con oxígeno.

Si se decide coleccionar una muestra de la cubeta de 20 litros para realizar PCR para TSV, la muestra de no menos de 150 Pl's, deberá ser coleccionada y fijada inmediatamente mediante congelación a -70°C, esto se logra dejándola en contacto directo con hielo seco y manteniéndola en una hielera. También funciona fijar la muestra con etanol al 95%.

6.2. Evaluación de post-larvas al momento de la recepción en campo.

Como antecedentes existen varias propuestas de evaluación en las cuales se proponen ciertos parámetros o características a monitorear con la finalidad de estimar la calidad de las post-larvas (Prueba de estrés osmótico, actividad, partículas adheridas, deformidades, talla y coeficiente de variación, contenido de alimento, necrosis o melanosis y epicomensales).

6.2.1. Prueba de estrés osmótica.

Esta es una de las pruebas con mayor peso para la autorización de la salida de un embarque, Olin y Fast (1992) proponen un límite máximo del 15% de mortalidad, en prueba de Presión Osmótica para *L. vannamei*, en laboratorio, antes del transporte. Debido al estrés al que se somete la post-larva en la preparación del transporte, aclimatación de temperatura, tiempo de traslado y manipulación, se debe esperar una sobrevivencia mayor al 80% al arribo de la post-larva a la granja. La metodología es la siguiente:

- Se recuperan al menos 60 Pl's de la cubeta de 20 litros, con una red y se pasan a un vaso de 1.0 lt de agua con una salinidad de 0 ‰ (agua dulce potable y libre de cloro) a la misma temperatura del transporte, dejándose por 30 minutos en aireación y alimento Shell Free. Se monitorea la temperatura y el oxígeno durante el proceso.
- Pasado este tiempo se recupera con una red las Pl's y se regresan a un vaso de 1.0 lt con agua del transporte y se dejan otros 30 minutos agregando alimento Shell Free y aireación, nuevamente revisamos oxígeno y temperatura.
- Pasados los 30 minutos se cuentan los organismos vivos y muertos estimando así el porcentaje (%) de sobrevivencia para esta prueba. Consideramos muertos todos aquellos organismos que estén ladeados o no presenten movimiento.

Una post-larva que presenta más de 80% de sobrevivencia a esta prueba, demuestra tener un buen nivel de salud así como alta capacidad de osmoregulación. Hay que recordar que el fundamento de esta prueba es medir la capacidad de respuesta al cambio osmótico (dada por diferencia de salinidad) por parte de las Pl's y esto se lleva a cabo por las branquias. Si la prueba de estrés es menor al 80%, se sugiere volver a realizarla, debido a que pudo ser influenciada por otros factores. Se recomienda que mientras transcurre el tiempo de la prueba de estrés, se realicen los análisis de las características señaladas en la Tabla 8, de rangos y medidas para calificar la calidad de post-larva en campo.

6.2.2. Talla promedio.

El cliente recibirá una talla promedio mínima de 8.0mm, en el estadio promedio de Pl 12 y con un coeficiente de variación menor o igual al 15%, en el entendido de que si el estadio larval es mayor que pl 12, el coeficiente de variación incrementa. Por lo que recomendamos al cliente que al momento de recibir las post-larvas en la maternidad o granja, éstas sean medidas con la siguiente metodología.

- Se toma una muestra de 60 organismos de la cubeta de 20 litros, los cuales pueden ser fijados con alcohol 95º o muertos con baja temperatura, de manera tal que puedan ser colocados de forma extendida sobre papel milimétrico plastificado o en un portaobjeto con una regla. Se puede recurrir a tintas de yodo o verde malaquita que nos faciliten la visibilidad de los contornos. La medida se toma desde el borde anterior del ojo hasta la parte caudal de los urópodos, como se muestra en la figura 19, las medidas que resulten deberán estar comprendidas dentro de los rangos de la tabla 8.

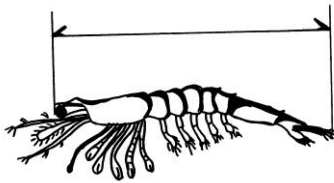
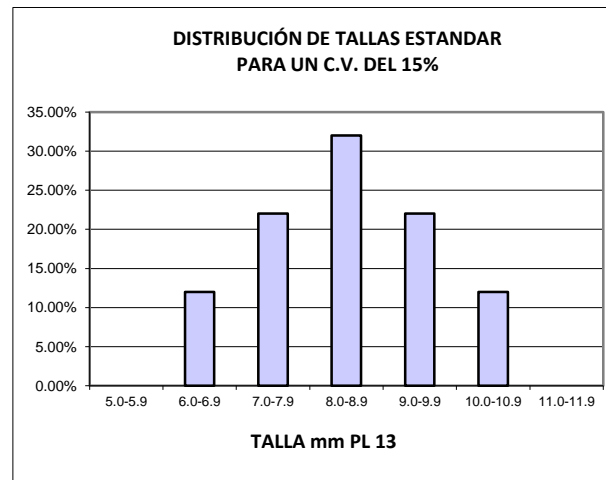


Figura 19. Medida de muestra para obtener talla promedio.

Tabla 8. Tabla de rangos y medidas.

6.0 a 6.9 = 6.5mm	9.0 a 9.9 = 9.5mm
7.0 a 7.9 = 7.5mm	10.0 a 10.9 = 10.5mm
8.0 a 8.9 = 8.5mm	



Gráfica 1. Distribución de tallas estándar para un C.V. del 15%.

En la gráfica se observa una curva de distribución normal para un Coeficiente de Variación del 15%, que es el valor máximo permitido, donde se representan los porcentajes para cada talla; y como se observa se puede esperar un aproximado del 34% de organismos por debajo de 8.0 mm, así como un 66% mayor a 8.0 mm. en el entendido de que si recibe una post-larva con menor Coeficiente de Variación, la curva de dispersión se modifica.

Los cálculos estadísticos a realizar son:

- Media: Suma de un conjunto de cantidades dividida entre el número de ellas.
- Desv. Est.: Desviación promedio de los datos en una distribución respecto a su media.
- Coef. Var.: La razón de la desviación estándar a la media de una distribución dada, se obtiene al dividir la desviación estándar entre la media.

6.2.3. Desarrollo branquial.

Para este procedimiento se toman 60 Pl's de la cubeta de 20 litros, a las cuales se les observa la morfología branquial y el porcentaje del llenado de la cavidad branquial. Por experiencia se sabe que a partir del estadio PI 10, las lobulaciones de las branquias se pueden considerar completas, correspondiendo a un árbol branquial ramificado, que ya presenta lamelas secundarias y abarca toda la cavidad branquial; este desarrollo morfológico coincide con el desarrollo de las espinas del rostrum observándose en PI 10, 4 espinas superiores y 0 inferiores, y en PI 12 pueden ser 4-5

superiores y 0-1 inferiores. La observación se logra con un microscopio o estereoscopio, mediante un montaje húmedo en solución salina estéril. Ver figuras 20 y 21.

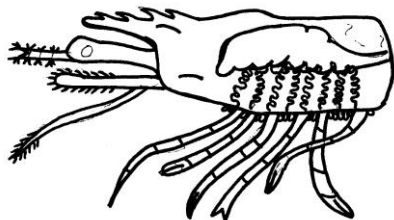


Figura 20. PI 10 , espinas 4/0, 7.0 mm

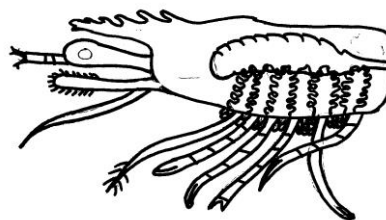


Figura 21. PI 12 , espinas 4-5/0-1, 8.0 mm

Con la finalidad de disminuir el tiempo en los análisis, y agilizar el proceso de entrega de las PI's, recomendamos que se realicen paralelamente el análisis de talla y por otra parte el resto de los análisis, tales como desarrollo branquial, deformaciones, necrosis y melanización, signos de estrés, muda y la presencia de epibiontes.

6.2.4. Movimiento.

Otro parámetro que se considera importante es evaluar la actividad de la post-larva. Deben observarse los movimientos natatorios, respuesta de escape y reotaxia. Al agitar de forma circular el agua de una muestra con post-larvas normalmente las más débiles o estresadas se van al centro y las más fuertes nadan contra la corriente, recomendamos observar una muestra de al menos 60 organismos para así poder estimar el porcentaje de organismos en el fondo, o que se observan quietos, esta actividad incrementa con el aumento de temperatura. La muestra a analizar puede ser tomada de la misma cubeta de 20 litros que contiene los 4,000 a 6,000 organismos. Es importante recordar que la temperatura de transporte (20° C.) produce un aletargamiento en las post-larvas.

6.2.5. Deformidad.

La observación directa al microscopio nos puede mostrar la morfología de las estructuras externas de las PI's. En el caso de existir deformidades, hasta en un 10% de la población, éstas pueden estar afectando apéndices, zetas de las antenas o espinas, telsum, rostrum y 6to segmento, esta característica puede estar presente y no necesariamente es indicativa de IHNV. Es observable mediante un estereoscopio o un microscopio.

6.2.6. Necrosis.

Este es un proceso degenerativo que afecta principalmente a las branquias. El análisis se lleva a cabo mediante la observación de las branquias al microscopio, y se evalúa el porcentaje del área de las branquias que está siendo afectada. Esta lesión puede estar localizada hasta en un 10% del área total de las branquias y dentro de la población se puede encontrar hasta un 20% de organismos con estas características. Es observable mediante un estereoscopio o un microscopio, se debe tener cuidado de no confundirla con Melanosis, ésta es una característica de inflamación y no es degenerativa. La experiencia que se tiene sobre el manejo de este problema es que tiende a desaparecer con la muda.

6.2.7. Muda.

El proceso de muda es un proceso fisiológico regido principalmente por el metabolismo de las post-larvas, el hecho de observar una elevada presencia de mudas no es un indicativo de mala calidad de post-larva. La metodología que se propone es práctica pero subjetiva, y se realiza mediante la observación de las mudas presentes en muestras de agua con post-larvas, procedente de la pipa o transportador, las cuales se colectan con un recipiente de 1L. De cada muestra se cuenta el No. de mudas presentes y conociendo el No. de organismos por litro del transporte, se estima el porcentaje de mudas existentes. Se deben tomar en cuenta factores que pueden estar alterando el porcentaje de muda, como lo es el sistema de aireación que va a mantener las mudas en la superficie.

6.2.8. Epibiontes o parásitos.

Este análisis nos permite estimar el grado de infestación presente en el organismo, mediante la utilización de un microscopio con ajuste de diafragma. Es importante conocer la localización y órgano blanco donde se alojan estos epibiontes o parásitos. Las tres principales áreas afectadas son branquias, exoesqueleto e intestino. Una afección de este tipo sobre las branquias puede alterar el resultado de una prueba de estrés. El porcentaje de organismos afectados puede ser hasta de un 10%, todos en grado 1 o ligero. En la tabla 9 se mencionan los parásitos y epibiontes más comunes para cada localización.

Tabla 9. Parásitos y epibiontes más comunes

LOCALIZADOS EN BRANQUIAS Y EXOESQUELETO:

<u>BACTERIAS</u>	<u>ALGAS</u>	<u>ALGAS VERDES</u>	<u>NEMATODOS</u>	<u>PROTOZOARIOS</u>	
*Leucothrix	*Spirulina	*Filamentosas	Acarophis	PERITRICOS	*Zoothamnium
Flexibacter	Schizothrix	Flageladas	Leptolaimus		*Epistylis
VIBRIOS					*Vorticella
					*Lagenophrys
				GREGARINAS	Amoebas
				CILIADOS	Holotrichs
				SUCTORIAS	Ephelota
* Géneros encontrados con mayor frecuencia.					*Acineta

LOCALIZADOS EN INTESTINO:

<u>PROTOZOARIOS</u>		<u>NEMATODOS</u>	<u>CESTODOS</u>	<u>TREMATODOS</u>
GREGARINAS	*Nematopsis	Acarophis	Renibulus peneus	Parorchis
	Cephalolobus	Leptolaimus	Parachristianella	Microphallus
	Paraophioidina		Cyclophyllidean larvae	
* Géneros encontrados con mayor frecuencia.				

Los protozoarios también pueden encontrarse sobre el exoesqueleto.

6.2.9. Alimento en el tracto intestinal.

La muestra debe ser de no menos de 60 organismos, a los cuales se les observa el llenado intestinal con la ayuda de un microscopio. La forma de evaluar es calculando el porcentaje de llenado que presenta el intestino, los criterios son: lleno más del 75%, semi-lleno del 75 al 30% y vacío menor al 30%. La coloración del intestino dependerá del tipo de alimento suministrado.

6.2.10. Signos de estrés.

Estos son observables a simple vista y están considerados como: presencia de músculo blanco, nado errático o post-larva fondeada, cromatóforos expandidos. El porcentaje debe ser del 5 al 10% de la población afectada. Estos signos sirven para estimar la calidad de transportación a la que fueron sometidos los organismos.

6.2.11. Bacteriología en post-larvas.

Las principales enfermedades bacterianas en camarones peneidos son causadas en su mayoría por bacterias del género *Vibrio*, éstas también han sido reportadas como flora normal en organismos sanos, por esto se concluye que las bacterias del género *Vibrio sp.* tienen comportamiento de patógeno oportunista.

Las estimaciones de las cargas bacterianas se realizan mediante los conteos de colonias conocidas como Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/gr). Estas estimaciones se generan a través de siembras de macerados de post-larvas en placas de petri con Agar TSA y TCBS. Además, se debe estimar la relación entre UFC's verdes y amarillas (*Vibrio sp* en Agar TCBS), así como detectar la presencia de colonias bioluminiscentes. El conteo de colonias se puede realizar en las 18 a 24hrs posteriores a la siembra. La característica de bioluminiscencia es más notoria a las 16 hrs. posterior a la siembra.

Debido a la forma en que se expresan los resultados, es necesario conocer el peso de las Pl's y esto se logra pesando un grupo de más de 150 organismos que posteriormente son contados para estimar su peso promedio.

El número de post-larvas para que la muestra bacteriológica sea representativa debe ser de 60, a estas post-larvas se les realizará un solo macerado, del cual se tomarán alícuotas para realizar diluciones seriadas. A continuación se menciona el procedimiento recomendado.

- Mediante un cedazo fino se colecta una muestra de 60 post-larvas, de la misma cubeta de 20 litros que contiene los 4,000 a 6,000 organismos y se les realiza un lavado, que consiste en enjuagarlas con solución salina estéril al 2.5% NaCl (SSE) por 15 segundos y a continuación se les aplica otro lavado con alcohol al 70% por 30 a 40 segundos y finalmente se enjuagan con SSE por otros 20 segundos.
- Se colocan las 60 post-larvas en un mortero previamente esterilizado y se les agregan 60ml de SSE. procediendo a macerarlas hasta que se observe una suspensión homogénea.

- De esta suspensión homogénea se toma una alícuota de 0.1ml y se siembra mediante dilución seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-5} en placas de petri de agar TCBS y agar TSA.
- Ambas placas se incuban a 30°C durante un periodo de 18 a 24 hrs. La presencia de bioluminiscencia se debe monitorear a las 16 – 18hrs.
- Pasado el tiempo de incubación, se procede a realizar el conteo de colonias para establecer las Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/gr). Esta estimación se realiza de las placas donde el número de colonias contadas esté dentro de los rangos de 30-300 UFC.

De acuerdo con Baticados *et al.* (1990, 1991) y Mohny *et al.* (1994), La luminiscencia es una característica de bacterias patógenas para camarones peneidos como *L. vannamei*.

Tabla 10. Rangos de la flora normal de conteos Bacterias totales TSA

8.7 X10 ² – 1.3 X10 ⁶ /gr.	Vanderzant <i>et al.</i> , (1971),
3.6 – 4.4 X10 ⁶ /gr	Álvarez (1983) Cabezas
2.0 X10 ⁶ /gr	Álvarez (1983) Colas
3.4 X10 ⁴ – 3.8 X10 ⁵	Koburger <i>et al.</i> , (1975)

Como se puede observar (Tabla 10) el rango de bacterias totales es variable, por lo que se asume un comportamiento similar o variable para la flora de bacterias vibrionaceas. Es por este motivo que la carga bacteriana se debe monitorear desde las primeras etapas de desarrollo, para ir conociendo la evolución y crecimiento de las mismas. En la tabla 11 se presentan valores máximos permitidos de bacterias crecidas en TCBS (*Vibrios*):

Tabla 11. Rangos para macerados de post-larva

1 X10 ⁴ UFC/gr	<i>Vibrio sp.</i>	TCBS
Relación colonias Amarillas – Verdes 3:1		TCBS
0 UFC/org.	<i>Vibrio sp.</i>	Bioluminiscencia

Como se observa, el poder establecer o juzgar un brote infeccioso por *Vibrio sp.* resulta realmente complicado si se analiza solamente por bacteriología. Se recomienda considerar el conjunto de los siguientes criterios para identificar un brote.

- La cantidad observada de colonias de bacterias *Vibrio* (TCBS) con respecto a las colonias de bacterias totales (TSA).
- La relación entre las colonias verdes y amarillas (TCBS). **(1:3)**
- La presencia de bioluminiscencia. **(Negativa)**
- Presencia de agentes patógenos de primer orden. **(WSSV, TSV, NHP)**

En caso de no contar con el equipo necesario, se requerirá de los servicios de un Laboratorio de Bacteriología de su elección, al cual hará llegar organismos vivos para su análisis.

