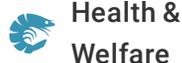




ALLIANCE™

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

---



# Potencial de agentes biológicos para reducir la carga bacteriana de Vibrio en rotíferos y larvas de peces

17 June 2024

By Dr. Jaime Romero

**Los resultados mostraron el importante efecto lítico de una endolisina sobre varias cepas de *Vibrio* patógeno**



El estudio exploró el potencial de agentes biológicos como el bacteriófago CH20 y la endolisina LysVPp1 para reducir las cargas bacterianas de *Vibrio* tanto en rotíferos como en larvas de peces. Foto de rotífero de Frank Fox, vía Wikimedia Commons.

Las infecciones bacterianas se encuentran entre los problemas más relevantes asociados con la mortalidad masiva de larvas de peces. En las larvas de peces, la principal vía de entrada de las bacterias es a través de alimentos vivos, después de la transición de la alimentación endógena a la exógena. Los rotíferos (*Brachionus plicatilis*) son presas vivas esenciales en la cría larvaria de especies de peces marinos; sin embargo, los rotíferos pueden ser importantes portadores de bacterias. Aunque la mayoría de estas bacterias no son patógenas *per se*, el incremento de estas bacterias en los rotíferos puede causar efectos perjudiciales sobre las larvas de peces.

Las técnicas actuales, como la desinfección, no son completamente efectivas para lograr un entorno de criadero marino completamente libre de bacterias. Además, esos tratamientos pueden provocar un desequilibrio microbiano, dejando un nicho ambiental completamente abierto para la proliferación de patógenos oportunistas. Por lo tanto, se requieren soluciones innovadoras y respetuosas con el medio ambiente para controlar las infecciones por *Vibrio* en larvas de peces marinos. Una opción viable para hacerlo es el uso de terapia con fagos o herramientas de fago-endolisina.

Los bacteriófagos (virus que infectan y se replican dentro de las bacterias) se han propuesto como antimicrobianos contra bacterias patógenas en diferentes campos, incluida la acuicultura. Las endolisinas (también llamadas lisinas) son proteínas producidas por bacteriófagos en las últimas etapas de la infección. Estas enzimas degradan los componentes de la pared celular bacteriana y eventualmente matan al huésped bacteriano infectado. La investigación de bacteriófagos ha mejorado nuestro conocimiento sobre las endolisinas y su papel en el ciclo lítico de los bacteriófagos, así como sobre las aplicaciones de las endolisinas como antimicrobianos.

Las endolisinas pueden ser una alternativa antibacteriana prometedora para controlar la infección bacteriana en la acuicultura. Su mecanismo de acción, basado en la hidrólisis de los enlaces de la pared celular, reduce la probabilidad de desarrollo de resistencias y se consideran seguros para

organismos utilizados como alimento vivo, como los rotíferos, además de no implicar ningún riesgo para la salud de los consumidores. Sobre la base de una amplia evidencia que respalda su eficacia tanto en evaluaciones *in vitro* como *in vivo*, las endolisinas han sido reconocidas como agentes antibacterianos prometedores. Sin embargo, aún no se ha explorado su uso potencial en el campo de la acuicultura.



A comprehensive solution for the wild seafood supply chain.

- ✓ Crew rights
- ✓ Food safety
- ✓ Environmental responsibility

**Best Seafood Practices**

LEARN MORE >

(<https://bspcertification.org/>).

Este artículo – resumido de la **publicación original**

(<https://doi.org/10.3390/microorganisms12050904>). (Romero, J. et al. 2024. Lysin and Lytic Phages Reduce *Vibrio* Counts in Live Feed and Fish Larvae. *Microorganisms* 2024, 12(5), 904) – presenta los resultados de una evaluación de la eficacia de un fago lítico y una endolisina para reducir los recuentos de *Vibrio* tanto en la población de rotíferos como en larvas de peces. Nuestra investigación tuvo como objetivo explorar el uso potencial de estos agentes biológicos para mitigar las cargas bacterianas de *Vibrio*, que plantean una preocupación importante en la industria acuícola debido a su impacto perjudicial en la salud y el desarrollo de las larvas de peces.

