(https://www.globalseafood.org)

Health & Welfare

Herramienta diagnóstica no-invasiva desarrollada para la enfermedad EMS del camarón

17 April 2017

By Jee Eun Han, D.V.M. Ph.D. , Patharapol Piamsomboon, D.V.M. Ph.D. and Kathy F.J. Tang, Ph.D.

Un novedoso procedimiento puede detectar la Enfermedad de Necrosis Hepatopancreática Aguda en camarones peneidos

La AHPND es una enfermedad global importante del camarón cultivado que ha afectado seriamente la industria en muchos países de Asia y América Latina. Foto de Darryl Jory.

La enfermedad de necrosis hepatopancreática aguda (AHPND) ha causado una mortalidad sustancial en camarones peneidos cultivados en varios países del sudeste asiático y de América Latina. La enfermedad causa desprendimiento y necrosis del tejido hepatopancreático que resulta de toxinas (pirA & B_{vp}) producidas por cepas específicas de *Vibrio parahaemolyticus*.

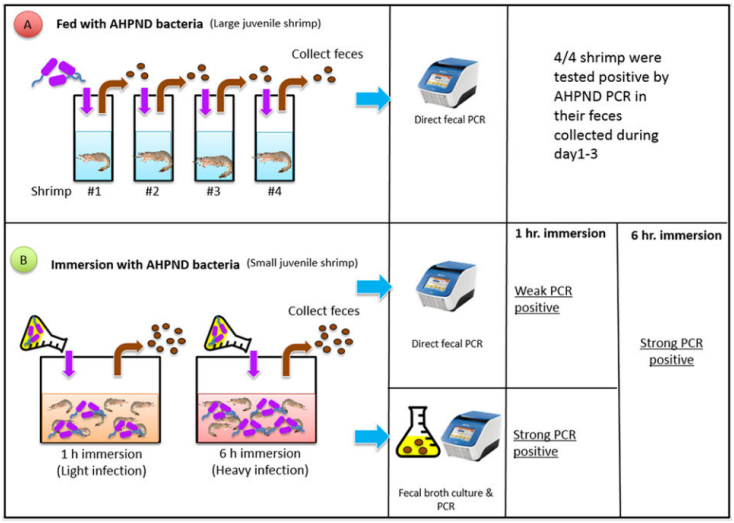
El diagnóstico de AHPND habitualmente implica sacrificar el camarón para recolectar tejido de hepatopancreas para análisis de PCR y/o histopatología. Sin embargo, este método invasivo no es obviamente deseable para monitorear valiosos reproductores, y métodos no sacrificiales serian preferidos. Métodos no-invasivos que implican la prueba fecal han sido utilizados con éxito para monitorear otros patógenos entéricos del camarón.

Como las bacterias AHPND están presentes en los sistemas digestivos de camarones infectados, basamos nuestra investigación en la posibilidad de que se puedan recolectar muestras fecales para monitorear las poblaciones de camarones sin causar mortalidad. Aquí presentamos nuestro estudio (resumido de la publicación original en *Aquaculture Reports* 5 (2017 58-61), donde evaluamos los procedimientos con muestras de heces fecales de camarón directamente o con el enriquecimiento de las bacterias presentes en las heces a través del cultivo en medios. Nuestro agradecimiento al Dr. Donald Lightner (Escuela de Ciencias Biomédicas Animales y Comparadas, Universidad de Arizona, Tucson, AZ, EE.UU.) por su asistencia durante este estudio.

El uso de heces como muestras diagnósticas de camarón asintomático

Este ensayo fue diseñado para determinar si las muestras fecales de camarón juvenil grande afectado por AHPND se pueden utilizar como muestra de diagnóstico. La Fig. 1 (abajo) describe los procedimientos que desarrollamos durante nuestro estudio. Camarones blancos del Pacífico, *Penaeus vannamei*, (cuatro camarones SPF, peso promedio de 8,5 gramos) se alimentaron una vez con pellets para camarón empapados en el cultivo de AHPND-*V. parahaemolyticus* (108 UFC/mL, una dosis sub-letal). Después de la alimentación, los camarones se enjuagaron con formalina-yodo para desinfectar las bacterias AHPND residuales durante la exposición *per os*, y luego se transfirieron a cuatro tanques individuales.

(https://bspcertification.org/)



Las hebras fecales se recolectaron durante el período experimental de tres días; después se extrajo ADN y esto fue seguido por una PCR de AHPND dirigida a ambos genes de toxina, *pir*A_{vp} y pirB_{vp}. Los resultados mostraron fuertes bandas positivas después de la electroforesis en gel de agarosa. No hubo mortalidad en estos camarones durante la prueba. Al terminar, los camarones fueron procesados para exámenes histopatológicos y no se detectaron lesiones de AHPND. Esto indica que las heces pueden ser utilizadas como muestras diagnósticas para el monitoreo de camarones grandes que tienen niveles asintomáticos bajos de infección.