6.2.12. Hepatopáncreas.

La observación del hepatopáncreas mediante un montaje húmedo en post-larvas, se realiza con la finalidad de estimar la cantidad de lípidos presentes dentro de los túbulos, tratando de relacionarlos, con una dieta rica en ácidos grasos, pero esta interpretación es subjetiva y no tiene validez para ser tomada como un parámetro que evalúe la calidad de la post-larva. No se debe realizar el análisis en fresco al hepatopáncreas con la finalidad de llegar a un diagnóstico presuntivo de NHP, ya que ésta se reporta como una enfermedad que no es de transmisión vertical y existen reportes de que ha sido diagnosticada mediante sondas moleculares, en organismos con más de 30 días posteriores a la siembra. Por lo que se supone que NHP se adquiere en los estanques.

Dentro del sistema de producción de post-larva, uno de los sistemas de monitoreo de salud implementado por el Departamento de Aseguramiento de Calidad, consta del análisis histológico que semanalmente se realiza a post-larvas de las pilas en producción. Además, dentro del sistema de bioseguridad de los Laboratorios y maternidades, se cuenta con sistemas de filtración y esterilización del agua tanto marina como de pozo que se utiliza en la crianza, con esto se puede tener la confianza plena de que la post-larva es libre de NHP.

Cabe mencionar que todas estas características evaluables en campo al momento de la recepción, antes mencionadas, le darán una idea aproximada de la calidad de las post-larvas. Para incrementar su nivel de confianza en la calidad de nuestra post-larva, se recomienda ampliamente se realice un examen exhaustivo que indique las condiciones patológicas presentes en las mismas, a través de técnicas como PCR o en su defecto por Histología. Como primer paso en el monitoreo de salud se recomienda ampliamente realizar cada uno de los análisis sugeridos en este protocolo para la evaluación de la calidad de la post-larva, ya que se considera que con la correcta aplicación de estos procedimientos, se puede llegar a valorar objetivamente la calidad de la post-larva que está adquiriendo, a tal manera que le sirva de herramienta para poder comparar post-larva de distintas procedencias y adquirir aquella que ofrezca una mejor calidad.

El siguiente paso para establecer un protocolo de sanidad, que abarque las distintas etapas establecidas para un sistema de producción camaronícola, son las rutinas de monitoreo a organismos juveniles, que deberá de realizar con una periodicidad con la cual usted se tenga plena confianza de que puede detectar el inicio de un brote infeccioso aún cuando no se observen signos de mortalidad, para de esta manera cosechar sin riesgo de pérdidas económicas.

6.2.13. Tabla de valores para calificar la calidad de post-larvas en campo.

Esta tabla contiene una serie de valores mediante los cuales se puede de una manera objetiva, determinar el nivel de calidad de las post-larvas, de manera que se asignan valores por análisis, que al ser sumados, indican la condición general en que se encuentran las post-larvas. Este Sistema de Monitoreo de la Salud, como una necesidad, se debe implementar dentro de la rutina de recepción de post-larva, sin importar su procedencia, ya que mediante esta serie de análisis se puede llevar a cabo un registro de la calidad de post-larva de distintas empresas, para comparar y poder elegir la mejor opción de compra.

Tabla 12. Tabla de valores para calificar la calidad de post-larva en campo

PRUEBA DE ESTRÉS		>90%	90 – 80%	<80%
	VALOR	10	8	0
TALLA		≥8mm	7.5 – 7.9mm	<7.5mm
	VALOR	5	4	2
COEF. VAR.		≤15%	15 – 17%	>17%
	VALOR	5	3	2
DESARROLLO BRANQUIAL		COMPLETO	SEMICOMPLETO	INCOMPLETO
	VALOR	5	3	2
MOVIMIENTO		ACTIVA	SEMIACTIVA	LENTA
	VALOR	5	3	1
DEFORMIDADES		<5%	5 – 10%	>10%
	VALOR	4	3	1
FÓRMULA ROSTRAL		4-5/0-1	3/0	<3/0
	VALOR	4	3	1
NECROSIS		<10%	10 – 20%	>20%
	VALOR	3	2	1
MUDA		<20%	20 – 30%	>30%
	VALOR	3	2	1
EPIBIONTES		<5%	5-10%	>10%
	VALOR	3	2	1
ALIMENTO EN TRACTO INTESTINAL		LLENO >75%	SEMILLENO 75 – 30%	VACIO <30%
	VALOR	3	2	1
CALIFICACIÓN		50	>30	<30
		EXCELENTE	BUENA	NO ACEPTABLE

Como se observa, los parámetros de mayor peso para calificar la calidad de la post-larva están representados en Prueba de Estrés, Talla, Coef. de Variación, Desarrollo Branquial y Movimiento. Si después de realizar el análisis, la prueba de estrés es menor de 80 % de sobrevivencia o el valor obtenido se encuentra por debajo de los 30 puntos, no se debe de aceptar la post-larva.

6.3. Monitoreo de organismos.

La rutina de monitoreo debe contemplar un seguimiento de la salud de los organismos. Por esto esta propuesta contempla un sistema de monitoreo para el análisis de diversas muestras de organismos mediante observaciones y distintas técnicas de diagnóstico, con la finalidad de identificar con un razonable intervalo de confianza, la presencia de un agente patógeno y permita actuar oportunamente, minimizando posibles pérdidas económicas. El sistema actual de producción tiene como base primordial contar con post-larva de primera calidad y por ende libre de patógenos de alto riesgo, por lo que al establecer un monitoreo rutinario incrementamos notablemente las posibilidades de una exitosa cosecha.

El éxito de un diagnóstico, se fundamenta en la selección y análisis oportuno de una muestra de organismos estadísticamente representativa, el tamaño de la muestra depende del tamaño de la población. Cuando una población de camarones es muestreada al azar para determinar el estado de enfermedad o salud y/o prevalencia de un patógeno específico, el número necesario de organismos

debe ser tomado con base a una expectativa de prevalencia del patógeno específico y con un grado de confianza estadísticamente representativa.

Si el tamaño de la población es mayor o igual a 100,000 organismos, el tamaño de la muestra considerando una prevalencia del 2% es 150, para un 5% es 60 y para un 10% son 30 (tomado de la tabla de Amos 1985, modificada por Lightner).

El muestreo no aleatorio se justifica en situaciones donde se observan signos de enfermedad evidente. En cualquier caso, la selección es de al menos 10 organismos vivos que exhiban algún signo clínico de enfermedad.

A partir de las muestras obtenidas para las estimaciones de biometría se puede llevar un registro del aspecto externo de los camarones, el que sensibilizará en la detección de cualquier indicio de un problema, obteniendo una submuestra de estos organismos se puede realizar el análisis en fresco. Para los procedimientos de bacteriología, PCR e histología, se debe realizar una selección de organismos vivos, directamente del estanque, requiriendo para ello de equipo para mantenerlos vivos hasta el momento de su preparación para cada proceso. La evaluación de los camarones de la granja se debe realizar al menos una vez por semana, analizando de 5 a 30 organismos por estanque. Es muy importante que durante el proceso de monitoreo se lleve una base de datos de las manifestaciones clínicas observadas en cada estanque. Se recomienda que los organismos no sean regresados al estanque, ya que es muy probable que mueran, sean comidos y puedan diseminar enfermedades. A continuación se presenta una tabla cronológica con los principales análisis recomendados.

Tabla 13. Tabla de calendarización de monitoreos durante el ciclo productivo.

Semana	Tipo Prom:	INC. PROM.	BITAC.	A. FRESC.	BACT	HIST	PCR
0	0.002		xx	xx	xx	xx	xx
1	0.02	0.0	xx	xx			
2	0.09	0.07	xx	xx	xx		
3	0.2	0.1	xx	xx			
4	0.5	0.3	xx	xx	xx		
5	0.9	0.4	xx	xx		xx	
6	1.4	0.5	xx	xx	xx		
7	2.1	0.7	xx	xx			
8	3.2	1.1	xx	xx	xx		xx
9	4.2	1.0	xx	xx			
10	5.3	1.1	xx	xx	xx		
11	6.4	1.1	xx	xx			
12	7.5	1.1	xx	xx	xx		
13	8.6	1.1	xx	xx			
14	9.7	1.1	xx	xx	xx		xx
15	10.8	1.1	xx	xx			
16	12	1.2	xx	xx	xx	xx	
17	13.2	1.2	xx	xx			
18	14.3	1.1	xx	xx	xx		xx
19	15.5	1.2	xx	xx			
20	16.7	1.2	xx	xx	xx		

6.4 Análisis en fresco.

El objetivo de este procedimiento es detectar la presencia de epibiontes o parásitos adheridos a los camarones así como los cambios en la morfología de los túbulos del hepatopáncreas, a través de un montaje húmedo. Es de gran utilidad para formular un diagnóstico presuntivo, como en el caso de NHP. La selección de organismos se realiza a partir de las muestras colectadas para la estimación de crecimiento. Para que una muestra sea representativa de un posible problema infeccioso, se deben seleccionar aquellos organismos que presenten cambios en la coloración normal de las branquias, opacidad muscular, tracto vacío, cambio en la coloración y/o tamaño del hepatopáncreas, estrés, flacidez, cromatóforos expandidos, características que nos indican una alteración en el estado de salud de los camarones. Durante el muestreo debemos de estimar el porcentaje de organismo que presentaron características de enfermedad, contra el número total de organismos revisados, y así estimar a groso modo el porcentaje (%) total de organismos afectados en el estanque o la granja, para cada una de las características encontradas.

Los órganos a revisar son:

- Branquias
- Hepatopáncreas
- Intestino

Este procedimiento se realiza mediante observaciones directas a organismos vivos, o que son sacrificados para su inmediato análisis. Se recomienda realizar este análisis a la brevedad posible debido a la alteración que las estructuras internas del organismo pueden sufrir por efecto de la autólisis. Dentro de la rutina de supervisión diaria se deben registrar los organismos que aparezcan muertos, para tratar de identificar el origen de esta causa.

6.4.1. Branquias.

La presencia en branquias de epibiontes tales como; algas, bacterias filamentosas, protozoarios y otros, llega a ser un indicador del estado de salud de los camarones. Los epibiontes pueden producir lesiones como melanosis y subsecuente necrosis, en las lamelas branquiales, afectando la función del órgano en el proceso de osmoregulación y en el intercambio de oxígeno. Los signos más evidentes de una infestación en branquias son los cambios de color de las mismas. El procedimiento de análisis en fresco, se realiza mediante la observación al microscopio de una lamela branquial junto con el epipodito, mediante un montaje húmedo con S.S.E. 2.5% NaCl. Se manejan los siguientes criterios para la asignación de los grados de infestación.

GRADO		Observaciones
0	=	Sin presencia
1	=	Pequeñas cantidades de parásitos cubriendo un 25% de la superficie del área
2	=	Grandes cantidades cubriendo hasta un 50% de la superficie
3	=	Más del 75% de la superficie cubierta
4	=	Cubriendo el total de la superficie

Nota: El proceso de muda elimina de las branquias estos epibiontes.

6.4.2. Hepatopáncreas.

El análisis del hepatopáncreas se realiza con el propósito de encontrar alteraciones en las estructuras de los túbulos del hepatopáncreas. Un montaje húmedo evalúa la cantidad de lípidos presentes, morfología de los túbulos, así como su consistencia, color y tamaño con respecto al cefalotorax. La importancia del montaje húmedo del hepatopáncreas radica en la búsqueda minuciosa de lesiones que sugieran la presencia de NHP, enfermedad que más adelante se describe en detalle.

El procedimiento para su análisis comprende: la separación de la cabeza del cefalotorax, para realizar la extracción del hepatopáncreas mediante unas pinzas y realizar un montaje húmedo con porciones del mismo, que le son retiradas con cortes de tijeras y son colocadas en un portaobjeto con solución salina, se cubre con un cubreobjetos y se observa al microscopio. Se debe tomar en cuenta que la manipulación del tejido puede ocasionar rompimiento de túbulos, deformación del estrato germinativo del epitelio de los túbulos, desplazamiento de los lípidos y pérdida de los mismos. Siempre un montaje húmedo se realiza con Solución Salina 2.5% NaCl o una solución isotónica, de esta forma no se altera la permeabilidad de la pared celular de los túbulos.

6.4.3. Intestino.

Mediante la observación del intestino a través de un montaje húmedo, podemos llegar a identificar la presencia de gregarinas, nematodos, algas nocivas y baculovirus, que afectan la capacidad de absorción de nutrientes por parte del intestino y además, como consecuencia, se puede llegar a observar disminuciones de crecimiento y problemas septicémicos.

Recomendamos realizar el montaje húmedo de la siguiente manera: Se realiza un corte longitudinal dorsal sobre el exoesqueleto desde el 1º hasta el 6º segmento de la cola con unas tijeras de punta fina, sin lesionar el intestino. Se extrae el intestino completo con unas pinzas y se deposita el contenido de éste, sobre un portaobjetos con solución salina, tomándolo de una punta con unas pinzas y presionamos el borde con unas tijeras, desplazando el contenido del mismo. Además del intestino debemos de revisar el ciego, que es donde se localizan los quistes de gregarinas. En el capítulo de enfermedades, se describe la forma de cómo realizar el conteo de gregarinas.

6.5. Bacteriología.

Es muy importante que las granjas cuenten con una serie de equipos, que les faciliten la detección de cargas bacterianas de organismos y agua del sistema, para llegar a relacionarlos con la evolución de un brote infeccioso. En caso de no contar con este equipo, se puede enviar la muestra a un laboratorio especializado, anotando todos los datos como fecha y hora de la muestra, No. estanque, signos, etc. La muestra representativa debe contener agua de los estanques así como organismos que presenten signos de coloración rojiza, disminución en la respuesta de huida y aletargamiento, que caracterizan un problema de vibriosis, recordemos que esta muestra representa el porcentaje (%) de organismos afectados de una población.

6.5.1. Agua.

El monitoreo de las cargas bacterianas/ml. de nuestro sistema, nos permite tomar las medidas pertinentes de forma muy justificada, como sería el caso de:

- Estación de bombeo: es recomendable realizar muestreos durante el proceso de bombeo, para conocer las cargas bacterianas predominantes durante la marea alta, media o baja.
- Reservorio: la carga bacteriana en nuestro sistema de reservorio contra la presente el los estanques.
- Estanques: la correlación de consumos de oxígeno contra cargas bacterianas en cada una de los tanques.

La flora bacteriana en el agua del sistema de producción, presenta un comportamiento dependiente de los días en producción, tasa de recambio, tipo de fertilizante, así como la eficiencia de desinfectantes. Estas cargas bacterianas comunes para *Vibrio sp.* en estanquería, oscilan por el orden de 300 UFC/ml, donde la población a bacterias verdes representa un porcentaje menor al 30%.

El procedimiento para este análisis, requiere de la toma de una muestra de agua a 3 ó 4 metros de la orilla y medio fondo de los estanques, reservorio y estación de bombeo o canal de llamada, mediante frascos limpios, de estos se toma una muestra de 100µl (0.1ml), para sembrarlo en placas de Agar TCBS.

Algunos de los tratamientos que han demostrado ser eficientes para disminuir las cargas bacterianas de *Vibrio sp.* en el agua de los estanques, son la aplicación de Melaza (orgánico) y desinfectantes químicos como Omicron, Oxifervaten, Cuaternarios de Amonio y Virkon. Le sugerimos comentar sobre la dosis recomendada con su distribuidor.

6.5.2. Hemolinfa.

El procedimiento de siembra de hemolinfa se considera como el más importante para la detección de un problema de vibriosis, partiendo del concepto de que un cuadro infeccioso causado por bacterias, induce una septicemia en los camarones. Esta septicemia se hace evidente al existir un incremento en la carga bacteriana normal de la hemolinfa, la cual debe ser menor a 100 UFC/ml. Debemos tener en cuenta que los vibrios presentan un comportamiento de patógeno oportunista y de estos los de coloración verde (T.C.B.S.) y bioluminiscentes se consideran de mayor patogenicidad, no así las colonias amarillas.

Método para la extracción y siembra en placa de hemolinfa

El objetivo de este procedimiento es la cuantificación de bacterias del género *Vibrio sp.* en hemolinfa de camarones enfermos. A continuación se enlistan los pasos de este procedimiento:

- Se seleccionan organismos que presenten signos clínicos tales como: cutícula blanda, melanizaciones, tracto digestivo vacío, coloración anormal en apéndices, letargia, nado errático, opacidad muscular, edema subcuticular, expansión de cromatóforos, etc. manteniéndolos en una cubeta con agua y aireación hasta su análisis.
- Se saca el organismo con una red y se elimina el exceso de agua con una toalla de papel. Se mide y se pesa.
- Se limpia toda la cutícula del camarón con una torunda de algodón impregnada con alcohol al 96%; poniendo énfasis en la asepsia de las áreas cercanas al corazón y en la base de los periópodos.
- Se procede a hacer la extracción de hemolinfa con una jeringa de insulina estéril (aproximadamente 50 µl, dependiendo del tamaño del camarón), de tal manera que la aguja entre al corazón sin llegar a tocar el hepatopáncreas, esto para camarones menores a 2.5gr, otro

sitio donde se puede extraer la hemolinfa es el seno ventral, de la base del quinto periópodo o Coxopodito, esto para camarones mayores a 2.5gr.

- La hemolinfa extraída es sembrada en una placa de Agar TCBS, teniendo cuidado de dispersarla bien con un rastrillo estéril sobre toda la superficie del gel. Se deja una gota para colocarla sobre un portaobjetos y observar el tiempo de coagulación, el cual debe ser menor a 30 segundos.
- La placa de TCBS es incubada a 30°C durante un periodo de 18 a 24 h.
- Pasado el tiempo de incubación se procede a realizar el conteo de colonias o Unidades Formadoras de Colonias por mililitro (UFC/ml). Por esto es importante conocer la cantidad (ml) de hemolinfa con la que fue sembrada la placa.

