



ALLIANCE™

(<https://debug.globalseafood.org>).

---



Health &  
Welfare

---

# EHP es un factor de riesgo para otras enfermedades del camarón

4 June 2017

By Luis Fernando Aranguren, Ph.D. , Jee Eun Han, D.V.M. Ph.D. and Kathy F.J. Tang, Ph.D.

**Presencia de microsporidio hepatopancreático hace al camarón blanco del Pacífico susceptible a AHPND, SHPN**



El EHP ha estado afectando a la industria del cultivo de camarón antes de la aparición de brotes de AHPND, por lo que es posible que el EHP favorece el establecimiento de AHPND y otras enfermedades bacterianas, tales como SHPN.

El microsporidio hepatopancreático intracelular *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) ha sido reportado en el cultivo de camarón tigre negro (*Penaeus monodon*) y de camarón blanco del Pacífico (*P. vannamei*) en China, Indonesia, Malasia, Vietnam, Tailandia y la India, así como en otros países del sudeste asiático.

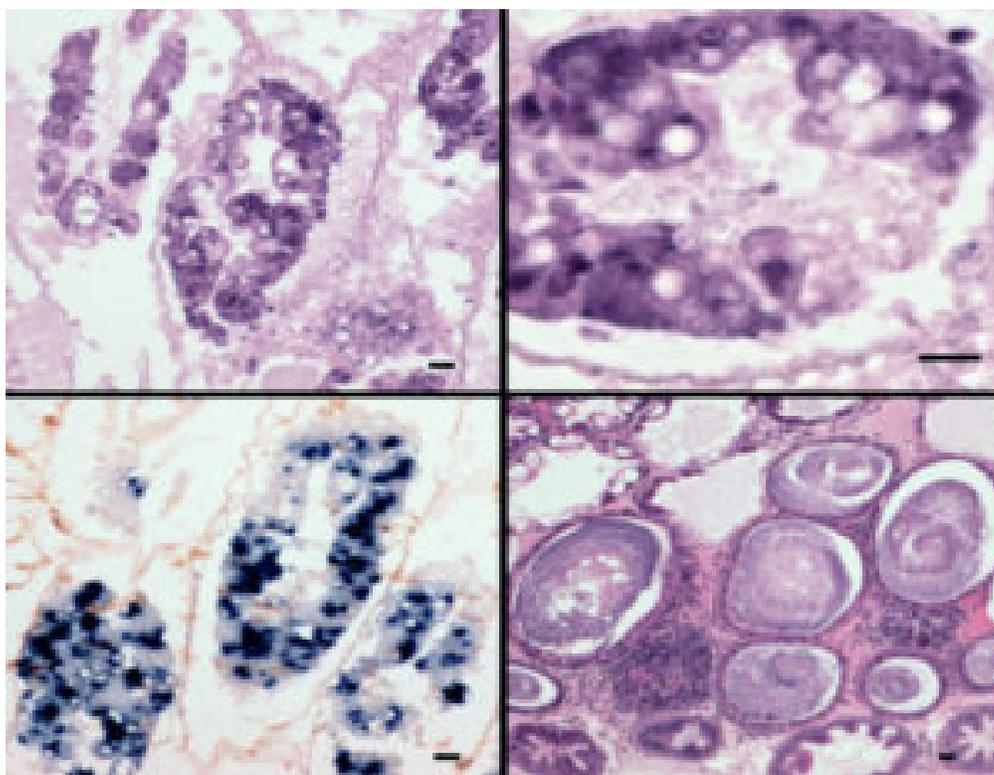
EHP causa retardo en el crecimiento y mayor variabilidad de tallas, y en estadios más avanzados, los camarones infectados tienen cáscaras blandas y exhiben letargo, alimentación reducida y tractos digestivos-medios vacíos. Actualmente, el EHP se diagnostica por histología, hibridación *In-situ* y PCR.

Durante el año 2009-2012, una nueva enfermedad emergente llamada Enfermedad de Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND), también conocida como Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS), comenzó a provocar mortalidades significativas en el camarón y pérdidas de producción en la mayoría de los países donde se había reportado EHP. En algunos casos, el AHPND también fue reportado en co-infección con EHP. Se determinó que los agentes causales de AHPND eran bacterias *Vibrio* incluyendo *Vibrio parahaemolyticus*, *V. campbellii*, *V. owensii* y *V. harveyi*.

Algunos países asiáticos productores de camarón, especialmente India e Indonesia, sólo han sido afectados por EHP, y hasta el momento no se han notificado casos de AHPND. Estos países han visto un aumento de los problemas bacterianos que contribuyen a la Vibriosis del hepatopancreas, que ha sido "síndrome de mortalidad en marcha" y "síndrome de heces blancas." Los camarones afectados por estas condiciones muestran necrosis hepatopancreática séptica (SHPN).

