



ALLIANCE™

[.https://debug.globalseafood.org](https://debug.globalseafood.org)Health &
Welfare

Posibles aplicaciones de bacteriófagos para el control de AHPND

5 March 2018

By Jee Eun Han, DVM, Ph.D. , Kathy F.J. Tang, Ph.D. and Angela Corbin, M.S.

Fagos aislados evaluados como efectivos en el control de principal enfermedad del camarón cultivado, inhibiendo el crecimiento bacteriano

La enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) es causada por una bacteria *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*) que ha causado mortalidades sustanciales (hasta un 100 por ciento) en camarones peneidos cultivados afectados en varios países.

Esta enfermedad se informó por primera vez en China en 2009 y se produjeron brotes posteriores en Malasia, Tailandia, Filipinas, México y varios otros países de América Latina, y en 2017 también en Bangladesh y los Estados Unidos. Las pérdidas debidas a AHPND se han estimado en más de \$ 1 mil millones por año. Por lo tanto, es importante desarrollar e implementar efectivamente medidas de control para evitar pérdidas catastróficas en la industria de cultivo de camarón.

Los bacteriófagos, comúnmente llamados fagos, son virus ubicuos que infectan bacterias y se pueden usar para controlar enfermedades infecciosas en humanos, animales y plantas. El nombre se basa en la palabra bacterias y el Griego *phagein*, que significa “devorar.”

Los fagos pueden replicarse dentro de las bacterias después de inyectar su genoma en la bacteria. Los



Los fagos aislados probados son efectivos para controlar la infección por AHPND en camarones peneidos cultivados e inhiben el crecimiento bacteriano. Foto de Darryl Jory.

fagos se han propuesto como un método alternativo ya que muestran una actividad bacteriolítica efectiva y poseen ventajas sobre los antibióticos convencionales: los fagos son naturales y son más comunes y diversos, y ampliamente distribuidos en el medio ambiente, incluido el agua de mar, y también son relativamente baratos. Los fagos se han utilizado durante muchos años como una alternativa a los antibióticos en varios países, y son un posible tratamiento contra las cepas resistentes a múltiples medicamentos de muchas bacterias.

Resultados de infectividad de fagos

Para el bacteriófago pVp-1, se analizó su infectividad en 22 cepas de *Vibrio parahaemolyticus* (abreviadas como Vp_{AHPND}) causantes de AHPND. Estos aislados bacterianos se obtuvieron del agua del estanque, las muestras de sedimentos y los estómagos de camarones afectados por AHPND/EMS en el sudeste de Asia y países de América Latina. Los cultivos puros se obtuvieron por formación de rayas en placas de agar de soja tríptico (TSA) NaCl al 2 por ciento. Este fago pudo infectar el 91 por ciento (20 cepas) del Vp_{AHPND} probado y demostró una fuerte actividad bacteriolítica contra 3 cepas altamente patógenas (Fig. 1).



Fig. 1: Actividad bacteriolítica de pVp-1 y su morfología aumentada frente a tres cepas representativas de AHPND/EMS V.

parahaemolyticus: 13-028/A3 (a), aislado de Vietnam; 13-511/A1 (b) y 13-306D/4 (c), aislados de México.

Evaluando la efectividad

Además, se evaluó su efectividad en los estudios de desafío en laboratorio con juveniles SPF (libre de patógenos específicos) de camarón blanco del Pacífico (*Penaeus vannamei*). Los animales de prueba (n = 96, peso promedio = 1,02 g) se mantuvieron en condiciones apropiadas (temperatura del agua 25 grados-C, salinidad 25 por ciento) y tres tanques se diseñaron para los controles.