NOTA. La hemolinfa debe ser transparente, de lo contrario debe descartarse pues la presencia de alguna coloración indica que se contaminó con algún fluido del hepatopáncreas.

6.5.3. Macerado de Hepatopáncreas. (Hp)

El macerado de hepatopáncreas se realiza para evaluar los cambios en la flora bacteriana o detección de vibrios verdes (sucrosa -) y bioluminiscentes, ésta es otra técnica de análisis bacteriológico y en ella se considera una carga normal de *Vibrio sp.* menor a 10,000 UFC/gr. de hepatopáncreas.

Método para el macerado y siembra en placa de hepatopáncreas.

El macerado se realiza de forma individual, y el procedimiento sugerido es el siguiente:

- Mediante un corte entre el cefalotorax y el primer segmento de la cola, se separa la cabeza de la cola, se introduce la punta de unas pinzas por la base del hepatopáncreas y se realiza la extracción.
- Se pesa la porción a macerar, posteriormente se coloca en un mortero estéril y se le agrega 1 o 10ml de S.S.E. 2.5% NaCl, dependiendo si el peso del Hp es mayor o menor a un gramo.
- Se macera hasta obtener una muestra homogénea, la cual se siembra en Agar T.C.B.S en diluciones seriadas, tratando de encontrar rangos menores de 10,000 UFC/gr.
- La placa de TCBS es incubada a 30°C durante un periodo de 18 a 24 h.
- Pasado el tiempo de incubación se procede a realizar el conteo de las UFC/gr. Por esto es importante conocer el peso del hepatopáncreas, antes de macerarlo.

Se recomienda que realice la siembra de hemolinfa y macerado de hepatopáncreas al mismo individuo, para correlacionar los resultados y generar un diagnóstico más acertado.

6.5.4. Preparación de los medios de cultivo para bacteriología.

En la preparación de los medios de cultivo le hacemos las siguientes recomendaciones:

- Los medios se preparan en matraces de vidrio cónico con tapa. Se pesa la cantidad requerida y se disuelve en agua destilada, ajustando la salinidad total a 2.5% de NaCl. Se ajusta el pH., conforme a las instrucciones especificadas para cada medio.
- Se esteriliza a 121°C por 20 minutos, (sólo los medios que así lo requieran). Se espera a que se enfríe. El Agar solidifica a los 42 °C, por lo que es bueno servirlo a los 50 °C (cuando se pueda sostener con la mano).
- El T.C.B.S. no se debe esterilizar, se prepara calentándolo hasta que hierva, según instrucciones.

- Se vacía aproximadamente 20 ml por caja de petri.
- Se dejan solidificar y se meten a secar invertidas en un horno de 30º a 40º C por 24h o se dejan secar por lo menos 24 hrs antes de su uso.
- Cada Agar o medio de cultivo, presenta especificaciones diferentes por marca, por lo que recomendamos seguir las instrucciones de preparación.
- Las cajas de Agar deben ser llenadas a poco menos de la mitad, para evitar que guarden humedad y que no interfieran en la observación de colonias bioluminiscentes.

Medios de cultivo recomendados:

1. **Medio tiosulfato citrato bilis sacarosa (TCBS)**
Medio diferencial para el género *Vibrio sp.*
2. **Medio Agar de tripticaseína de soya (TSA).**
Medio para crecer todo tipo de bacterias.
3. **Medio Agar de Mueller Hinton (MHA).**
Medio para Antibiógrama.

Todas las cajas con medio de cultivo deberán ser identificadas con:

- Nombre del Medio
- Fecha de siembra
- Clave de identificación (No. de tanque, cantidad de hemolinfa, peso, hepatopáncreas, etc.)

Para preparar (ml):	1000	900	800	700	600	500	400	300	200	100
Rinde para (cajas Petri)	50	45	40	35	30	25	20	15	10	5

6.5.5. Metodología para la realización del antibiógrama.

Después de realizar el diagnóstico de vibriosis, debemos aplicar un tratamiento con base en la administración de alimento medicado, con el antibiótico al que la cepa de *Vibrio sp.* resultó ser más sensible. Esto se hace para determinar la sensibilidad de las cepas bacterianas del género *Vibrio sp.* contra diferentes antibióticos.

Procedimiento:

- De las colonias crecidas en TCBS se seleccionan algunas con características tales como: color (verdes o amarillas), bioluminiscencia y abundancia.
- Estas colonias son aisladas, sembradas con asa en Agar TSA e incubadas a 30°C por 18 a 24 hrs para su crecimiento.
- Una vez pasadas las 24 hrs, las bacterias son tomadas con un isopo humedecido en S.S.E. 2.5%NaCl y sembradas en tapete sobre una caja de Petri (150x20mm) preparada previamente con medio de cultivo Agar Mueller-Hinton.
- La placa de Agar Muller-Hinton ya sembrada se deja secar por un mínimo de 3 minutos pero no más de 15 para proceder a colocar los sensibilizadores de cada antibiótico, a una distancia no menor de 2.5 cm desde el centro del mismo, para permitir la diferenciación de los halos de inhibición de forma independiente.
- Estas placas son incubadas a 30 °C de 18 a 24 hrs. Transcurrido este tiempo se miden en mm el diámetro de los halos de inhibición.

- Los resultados de las mediciones se comparan con los sugeridos para cada uno de los antibióticos y así definir a cuales son: sensibles (S), intermedios (I) y resistentes (R).

A continuación se muestra una tabla con los diferentes diámetros de inhibición que deben ser tomados a consideración, para catalogar una respuesta de sensibilidad a antibióticos.

Tabla 14. Parámetros de sensibilidad (halos de inhibición)

	RESISTENTE mm	INTERMEDIO(mm)	SENSIBLE (mm)
OXITETRACICLINA	< 14	15-18	> 19
FLORFENICOL	< 16	17-20	> 21
ENROFLOXACINA	< 15	16-20	> 21
SARAFLOXACINA	< 13	13-18	> 19
FLUMEQUINA	< 12	13-20	> 20

6.6. PCR.

El PCR es una de las técnicas más sensibles en la detección de ácidos nucleicos, debido a que amplifica pequeñas secuencias génicas, seleccionadas mediante “Primers o iniciadores” específicamente diseñados. La muestra a analizar mediante PCR, deberá contener organismos fijados vivos, nunca se debe realizar con organismos muertos. Debido a su alta sensibilidad, esta técnica permite detectar una mínima carga viral cuando todavía no se hace manifiesta la enfermedad. La selección de organismos justificadamente se realiza de forma no aleatoria, por lo que debemos seleccionar como muestra cualquier organismo que presente indicios de una afectación por un patógeno primario. Como una limitante, debemos considerar que el diagnóstico positivo por PCR sólo indica la presencia del virus, más no indica el tiempo en el que se va a desencadenar el brote o la presencia de los signos clínicos.

6.6.1. Selección y fijación de muestras para PCR.

El procedimiento preventivo a un brote infeccioso, consiste en analizar muestras de organismos con periodicidad, aún cuando estos no manifiesten signos de enfermedad. Para mantener un intervalo de confianza del 95% con una prevalencia de un 2% en nuestra muestra, ésta debe constar de 150 organismos, la cual puede ser manejada en grupos de 20 para su respectivo análisis, el No. total de camarones de esta muestra, son procedentes de los organismos sembrados en todos los estanques.

En caso de la manifestación de un brote infeccioso que se caracterice con la presencia de mortalidades en los estanques, implica la pronta toma de muestras para su envío y análisis inmediato; esto debido a la prontitud y alta especificidad del diagnóstico por PCR.

Los distintos procedimientos para la fijación y envío de la muestra, se deben considerar dependiendo la característica del nucleótido viral.

a) Nucleótido DNA (WSSV e IHNV)

- Organismos fijados con alcohol 95%: Estos son colectados y fijados, mediante inyecciones con alcohol 95% en todas partes del cuerpo de forma abundante. La importancia a este procedimiento, radica en la velocidad con la que el patógeno presente en el organismo quede fijado por el efecto del Alcohol 95%. Durante su traslado y envío de la muestra para su análisis, las muestras se deben mantener embebidas en alcohol 95%, dentro de frascos herméticos.
- Organismos fijados en hielo seco (-70°C): Este método consiste en colocar al organismo completo en contacto directo con hielo seco, para congelarlo vivo; si el organismo es mayor a 15 gr. se puede tomar la decisión de sólo enviar un pleópodo o todo el organismo para su análisis. El envío o traslado de esta muestra al laboratorio para su análisis, debe realizarse manteniéndola congelada con hielo seco.

b) Nucleótido RNA (TSV, YHV)

- Organismos fijados en hielo seco (-70°C): Este método consiste en colocar al organismo completo en contacto directo con hielo seco, para congelarlo vivo; si el organismo es mayor a 15 gr. se puede tomar la decisión de sólo enviar un pleópodo o todo el organismo para su análisis. El envío o traslado de esta muestra al laboratorio para su análisis, debe realizarse manteniéndola congelada con hielo seco. La estructura viral de este nucleótido puede resultar afectada mediante la fijación con alcohol 95%, arrojando así resultados erróneos durante el diagnóstico.

En un momento dado, que se decida enviar muestras de hemolinfa, pleópodos y segmentos de branquias; se recomienda hacerlo mediante el fijado en hielo seco.

- Muestra de hemolinfa: El procedimiento consiste en extraer 100ul (0.1ml) de hemolinfa con una jeringa de insulina estéril, que contenga 50ul (0.05ml) de S.S.E. 2.5%NaCl con Citrato de Sodio al 10%, manteniendo una relación entre hemolinfa y citrato de 2:1; se agita mezclando la hemolinfa con el Citrato de Sodio evitando la formación de coágulos. De preferencia se deposita en microtubos para centrifuga y se guardan inmediatamente en hielo seco.
- Muestras de pleópodos: El procedimiento consiste en desinfectar la base de los pleópodos con alcohol; mediante unas tijeras limpias se corta desde su base. Inmediatamente después se deposita el pleópodo dentro de un tubo de microcentrifuga y se coloca en un recipiente con hielo seco, para su traslado o envío al laboratorio diagnóstico.
- Muestras de branquias: El procedimiento consiste en retirar una lamela branquial, mediante un corte desde su base con unas tijeras limpias; esta lamela se deposita en un tubo de microcentrifuga y se coloca en un recipiente con hielo seco, para su traslado o envío al laboratorio diagnóstico.

6.6.2. Ventajas del PCR sobre otras técnicas.

- Diagnóstico rápido, altamente específico y sensitivo.
- Detección del patógeno antes de que se presente la enfermedad.
- No destructivo.
- Empleado para la Certificación de lotes de larvas y reproductores.

6.7. Histología.

Es una herramienta utilizada para el diagnóstico de enfermedades, tales como: NHP, TSV, IHNV y WSSV, entre otros. Estos agentes patógenos producen lesiones celulares tales como: cuerpos de inclusión, cuerpos de oclusión, picnosis, cariorrexis e hipertrofia nuclear. Requiere de la fijación de los camarones mediante solución Davidson's, así como la preservación posterior de las muestras en Etanol 70%. El tiempo de reacción se ve muy limitado, debido a que esta técnica detecta niveles avanzados de la enfermedad.

Nunca deberá fijar organismos con solución Davidson's, si lo que requiere son análisis por PCR, ya que esta solución altera el proceso químico de los reactivos usados durante el proceso de PCR y por ende los resultados son erróneos.

6.7.1. Selección y fijación de la muestra para histología.

La selección de la muestra de organismos debe contemplar a aquéllos que presenten signos avanzados de enfermedad y de ser posible moribundos; nunca organismos muertos ya que el proceso enzimático conocido como autólisis destruye los tejidos, no permitiendo el correcto diagnóstico. El tamaño de la muestra dependerá de la talla de los organismos, a menor talla mayor cantidad de organismos:

<u>Organismos</u>	<u>Organismos por muestra</u>
Postlarvas	60
1.0 a 2.5gr	20
> a 2.6gr	5

Si los organismos son post-larvas, se fijan directamente en Solución Davidson's, en el caso de organismos juveniles, estos se inyectan con una jeringa en diversas partes del cuerpo, cambiándolas a alcohol 70% antes de 24hrs.

6.7.2. Procedimiento de fijación con solución Davidson's.

- Iniciamos la fijación de los organismos vivos con el hepatopáncreas (HP), inyectándolo en el centro y arriba del estómago, por ambos lados de la cabeza. El cambio en el color del HP a rojo/naranja confirma una buena fijación.
- Posteriormente inyectamos cada uno de los segmentos de la cola, cuidando de no lesionar el tracto digestivo.
- Para permitir una mejor penetración del Davidson's, se realiza un corte dorsal entre la unión del primer segmento y el cefalotorax, sin llegar a separar la cabeza de la cola.
- Finalmente se realiza un corte de la cutícula de la cola, sin lesionar los tejidos y otra incisión paralela justo al lado del rostrum, desde la parte posterior del cefalotórax hasta la base del rostrum.

Tabla 15. Fórmula para la preparación de Solución Davidson's

	Cantidad	Porcentaje
Formalina 37%	220 ml	22.0%
Acido Acético Glacial	115 ml	11.5%
Etanol (95%)	330 ml	33.0%
Agua Destilada	335 ml	33.5%
Total	1000 ml	100%

6.7.3. Técnica de tinción rápida para WSSV, YHV e IHHNV.

Método utilizado para un diagnóstico rápido de enfermedades como WSSV, YHV e IHHNV. Se requiere de las lamelas branquiales y el epitelio subcuticular, los que son removidos de organismos vivos y fijados por inmersión en Solución Davidson's HCL, a temperatura ambiente. En esta solución Davidson's se reemplaza el Ácido Acético por Ácido Clorhídrico concentrado (50%). Posterior a la fijación de las lamelas y el epitelio, se enjuagan por 15 min. Y se proceden a teñir mediante H&E.

Procedimiento:

- | | | | |
|----|--|----|--------------------|
| 1 | Fijación en solución Davidson's HCL por 1 a 2 horas. | 12 | 100% Etanol 2 min. |
| 2 | Lavado con agua corriente 15 min. | 13 | 100% Etanol 1 min. |
| 3 | 100% Etanol 2 min. | 14 | Xileno 1 min. |
| 4 | 100% Etanol 2 min. | | |
| 5 | 90% Etanol 2 min. | | |
| 6 | 70% Etanol 2 min. | | |
| 7 | Lavado con agua corriente 10 min. | | |
| 8 | Hematoxilina 10 min. | | |
| 9 | Lavado con agua corriente 10 min. | | |
| 10 | Eosina 2 min. | | |
| 11 | 90% Etanol 1 min. | | |

Davidson's HCL

Formalina 37%	220 ml
HCL	115 ml
Etanol 95%	330 ml

Se montan los tejidos en el portaobjeto con una gota de Xileno y se le adiciona una gota de resina para montaje, se cubre con el cubreobjeto y se deja secar por 2 min, se observa al microscopio.

6.8. Enfermedades.

6.8.1. Examen de salud en campo.

Existen diversos criterios para determinar el grado de salud de los organismos en campo mientras el animal se encuentra aún vivo y ha pasado muy poco tiempo desde la hora del muestreo. Estos criterios son:

- **Cola acalambrada:** Esta se puede deber a bajas de oxígeno o temperaturas elevadas (34-35°C), si el acalambramiento es causado por estrés de temperatura, la mayoría de los camarones debe reaccionar de forma similar. Otra causa de acalambramiento se atribuye a vibriosis, desbalance de pH o altos niveles de amonía. El arqueamiento de la cola se da por un sostenimiento de la

contractura muscular, que también ha sido sugerida como efecto de un desbalance en los niveles de calcio y potasio sistémicos.

- **Llenado intestinal:** Existen enfermedades que provocan pérdida del apetito, como lo es el caso de NHP. Una evaluación apropiada se realiza en animales con 2-3 horas después de haber sido alimentados. Un comportamiento normal en la población de organismos sanos son las siguientes observaciones.

	<u>Niveles aceptables</u>	<u>Grado</u>
Tractos llenos	> 80%	2
Tractos semillenos	10-20%	1
Tractos vacíos	< 10%	0

Cada uno de los camarones revisados se les asigna un grado de llenado intestinal, los estanques que presenten un promedio menor de 1.6 pueden ser sospechosos de subalimentación o enfermedad.

- **Opacidad de músculo y cola blanca:** La musculatura de un organismo saludable presenta tonalidades claras y transparentes; los camarones estresados o enfermos muestran una decoloración blanquecina y opaca en el músculo de la cola. Este síntoma se relaciona con problemas de estrés o vibriosis. Esta condición de opacidad muscular no debe confundirse con el aspecto causado por la infestación de microsporidiosis.
- **Otros indicadores de salud:** Mediante exámenes que se realizan a la vista y dan una idea general del estado de salud del camarón, por ejemplo se mencionan los siguientes.
 - a. Cola roja y cromatóforos expandidos; asociado con TSV.
 - b. Pereiópodos y pleópodos rojizos; asociados con la Vibriosis y/o TSV.
 - c. Camarón de algodón; asociado con infecciones por microsporidios.
 - d. Enfermedad de la branquia negra; causada por agentes múltiples (bacterias filamentosas, protozoarios epicomensales), o problemas de calidad de agua.
 - e. Melaneosis; lesiones cuticulares asociadas con la infección crónica TSV.
 - f. Flacidez; causada por subalimentación, NHP o TSV.
 - g. Camarón blando; como parte del ciclo normal de muda o causada por TSV, NHP o imbalance mineral (por lo general vibriosis no produce camarones blandos).
 - h. Enteritis hemocítica; es una inflamación en el epitelio del intestino medio, causada por la ingestión de algas verdes nocivas. El diagnóstico es por vía histología, pero en camarones con estados avanzados se puede detectar una banda blancuzca y opaca alrededor del tracto intestinal en el primer segmento de la cola.
 - i. Deformidades; asociadas en problemas de larvicultura, o IHNV.
 - j. Antenas; longitud, rugosidad y coloración, como posible vibriosis.

