



ALLIANCE™

<https://www.globalseafood.org>Health &  
Welfare

# Actividad antibacteriana de cepas de Bacillus contra Vibrio campbellii causante de AHPND en camarones blancos del Pacífico

28 November 2022

By Dr. Jae Hak Park

## Dos cepas de *Bacillus* aisladas del agua de mar en Corea muestran actividad antimicrobiana contra cepas de *Vibrio* en camarones

La enfermedad de Necrosis Hepatopancreática Aguda (AHPND) es una enfermedad bacteriana causada por *Vibrio* spp. portadores de genes de toxinas específicos. AHPND afecta el tracto digestivo de los camarones y las células tubulares del hepatopáncreas, alterando la digestión y provocando una mortalidad masiva. *V. parahaemolyticus* se asocia principalmente con AHPND ( $V_{pAHPND}$ ), pero recientemente se informaron otras especies de *Vibrio* que portan genes de toxinas binarias, como *V. campbellii* ( $V_{cAHPND}$ ), *V. owensii* ( $V_{oAHPND}$ ) y *V. harveyi* ( $V_{hAHPND}$ ). AHPND se informó por primera vez en China (2009) y se extendió a varios países, incluidos Vietnam (2010), Malasia (2011), Tailandia (2012), México (2013), Filipinas (2015), EE. UU. (2019) y Corea del Sur (2020). Se sabe que esta enfermedad causa **pérdidas económicas muy significativas**



Este estudio evaluó la actividad antimicrobiana de cinco cepas de *Bacillus* aisladas del agua de mar en Jeju, Corea del Sur frente a 12 cepas de *Vibrio* (10 cepas AHPND y 2 cepas no AHPND). Foto de Darryl Jory.

(<https://doi.org/10.1073/pnas.1503129112>) a la industria acuícola del camarón, estimadas en más de mil millones de dólares por año en Asia.

Como alternativas a los antibióticos, los probióticos se han utilizado con frecuencia en la acuicultura para controlar enfermedades bacterianas, especialmente contra infecciones patógenas por *Vibrio* y AHPND. Los investigadores reportaron anteriormente que los camarones tratados con probióticos *Bacillus* en forma de suplementos dietéticos mostraron una mayor tasa de supervivencia después del desafío con  $V_{\text{AHPND}}$ . Además de su actividad antimicrobiana, los probióticos tienen varias ventajas en la acuicultura, como promover el crecimiento, fortalecer la inmunidad y restaurar la calidad del agua. Mientras tanto, *Bacillus* spp. Forman esporas y son resistentes al calor y la presión y se utilizan ampliamente como aditivos para alimentos acuícolas.

Aunque *V. parahaemolyticus* es la causa de la mayoría de los casos de AHPND, otras especies de *Vibrio* – como *V. campbellii*, *V. harveyi* y *V. owensii* – también se sabe que causan esta enfermedad en los campos, lo que resulta en pérdidas económicas sustanciales en las granjas. Sin embargo, los métodos preventivos y los estudios sobre AHPND se han centrado principalmente en  $V_{\text{AHPND}}$ , y la actividad antimicrobiana contra  $V_{\text{AHPND}}$ ,  $V_{\text{AHPND}}$  y  $V_{\text{AHPND}}$  se ha estudiado poco.

Este artículo – resumido de la **publicación original** (<https://doi.org/10.3390/fishes7050287>). (Jeon, H.J. et al. 2022. Antibacterial Activity of *Bacillus* Strains against Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease-Causing *Vibrio campbellii* in Pacific White Leg Shrimp. *Fishes* 2022, 7(5), 287) – presenta los resultados de una investigación que evaluó la actividad antimicrobiana de cinco cepas de *Bacillus* aisladas del agua de mar en Jeju, Corea del Sur, contra 12 cepas de *Vibrio* (10 cepas AHPND y 2 cepas no AHPND).



(<http://penverproducts.com>).

## Configuración del estudio

Las cepas de *Bacillus* que mostraron los efectos inhibidores más fuertes en la prueba de punto-punto se sometieron además a la prueba de desafío. Se compraron postlarvas (PL15–PL16) de camarón blanco del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) en una granja camaronera local (provincia de Jeju, Corea del Sur) y se transportaron al Laboratorio de Biomedicina Acuática, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional de Kyungpook en Corea del Sur. Los camarones se aclimataron durante 35 días a las condiciones e instalaciones experimentales. Luego, los animales (peso promedio  $0,2 \pm 0,05$  gramos) se distribuyeron aleatoriamente en tanques de agua de mar aireada de 22 litros.