Debido a que el EHP ha estado afectando a la industria del cultivo de camarón antes de la aparición de brotes de AHPND, es posible que el EHP favorezca el establecimiento de AHPND y otras enfermedades bacterianas, como SHPN. Para determinar la relación de EHP con AHPND y SHPN – y apoyados por el

Instituto Nacional de Alimentación y Agricultura de los Estados Unidos bajo el proyecto N ° ARZT – 5704190 – A50-126 – evaluamos el factor de riesgo de EHP con estas enfermedades: AHPND a través de pruebas experimentales, y SHPN por un análisis de casos y controles. Este artículo resume la publicación original [Aquaculture 471 (2017) 37-42].



Camarones que muestran WFS presentan EHP y SHPN; EHP + SHPN=WFS.

## Configuración del estudio

Se utilizaron animales *Penaeus vannamei* libres de patógenos específicos (SPF) de una instalación comercial (Shrimp Improvement Systems en Islamorada, Fla.). Las infecciones experimentales se llevaron a cabo en el Laboratorio de Patología Acuícola (APL), Universidad de Arizona (EE.UU.). Consulte la publicación original o póngase en contacto con el primer autor para obtener una descripción detallada de los diversos experimentos para propagar la infección por EHP en camarones SPF en el APL; las cepas bacterianas y cultivo de AHPND; los bioensayos de patogenicidad e histopatología de AHPND; los conteos bacterianos e histopatología en un curso de infección de 12 horas; la relación entre la microsporidiosis hepatopancreática (HPM) y la necrosis hepatopancreática séptica (SHPN) a nivel de granja; la histopatología e hibridación *In situ* (ISH) para EHP; ensayos de PCR para EHP y AHPND; y los análisis estadísticos utilizados en este estudio.

## Resultados

En relación a la infección por EHP antes de la infección por AHPND, EHP se confirmó mediante histopatología en muestras de camarón pre-infectado de EHP y en el grupo de control EHP negativo. La severidad de la infección varió entre G1 y G2 basándose en una escala semi-cuantitativa. La infección fue más prominente en las regiones medial y proximal que en la región distal. Antes de la infección experimental, no se observaron lesiones de AHPND en ningún animal.

La Tabla 1 muestra los resultados de la infección experimental con VP<sub>AHPND</sub>. No se observó mortalidad en los tanques de control negativo en los dos experimentos. Confirmado por PCR e histopatología, el VP<sub>AHPND</sub> utilizado en este experimento causó AHPND en los animales infectados. Los grupos

expuestos a una dosis alta de *V. parahaemolyticus* tuvieron una alta mortalidad (83 por ciento y 64 por ciento).

## Aranguren, EHP, Tabla 1

Experimento	Grupo Experimental	Tratamiento	Dosis (CFU/mL agua)	No. camarones muertos/No. total	Mortalidad (%)
1	AHPND	Dosis baja	2.4 X 10 (5th poder)	0/5	0
1	EHP-AHPND	Dosis baja	2.4 X 10 (5th poder)	3/5	60
1	Control positivo	Dosis alta	2.4 X 10 (6th poder)	5/6	83
1	Control de tanque	Control negativo EHP	0	0/5	0
1	Control de tanque	Control negativo SPF	0	0/5	0
2	AHPND	Dosis baja	2.4 X 10 (5th poder)	2/11	18
2	EHP-AHPND	Dosis baja	2.4 X 10 (5th poder)	4/9	44
2	Control positivo	Dosis alta	2.4 X 10 (6th poder)	7/11	64
2	Control de tanque	Control negativo EHP	0	0/5	0
2	Control de tanque	Control negativo SPF	0	0/5	0

Tabla 1. Mortalidad comparativa de camarones pre-infectados por EHP (EHP-AHPND) frente a no pre-infectados (AHPND), infectados con VP-AHPND.

Cuando los juveniles del grupo EHP-AHPND (camarones pre-infectados por EHP infectados con VP<sub>AHPND</sub>) fueron desafiados con una dosis baja, tuvieron mortalidades más altas – 60 por ciento frente a 0 por ciento y 44 por ciento frente a 18 por ciento en los experimentos No. 1 y No. 2, respectivamente – que los del grupo AHPND (camarones infectados con VP<sub>AHPND</sub>).

La Fig. 1 muestra una comparación de las curvas de supervivencia entre los grupos AHPND frente a EHP-AHPND y se encontró una diferencia significativa (P <0,05).

Fig. 1: Comparación de la curva de supervivencia acumulada entre los grupos AHPND versus EHP AHPND infectados por AHPND. Experimento No. 2.

Los animales moribundos examinados por histología tenían lesiones típicas de AHPND, incluyendo un desprendimiento masivo de células epiteliales de túbulos hepatopancreáticos en las regiones medial y proximal del hepatopancreas, y progresando hacia afuera a la región distal. La fase terminal (caracterizada por un SHPN típico) fue observada en algunos animales.

Los animales muertos se analizaron por PCR para AHPND y EHP. En el grupo AHPND y los tanques de control positivo, sólo se encontraron resultados positivos de AHPND. En el grupo EHP-AHPND, los camarones fueron positivos tanto para AHPND como para EHP. Los camarones sobrevivientes del experimento no presentaron ninguna lesión histopatológica de AHPND.