6.8.2. Otras causas de enfermedad.

6.8.2.1. Protozoarios.

- **Gregarinas:** Localizadas en el tracto digestivo, mayormente observadas en forma de trofozoito y ocasionalmente en forma de gametocisto. En su ciclo de vida se involucran otros invertebrados como caracoles, almejas o gusanos marinos. Aún cuando las gregarinas no inciden de manera directa sobre el estado de salud de los camarones, afectan la digestión y absorción de nutrientes y mediante sus órganos de fijación forman vías de continuidad para el ingreso de bacterias patógenas al sistema. Los grados de infestación por gregarinas se determinan contando el No. de gregarinas por gramo de camarón.

	<u>Densidad (No. /G. Camarón)</u>
Normal	< 12
Moderado	13 – 20
Alto	> 20

Si las densidades de gregarinas son elevadas, recomendamos aplicar alimento medicado con 200 ppm de monensina sódica (Lancovan) por 7 días o Litobenzol 1000 ppm.

- **Epicomensales: Son varios tipos de protozoarios los que regularmente colonizan las superficies del camarón, incluyendo branquias.** Estos crecimientos se ven ampliamente favorecidos por la presencia de materia orgánica en el agua. Los géneros más comunes son *Zoothamnium*, *Epistylis*, *Acineta*, *Ephelota* y *Lagenophrys*. Un elevado grado de infestación por estos en branquias puede causar asfixia en camarones.

Diagnóstico: Mediante el análisis en fresco

Pronóstico: Si es detectado dentro de los grados 1 y 2, la aplicación del tratamiento resuelve el problema. (Ver punto 5.1)

Tratamiento: Disminución de la materia orgánica en suspensión mediante recambios de agua del estanque, se ha reportado que la aplicación de Omicron y Oxifervaten al agua de los estanques induce una menor presencia de epicomensales en los camarones.

6.8.2.2. Bacterias

- **NHP**

Considerada como una bacteria intracelular, que infecta a las células de los túbulos hepatopancreáticos. No existe transmisión vertical y la vía de contagio más común es por canibalismo, los factores ambientales que facilitan su propagación son Salinidades mayores a 16ppm y temperaturas entre los 26 a 35°C. La vía de acceso de esta bacteria intracelular se da a través del agua y se ha demostrado la presencia de NHP en los organismos a partir de los 30 a 50 días post-siembra

Signos: Letargia, disminución de consumos, FCA elevado, anorexia (tractos vacíos), atrofia del HP, ausencia de lípidos, túbulos festoneados e incluso necrosis, flacidez muscular y mortalidades crecientes. El aspecto de un hepatopáncreas con NHP avanzado tiende a ser pálido, suave y

aguado. Presentan también una disminución en la talla o lento crecimiento, abrupta disminución en el consumo de alimento (detectable con el uso de bandejas o la observación del llenado intestinal). Ver figura 22.

Diagnóstico: Mediante Hibridación *in situ* por histología, el más común o más recomendado por su sensibilidad.

Pronóstico: La detección temprana del brote, nos permite aplicar el tratamiento cuando los organismos presentan un ligero grado de afectación y todavía mantengan hábitos de consumo de alimento.

Tratamiento: La aplicación del tratamiento se da a la más mínima sospecha con base en el análisis en fresco de los túbulos hepatopancreáticos, al detectar cualquier alteración en los túbulos a partir de un grado 2. Para confirmar el diagnóstico recomendamos mandar a realizar una hibridación *in situ*, y si este diagnóstico es negativo, recomendamos suspender el tratamiento y seguir monitoreando periódicamente los túbulos del hepatopáncreas.

El tratamiento es con Oxitetraciclina pura 5ppm. por 10 días, si la pureza de la Oxitetraciclina es de 20%, se requerirá de 25 kilogramos por tonelada de alimento. Se debe dejar de medicar 3 semanas antes de la cosecha. Para mantener niveles óptimos del antibiótico en la hemolinfa del camarón deberá suministrar el alimento con un mínimo de 3x/día.

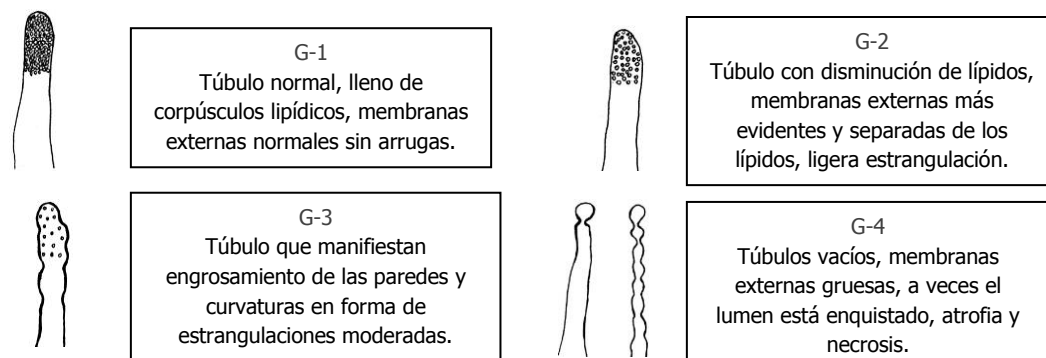


Figura 22. Esquematzación de la degeneración de los túbulos del hepatopáncreas por efecto del NHP.

Interpretación de datos.

Se emplea la siguiente tabla para determinar el índice de afección de la enfermedad y de acuerdo al índice aplicar la medida correctiva.

Tabla 16. Tabla para determinar el índice de afección.

Factor K	Grado	Número de individuos	Grado de afección K x No. de Ind.	% de Afectados
1	1	20	20	66.7
1	2	7	7	23.3
2	3	3	6	10.0
3	4			
TOTAL		30	33	100.0
Índice de afección = Total de grados de afección / Total población muestreada.				

Para este caso el índice es: $33/30 = 1.1$

- El menor índice sería 1.0 (1.0 se toma como población sana).
- El grado de afección son los individuos que presentaron deformación, multiplicados por el valor de la constante correspondiente.
- Para tomar la decisión de medicar es preferible tomar como base el porcentaje de camarones afectados según el grado de NHP, por ejemplo:
 - 66.7% de la población normal.
 - 23.3% con el inicio del problema.
 - 10% en proceso de aumento del problema.
- Se recomienda medicar con un 10% de la población en grado 1.
- Nota: el valor de k es una constante que depende del grado de NHP en la población.

- **VIBRIOSIS.**

Bacterias gram (-), provocan lesiones sobre la pared celular mediante exotoxinas, induce melanización, colonización de bacterias y necrosis. Afecta la cascada de la coagulación por lo que puede prolongar el tiempo de la misma. En la mayoría de los casos se considera como patógenos oportunistas. Las especies más frecuentemente aisladas son: *V. alginolyticus*, *V. Parahemoliticus*, *V. harvey* y *V. vulnificus*.

Signos: El organismo puede presentar tractos vacíos, pero la cutícula no está flácida. Puede llegar a presentar edema subcuticular en caparazón y urópodos, periópodo y urópodos rojizos que pueden mostrar un aspecto necrosado y lesiones maculares observadas como manchas sobre el exoesqueleto de color café y/o negro. Ligera afectación a los consumos y observación de organismos moribundos en los bordes o la superficie de los estanques.

Pronóstico: La correcta administración y selección del antibiótico son fundamentales para el éxito del tratamiento.

Tratamiento: administración de antibiótico a través del alimento en raciones de 3x/día. La selección del antibiótico debe contemplar la sensibilidad de la bacteria.

Diagnóstico: Mediante bacteriología, se observa la elevada presencia de vibrio en hemolinfa. (> 100 UFC/ml).

Histología, para detectar la enfermedad por sus lesiones (nódulos hemocíticos). Afecta diferentes órganos, hepatopáncreas, corazón, glándula antenal, órgano linfóide, tejido conectivo, músculo esquelético y cordón nervioso.

6.8.2.3 Virus.

Tabla 17. Clasificación de los principales virus de camarones peneidos (Lighthner & Redman, 1998)

DNA		RNA	
IHHNV	<ul style="list-style-type: none"> • PARVOVIRUS • DNA lineal 	TSV	<ul style="list-style-type: none"> • PICORNAVIRUS • RNA lineal
WSSV	<ul style="list-style-type: none"> • BACULOVIRUS • DNA lineal 	YHV	<ul style="list-style-type: none"> • RHABDOVIRUS • RNA dos cadenas

• WSSV.

Es una enfermedad altamente patógena y virulenta, que induce elevadas mortalidades en cualquier etapa del ciclo productivo, además presenta una amplia gama de vectores que la hacen difícil de erradicar del ecosistema. La principal fuente de introducción del virus al estanque puede ser la misma larva. La diseminación del virus se da por transporte en aves, que regurgiten camarón enfermo recién ingerido, o cangrejos que se comportan como portador asintomático.

Signos clínicos: Presencia de manchas blancas cuticulares en el área del caparazón, coloración muscular rosácea o pardo-rojiza, expansión de cromatóforos, enrojecimiento de urópodos y antenas. Afecta a los camarones en todas sus etapas y tallas, desde postlarva hasta reproductores. Mortalidades de un 60 a un 100% posterior a la presencia de signos, la amplitud de la tasa de mortalidad se da por la asociación al tiempo de reacción del productor a la cosecha.

Diagnóstico: Mediante PCR, para la detección temprana del agente etiológico.

Histología, para detectar la enfermedad por sus lesiones.

Histología: En la etapa temprana de desarrollo la enfermedad presenta cuerpos de inclusión eosinofílica, centronuclear, en etapas avanzadas se observan cuerpos de inclusión grandes y redondos que se tiñen basofílicamente. Estos cuerpos de inclusión pueden ser confundidos con los provocados por IHHNV y que son denominados Cowdry tipo A. No se observan cuerpos de oclusión.

Pronóstico: Reservado, se estiman mortalidades mayores a 95% en estanques donde se permitió el desarrollo del brote.

Tratamiento: Sin tratamiento a la fecha, se recomienda cosechar.

• TSV.

Es una enfermedad ampliamente distribuida en México, que afecta a una variedad de especies de peneideos, desde los 14 a 40 días de siembra y las mortalidades varían desde 5 a 95%. Este patógeno en México, se haya ampliamente difundido dentro de nuestros sistemas y debido a su virulencia puede encontrarse de forma pasiva, en espera de manifestarse en un brote.

Fase aguda – Ocurre durante los primeros 7 días y se caracteriza por altas mortalidades, camarón con coloración rojiza, flacidez cuticular, tracto digestivo vacío, camarones que mueren durante la muda.

Fase transicional – Los camarones que sobreviven entran a esta fase, que se caracteriza por rangos de mortalidad moderados. Presencia de lesiones melanizadas multifocales en cefalotorax y exoesqueleto abdominal. El ciclo de muda aparece suprimido o inactivo. Paulatinamente el camarón que sobrevive elimina sus lesiones cuticulares y pasa a la siguiente fase.

Fase crónica - Presentan signos de coloración rojiza, flacidez cuticular con lesiones de melanosis multifocal (afectando antenas, pleópodos, periópodos y urópodos), mismas que se van perdiendo con las mudas, llegando a convertirse en portador asintomático.

Diagnóstico: Mediante PCR, para la detección temprana del agente etiológico.

Histología, para detectar la enfermedad por sus lesiones.

Histología: Áreas multifocales de necrosis en el epitelio cuticular de la superficie general del cuerpo, apéndices, branquias, esófago y estómago. Piknosis y cariorrexis nuclear con elevada eosinofilia citoplasmática, y la presencia de cuerpos de inclusión citoplasmáticos circulares son una característica patognomónica de esta enfermedad.

Pronóstico: Dependiendo la virulencia, se han llegado a observar mortalidades de un 5% hasta un 95% .

Procedimiento: Se recalculan y disminuyen los costos de producción sobre proyecciones de sobrevivencia, si el brote se acompaña de vibriosis se aplican antibióticos, mantener niveles de alcalinidad entre 120 a 150ppm.

Tratamiento: No hay.

- **IHHNV.**

Actualmente esta enfermedad se desarrolla de una forma crónica, causando una mínima mortalidad en especie como *L. vannamei* o *L. stylirostris*.

Signos clínicos: Caracterizada por la deformación del rostrum y 6to segmento, así como un marcado porcentaje de organismos que presentan lento crecimiento, lo que incrementa el Coeficiente de Variación de un 30 hasta un 50%, cuando lo normal en una población de juveniles libres de IHHNV muestra un C.V. del 10 al 30%.

Histología: Cuerpos de inclusión intranuclear eosinofílicos, conocidos como Cowdry tipo A, con cromatina marginal e hipertrofia nuclear de células en tejido del ectodermo y mesodermo.

Pronóstico: Actualmente se desconocen brotes de mortalidades inducidas por este patógeno.

Tratamiento: Sin tratamiento

7. ACLIMATACIÓN Y SIEMBRA

Es un proceso de ajuste fisiológico gradual de las post-larvas, desde las condiciones de los contenedores del transporte a las de las tinas en las que serán sembradas. Las variables más importantes de aclimatación son salinidad, pH y temperatura, no obstante, algunas veces deben considerarse otros valores de calidad del agua. El evitar el estrés y los rápidos cambios ambientales son claves para una aclimatación exitosa y mejoramiento en la sobrevivencia.

Las post-larvas de camarón constituyen uno de los insumos más costosos en la producción de camarón de cultivo. La manipulación y manejo cuidadoso de las post-larvas iniciando desde su transporte, recepción en granja, aclimatación, hasta el momento de su siembra en las tinas son sumamente críticos para su sobrevivencia. Durante el proceso de aclimatación todos los esfuerzos del personal técnico deben enfocarse en reducir al máximo el estrés y la mortalidad de las post-larvas mientras éstas se adaptan gradualmente a las nuevas condiciones de calidad de agua de las tinas. Una aclimatación exitosa contribuye a asegurar el éxito económico del ciclo de cultivo.

7.1. Descripción de aclimatación de post-larvas en maternidades.

Al llegar el camión que transporta la post-larva lo primero es la verificación de documentos para ver las cantidades de Pl's, logística de los contenedores, tamaño de la post-larva y tiempo de duración de transporte. Una vez hecho lo anterior se procede a observar la post-larva con un vaso transparente, revisar y registrar parámetros de oxígeno, temperatura y salinidad. Ver anexo 5. Posteriormente se toman muestras para análisis en fresco, bacteriología y para la detección de la enfermedad de las manchas blancas (EMB).

En algunas unidades de producción se realiza prueba de estrés ya sea con el agua directa de las maternidades a sembrar o con agua a cero partes de salinidad.

Si los resultados de las pruebas de estrés están dentro de lo requerido por las unidades de producción, se prepara el camión con el equipo de aclimatación, que en algunos casos puede ser de flujo continuo o bajando y recuperando nivel con el agua de las tinas de la maternidad, para tratar de igualar los parámetros lo más posible. Son muy importantes en este proceso las observaciones físicas de los organismos, alimentación y niveles de oxígeno. Al terminar el proceso de aclimatación se dejan reposar las post-larvas un determinado tiempo y así empezar la siembra en las maternidades, ésto podría ser por gravedad con las mangueras de aclimatación o sembrarla con una red tipo cuchara bajando el nivel del contenedor y sacando las post-larvas para ser llevadas a la maternidad. Ver figuras de la 22 a la 33.



Figura 22. Llegada de camión con larva



Figura 23. Toma de muestras



Figura 24. Preparación del equipo de aclimatación



Figura 25. Revisión de parámetros



Figura 26. Pruebas de estrés



Figura 27. Inicio de aclimatación bajando niveles



Figura 29. Recuperación de nivel

Figura 28. Nivel bajo de contenedor



Figura 30. Siembra a gravedad



Figura 31. Siembra con cuchara



Figura 32. Siembra en la maternidad con cuchara



Figura 33. Maternidad sembrada

Una vez sembradas las post-larvas en la maternidad, se deberán de observar para ver su actividad e iniciar su alimentación.

Es importante considerar, desde la llegada del transporte que contiene las post-larvas hasta la siembra, las medidas de bioseguridad correspondientes tanto al vehículo, equipos, utensilios y personal involucrados.

8. ALIMENTACIÓN.

Alimentación es la ingestión de alimento por parte de los organismos para satisfacer sus necesidades nutricionales, fundamentalmente para conseguir energía y desarrollarse.

La alimentación es una práctica de manejo importante si se considera su costo elevado y su efecto nocivo en el ecosistema, las pilas o tinas. El método más utilizado para alimentar las post-larvas en cultivos es por voleo y la dosis de alimento proporcionada por este método se determina por tablas de alimentación. Las charolas de alimentación resultan ser la forma más eficiente para ajustar la ración diaria, otro método es el uso de un vaso cristalino para la observación.

El suministro del alimento artificial está orientado a conseguir mejores producciones en el menor tiempo posible, por lo tanto, para hacer más efectiva y apropiada la alimentación de camarones se debe considerar sus hábitos naturales de alimentación en términos de horario, frecuencia y cantidad, para poder asociar conceptos de nutrición y optimización alimenticia.

El buen uso del alimento en cantidades por ración y horarios va a influir directamente de la calidad del agua influyendo directamente en la salud de los organismos.

8.1. Tipos de alimentos y alimentación.

Alimento Extruido: Es aquel que han sido elaborados mediante un proceso de extrusión. El cual es una forma de cocción rápida, continua y homogénea mediante proceso mecánico de inducción de energía térmica y procesado a alta presión y temperatura.