El tanque 1 se designó como control negativo sin desafío bacteriano o tratamiento con fagos; el tanque 2 se designó como control de fagos con tratamiento de fagos mediante inmersión en baño ($1,5 \times 10^6$ PFU/ml) y alimentación ($1,5 \times 10^8$ PFU/camarones) usando gránulos (5 por ciento de peso corporal) que habían sido impregnados con la suspensión de fago, pero no desafiados bacterianamente Y el tanque 3 se designó como control positivo con un desafío bacteriano, pero no tratado con fago.

Para la prueba de desafío, se trataron camarones en varios tiempos (24, 6 y 1 hora antes del desafío bacteriano, y 1 hora después del desafío bacteriano) y se expusieron a *V. parahaemolyticus* 13-028/A3 ($5,0 \times 10^5$ CFU/ml) durante 24 horas por el método de inmersión. Cada grupo se controló para detectar síntomas de infección y la mortalidad acumulada se registró diariamente durante cinco días después del desafío bacteriano.

De los resultados, los camarones tratados con pVp-1 mostraron una protección significativa, más del 25 por ciento (mortalidad máxima del 50 por ciento), mientras que los grupos de control positivo (no tratados con fago pVp-1, solo expuestos a Vp_{AHPND}) mostraron una mortalidad del 100 por ciento. Las características histopatológicas del hepatopáncreas del camarón se muestran en la Fig. 2.

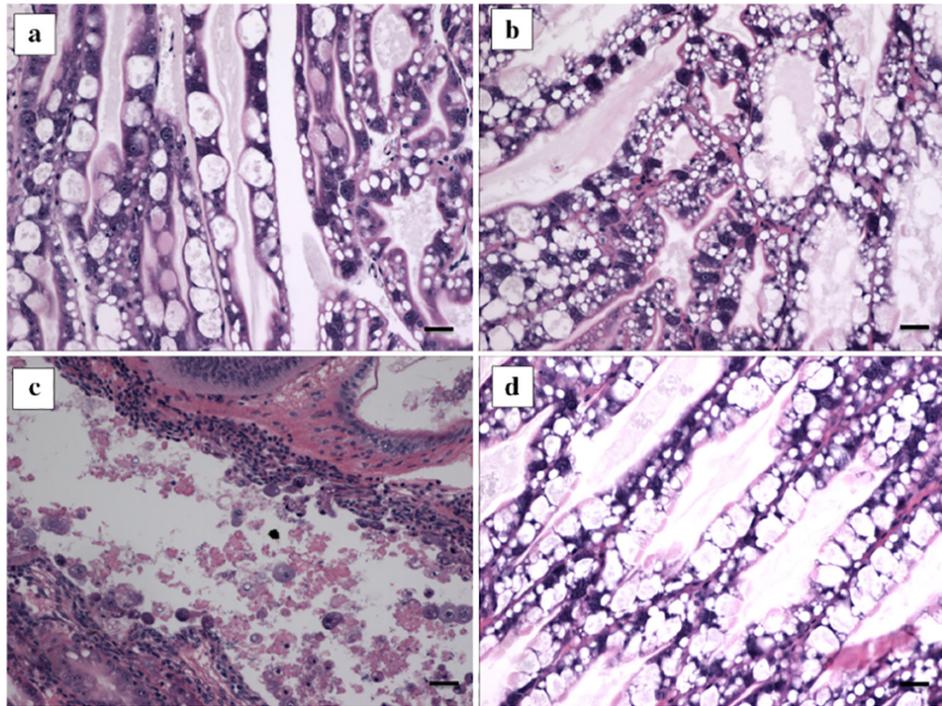


Fig. 2: Características histopatológicas del hepatopáncreas del camarón a las 48 horas de tratamiento del fago. El camarón fue desafiado por AHPND-*V. parahaemolyticus* cepa 13-028/A3 y tratada con el fago pVp-1. El control negativo (a) y el control del fago (b) mostraron la apariencia normal del hepatopáncreas. El control positivo (c), desafiado, pero no tratado, mostró el desprendimiento agudo de células epiteliales tubulares hepatopancreáticas. El camarón tratado con fagos demostró la morfología protegida del hepatopáncreas. Barras de escala 30 μ m.