Comparaciones de sensibilidad de PCR de plantillas preparadas a partir de ADN fecal o de cultivo bacteriano enriquecido

Se utilizaron *P. vannamei* SPF (80 camarones, peso medio: 0,7 g) en dos bioensayos de inmersión, inmersión de 1 y 6 horas en caldo de AHPND-*V. parahaemolyticus*. Las muestras fecales se recogieron después de 24 horas de cada bioensayo. Se extrajo una parte de las muestras fecales para ADN y se usó directamente para análisis de PCR, y se cultivó una parte de las muestras de heces con medio TSB + (en una proporción de 1:1000) y se incubó a 28 a 29 grados C durante 6 horas; este caldo se utilizó entonces como una plantilla de PCR sin extracción de ADN.

Con la inmersión de 1 hora, el camarón se volvió moribundo al día 4, con una mortalidad acumulada de 45 por ciento al final (día 6). Se revisaron 12 muestras fecales y se analizaron por PCR: siete muestras de los ADN extraídos tuvieron fuertes resultados de PCR positivos, cuatro fueron débiles positivos y una muestra no fue detectada. Con la inmersión de 6 horas, el camarón se volvió moribundo el día 1 y todos los camarones murieron al día 2. Se observaron fuertes amplificaciones por PCR tanto en el extracto de ADN fecal como en el cultivo bacteriano enriquecido.

A partir de ambos bioensayos, encontramos que el método de enriquecimiento tenía mayor intensidad de banda de PCR que las muestras de ADN fecal (Fig. 2), ya que el enriquecimiento aumentó considerablemente las poblaciones bacterianas. El aumento de la sensibilidad del método de enriquecimiento puede eludir el uso de PCR anidada para la detección de AHPND.

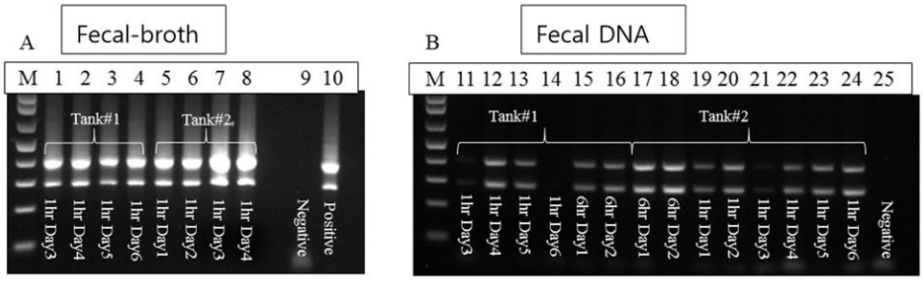


Fig. 2: Debido a que el procedimiento de enriquecimiento aumentó considerablemente las poblaciones bacterianas, encontramos que tenía una mayor intensidad de banda de PCR que las muestras de ADN fecal.

Perspectivas

Nuestro estudio mostró que no todos los camarones infectados sucumben a la enfermedad AHPND. Del mismo modo, en las granjas camaroneras, los animales infectados con dosis sub-letales podrían recuperarse de la enfermedad y convertirse en portadores asintomáticos. El diagnóstico, la detección y el monitoreo de AHPND implica típicamente el sacrificio de individuos para obtener muestras de tejido de hepatopancreas, un procedimiento que es indeseable para su uso con reproductores de alto valor.

La prueba de diagnóstico que desarrollamos y describimos aquí para AHPND no requiere sacrificar el camarón, especialmente los sobrevivientes asintomáticos de valiosas poblaciones de reproductores. La prueba implica el análisis por PCR de un cultivo de caldo enriquecido de bacterias de muestras fecales. Un caldo enriquecido se puede utilizar para detectar AHPND-*V. parahaemolyticus* en heces de animales moribundos y asintomáticos.

Estos hallazgos son de interés para los productores de camarones en relación con el desarrollo de estrategias para el manejo de esta seria enfermedad AHPND, y resultará muy útil en el diagnóstico y el monitoreo de AHPND en las poblaciones de camarón cultivado.

Authors

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

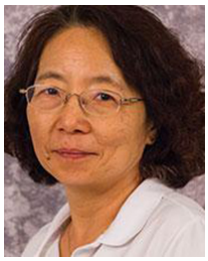
*Autor para correspondencia
CJ CheilJedang Feed & Livestock Research Institute, Korea
School of Animal and Comparative Biomedical Sciences
University of Arizona

Hanje1223@gmail.com (mailto:Hanje1223@gmail.com)

PATHARAPOL PIAMSOMBOON, D.V.M. PH.D.

Veterinary Science
Prince of Songkhla University
Songkhla, Thailand

patharapol.p@outlook.com (mailto:patharapol.p@outlook.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)

Copyright © 2025 Global Seafood Alliance

All rights reserved.