Alimento Microparticulado: Es aquel alimento con 40 a 50% de proteína, es muy estable en el agua, genera baja contaminación, es muy digerible, tiene buena palatabilidad, mejora el crecimiento y la tasa de sobrevivencia. Los tamaños de los microparticulados van desde 5 a 800 micras.

Cabe mencionar que no es recomendable el uso de alimento en migaja o alimento peletizado (molido) durante los primeros días del cultivo, por la alta cantidad de finos que se desprenden y su bajo perfil de proteínas y grasas, además de la rápida lixiviación lo que consecuentemente ocasiona una baja calidad de agua.

En una maternidad es de gran importancia contar con una tabla de alimentación y un protocolo para iniciar el cultivo. Después de 24 horas ir ajustando las raciones en base a las observaciones que se realicen ya sea mediante el uso de charolas o bien de vasos cristalinos, ya que al llegar las post-larvas a la maternidad se activa el metabolismo por temperatura y se encuentran con un mayor espacio, por lo que es necesario que el tanque ya cuente con el primer suministro de alimento minutos antes de que se coloquen las post-larvas. Ver tabla 14.

Tabla 14. Tabla de alimentación para las primeras 24 hrs.

ESTADIO(pl)	GRAMOS POR MILLON DE Pl's		ESTADIO(pl)	GRAMOS POR MILLON DE Pl's		ESTADIO(pl)	GRAMOS POR MILLON DE Pl's		ESTADIO(pl)	GRAMOS POR MILLON DE Pl's
10	38.6		14	51.4		18	64.3		22	73.8
11	41.1		15	56.6		19	66.9		23	76.1
12	46.3		16	59.1		20	69.2		24	78.4
13	48.8		17	61.7		21	71.5		25	80.7

Otro punto de suma importancia es el de establecer la frecuencia de raciones, la cual puede ser cada hora o cada 2 o 3 horas siempre y cuando se esté cuidando ciertos puntos críticos como pueden ser el canibalismo, intestino vacíos, que sea suficiente el alimento entre ración y ración, el crecimiento de los organismos y la disponibilidad de personal.

Las observaciones de charola o del vaso cristalino podrían ser cada 2 a 3 horas después de haber alimentado, e ir identificando las horas con mayor consumo y menor consumo para ir ajustando las raciones.

Lo más recomendable es dar el alimento a boleo, puede ser en seco o humedecido con agua de la maternidad esto último en caso de ser un alimento muy fino, y debe distribuirse de manera homogénea a lo largo y ancho de todo el tanque.

Se sugiere utilizar la siguiente tabla, ya que es de suma importancia para el personal a la hora de pesar el alimento y elegir el tipo de alimento que toca aplicar en cada tanque.

Tabla 15 . Horario de alimentación en maternidades

UNIDAD DE PRODUCCIÓN															
HORARIO DE ALIMENTACIÓN EN MATERNIDADES															
#	Cantidad de Pl's	Estadio	ALIMENTO 1			ALIMENTO 2				ALIMENTO 3				ALIM. 4	OBSERVACIONES (AJUSTES)
			01:00	05:00	09:00	02:00	04:00	07:00	10:00	03:00	06:00	08:00	11:00	12:00	
			13:00	17:00	21:00	14:00	16:00	19:00	22:00	15:00	18:00	20:00	23:00	00:00	
1															
2															
3															
4															
5															
6															
7															
8															
9															
10															

Fecha: _____

Ayudándose con la tabla No. 16 de transición de alimentos y uso de micrajés, se ajustará la ración correspondiente de las mezcla alimentos a utilizar conforme van creciendo los organismos en el cultivo y días antes de realizar la cosecha de los tanques se iniciará el suministro del mismo alimento que vaya a emplear la granja.

Tabla 16 . Manejo de alimento para realizar transiciones

MANEJO DE ALIMENTO PARA REALIZAR TRANSICIONES

Día	Edad	vol/ ton=		Población	1 etapa	2 etapa	Alimento total gr.					
		Raciones	Poblacional %		Cantidad gr/Millón	Alimento total	Alimento BW	Alimento 1 (3/5) (5/8)	Alimento 2 300-500	Alimento 3 400-600	Alimento 4 300-500	Alimento 5 600-800
1	Pl 16											
2	Pl 17											
3	Pl 18											
4	Pl 19											
5	Pl 20											
6	Pl 21											
7	Pl 22											
8	Pl 23											
9	Pl 24											
10	Pl 25											
11	Pl 26											
12	Pl 27											
13	Pl 28											
14	Pl 29											
15	Pl 30											

Por último se deberán ir capturando los datos en una hoja de vida para ir observando el desarrollo de los organismos respecto a lo proyectado para ir haciendo los ajustes apropiados. Es recomendable apoyarse en gráficos comparativos de crecimiento y sobrevivencia. Se anexa archivo de Excel como sugerencia para Hoja de Vida.

9. PROBIÓTICOS EN LA ACUACULTURA

El uso de probióticos en la acuicultura, como en otras áreas ha venido a intentar solucionar la problemática que se presenta al incrementar el estrés sobre los animales en sistemas productivos. En el sentido estricto actúan estableciéndose y multiplicándose en el tracto digestivo de los organismos mejorando la digestibilidad y eliminando o controlando microorganismos potencialmente no deseados. En general los probióticos más usados han sido los lactobacilos, levaduras y bacterias del género *Bacillus sp.* Otros usos o propiedades que se le han adjudicado, es como biorremediadores al mejorar algunas características físico-químicas del agua de cultivo (principalmente amonio, nitritos y pH) y el controlar por competencia poblaciones potencialmente patógenas.

Esta revisión compila de manera simple información útil sobre las características de los probióticos, su modo de acción y sus efectos sobre los organismos y el medio acuático.

La prevención y el control de enfermedades han llevado a un incremento sustancial en el uso de compuestos químicos y medicina veterinaria, sin embargo la utilidad de agentes antimicrobianos y antibióticos como una medida remedial ha sido cuestionada.

De acuerdo con la FAO, 2001 los probióticos pueden ser definidos como: “microorganismos vivos que administrados de manera apropiada y en cantidades y composiciones adecuadas confieren un beneficio a la salud del hospedero”. Para lo anterior se requieren investigaciones científicas para cada caso.

9.1. Modo de acción de los probióticos.

Una de las propiedades más importantes de los probióticos es el de adherirse y proliferar en un sitio específico para mayor utilidad. Los principales modos de acción de los probióticos son:

9.1.1. Producción de compuestos inhibidores.

Los probióticos juegan un papel muy importante en la prevención de enfermedades produciendo ciertos compuestos inhibidores que actúan de manera antagónica contra los patógenos, y así previenen su proliferación en los hospederos. La actividad antipatógena puede ser debida a la producción de antibióticos, bacteriosinas (lactobacilos), sideróforos, lisosimas, proteasas, peróxido de hidrógeno y la alteración del pH. Otras bacterias pueden de manera natural producir compuestos químicos que presentan actividad antibacteriana y antifúngica (por ejemplo: *Aeromonas cepa A 199*).

9.1.2. Competencia por sitios de adhesión.

La competencia por espacio para la adhesión y colonización del tracto digestivo y otros tejidos, es otro modo de acción de los probióticos para luchar contra los patógenos dañinos. La apropiada adhesión a la mucosa entérica y superficie de la pared intestinal es lo más importante para que cualquier patógeno pueda causar el mayor daño posible al hospedero. Por lo tanto, la colonización del probiótico disminuye la probabilidad de que otro microorganismo pueda colonizar los mismos tejidos y afectar al hospedero.

La adhesión de los probióticos puede ser no específica, basada en factores físico-químicos, o específica, sobre moléculas receptoras de las células epiteliales. Se ha reportado que los aislados

intestinales compiten mas efectivamente con *Vibrio anguillarum* por sitios de adhesión en la superficie de la mucosa

9.1.3. Modulación de la respuesta inmune del hospedero.

Los probióticos brindan protección contra patógenos sin los inconvenientes que provocan los agentes quimioterapéuticos y antibióticos. Promueven la resistencia natural y la alta sobrevivencia de post-larvas y post-larvas en organismos acuáticos. El efecto y la respuesta sobre diferentes grupos de organismos acuáticos depende de la composición microbiológica del probiótico y del sistema inmune de cada uno de ellos (en peces es mayor la respuesta que en crustáceos y moluscos).

9.1.4. Competencia por químicos y energía disponible.

Las bases para la existencia de algunas poblaciones microbianas dependen de su capacidad para competir, con otros microbios, por algunos elementos o compuestos químicos y por la energía disponible en el mismo ecosistema.

Los organismos heterótrofos, los cuales dominan el medio acuático, compiten por sustratos orgánicos, tales como el carbono y otras fuentes de energía, de tal manera que en un ambiente pobre en materia orgánica, una cepa microbiana con mayor capacidad de crecimiento, puede evitar que otras potencialmente patógenas proliferen. De igual manera la carencia de un elemento químico, puede determinar el tipo de población microbiana.

9.1.5. Competencia por nutrientes.

Como se comentó anteriormente, los probióticos forman parte de la microflora del tracto intestinal y otros tejidos, y compiten por nutrientes que de otra manera serían utilizados por otros microbios, entre ellos, algunos con potencial patogénico. Adicionalmente, también pueden representar una fuente suplementaria de alimentos, vitaminas y aminoácidos esenciales.

9.1.6. Mejoramiento de la calidad del agua.

Algunas bacterias Gram positivas mejoran el sistema inmune de los animales y también actúan favorablemente sobre la calidad del agua del sistema, por ejemplo: *Bacillus spp.* actúa eficientemente en convertir la materia orgánica en dióxido de carbono mientras que la mayoría de las bacterias Gram negativas, convierten una mayor proporción de materia orgánica en biomasa bacteriana.

Ciertas cepas de probióticos tienen un efecto importante como alguicida afectando a diferentes especies de microalgas y esto es particularmente benéfico en los casos de marea roja. El mayor problema de la calidad del agua para el cultivo de organismos se debe a la toxicidad de amonio y nitritos, el cual puede ser resuelto con la aplicación de cultivos nitrificantes a los estanques. La administración de la cepa probiótica adecuada acorde con el objetivo que se persigue, representa una posibilidad de mantener un ambiente sano para el cultivo de diferentes organismos acuáticos.

9.1.7. Actividad antibacteriana

Las relaciones particulares que existen entre diferentes microorganismos en el medio acuático son variadas y dependen de diferentes factores, tanto biológicos como físico-químicos. El antagonismo bacteriano es un fenómeno común en la naturaleza, de tal manera que la interacción microbiana

juega un papel muy importante en el equilibrio entre cepas benéficas y microorganismos potencialmente patógenos. Por ejemplo: bacterias ácido - lácticas o esporas de *Bacillus sp.*, disminuyen la cantidad de especies de *Vibrio* potencialmente patógenas en cultivos de rotíferos (Balcázar *et al.*, 2004). De igual manera, existen otros reportes sobre el efecto de *Lactobacillus* contra *E.coli* y *P. aeruginosa*. También se ha visto que *B. subtilis* reduce considerablemente la concentración de *Aeromonas*, *Pseudomonas* y coliformes totales en peces ornamentales vivos en cultivo.

9.1.8 Actividad antiviral

Se ha reportado que algunos probióticos tienen un efecto antiviral, sin embargo el mecanismo exacto no se conoce. Cepas de *Pseudomonas sp.*, *Vibrio sp.*, *Aeromonas sp.* y grupos de *Coryneformes*, mostraron actividad antiviral contra el virus de la *Necrosis Hematopoyética Infecciosa* (IHNV) en peces (Kamei *et al.*, 1988). Se ha observado que proporcionar una cepa de *B. megeterium* como suplemento alimenticio incrementa la resistencia al virus WSSV en camarones *L. vannamei* (Li *et al.*, 2009). Sin embargo la tasa de éxito con el uso de probióticos contra virus es muy variable y a veces cuestionable.

9.1.9. Actividad antifúngica

La actividad antifúngica de los probióticos ha sido poco estudiada pero también existen algunos reportes de este tipo de relaciones (*Aeromonas sp.* contra *Saprolegnia sp.*)

9.2. Papel de los probióticos en el cultivo de camarón

El uso de probióticos, que controlan microorganismos patógenos a través de una variedad de mecanismos, es vista cada vez más, como una alternativa al tratamiento con antibióticos y recientemente su demanda ha crecido considerablemente en la industria camaronícola. Su uso en larvas y post-larvas, requiere especial atención debido a su vulnerabilidad inmunológica en los primeros estadios.

Principales efectos sobre el cultivo de crustáceos:

- Mejoras en el crecimiento.
- Efecto antagónico contra *Vibrio*, spp.
- Fuente nutricional para estadios larvarios.
- Mayor rendimiento en estanques de camarón con cepas de *Bacillus* como probiótico.
- Incremento en el peso y sobrevivencia en larva y post-larva de *P. monodon* y disminución de la mortalidad al exponerse a *Vibrio harveyi*.
- Inhibición de *V. anguillarum* y mejoramiento en el crecimiento de rotíferos.
- Mejor crecimiento y altas sobrevivencias de larva *M. rosenbergii* alimentada con nauplios de artemia enriquecida con *B. subtilis*.
- Mejor desarrollo, metamorfosis, inmuno - estimulación y respuesta a estrés en *L. vannamei*, después de la adición de *B. subtilis* E20 como probiótico a una concentración de 10^9 ufc/L. Al mismo tiempo que controló la proliferación de *Vibrio*, spp.
- Incremento en la actividad fagocítica por *B. subtilis* E20.
- Efecto positivo sobre los procesos digestivos, así como en la asimilación de los componentes del alimento. El incremento en la digestibilidad de los nutrientes puede ser debido a la mejor

disponibilidad de exoenzimas producidas por los probióticos o por mejoras en las condiciones de salud.

- Modulación del sistema inmune.

La relación especie/cepa/estado específico de los probióticos es de gran importancia y necesita ser analizada apropiadamente. Existen algunas iniciativas de utilizar combinaciones múltiples de probióticos para obtener un efecto pronunciado, pero son necesario estudios más detallados y enfocados a los alcances y posibles consecuencias para su aplicación. Las nuevas técnicas moleculares permiten la realización de investigaciones sobre los efectos de los probióticos y el modo de acción. Dichos análisis deberán ser incluidos como criterios estándares para evaluar su efecto en los sistemas de cultivo.

9.3. Tipos de probióticos.

- Los productos comercialmente disponibles incluyen a cepas puras, mezclas definidas de cepas específicas, pero también un consorcio de varias cepas y mezclas indefinidas.
- Los productos son proveídos como líquidos, congelados o polvo.
- Algunos de ellos requieren preparación (así como fermentación por 1 a 3 días previo a la aplicación). Mientras que otros son proveídos en altas concentraciones y no requieren de ningún paso previo.
- Los productos en polvo que son proveídos para su uso inmediato tienen beneficios adicionales, como conocer las bacterias que se están utilizando, vienen las dosificaciones estandarizadas para el uso inmediato lo cual nos permite predecir el resultado esperado.
- Los productos comerciales reducen el riesgo de contaminación ya que no tienen que ser manipulados por el técnico, como se da en el caso de la fermentación.
- Los también llamados, bacterias caseras, artesanales o endémicas, que son microorganismos capturados en las inmediaciones de la unidades de producción, aisladas y depuradas que han sido usadas como probióticos, dándole un valor agregado por considerarlas bacterias endémicas, adaptadas al medio y no exóticas con problemas de adaptación a las condiciones locales.
- En cualesquiera de los tipos que se prefiera usar, se recomienda que el conteo en cámara Neubauer sea al menos de 100 millones de células por mililitro como mínimo en el cultivo del probiótico y que incluya de manera uniforme los tres grupos de organismos que son: Bacilos, Cocos y Levaduras.

Factores a considerar de un buen probiótico:

- Fácil manejo.
- Disponibilidad.
- Que cumpla su función.
- Precio razonable.
- Seguir las instrucciones del fabricante.

10. CRECIMIENTO.

El crecimiento de un organismo se define como el aumento de tamaño y peso como consecuencia del desarrollo de la biomasa del mismo.

10.1. Biometrías.

Se recomienda realizarlo cada tercer día como mínimo, tomando 3 puntos del tanque moviendo la red de cuchara desde la superficie hasta el fondo, las nuevas maternidades deberán realizarlas diario para adquirir experiencia y protocolizar de manera más asertiva los siguientes ciclos de operación. Sacada la muestra se elimina el exceso de agua, se pesa y se cuentan los organismos para sacar su peso promedio, la cantidad de muestra determinará la exactitud del peso promedio. Las biometrías sirven también para observar a los organismos y determinar si hay consumo de alimento, se puede observar tractos interrumpidos, presencia de muda, indicios de enfermedad, canibalismo y por último organismos muertos. Todas las observaciones posibles se anotan en una hoja de vida por tina.

Se recomienda realizar esta actividad por las mañanas o las tardes, siempre a la misma hora para que exista una buena correlación de incrementos de crecimiento. Se debe tener cuidado de no estar alimentando en el momento que se estén tomando las muestras. Solo en caso de tener estanques mayores de 150 m³ se recomienda muestrear en tres puntos diferentes del tanque.

10.1.1. Importancia.

- Conocimiento del crecimiento real contra el proyectado.
- Observar los siguientes aspectos físicos de los organismos.
 - Intestinos llenos.
 - Muda.
 - Estado y condición de las antenas.
 - Deformidad.
 - Canibalismo.
 - Pigmentación corporal.
 - Pigmentación del hepatopáncreas.
 - Organismos muertos.
- Proyección de la carga biológica en el tanque.
- Programación de posibles transferencias.