## Configuración del estudio

Nuestra investigación tuvo como objetivo explorar el potencial de agentes biológicos como el bacteriófago CH20 y la endolisina LysVPp1 para reducir las cargas bacterianas de *Vibrio* tanto en rotíferos como en larvas de peces. En este estudio se incorporaron varias especies de *Vibrio*, debido a su capacidad de inducir enfermedades en múltiples huéspedes, incluidos peces, seres humanos y mariscos.

La endolisina LysVPp1 estudiada se sintetizó mediante un procedimiento comercial y el fago CH20 se aisló del homogeneizado de mejillón. Un objetivo del estudio fue la evaluación de la actividad lítica de la endolisina LysVPp1 sobre cepas de *Vibrio* siguiendo un **protocolo establecido** (<https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-278>). El ensayo de actividad lítica se realizó utilizando un espectrofotómetro.

El segundo objetivo fue utilizar la endolisina LysVPp1 y el fago CH20 para evaluar su eficacia en la reducción de la carga de *Vibrio* en rotíferos. Se prepararon **cultivos de rotíferos** (<https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.02.004>) y todos los ensayos se realizaron por triplicado. La carga de *Vibrio* patógeno tanto en los rotíferos como en el agua se midió mediante recuentos bacterianos en medio de agar TCBS (tiosulfato-citrato-sales biliares-sacarosa es un tipo de placa de cultivo de agar selectivo que se utiliza en laboratorios de microbiología para aislar especies de *Vibrio*).

El tercer objetivo fue la evaluación de la reducción de *Vibrio* en un bioensayo utilizando **larvas de pez cebra** (<https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01901>). (*Danio reiro*) y un protocolo establecido. La carga de *Vibrio* patógeno tanto en las larvas de peces como en el agua se midió mediante recuentos bacterianos en agar TCBS.

Para información detallada sobre el diseño experimental, el aislamiento de fagos líticos y endolisina de especies seleccionadas de *Vibrio*, y todos los procedimientos experimentales, bioensayos y análisis, consulte la publicación original.



## Abordando la inocuidad en la cadena de suministro de tilapia de América Latina

En la última década, la experiencia adquirida por muchos productores de tilapia combinada con programas eficaces implementados por los gobiernos locales ha mejorado significativamente la producción de tilapia en varios países de América Latina como Colombia, México, Ecuador y otros importantes productores de tilapia de la región.



Global Seafood Alliance

0

## Resultados y discusión

Para la actividad lítica de la lisina contra cepas de *Vibrio*, los resultados del espectrofotómetro revelaron una disminución notable en los valores de absorbancia con el tiempo, lo que indica la lisis de las células de *Vibrio* por la lisina. Por ejemplo, la reducción de la absorbancia para la cepa GV09 se muestra en la Fig. 1a, donde se observó una rápida actividad lítica durante los primeros 5 minutos del ensayo. Además, el grado de reducción varió entre las diferentes cepas de *Vibrio* evaluadas, como se ilustra en la Fig. 1b, que demuestra la reducción en la absorbancia para cada cepa de *Vibrio* evaluada.