Para la prueba de actividad antimicrobiana (prueba de desafío), los camarones experimentales ( $N = 56$ ) se dividieron en cuatro grupos con duplicados. En el grupo 1, los camarones experimentales ( $N = 14$ ) fueron expuestos a una suspensión de *Bacillus* (B1) durante 14 días mediante inmersión a una concentración de  $1,0 \times 10^6$  CFU/mL de agua. Luego, los camarones fueron desafiados con una suspensión de  $V_{\text{AHPND}}$  mediante inmersión a una concentración de  $2,0 \times 10^6$  CFU/mL de agua. En el grupo 2, los camarones experimentales ( $N = 14$ ) fueron expuestos a una suspensión de *Bacillus* (B3) durante 14 días mediante inmersión a una concentración de  $1,0 \times 10^6$  CFU/mL de agua. Luego, los camarones fueron desafiados con una suspensión de  $V_{\text{AHPND}}$  mediante inmersión a una concentración de  $2,0 \times 10^6$  CFU/mL de agua. En el grupo 3, los camarones experimentales ( $N = 14$ ) fueron expuestos a la misma cantidad de caldo fresco (TSB+) sin cepas de *Bacillus* (B1 y B3) durante 14 días por inmersión. Luego, fueron desafiados con una suspensión de  $V_{\text{AHPND}}$  por inmersión a una concentración de  $2,0 \times 10^6$  CFU/mL de agua. En el grupo 4, los camarones experimentales ( $N = 14$ ) fueron expuestos a la misma cantidad de caldo fresco (TSB+) sin *Bacillus* durante 14 días y luego no fueron desafiados con  $V_{\text{AHPND}}$ .

Para confirmar la presencia de AHPND, se recolectaron camarones muertos y se analizaron utilizando un método de PCR descrito previamente por otros autores. Para cuantificar AHPND, los camarones sobrevivientes fueron muestreados al azar el día de la terminación (día 14). Se recolectó el

hepatopáncreas de cada camarón y se usó tejido para la extracción de ADN. Utilizando el ADN extraído, se realizó una PCR cuantitativa para cuantificar un gen de la toxina AHPND (*pirA*) en el hepatopáncreas de los grupos.

Para obtener información detallada sobre el diseño experimental y la cría de animales; aislamiento de *Bacillus* spp., *Vibrio* spp. actividad antimicrobiana y otras pruebas; y análisis estadísticos, consulte la publicación original.



## Colonización microbiana en las primeras etapas de desarrollo del camarón tigre negro

La colonización microbiana durante el desarrollo de *P. monodon* podría estar determinada por diferentes etapas de desarrollo del hospedador, dietas, fisiologías y estados inmunitarios.



Global Seafood Alliance

## Resultados y discusión

En este estudio, evaluamos la actividad antimicrobiana de cinco aislamientos de *Bacillus* contra 12 cepas de *Vibrio* de camarón (10 cepas de *Vibrio* AHPND [9 *V. parahaemolyticus* y 1 *V. campbellii*] y 2 cepas de *Vibrio* no AHPND [una *V. parahaemolyticus* y una *V. harveyi*]). Los *Bacillus* spp. generalmente se aíslan del suelo, pasta de soya fermentada (cheonggukjang), plantas y agua de estanque, y se incuban a 30-37 grados-C. Las cepas de *Bacillus* descritas en este estudio se aislaron del agua de mar y se encontró que crecían bien a 28–37 grados-C. Además, todas las cepas de *Bacillus* exhibieron crecimiento tanto en TSA como en TSA+ (complementado con 2 por ciento de NaCl), lo que indica que estas cepas podrían aplicarse al agua con amplios rangos de salinidad.