10.1.2. Recomendaciones.

- Desinfección con cloro a 20 ppm de utensilios cada vez que se cambie de tanque (red de cuchara, vaso transparente, platos o charola de conteo, franela, etc.).
- Utilizar una balanza que arroje datos confiables y de cifras con centésimas.
- Calibrar la balanza en cada muestreo.
- Meter la red de cuchara hasta el fondo del tanque y realizar un barrido.
- El muestreo lo debe hacer la misma persona para mantener un mismo criterio.

10.1.3. Materiales.



Figura 34 . Balanza



Figura 35 . Red de cuchara para muestra



Figura 36 . Destilado o secado rápido



Figura 37 . Toma de muestra



Figura 38. Pesado de organismos



Figura 39 . Conteo de organismos y observación



Figura 40 . Anotación de datos y observaciones para hoja de vida



Figura 41 . La desinfección con cloro de los instrumentos

10.1.4. Consecuencias de hacer un mal cálculo de población y biometrías.

- Tener mayor probabilidad de error en la proyección de la maternidad.
- Sobrepasar la carga biológica de la maternidad.
- Incremento del canibalismo.
- Tamaño y cantidad de alimento inadecuada.
- Bajas de oxígeno.
- Necesidad de transferencias no planeadas.
- Baja sobrevivencia.
- Finalmente el impacto en los costos y oportunidad de negocio.

10.1.5. Posibles consecuencias por no desinfectar o realizar una mala desinfección.

Contaminación en el agua de las maternidades por:

- Virus.
- Bacterias.
- Hongos.
- Protozoarios.
- Microalgas.

11. TRANSFERENCIAS DE JUVENILES DE CAMARÓN.

Transferencia es el proceso donde se transfieren los organismos de las maternidades a los estanques de engorda tratando de no provocar estrés, realizando esto en el menor tiempo posible para obtener una mejor sobrevivencia en los estanques de engorda.

11.1. Recomendaciones

Antes de transferir:

- Iniciar llenado de la estanquería con anticipación.
- Pedir con al menos 4 días de anticipación que se saquen las muestras de organismos para solicitar permiso de siembra ante las autoridades correspondientes. Lo anterior para cumplir con el Protocolo Sanitario para el cultivo de camarón en Sonora.
- Contar con permiso de siembra correspondiente.
- Disponer de todo el material y equipo necesario en buenas condiciones para realizar las transferencias. Para lo cual es necesario tener un “chek list” que nos permita verificar que se tiene todo lo necesario.

Puntos para tener una buena transferencia

- Conocer muy bien la capacidad de carga de las maternidades para iniciar las transferencias.
- Tratar de tener las menores diferencias de los parámetros físico-químicos entre la maternidad y los estanques (mínimo las más básicas temperaturas y salinidad).
- Prueba de estrés.
- Logística de la transferencia (comunicación y rutas de las unidades que llevarán a los juveniles).
- Horarios de inicio y término de transferir (mañana o por la noche).
- Detectar mudas en la maternidad.
- Tomar en cuenta las condiciones climáticas adversas (nublado, lluvia, neblina o viento).
- Nivel de inicio de la pila para inicio de cosecha.
- No dejar de alimentar.
- Manejo de válvulas de aire.
- Hacer pruebas de tiempos para las distancias más largas que se va a transferir.
- Lista material y equipo suficiente.

Previo a la transferencia es recomendable realizar una reunión con el personal técnico de la granja y maternidades para acordar un programa prioritario.

- Horario de inicio de la transferencia
- Identificar cuales maternidades están programadas o tienen necesidad de ser transferidas.
- Estanques que se van sembrar.
- Nivel del agua que se desea iniciar la transferencia (80% o 70%) en estanques.
- Cantidad de juveniles que se sembraran por estanque.
- Logística en el personal operativo.

- Ubicar en que partes de los estanques van a ser la siembra ya sea por la dirección del viento y el nivel del estanque.
- Contar con “camas” o “cunas” de recepción.
- Comunicación de la condición de llegada de los organismos a los estanques y cambio de estanques.

11.2. Descripción de cosecha y transferencia de post-larvas a estanques de engorda

Existen varios métodos de transferencia de post-larvas entre los cuales se tienen: método en seco, agua y oxígeno saturado, en contenedores con agua y oxígeno saturado entre otros. En todos estos métodos se deberá de considerar lo siguiente:

- Distancias de traslado.
- Tiempo de traslado .
- Taras o bins.
- Saturación de oxígeno de 8 a 16 mg en adelante, monitoreando constantemente cuando sean mayores a 10 minutos.
- Chayo de tela suave de 800 a 1000 micrones.
- Contar con el equipo necesario como balanza, tanque de oxígeno de reserva.
- Evitar al máximo las horas cálidas sobre todo en el verano.
- Cambiar cuando se requiera el agua de traslado.
- Realizar la captura de datos como biometrías, oxígeno, número de organismos en el estanque.
- Se deberá contar con un coordinador para la transferencia a los estanques quien además se encargará de capacitar al personal operario.

El proceso correspondiente se observa en las figuras de la 42 a la 57



Figura 42. Nivel de inicio de cosecha



Figura 43 . Chayo de cosecha



Figura 44 . Cosecha



Figura 45 . Vaciado de organismos



Figura 46 . Traslado a balanza



Figura 47 . Pesado de organismos



Figura 48. Biometrías. (Submuestras)



Figura 49. Procesamiento de datos



Figura 50. Agua saturada de oxígeno



Figura 51. Traslado de larva



Figura 52. Traslado a estanques



Figura 53. Recepción y siembra en el estanque de engorda



Figura 54. Nivel final de cosecha



Figura 55. Remanente de larva



Figura 56. Cosecha final por tubería de salida de agua



Figura 57. Limpieza final

Material para transferencia de maternidades a estanquería

- Computadora, de preferencia lap top
- 3 chayos de cosecha (de 1.5m a 1.8m)
- 25 taras (todas que sean del mismo peso y capacidad)
- 1 balanza de 0.1 gr de precisión (sub muestra)
- 1 balanza de 50 kilos de capacidad digital.
- 5 vasos de litros cristalinos (biometrías)

- 2 tanques de oxígeno.
- Un equipo de manómetro y flauta de distribución para 2 piedras de porcelana.
- 2 piedras de porcelana
- 3 cubetas 1 para echar el agua saturada de oxígeno y las otras 2 para biometrías.
- De 5 a 6 vehículos (motos y autos)
- 2 extensiones para luz de balanzas y computadoras.
- 1 mesa rectangular.
- 4 sillas.
- Suficiente gasolina.
- 17 personas: 2 cosechadores, 2 acarreadores de taras, 1 en los tanques de oxígeno, de 5 a 6 choferes dependiendo de los vehículos, 1 en la computadora, 2 en las biometrías de submuestras y 3 en la recepción del juvenil en el estanque.
- Franela 2 m²

12. MONITOREO SANITARIO

Es importante tratar de estandarizar el procedimiento de la aplicación de estrés térmico a muestras provenientes de maternidades para el diagnóstico de agentes patógenos de alto impacto económico, por ello, a continuación se presenta una guía para dicho procedimiento. Se considera que aplica a muestras de post-larvas previo a su movilización, previo a su siembra, en su movilización y muestras de seguimiento en maternidades. Es necesario contar con los materiales y equipos adecuados.

Procedimiento:

Se aplicará el procedimiento de seguimiento a maternidades establecido en el Protocolo sanitario de cultivo de camarón, que señala la realización de uno o dos muestreos durante el proceso de maternización de la post-larva según el tiempo de duración de la misma.

Cuando una maternidad en el mismo ciclo producción sea sembrada en dos fechas distantes entre sí, se deberá considerar las poblaciones de organismos como si fueran dos lotes diferentes (dos maternidades) para fines del muestreo.

El seguimiento de una maternidad consiste en la realización de dos muestreos de organismos vivos, en los cuales se aplicará un estrés térmico, cuando el tiempo de operación de la maternidad sea corto solamente se realizará un muestreo aplicando estrés térmico utilizando el siguiente procedimiento:

- El Auxiliar de Campo del COSAES en acuerdo con el responsable de la maternidad, programarán la fecha de la visita para la toma de muestra.
- El responsable de la maternidad notificará al auxiliar de campo del COSAES el tiempo que contempla dure la maternización de su post-larva para definir el número de muestreos y la fecha tentativa para los mismos.
- Con la información proporcionada por el responsable de la maternidad, el auxiliar del COSAES prepara los materiales de muestreo, notifica a la Institución en la que se va a realizar el estrés térmico y programa el muestreo en el SEIAIS (Sistema Estratégico de Información Acuícola Integral de Sonora).
- A la llegada a las instalaciones de la maternidad, se revisa de nuevo el procedimiento con el responsable previo a aplicarlo.
- El auxiliar de campo del COSAES muestra al responsable de la maternidad una copia de su programa de trabajo semanal para confirmarle que no ha estado en otra instalación acuícola en las últimas 24 horas.
- El responsable de la maternidad confirma que el auxiliar del COSAES, su vehículo y materiales de muestreo cumplan con los protocolos de bioseguridad establecidos por la unidad de producción y en caso de no ser así, NO permitir el muestreo.
- De estar en orden todo, se procede al muestreo.
- Se recorren todas las salas, naves o invernaderos con que cuenta la maternidad.

- Se toman aproximadamente 150 organismos de cada maternidad cuidando que éstos provengan de la TOTALIDAD de los tanques tinas o raceways de la misma y se deberá registrar la temperatura a la que se encuentran. Observar siguiente tabla:

Tabla 17. Programa de monitoreo de enfermedades notificables.

PRIMER MUESTREO					
Tiempo cero			Tiempo 1		
No. Org	No. Análisis	Patógeno	No. Org	No. Análisis	Patógeno
30	1	WSSV	150	3	WSSV

SEGUNDO MUESTREO					
Tiempo cero			Tiempo 1		
No. Org	No. Análisis	Patógeno	No. Org	No. Análisis	Patógeno
30	1	WSSV	150	3	WSSV
				1	IHHNV
				1	YHV
				1	IMNV
				1	TSV
				1	NHP
				1	PvNv

- Los organismos pueden ser muestreados por el personal de la maternidad pero siempre en presencia del Auxiliar de Campo del COSAES, quien deberá apegarse a las medidas de bioseguridad establecidas en la maternidad.
- Las muestras se irán colocando en una hielera para transportarlas, se tomará una muestra de organismos y se fijará en alcohol etanol al 96% sin desnaturalizar, será la muestra T0.
- La temperatura de transporte debe ser entre 20-24 grados centígrados, cuidando que exista un diferencial de aproximadamente 6 grados centígrados respecto a la temperatura de cultivo, esta deberá mantenerse hasta las instalaciones del laboratorio de análisis.
- Durante el transporte, el auxiliar de campo deberá confirmar al menos cada hora que la temperatura de transporte se mantenga en el rango antes mencionado.
- Al llegar al laboratorio se confirmará que la temperatura de transporte se haya mantenido, el personal del laboratorio deberá revisar las condiciones en que recibe las muestras.
- A la muestra Tiempo cero (T0) se le realizará solamente un análisis de PCR para Mancha Blanca.
- La muestra T1 en el caso del primer muestreo de la maternidad se analizará solamente para WSSV habiéndose aplicado el estrés térmico.
- La muestra T1 en el caso del segundo muestreo de la maternidad, se dividirá en tres sub muestras y se le realizarán a cada una de ellas los siguientes análisis: WSSV, YHV, IHHNV, IMNV, TSV, PvNv y NHP.
- El Auxiliar de Campo del COSAES llenará la orden de trabajo en el SEIAES para que se envíen a los laboratorios de diagnóstico.

13. BIOSEGURIDAD.

Las enfermedades infectocontagiosas son uno de los principales problemas en la industria acuícola, representando mermas millonarias para los productores. Con el objetivo de minimizar pérdidas se pueden seguir diversos métodos que incluyen el control de patógenos causantes de enfermedades y sus vectores. A estos sistemas de control que engloban todos los métodos de prevención de enfermedades se les denomina bioseguridad. El término bioseguridad es muy amplio y relativamente nuevo y se define como "la seguridad de las cosas vivas o las acciones encaminadas al cuidado para las cosas vivas". En este sentido, la bioseguridad abarca todo aquello que conlleva a la protección de los organismos de cualquier tipo de agente infeccioso, ya sean virus, bacterias, hongos y parásitos.

Los elementos básicos de un programa de bioseguridad comprenden los métodos físicos, químicos y biológicos necesarios para proteger la maternidad de las consecuencias de todas aquellas enfermedades que representan un alto riesgo. Una bioseguridad efectiva supone tener en cuenta un rango de factores, tanto específicos como no específicos de enfermedades, desde los puramente técnicos hasta aspectos económicos y de gestión. Pueden ser empleados distintos niveles y estrategias de bioseguridad dependiendo de las instalaciones, del tipo de enfermedad y del grado de riesgo percibido. El nivel apropiado de bioseguridad aplicado será función generalmente de la facilidad y costo de su implementación, y relativo al impacto de la enfermedad en las operaciones de producción. Un funcionamiento responsable tiene que considerar también el riesgo potencial de propagación de enfermedades al medio natural, y sus efectos en los cultivos acuícolas colindantes y de la fauna silvestre.

13.1 Importancia

La medicación y prevención de enfermedades en animales, a través de la vacunación, son métodos que han mejorado de forma notable en los últimos años, pero por desgracia no existen vacunas contra muchos de los agentes infectocontagiosos de importancia clínica y económica en la acuicultura (especialmente para organismos invertebrados como crustáceos y moluscos). Ante esta situación, la higiene y la desinfección adquieren cada vez mayor importancia como piedra angular de la bioseguridad. Como estrategia, en primer lugar se previene con la desinfección el ingreso de nuevas enfermedades, pero también se evita o controla la diseminación de una enfermedad cuando llega a surgir. Sin duda alguna podemos afirmar que la desinfección es la clave para terminar con muchas enfermedades en la granja.

Asumiendo que la bioseguridad consiste en una serie de medidas que forman parte de un plan de defensa estratégico de higiene, que ayuda a mantener la salud de poblaciones enteras de camarones, queda claro que éstas se logran con la ejecución de acciones estratégicas coordinadas por el personal responsable del cuidado, producción e instalaciones de las maternidades. Dicho personal debe contar con capacitación sólida, con criterio epidemiológico amplio y entrenado, además de gran capacidad crítica y sentido común para lograr algo tan aparentemente simple: "evitar que los microorganismos lleguen a los animales o impedir que los animales lleguen a donde están los microorganismos".

No obstante en la práctica, un plan de bioseguridad puede llegar a ser en extremo complicado, porque las acciones a realizar deben anteponer, siempre, que la estrategia de prevención es la mejor política de cualquier explotación. La bioseguridad es un componente crucial de las buenas prácticas sanitarias y de

producción, sin embargo, es de suma importancia mantenerse flexibles y abiertos a nuevas tecnologías y desarrollos. Es de primordial exigencia la elaboración de planes de bioseguridad que minimicen el uso de antimicrobianos y otros productos veterinarios, dada la densidad de población de las explotaciones acuícolas actuales, la rápida repoblación de las instalaciones, la aparición constante de nuevas entidades infectocontagiosas, entre otros factores, por los retos para balancear los costos de producción con un mínimo de inversión y un máximo de beneficio financiero a las empresas. Así mismo, es importante considerar que la producción acuícola en las maternidades se ha ido haciendo cada vez más tecnificada, llegando a un nivel que puede convertirse en un punto crítico que debe controlarse, por las poblaciones que se manejan y su dinamismo; el desastre se encuentra latente en cada una de ellas y puede detonar en cualquier momento, a menos que la vigilancia sea constante y se tenga especial cuidado con las operaciones generales de la granja y en particular de las maternidades, manejo de los camarones, control de moscas, fauna nociva, alimentación, desinfección o cualquier otra situación que pueda romper el equilibrio establecido. Por todo lo anterior, queda entendido que el concepto de bioseguridad es tan amplio como la imaginación, ya que también hace referencia a la localización física de la granja (bioseguridad física), al diseño de la misma (bioseguridad estructural), etc. Así, todo plan de bioseguridad debe ser de naturaleza individual, flexible, versátil, fácil y práctico de aplicar.

Ante todo esto, cabe mencionar la cita de la Dra. Victoria Alday quien dice: “Los sistemas de producción de animales acuáticos se asemejarán a los de animales terrestres, serán sistemas intensivos en los que la bioseguridad será un factor importante en la prevención de enfermedades y el desarrollo genético aportará animales de mejor rendimiento y resistencia a enfermedades”.

Como en cualquier establecimiento de producción animal, la bioseguridad en establecimientos acuícolas implica identificación, priorización e implementación de estrategias eficaces y necesarias para prevenir la introducción, proliferación y propagación de patógenos así como la preparación para cualquier desastre.

Los planes de bioseguridad deberían presentarse en formato escrito para asegurar coherencia en la comunicación y en la implementación de los procedimientos y protocolos establecidos por la granja.

La implementación correcta de medidas de bioseguridad en una granja acuícola puede:

- Promover la sanidad y minimizar la pérdida de los animales acuáticos.
- Proteger la inversión económica del productor.
- Aumentar el comercio y exportación de animales acuáticos y sus productos.
- Impedir la introducción de patógenos nuevos y emergentes.
- Minimizar el impacto de una enfermedad, en caso de que ocurra.
- Proteger la seguridad del suministro de alimentos.
- Proteger la salud humana de enfermedades zoonóticas

Los procedimientos, políticas y prácticas de bioseguridad incluyen aquellos que se utilizan de manera diaria o de rutina como también aquellos que resultan necesarios en situaciones de brotes de enfermedades. Un programa eficaz de bioseguridad debe:

- Prevenir o minimizar los problemas y factores de riesgo de enfermedades antes de que ocurran.
- Detectar problemas que sí ocurren.
- Brindar controles y medidas adecuadas.
- Programas de contingencias.
- Evaluar resultados.