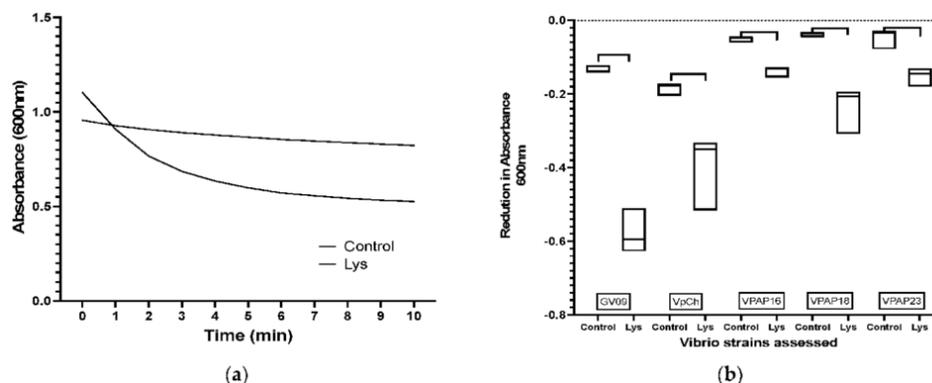


Fig. 1: Actividad lítica de la lisina (LysVPp1) frente a cepas de *Vibrio*. (a): se representa la actividad lítica de la lisina en la cepa GV09, centrándose en controlar la absorbancia a 600 nm durante todo el período de ensayo (10 min). (b): Diagrama de caja que muestra la reducción en la absorbancia observada desde el principio (0 min) hasta el final del ensayo (10 min) tanto para el grupo de control como para las cepas de *Vibrio* tratadas con LysVPp1

Para el bioensayo para la reducción de la carga de *Vibrio* en rotíferos, evaluamos la efectividad de LysVPp1 o CH20 para disminuir los recuentos de una cepa de *Vibrio* específica (GV09). El ensayo está diseñado para durar solo 20 minutos, alineándose con los rápidos requisitos de posibles aplicaciones en un criadero acuícola. El objetivo era tratar rápidamente el rotífero para reducir la bacteria *Vibrio* y así mejorar su calidad microbiológica como fuente de alimento vivo para las larvas de peces. Para visualizar mejor el efecto del tratamiento, se midió la reducción de *Vibrio* tanto en el agua como en los rotíferos. En agua de mar, la reducción en los recuentos de *Vibrio* fue notablemente significativa después del tratamiento con el fago CH20 (Fig. 2). De manera similar, con la endolisina LysVPp1, se observó una reducción sustancial. Ambos tratamientos demostraron reducciones estadísticamente significativas en los recuentos de GV09 viable en comparación con el grupo de control. Curiosamente, el fago CH20 causó un efecto mayor que la endolisina en la reducción de los recuentos de *Vibrio*.

Fig. 2: Reducción del recuento de *Vibrio* después de los tratamientos. (a) Recuentos de *Vibrio* en medios de cultivo de rotíferos (agua de mar, Log10) y (b) Recuentos de *Vibrio* en rotíferos. \*\*\*\* indican significación estadística. Adaptado del original.

Para la reducción de la carga de *Vibrio* en larvas de peces mediante un bioensayo después del tratamiento con LysVPP1, el recuento de *Vibrio* disminuyó significativamente (Fig. 3): con el fago CH20, también se observó una disminución bacteriana significativa en el medio. Además, ambos tratamientos demostraron reducciones estadísticamente significativas en los recuentos de *Vibrio* viables en comparación con el grupo de control. En particular, la comparación de tratamientos mostró que el fago CH20 fue notablemente más eficaz para reducir los recuentos de *Vibrio*, en comparación con la endolisina.

El rango de huéspedes de CH20 fue limitado, a diferencia de otros fagos de *Vibrio* que exhiben un amplio rango de actividad lítica. Esta estrecha especificidad es una ventaja en el sentido de que los fagos no alterarán la microbiota del huésped; sin embargo, exige que cada fago se analice frente a cada objetivo bacteriano para determinar la susceptibilidad antes del tratamiento. Los cócteles de fagos ayudan a mitigar el desarrollo de variantes resistentes a fagos en bacterias y amplían el espectro de cepas bacterianas a las que se puede atacar. Sin embargo, los cócteles de fagos requieren el uso de múltiples fagos, lo que puede complicar la formulación y administración del tratamiento.

Fig. 3: Reducción del recuento de *Vibrio* en larvas de pez cebra después de los tratamientos. (a) Recuentos de *Vibrio* (Log10) en medio y (b) Recuentos de *Vibrio* en larvas de peces. Adaptado del original.

Los rotíferos utilizados como alimento vivo albergan una amplia gama de microbiota. Si bien estos microorganismos no suelen ser patógenos para los organismos que se alimentan, pueden transmitirse a las larvas de depredadores y causar efectos nocivos. El uso de antibióticos fue una solución sencilla para abordar estos problemas. Sin embargo, su administración profiláctica provocó varios efectos secundarios, incluido un aumento en la frecuencia de cepas que desarrollan resistencia a los antibióticos.