En la prueba de puntos, B1, B3, B5, B7 y B8 ejercieron efectos inhibitorios sobre al menos una de las cepas de *Vibrio* evaluadas. Además, estas cepas mostraron efectos inhibidores frente a aislamientos tanto de Corea del Sur como de varios otros países (México y otros países de América Latina, Vietnam, Tailandia y EE. UU.). Esto indica que las cepas de *Bacillus* utilizadas en este estudio se pueden utilizar

globalmente en varios países productores de camarones para controlar la AHPND. Una mejor gestión de AHPND, una enfermedad que provoca una gran mortalidad en los camarones, podría aumentar la producción de camarones y disminuir las pérdidas económicas en la cría de camarones.

En la prueba de desafío, el grupo de tratamiento B1 (100 por ciento) mostró una tasa de supervivencia significativamente mayor que el grupo de tratamiento sin *Bacillus* (64,3 por ciento) a las 60 h. En un **estudio anterior** (<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.12.022>),  $V_{CAHPND}$  fue altamente patógeno para los camarones, similar a  $V_{CAHPND}$ , y la mortalidad acumulada en camarones llegó al 100 por ciento dentro de los dos días posteriores a la infección de laboratorio con  $V_{CAHPND}$ . En este estudio, dos cepas de *Bacillus* (B1 y B3) mostraron efectos antimicrobianos prominentes dentro de los dos o tres días (48 a 60 horas) de la infección por  $V_{CAHPND}$  en comparación con los hallazgos en el grupo de control positivo (inmersión en  $V_{CAHPND}$  sin tratamiento con B1 y B3); por lo tanto, se espera que ambas cepas surjan como alternativas a los antibióticos para controlar la  $V_{CAHPND}$ .

Además, según los resultados entre los camarones vivos recolectados el día de la finalización del experimento, las dos cepas de *Bacillus* identificadas en este estudio exhibieron actividad antimicrobiana contra el  $V_{CAHPND}$  patógeno. Además, se examinó la histopatología del hepatopáncreas después de la exposición a *Bacillus* spp. durante 14 días en nuestro estudio preliminar. Se encontró que la estructura del hepatopáncreas era similar entre los grupos de tratamiento con *Bacillus* y el grupo de control (no expuesto a  $V_c$ ,  $V_{CAHPND}$  y *Bacillus*), lo que indica que las cepas de *Bacillus* son inofensivas para los camarones.

Las dos cepas (B1 y B3), que mostraron actividad antimicrobiana utilizando la prueba de punto-punto (in vitro) y la prueba de desafío, finalmente se clasificaron como *B. velezensis* en función de su filogenia basada en el genoma completo. Varios estudios han examinado los efectos probióticos de *B. velezensis* en varios organismos. Otros estudios describieron la actividad antibacteriana de *B. velezensis* contra *V. parahaemolyticus* aislado de camarones y *V. anguillarum* aislado de lubina. Estos resultados sugieren que las cepas B1 y B3 recién aisladas tendrán características ventajosas adicionales en términos de su uso potencial en la industria acuícola.

Según los resultados de nuestro estudio, se justifican más estudios sobre la presencia prevista de surfactina [un surfactante y un potente antibiótico] en los aislamientos debido a su similitud relativamente baja con los compuestos informados anteriormente. Además, la posible presencia de otros compuestos que se han asociado con la actividad antifúngica de algunas cepas de *Bacillus* puede contribuir a la potencial utilidad de las cepas de *Bacillus* identificadas en este estudio.

## Perspectivas

En general, los resultados de nuestro estudio mostraron que dos cepas de *Bacillus* aisladas del agua de mar en Corea tienen actividad antimicrobiana contra cepas de *Vibrio* en camarones mediante pruebas de exposición y puntos, y que los metabolitos secundarios derivados de las cepas B1 y B3 fueron más numerosos que los reportados previamente para *Bacillus* spp., lo que indica que ambas cepas se pueden utilizar como candidatas potenciales para el manejo de Vibriosis y AHPND, incluido  $V_{CAHPND}$ , en la acuicultura de camarones.

## Author

---



**DR. JAE HAK PARK**

Corresponding author

Department of Laboratory Animal Medicine, College of Veterinary Medicine and Research Institute for Veterinary Science, Seoul National University, Seoul 08826, Korea

[pjhak@snu.ac.kr](mailto:pjhak@snu.ac.kr) (mailto:pjhak@snu.ac.kr).

Copyright © 2022 Global Seafood Alliance

All rights reserved.