En el experimento de histopatología y conteo bacteriano (curso de infección de 12 horas), no se observaron lesiones histológicas de AHPND en el grupo AHPND durante las primeras 6 horas después de la infección (h.p.i.); dos animales mostraron una fase temprana de lesiones de AHPND con un grado de gravedad G1 a las 12 h.p.i.

En el grupo EHP-AHPND, a las 0 h.p.i sólo se observaron lesiones leves de EHP y fueron confirmadas mediante ISH; y se observaron lesiones histopatológicas leves de AHPND durante las primeras 6 h.p.i.

En comparación con la ISH, no todas las células desprendidas tuvieron una reacción positiva para EHP, lo que sugiere que el desprendimiento estaba presente en células infectadas con EHP y células no infectadas con EHP. A las 12 h.p.i., hubo una ausencia de células B, la necrosis progresó hacia la región distal y ocurrió un desprendimiento masivo. A las 12 h.p.i., el 57 por ciento de los camarones del grupo EHP-AHPND mostraron AHPND frente al 11 por ciento del grupo AHPND. No se encontraron signos histológicos de AHPND en camarones del control negativo.

En el estudio de control de casos (EHP y SHPN a nivel de granja), durante el período 2015-2016, se analizaron los registros de 100 camarones juveniles de *P. vannamei* de 19 estanques de crecimiento en granjas del sudeste asiático con antecedentes de EHP. Nuestros datos muestran una fuerte asociación entre los casos de SHPN y camarones infectados con EHP. Y la frecuencia de SHPN fue mayor en

A la izquierda: Histología de WFS, Heces Blancas – H&E. Derecha: hibridación In situ para EHP en WFS [Heces Blancas – ISH (EHP)]. De: Tang et al. (2016).

animales con EHP que en aquellos camarones sin EHP.

## Perspectivas

La fuerte asociación encontrada entre los casos de SHPN y EHP sugiere que EHP aumenta la susceptibilidad del camarón a la infección por bacterias *Vibrio* – patógenos oportunistas conocidos que causan enfermedad cuando la salud del camarón está comprometida. La infección por EHP perturba las células de los túbulos del hepatopaneas y permite al *Vibrio* spp. ya presentes el colonizar las células desprendidas y la membrana basal expuesta.

Utilizando dos métodos independientes, nuestro estudio demostró que los camarones blancos del Pacífico infectados con EHP estaban co-infectados con AHPND y SHPN. Los efectos significativos de estas co-infecciones se explican muy probablemente por las acciones sinérgicas de los patógenos microsporidianos y bacterianos en el tejido del hepatopaneas. A través de sus acciones combinadas, la co-infección de VP<sub>AHPND</sub> y EHP aumenta dramáticamente el daño al hepatopaneas, hasta el punto de causar la falla y morbilidad totales del tejido.

Análisis de casos y controles: Casos de necrosis hepatopancreática séptica (SHPN) y asociación con EHP en camarones juveniles de *P. vannamei* en el sudeste asiático en 2015-2016. De: Aranguren et al. (2017).

Nuestros resultados pueden ayudar a explicar los patrones observados de aparición de brotes de enfermedades en los países productores de camarón en todo el mundo. Por ejemplo, países de Asia Sudoriental – como China, Vietnam, Tailandia y Malasia – que han sufrido brotes de EHP durante la última década, también sufrieron brotes de AHPND años después. Otros países como Indonesia e India han reportado recientemente la presencia de EHP, pero aún no han experimentado brotes de AHPND.

Sin embargo, en Indonesia una enfermedad emergente conocida como síndrome de heces blancas (WFS) parece ser debida a la co-infección de EHP con otros *Vibrios* spp. oportunistas que causan SHPN. Del mismo modo, en la India, el síndrome de mortalidad en marcha (RMS) se ha reportado recientemente, con los animales afectados teniendo lesiones graves del hepatopáncreas.

El desarrollo de medidas para prevenir EHP o para tratar los estanques afectados podría reducir considerablemente las pérdidas de producción de camarón de cultivo, y fomentamos esta investigación.

*Referencias disponibles del primer autor.*

## Authors

---



**LUIS FERNANDO ARANGUREN, PH.D.**

School of Animal and Comparative Biomedical Sciences  
University of Arizona  
Aquaculture Pathology Laboratory  
Tucson, AZ 85721 USA

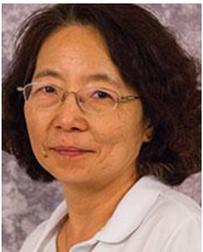
[lfarangu@email.arizona.edu](mailto:lfarangu@email.arizona.edu) (<mailto:lfarangu@email.arizona.edu>)



**JEE EUN HAN, D.V.M. PH.D.**

CJ CheilJedang Feed & Livestock Research Institute  
CJ Blossom Park  
Suwon-si, Gyeonggi-do, Korea

[hanje1223@gmail.com](mailto:hanje1223@gmail.com) (<mailto:hanje1223@gmail.com>)



**KATHY F.J. TANG, PH.D.**

School of Animal and Comparative Biomedical Sciences  
University of Arizona  
Tucson, AZ 85721 USA

[fengjyu@email.arizona.edu](mailto:fengjyu@email.arizona.edu) (<mailto:fengjyu@email.arizona.edu>)