13.2. Principales factores a considerar en los programas de bioseguridad

En vista de la gran inversión que implica una maternidad acuícola, las precauciones a tomar en materia de bioseguridad son un pequeño precio que, sin discusión se tiene que pagar, a fin de mantener libre de enfermedades las maternidades y a la granja en general. La bioseguridad no debe verse como un gasto sino como una inversión que reditúa en beneficios para la granja. En términos generales cualquier programa de bioseguridad ha de contemplar los siguientes aspectos, algunos se desarrollan ampliamente en otros apartados de este manual:

- Localización adecuada y diseño de la maternidad.
- Dirección y construcción de las naves.
- Contacto y cercanía con otras granjas.
- Control de animales extraños a la explotación (animales salvajes, insectos, ratas, ratones, etc).
- Limpieza y desinfección de la nave, así como cualquier material y equipo empleado dentro de la maternidad.
- Utilización de lotes de post-larvas de la misma edad.
- Monitoreo diario del estado de salud de las post-larvas.
- Control de visitas y personal ajeno a la maternidad.
- Vigilancia del estrés de las post-larvas.
- Revisión de la calidad de agua y alimento.
- Programas de aplicación de productos veterinarios.
- Manejo y control de la materia orgánica.

13.3. Consideraciones para la elaboración e implementación del plan de bioseguridad.

Las medidas de bioseguridad deben ser estrictamente aplicadas por todo el personal de la granja, así como por personas ajenas a la granja que por alguna razón deban ingresar o pasar por dentro de las instalaciones de la misma.

Entre otras cosas se deberá de considerar:

- Designar y capacitar a un responsable de elaborar, implementar y verificar el programa de bioseguridad.
- Contar con personal suficiente y capacitado para la operación.
- Planear con suficiente tiempo el plan de bioseguridad.
- Capacitar antes de iniciar operaciones al personal operario de la maternidad.
- Verificación de la implementación del plan de bioseguridad a través de un check list. Ver anexo 6.
- Retroalimentar el plan.
- Selección adecuada de los desinfectantes.

13.4. Limpieza y desinfección.

Debido a la manipulación constante del producto existen riesgos de afectar la sanidad e inocuidad de los organismos, por lo que se hace necesario contar con un procedimiento estandarizado de limpieza y desinfección que disminuya la posibilidad de una contaminación por un agente químico, físico o biológico, tanto para el cultivo, como para el producto cosechado. Por ello, antes de dar inicio con la siembra, o cosecha, se debe de considerar el realizar una correcta limpieza y desinfección de vehículos, material y equipo a utilizar, así como del personal operativo. Lo cual deberá de ser registrado y verificando que se haya hecho correctamente de acuerdo al siguiente procedimiento:

13.4.1. Productos Desinfectantes.

Los desinfectantes deben su acción a los ingredientes activos que contienen. Los desinfectantes son preparaciones con propiedades viricidas, fungicidas y bactericidas, es decir, que eliminan todo tipo de microorganismos patógenos mediante diferentes mecanismos de acción. Los desinfectantes reducen los organismos nocivos a un nivel que no dañan la salud ni la calidad de los bienes perecederos. El procedimiento de limpieza y desinfección deberán ser registrados en la bitácora correspondiente.

13.4.2. Selección.

El responsable de desinfección deberá seleccionar una serie de productos desinfectantes con la finalidad de tener siempre disponibilidad de productos seguros y eficaces. Existen desinfectantes que a diferencia del cloro no es necesario inactivarlos, no hacen daño al medio ambiente y son altamente biodegradables, especialmente los orgánicos como los extractos de cítricos. Cada producto seleccionado deberá contar con la ficha técnica correspondiente y ser autorizado por SAGARPA o la Secretaría de Salud. Para poder seleccionar el desinfectante que se adecúe mejor a las condiciones de la maternidad, en el siguiente punto se enlistan algunas características que deben cumplir dichos productos.

13.4.3. Características de un desinfectante ideal.

- Ser soluble en agua.
- Amplio espectro de actividad (viricida y bactericida).
- Estable: tiempo prolongado de vida útil y efectividad en aguas duras.
- No debe reaccionar con materia orgánica ni inactivarse en presencia de ella.
- Escasa o nula toxicidad para el ser humano y los organismos en cultivo.
- Acción rápida.
- Capacidad de penetración.
- Acción residual.
- Compatible con todos los materiales. No corrosivo.
- Disponibilidad y buena relación costo-riesgo-beneficio.
- No debe afectar al medio ambiente.

Se anexa un cuadro de ingredientes activos y sus características para apoyar la selección de productos. Ver anexo 7.

13. 5 Procedimiento de limpieza y desinfección.

13.5.1. Limpieza.

- Recoger y desechar los residuos de organismos muertos, polvo o cualquier otra suciedad presentes en el lugar a limpiar.
- Humedecer con suficiente agua potable, el lugar o superficie que se va a limpiar.
- Preparar la solución de detergente neutro de preferencia o ácido muriático que se va a usar.
- Enjabonar la superficie por limpiar, esparciendo la solución de detergente con esponja o cepillo.
- Frotar la superficie fuertemente con ayuda de trapo o cepillo, eliminando toda la suciedad posible.
- Dejar la solución de detergente aplicada por un tiempo corto para que éste actúe.
- Enjuagar con suficiente agua asegurándose de que todo el detergente se elimine.
- Observar detenidamente el lugar que se limpió para verificar que haya sido eliminada toda suciedad.
- Realizar el mismo procedimiento para equipos y utensilios.

13.5.2. Desinfección.

- Asegurarse de que la superficie esté limpia, si no es así, limpiar como se explicó anteriormente.
- Deberá usarse un desinfectante con propiedades viricidas y bactericidas de acuerdo a las instrucciones de uso del fabricante, además de contar con ficha técnica y registro de SAGARPA o SS. Existen desinfectantes que, a diferencia del cloro, no es necesario inactivarlos, no hacen daño al medio ambiente y son altamente biodegradables especialmente los desinfectantes orgánicos.
- La concentración del desinfectante dependerá del producto a utilizar. Antes de proceder a desinfectar se debe tener lista la solución desinfectante. Para la preparación y aplicación será importante que utilice equipo de seguridad adecuado (guantes, cubre bocas, botas etc.)
- La concentración del producto debe ser medida y registrada, aplicar la solución desinfectante sobre el lugar o superficie que se va a desinfectar mediante bomba eléctrica de presión o con bomba aspersora manual en el caso de no funcionar por no tener corriente eléctrica.
- La solución desinfectante se deja sobre el lugar que se está desinfectando por un tiempo mínimo de 30 minutos, dependiendo de la sustancia utilizada. No enjuagar.
- Durante este tiempo, se está logrando eliminar la mayor cantidad posible de microorganismos, de modo que la superficie queda bien desinfectada.
- Si se tuviera equipo infectado por algún patógeno, deberá de permanecer más tiempo dentro del desinfectante.

13.5.3 Desinfección y flujo de personal.

Los individuos que trabajan o visitan el establecimiento pueden introducir patógenos a través de sus manos, vestimenta o calzado contaminados, como también desde sus vehículos y equipamiento usados por los mismos. Los métodos ineficaces de limpieza y desinfección o el manejo o diseño de las instalaciones también pueden contribuir a la introducción y propagación de enfermedades en una maternidad. Se debe educar tanto al personal como a los visitantes sobre las medidas necesarias de

bioseguridad para minimizar la transmisión de enfermedades a la población de animales de la maternidad. Por lo tanto es necesario que se cuente con un diagrama de flujo para el personal operario con la finalidad de evitar la entrada de patógenos o una contaminación cruzada que los difunda dentro de la maternidad.

Se deberán tomar en consideración las siguientes medidas preventivas:

- Se debe usar vestimenta/overoles y calzado limpios al entrar y trabajar con las post-larvas.
- Se deben lavar o desinfectar las manos antes y después del contacto con los animales acuáticos y especialmente al moverse entre áreas en el sitio.
- El lavado de manos también constituye una medida importante para el control de infecciones que a menudo se pasan por alto. Esta simple acción es uno de las formas más fáciles y efectivas de reducir la transmisión de enfermedades. Sirve para proteger al personal y a los visitantes de la exposición a los patógenos de los animales acuáticos y además ayuda a prevenir la transmisión de patógenos a los animales a través de manos contaminadas.
- Lave sus manos antes y después del contacto con animales. Si es necesario manipular animales, especialmente los moribundos, use guantes para que tanto usted como los animales estén protegidos de los patógenos que pudieran estar presentes. Al alternar entre grupos de animales o edificios, debe cambiarse los guantes (si los usara) y debe lavarse y desinfectarse las manos.
- La atención y la manipulación de los animales debe fluir de las áreas de mayor riesgo a las de menor riesgo (p. ej. de tanques interiores a tanques exteriores), de poblaciones más susceptibles a las menos susceptibles (p. jóvenes a adultos).
- Evite el acceso a las áreas que contienen estadios de vida (p. ej. huevos, larvas) y animales altamente susceptibles a un número mínimo de personas capacitadas.
- Los animales en cuarentena y aislamiento deben ser cuidados y manipulados al último; el acceso a estas áreas debe estar limitado a un número mínimo de personas capacitadas.
- Se deben colocar carteles en la entrada de la maternidad para informar a los visitantes sobre las políticas de bioseguridad de la granja sitio.
- Todos los visitantes deberán firmar un registro de entrada.
- Se debe limitar el número de visitantes a la granja a solamente los que sean necesarios para la empresa.
- Se deben establecer las áreas de estacionamiento de los visitantes en la periferia de la operación y lejos de las áreas de producción.
- Los visitantes deben mantenerse alejados de las áreas de producción y se debe evitar que entren en contacto o manipulen las post-larvas (a menos que sea absolutamente necesario).

- Si se permite el acceso al establecimiento, los visitantes deberán usar overoles limpios y botas de goma desinfectadas o desechables, y estar acompañados por personal del establecimiento durante la visita.



Disponer de indumentarias y botas desinfectadas para proveer a las visitas, contribuye a disminuir los riesgos de transmisión de enfermedades



Figura 58. Vestimenta adecuada.

13.5.4. Equipos y utensilios.

En lo posible, utilice equipamiento especializado y específicos para la planta. Debe limpiar y desinfectar los elementos lavables rápidamente después de su uso, dado que los fluidos corporales y la materia orgánica son más difíciles de eliminar una vez que se han secado. Si no se puede desinfectar el equipo (p. ej. el equipo para el análisis del agua), enjuáguelo o sumérjalo en agua limpia y permita que se seque por completo antes de volver a usarlo.

Los equipos pueden agruparse en dos categorías: desechables y no desechables. Se consideran desechables los equipos y utensilios relativamente baratos y de fácil adquisición tales como mallas, redes y mangueras aireadoras. Todos estos equipos deben ser desechados cuando se considere pertinente, considerando sus condiciones y el hecho de no poder ser desinfectados para su posterior utilización. Todo implemento que se pueda poner en remojo tales como tuberías removibles, piezas plásticas de plomería, jaulas para transferencia, cajas de cosecha, mesas de cosecha, discos Secchi, cristalería de laboratorio, etc., debe ser puesto en remojo en una solución de 200 ppm de cloro libre residual por 24-48 horas. El equipo usado en actividades de cultivo a campo abierto, también debe ser puesto en remojo en una solución de 200 ppm de cloro libre residual y luego secado al sol.

Los equipos eléctricos y motorizados tales como tractores, camiones, herramientas eléctricas, deben ser desinfectados con soluciones comerciales comunes. Primero se debe remover toda la suciedad de las superficies de estos equipos tales como alimento de camarón, lodo, grasa, etc. Y después deben ser rociados con una solución de 200 ppm de yodo. Equipos pequeños tales como balanzas, instrumentos de medición y pequeñas herramientas eléctricas deben ser limpiados con una esponja impregnada con yodo. Los equipos de medición electrónicos de alta precisión no deben ser expuestos al cloro ya que la corrosión puede dañarlos.

13.6. Buenas prácticas de limpieza y desinfección.

Con el propósito de garantizar que las áreas de maternidad cumplan con buenas prácticas de producción se deben considerar los siguientes puntos:

- Cada granja debe desarrollar e implementar su propio Manual de Procedimientos Operacionales de Saneamiento (POES).
- Todo el personal de la maternidad debe entender claramente el objetivo de la limpieza y desinfección de las instalaciones de cultivo, para lo cual es necesario implementar actividades de capacitación permanente.
- El personal debe estar adiestrado para poner en práctica las medidas básicas de seguridad, requeridas durante la manipulación y aplicación de productos químicos.
- La desinfección debe ser integral y no parcial, incluyendo todas las superficies susceptibles de la maternidad (tinas, estanques, edificios, equipos y materiales de operación, entre otros), utilizando los productos adecuados para cada caso, así como las concentraciones y tiempos indicados para la obtención de resultados óptimos.
- Debe de haber una planificación de los programas de siembra y cosecha, que permita realizar los vacíos sanitarios necesarios para el desarrollo de las actividades de limpieza y desinfección de las instalaciones de cultivo.
- Los químicos deben ser utilizados según las dosis estipuladas por los fabricantes y de acuerdo con la normativa nacional e internacional en función de ser de bajo riesgo para las personas y el ambiente.

13.7. Seguridad del personal.

El uso de productos químicos para la desinfección, obliga a implementar medidas para proteger al personal y a los camarones en cultivo, así como a mitigar los efectos sobre el ambiente. Siempre se deben leer las hojas de datos de seguridad de los productos desinfectantes y las etiquetas de los productos químicos antes de utilizarlos. Estos materiales contienen información valiosa sobre el espectro microbiológico y la efectividad, disolución y los usos correctos, tiempos de contactos necesarios y los temas de seguridad. La mayoría de los desinfectantes químicos deben estar registrados en la Dirección de Sanidad Acuícola de la SAGARPA o por la COFEPRIS para su uso en medio ambientes acuáticos. Utilizar un producto en cualquier forma incompatible con la etiqueta es una violación de la ley federal.

Se deben utilizar equipos de protección personal (EPP), tales como guantes, máscaras y gafas protectoras, al mezclar o aplicar soluciones desinfectantes y algunos tratamientos. La mayoría de los desinfectantes pueden causar irritación en los ojos, la piel y/o las vías respiratorias; algunos pueden causar reacciones alérgicas.

En primer lugar, es necesario proteger la piel y los ojos del contacto con sustancias peligrosas utilizando vestimenta impermeable, botas, protección ocular y un sombrero. El aparato respiratorio debe protegerse con una máscara y el operador no debe tocar alimento alguno sin haberse lavado a conciencia las manos.

Finalmente, los productos deben almacenarse de forma que no represente ningún peligro directo o indirecto para la vida de los camarones, para la vida humana o para el medio ambiente.

13.8. Verificación.

La verificación debe determinar el grado en que las actividades relacionadas con la producción se realizan conforme a las medidas de bioseguridad, siguiendo un calendario preestablecido que debe ser dado a conocer a los evaluadores y evaluados con suficiente anticipación. La verificación debe estar basada en un documento que defina las buenas prácticas, mismo que debe estar disponible para todo el personal para su consulta y aplicación.

El responsable de la maternidad debe asegurarse que las verificaciones se realicen por personal entrenado y calificado, bajo condiciones adecuadas y con el enfoque hacia la mejora y retroalimentación de las buenas prácticas. El personal de la empresa debe participar tanto en las verificaciones internas, como en el proceso de aplicación de acciones correctivas y preventivas fuera de las verificaciones. Ver anexo 6.

13.9. Buenas prácticas de producción para medidas de bioseguridad.

Con el propósito de garantizar la bioseguridad en las áreas de maternidad y evitar riesgos de contaminación con patógenos se deben considerar los siguientes puntos:

- Mantener un rígido control y registro de todo lo que entre o salga de la maternidad.
- Contar con las estructuras que faciliten y permitan tener el control en la entrada y salida a la maternidad.
- Contar en las entradas con las estructuras e insumos necesarios para la desinfección de vehículos y personas que ingresen a la maternidad.
- Informar al personal que ingresa a la maternidad de las restricciones y medidas de seguridad y bioseguridad que deben respetar dentro de las áreas de la granja.
- Tener a disposición de los visitantes la indumentaria de seguridad exigidas al ingreso a la maternidad como botas de hule, gorra y bata (preferiblemente desechables).
- Utilizar medidas de exclusión de organismos potencialmente portadores de agentes patógenos.
- Establecer procedimientos escritos para la maternidad y mantener registros de todas las actividades adelantadas en las mismas.
- Contar con protocolos de limpieza y desinfección para los utensilios utilizados en cada tina o estanque.
- Mantener un control estricto en la entrada y salida de personal, organismos, materiales y vehículos de la granja.
- Tener procedimientos establecidos para deshacerse de desechos orgánicos en caso de que se presente un brote de enfermedad.
- Tener un protocolo de visita que aplique a todas las personas ajenas a la granja, que ingresen a sus instalaciones; este debe incluir procedimientos de desinfección, indumentaria de bioseguridad y logística.
- Limitar el número de visitantes a sus instalaciones y controlar el contacto con los animales; preguntar acerca del último contacto con otras explotaciones acuícolas y el nivel de salud de la última explotación que fue visitada.