Las cepas de *V. campbellii* que llevan genes *pirABvp* de camarones enfermos fueron identificadas recientemente como agentes causantes de AHPND, y probamos estas cepas para el segundo bacteriófago, pVp-2, aislado de *Penaeus vannamei*. El fago pVp-2 lisaba eficazmente varios *Vibrio parahaemolyticus* (V_{AHPND}) y también *Vibrio campbellii* (V_{AHPND}) y formaba placas en placas TSA + (Fig. 3).

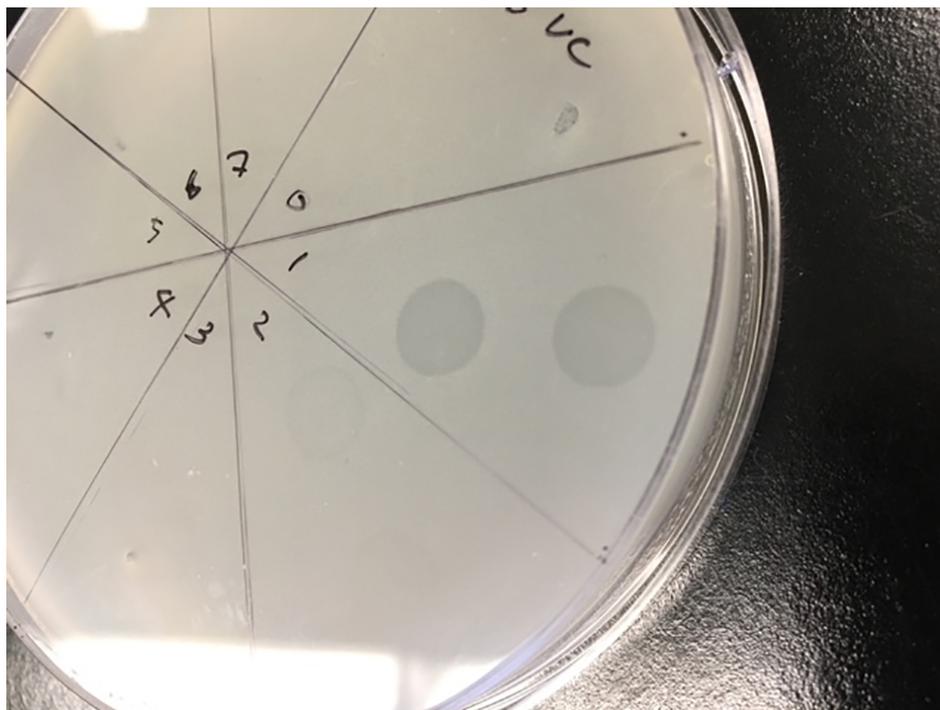


Fig. 3. Actividad bacteriolítica de pVp-2 frente a la cepa representativa AHPND / EMS *V. campbellii*.

Perspectivas

En nuestro estudio, demostramos que los fagos aislados evaluados son efectivos para controlar la infección por AHPND e inhibir el crecimiento bacteriano cuando se aplica al camarón. Se necesitan más estudios para evaluar la eficacia de los bacteriófagos contra AHPND en ensayos de laboratorio y de campo.

Authors



JEE EUN HAN, DVM, PH.D.

Biotechnology Research Institute
CJ CheilJedang, Korea

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



KATHY F.J. TANG, PH.D.

Yellow Sea Fisheries Research Institute
Chinese Academy of Fishery Sciences, China

ktangnelson@gmail.com (<mailto:ktangnelson@gmail.com>).



ANGELA CORBIN, M.S.

Assistant Professor
Department of Biological Science
Nicholls State University, USA

angela.corbin@nicholls.edu (<mailto:angela.corbin@nicholls.edu>).

Copyright © 2023 Global Seafood Alliance

All rights reserved.