La importancia de los alimentos vivos, como los rotíferos y la artemia, como vectores en la transmisión de enfermedades se ha puesto de relieve debido a la transferencia confirmada de virus a las larvas de peces. Las aplicaciones de procedimientos de desinfección, como los que se utilizan con éxito en la eclosión y el enriquecimiento de artemia, son letales para los rotíferos. En consecuencia, se han realizado numerosos estudios para disminuir la carga bacteriana en los rotíferos antes de alimentarlos

a las larvas de peces. Las reducciones en las cargas bacterianas reportadas por diversos autores son limitadas en comparación con los tratamientos con fagos o endolisina (LysVPP1), que reducen significativamente la carga bacteriana en los rotíferos en poco tiempo. Esto subraya el potencial de los tratamientos con fagos o endolisinas para reducir eficientemente la contaminación bacteriana en cultivos de rotíferos con fines acuícolas.

El uso de endolisinas en larvas de peces es un área de investigación relativamente nueva y en desarrollo, y se están realizando estudios para evaluar su eficacia, seguridad y viabilidad en diferentes sistemas de acuícolas. Este enfoque es parte de un esfuerzo más amplio para encontrar alternativas a los antibióticos convencionales y reducir el impacto de las enfermedades bacterianas en la acuicultura.

Se ha estudiado el uso de fagos o terapia con fagos en larvas; sin embargo, el enfoque fue desde la perspectiva del tratamiento, es decir, reducir la mortalidad, en lugar de reducir los niveles del patógeno, para prevenir enfermedades. En el caso de las larvas de camarón, la aplicación temprana de una mezcla de fagos (6 horas después de la infección) demostró ser eficaz para mantener una supervivencia del 80 por ciento). El uso de endolisinas para el control de la enfermedad temprana del camarón (AHPND), causada por *Vibrio*, aún se encuentra en etapa de evaluación de ensayos in vitro en las diferentes cepas reportadas asociadas a esta enfermedad.

Reducir el número de bacterias patógenas u oportunistas como estrategia para prevenir enfermedades es un enfoque fundamental en diversos campos, incluida la acuicultura. Esta estrategia se centra en controlar la población bacteriana a un nivel en el que sea menos probable que cause infecciones o brotes de enfermedades. En acuicultura, los tratamientos con larvas se vuelven operativamente complicados, especialmente si hay un gran volumen a tratar. Por lo tanto, la atención se centra en el tratamiento de las fuentes de bacterias patógenas.

Entre estos, los rotíferos requieren métodos suaves que no dañen su estructura y permitan su viabilidad. Al centrarse en reducir la cantidad de bacterias dañinas, es posible mantener un ambiente más sano y equilibrado, lo cual es crucial para prevenir la aparición de enfermedades. Esta estrategia es especialmente importante en sistemas cerrados como la acuicultura, donde la propagación de patógenos puede ser rápida y devastadora.

## Perspectivas

Nuestros hallazgos proporcionan evidencia convincente de la viabilidad de reducir la carga de *Vibrio* patógeno en alimentos vivos y larvas de peces mediante la utilización de herramientas alternativas a los antibióticos, específicamente fagos líticos y endolisina Lys. La eficaz y rápida acción de estos tratamientos pone de relieve su potencial de aplicación en criaderos. Este aspecto prometedor subraya la importancia de explorar e implementar tales estrategias como parte de prácticas de acuicultura sostenible. Al ayudar a mitigar la presencia de bacterias patógenas en etapas cruciales del desarrollo de los peces, estas intervenciones pueden contribuir a mejorar la salud y el bienestar de los peces cultivados.

## Author

---



**DR. JAIME ROMERO**

Corresponding author

Laboratorio de Biotecnología de Alimentos, Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos (INTA), Universidad de Chile, El Líbano 5524, Santiago 7830489, Chile

[jromero@inta.uchile.cl](mailto:jromero@inta.uchile.cl) (<mailto:jromero@inta.uchile.cl>).

Copyright © 2024 Global Seafood Alliance

All rights reserved.