- El personal de una granja, en su totalidad, debe evitar la visita a otros establecimientos acuícolas y debe respetar las condiciones de bioseguridad establecidas en cada establecimiento; se debe respetar un tiempo libre de al menos 48 horas después de haber visitado otra empresa.
- Contar con una fuente confiable de post-larvas, juveniles o reproductores, que asegure una buena calidad de estos organismos, una condición de libres de patógenos específicos y que muestren un desarrollo y estado nutricional acorde con su edad.
- Evitar la introducción de agua de las mareas a los estanques de cultivo y no utilizar semilla silvestre para la producción
- En la medida de lo posible, cada estanque debe contar con elementos o utensilios individuales para la manipulación de los animales.
- La eliminación de desechos líquidos y sólidos debe realizarse de manera que no se presente contaminación por agentes patógenos.
- La empresa debe disponer de un área de descanso y alimentación para los empleados, evitándose así que consuman alimentos en las áreas de producción.
- Establecer medidas amigables con el medio ambiente, evitando el ingreso de la fauna silvestre a la granja.

13.10 Reglamento general de la maternidad.

Se anexa a continuación una propuesta de reglamento general de la maternidad para que sea adecuado a las características y necesidades de cada empresa.

REGLAMENTO GENERAL DE LA MATERNIDAD

DE OBSERVANCIA GENERAL

- Queda prohibido el acceso a cualquier persona sin autorización.
- Es obligatorio registrarse en la bitácora de control.
- Todo vehículo deberá ser desinfectado antes de cruzar por la caseta.

VEHÍCULOS QUE TRANSPORTAN ORGANISMOS VIVOS O MUERTOS.

- Cumplir con el Reglamento General
- Los transportes que proceden de otro estado, es obligatorio mostrar el certificado de limpieza y desinfección sanitaria de vehículos revisado o expedido en la caseta sanitaria de Estación Don.
- Para los transportes del estado de Sonora, es recomendable que los técnicos de la granja verifiquen la limpieza y desinfección de los transportes en el mismo laboratorio.
- Los vehículos usados para las transferencias así como sus equipos deberán pasar por el vado sanitario y ser desinfectados antes de entrar al área de maternidades.
- Todos los vehículos que presenten suciedad y/o residuos de camarón serán rechazados.
- Presentar la guía de tránsito y certificado sanitario de los organismos que se transportan.

PERSONAS, EQUIPOS Y UTENSILIOS

- Toda persona deberá registrarse antes de entrar a la maternidad.
- Todo el personal deberá ingresar con ropa limpia y adecuada a su actividad.
- Las personas que visitan la maternidad siempre deberán contar con una autorización y ser acompañadas por personal de la maternidad.
- Antes de entrar a la maternidad deberán pasar sobre el tapete sanitario y desinfectar sus manos.
- Las personas que visitan la maternidad, así como personal técnico responsable no deberán haber visitado otras unidades 48 horas antes.
- Todo el personal operativo deberá desinfectar sus manos y vestimenta antes y después de manipular a los organismos y circular entre módulos dentro de la maternidad.
- Cada sección de la maternidad deberá de contar con sus equipos, utensilios y medios de desinfección para la manipulación de los organismos.
- En caso de una contingencia sanitaria, solamente el personal asignado de la sección afectada deberá entrar para aplicar los procedimientos correspondientes.
- Una vez terminado cada turno, las áreas, equipos y utensilios se entregaran limpios.
- Los materiales desechados deberán colocarse en un lugar designado especialmente para su destrucción previa desinfección.

¡GRACIAS POR SU COOPERACIÓN PARA MANTENER LA ZONA LIBRE DE ENFERMEDADES!

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Cronograma de trabajo	12
Tabla 2. Ventajas y desventajas de los tipos de tanques	15
Tabla 3. Cálculo de la densidad de siembra en la maternidad	22
Tabla 4. Ejemplo de cálculo de volumen de tinas	23
Tabla 5. Curvas de crecimiento	26
Tabla 6. Frecuencia para monitorear parámetros físico-químicos y compuestos nitrogenados en maternidades.	29
Tabla 7. Tamaño de la muestra para distintos análisis para Intervalo de Confianza del 95%	32
Tabla 8. Tabla de rangos y medidas	34
Tabla 9. Parásitos y epibiontes más comunes	36
Tabla 10. Rangos de la flora normal de conteos Bacterias totales TSA	38
Tabla 11. Rangos para macerados de post-larvas	38
Tabla 12. Tabla de valores para calificar la calidad de post-larva en campo	40
Tabla 13. Tabla de calendarización de monitoreos durante el ciclo productivo	41
Tabla 14. Tabla de alimentación las primeras 24 hrs	45
Tabla 15. Horario de alimentación de maternidades	46
Tabla 16. Programa de monitoreo de enfermedades notificables	61

ANEXOS

ANEXO 1. Formato para registro de parámetros físico-químicos.

PARAMETROS MATERNIDADES CICLO ____

FECHA

TINAS	08:00		10:00		12:00		14:00		16:00		18:00		pH	20:00		22:00		00:00		02:00		04:00		06:00		pH
	T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2		T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2	T °C	O2	
1																										
2																										
3																										
4																										
5																										
6																										
7																										
8																										
9																										
10																										
11																										
12																										
13																										
14																										
15																										
16																										
17																										
18																										
19																										
20																										
21																										
22																										
23																										
24																										
PROM																										

TABLA DE ALIMENTACION MATERNIDADES CICLO ____

Fecha:

Tipo de alimento:

Tina	08:00	Azúcar	10:00	Azúcar	12:00	Azúcar	14:00	Azúcar	16:00	Azúcar	18:00	Azúcar	20:00	Azúcar	22:00	Azúcar	00:00	Azúcar	02:00	Azúcar	04:00	Azúcar	06:00	Azúcar	Total	Acumulado
1																										
2																										
3																										
4																										
5																										
6																										
7																										
8																										
9																										
10																										
11																										
12																										
13																										
14																										
15																										
16																										
17																										
18																										
19																										
20																										
21																										
22																										
23																										
24																										
Total																										

ANEXO 3. Formato para registro de biometrías.

BIOMETRIAS CICLO _____

BIOMETRIA #

FECHA:

Tina.	w anterior	w. muestra	# organismos	w promedio	incremento
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					

ANEXO 4. Formato para registro de TAN, NH₄, NH₃, NO₂, NO₃.

FECHA:

SEMANA #:

T I M P O	T A N	N H 4	N H 3	N O 2	N O 3	T A N	N H 4	N H 3	N O 2	N O 3	T A N	N H 4	N H 3	N O 2	N O 3	T A N	N H 4	N H 3	N O 2	N O 3	T A N	N H 4	N H 3	N O 2	N O 3	T A N	N H 4	N H 3	N O 2	N O 3
1																														
2																														
3																														
4																														
5																														
6																														
7																														
8																														
9																														
10																														
11																														
12																														
13																														
14																														
15																														
16																														
17																														
18																														
19																														
20																														
21																														
22																														
23																														

ANEXO 5. FORMATO DE APOYO PARA LA ACLIMATACIÓN Y SIEMBRA DE POST-LARVAS DE CAMARÓN

HOJA DE CONTROL DE ACLIMATACIÓN

UNIDAD DE PRODUCCIÓN

FECHA: _____

LABORATORIO PROVEDOR DE Pl's: _____

PARÁMETROS DE SALIDA DEL LABORATORIO

Hora de cosecha de las Pl's: _____

Temperatura: _____

Salinidad: _____

Cantidad de Pl's: _____ Resultados de prueba de estrés: _____

Conteo del representante de la granja: SI _____ NO _____

PARÁMETROS DE LLEGADA A GRANJA

Hora de llegada: _____

O₂ del agua: _____ ppm promedio

Temperatura del agua: _____ °C promedio

Salinidad del agua: _____ ‰ promedio

PARÁMETROS DE RECEPCIÓN EN MATERNIDAD

Hora de siembra en tanques: _____

O₂ del agua en tanques: _____ ppm promedio

Temperatura del agua en tanques: _____ °C promedio

Salinidad del agua en tanques: _____ ppt promedio

FORMATO DE VERIFICACIÓN INTERNA DE BUENAS PRÁCTICAS Y BIOSEGURIDAD EN LAS MATERNIDADES DE CAMARÓN

Auxiliar de Campo: _____ Fecha Visita: _____ No. Folio: _____
 Nombre de la Unidad de producción: _____ Estado: _____
 Capacidad instalada (m³): _____ Junta Local: _____
 Nombre del responsable de la maternidad: _____ Puesto: _____
 Teléfonos (s): _____ E-mail: _____

I. DOCUMENTACIÓN TÉCNICA					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
DOCUMENTACIÓN TECNICA					
1.- Control interno de Documentos para cada área y actividad					
1.1.- Organigrama y designación de responsables					
1.2.- Descripción de actividades del personal en cada área					
1.3.- Manual general de PROCEDIMIENTOS de la maternidad					
1.4.- Programa, Manual y Protocolos para contingencias y medidas preventivas					
1.5.- Reglamentos generales (Acceso, flujo de personal a diferentes áreas, para producto, insumos, equipos, vehículos etc.)					
1.6.- Reglamento de higiene.					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

II. DISMINUCIÓN DE RIESGOS					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Identificación de puntos de mayor riesgo de contaminación (croquis/diagrama)					
2.- Resultados de monitoreos de factores de riesgos identificados					
3.- Abastecimiento de post-larva certificada libres de enfermedades notificables por la OIE y acordes con la legislación y los lineamientos establecidos en el país.					
4.- Abastecimiento de alimentos balanceados y de buena calidad, provenientes de fuentes seguras y con certificado sanitario de origen.					
5.- Protocolos para control de calidad de los organismos que se comercializan					
6.- Programa interno de vigilancia, seguimiento y control de enfermedades					
7.- Control de fugas de organismos vivos					
8.- Ausencia de animales domésticos dentro de la unidad					
9.- Control de accesos					
10.- Aplicación de medidas preventivas y correctivas (documento o evidencia)					
11.- Laboratorio (s) de origen de la post-larvas.					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

III. CALIDAD Y ABASTECIMIENTO DE AGUA POR ÁREA					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Protocolo de control de calidad.					
2.- Programa y registros de parámetros de análisis físico-químicos del agua (por ciclo).					
3.- Programa y registros de parámetros de análisis microbiológicos de agua (por ciclo).					
4.- Protocolo y registros de operación del sistema de bombeo.					
5.- Cuenta con sistema de filtración de agua entrante.					
6.- Cuenta con sistema de desinfección con cloro de agua entrante.					
7.- Cuenta con sistema de ozono de agua entrante.					
8.- Cuenta con sistema de UV de agua entrante.					
9.- Protocolo de tratamiento de efluentes.					
10.- Aplicación de medidas correctivas.					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

IV. INSTALACIONES					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1. Instalaciones físicas separadas entre sí y cubiertas (Áreas: almacén, laboratorio, dormitorios, comedor y baños).					
2.- Señalización y reglamentos estratégicamente ubicados					
3.- Sanitarios limpios y equipados					
4.- Control de entradas y salidas de insumos					
5.- Área de limpieza y desinfección de accesorios y equipo					
6.- Cerco perimetral					
7.- Vado de desinfección y tapetes sanitarios por área					
8.- Sistema de almacenamiento de agua entrante					
9.- Comedor					
10.- Oficina					
11.- Dormitorios					
12.- Laboratorio de calidad de agua y análisis clínicos					
13.- Taller de mantenimiento					
14.- Área para depósito de basura					
15.- Almacén de alimentos y otros insumos					
16.- Almacén de combustibles					
17.- Caseta para el generador de energía eléctrica					
18.- Estación de bombeo y filtración de agua					
19.- Área de residuos tóxicos					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

V. CONTROL DE PLAGAS					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Protocolo de control de plagas					
2.- Registro de aplicación e identificación del tipo de plaga					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

VI. MANEJO DE DESECHOS					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Programa y protocolo de recolección o entrega de basura					
2.- Registros de recolección de residuos tóxicos					
3.- Registros de eliminación de organismos muertos y desechos biológicos de laboratorio					
4.- Control de descarga de agua					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

VII. HIGIENE EN INSTALACIONES/PERSONAL					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Programa de limpieza y desinfección					
2.- Protocolos y registros de limpieza y desinfección (Incluye equipo y utensilios)					
3.- Registros higiene del personal (Incluye vestimenta)					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

IX. MANEJO DEL ALIMENTO					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Almacenaje adecuado de alimentos					
2.- Protocolo y registros de manejo de alimento.					
3.- Registro de aplicación de probióticos					
4.- Inventario de insumos para la operación (alimentos balanceados).					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

X. MANEJO DE SUSTANCIAS QUÍMICAS, DESINFECTANTES Y FÁRMACOS					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Inventario y almacenaje adecuado.					
2.- Protocolo y registro de aplicación.					
3.- Equipo de protección					
4.- Fichas técnicas de químicos, desinfectantes y productos veterinarios aplicados					
5.- Aplicación de químicos y fármacos en base a diagnósticos de enfermedades					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

XI. EMBARQUE					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Protocolo y registro de evaluación de calidad de juveniles					
2.- Registros de desinfección de equipos y utensilios					
3.- Registros de parámetros de calidad de agua					
4.- Protocolo y registros de embarque de juveniles					
5.- Documentación necesaria por embarque (certificado sanitario, guía de tránsito, certificado de desinfección del vehículo, factura)					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

XII. CAPACITACIÓN					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Programa y evidencias de capacitación en materia de bioseguridad					
2.- Capacitación nivel responsable de área					
3.- Capacitación nivel técnico					
4.- Capacitación nivel gerencial					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

XIII. TRAZABILIDAD					
REQUISITOS A EVALUAR/ASPECTOS DE VERIFICACIÓN	ESTATUS DE CUMPLIMIENTO				
	CUMPLE	CUMPLE PARCIAL	NO CUMPLE	NO APLICA	PLAZO DE CUMPLIMIENTO
1.- Documentos y registros que permitan la trazabilidad durante el proceso de maternización					
OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES					

ANEXO 7. TABLAS COMPARATIVAS DE DESINFECTANTES

TABLA COMPARATIVA DE DESINFECTANTES

(Tomado de: Ansari School of Veterinary medicine, North Carolina State University, Raleigh, NC 27606)

PRODUCTO	ESPECTRO AMPLIO	ESPECTRO IRRITANTE	PODER RESIDUAL	EFECTO CORROSIVO	MANCHA	ACTIVIDAD PRESENCIA MATERIA ORGANICA	VOLATILIDAD
** CLORO	SI	SI	NO	SI	NO	NO	AGUA CALIENTE (Afecta severamente)
** YODO	SI	SI	N O	SI	SI	NO	SENSIBLE AL CALOR
** FENOL	SI	LIGERO	SI	LIGERO	NO	SI	NO ES AFECTADO
COSAES							
** AMONIO CUATERNARIO	MEDIO	NO	SI	NO	NO	SI REDUCIDO	ES AFECTADO
** CRESOL	REDUCIDO	SI	SI EN ACEITE	SI	SI	SI	ES AFECTADO
** FORMALDEHIDO	SI	SI	NO	MUCHO	NO	NO	SI
ORGANICOS(1)	SI	NO	SI	NO	NO	SI	NO ES AFECTADO

(**) Causa efectos secundarios

(1)NO tiene contraindicaciones.

ANEXO 7. TABLAS COMPARATIVAS DE DESINFECTANTES

The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants

Chemical Disinfectants

Note: Removal of organic material must always precede the use of any disinfectant.

	Acids (hydrochloric acid, acetic acid, citric acid)	Alcohols (ethyl alcohol, isopropyl alcohol)	Aldehydes (formaldehyde, paraformaldehyde, glutaraldehyde)	Alkalies (sodium or ammonium hydroxide, sodium carbonate)	Biguanides (chlorhexidine*, Nolvasan*, Chlorhex*, Virosan*, Hibital*)	Halogens hypochlorite iodine	Oxidizing Agents (hydrogen peroxide, peroxyacetic acid, Trifectant*, Virkon-S*, Oxy-Sept 333*)	Phenolic Compounds (Lysol*, Oxy*, Amphyl*, TekTrol*, Pheno-Tek II*)	Quaternary Ammonium Compounds (Roccal*, Zephiran*, Diquat*, Parvosol*, D-256*)
most susceptible									
mycoplasmas	+	++	++	++	++	++	++	++	+
gram-positive bacteria	+	++	++	+	++	+	+	++	++
gram-negative bacteria	+	++	++	+	++	+	+	++	+
pseudomonads	+	++	++	+	+	+	+	++	-
rickettsiae	+	+	+	+	+	+	+	+	+
enveloped viruses	+	+	++	+	+	+	+	a	+
chlamydiae	+	+	+	+	+	+	+	+	-
non-enveloped viruses	-	-	+	+	-	+	+	-	-
fungal spores	+	+	+	+	+	+	+	+	+
picornaviruses (i.e. FMD)	+	N	+	+	N	N	+	N	N
parvoviruses	N	N	+	N	N	+	N	N	-
acid-fast bacteria	-	+	+	+	-	+	+	+	-
bacterial spores	+	-	+	+	-	+	+	b	-
coccidia	-	-	-	c	-	-	-	d	-
prions	-	-	-	-	-	-	-	-	-
most resistant									

LEGEND
 ++ highly effective
 + effective
 + limited activity
 - no activity
 N information not available

a-varies with composition
 b-peracetic acid is sporicidal
 c-ammonium hydroxide
 d-some have activity against coccidia

La Sanidad nos permite la Producción...
...La Inocuidad el acceso a los Mercados.®



Comité de Sanidad Acuícola del Estado de Sonora A.C.
Chihuahua # 111 Sur L1- Col. Centro
Cd. Obregón, Sonora, Mex. C.P. 85000
www.cosaes.com

*Este programa es público, ajeno a cualquier partido político.
Queda prohibido el uso para fines distintos a los establecidos en el programa*