

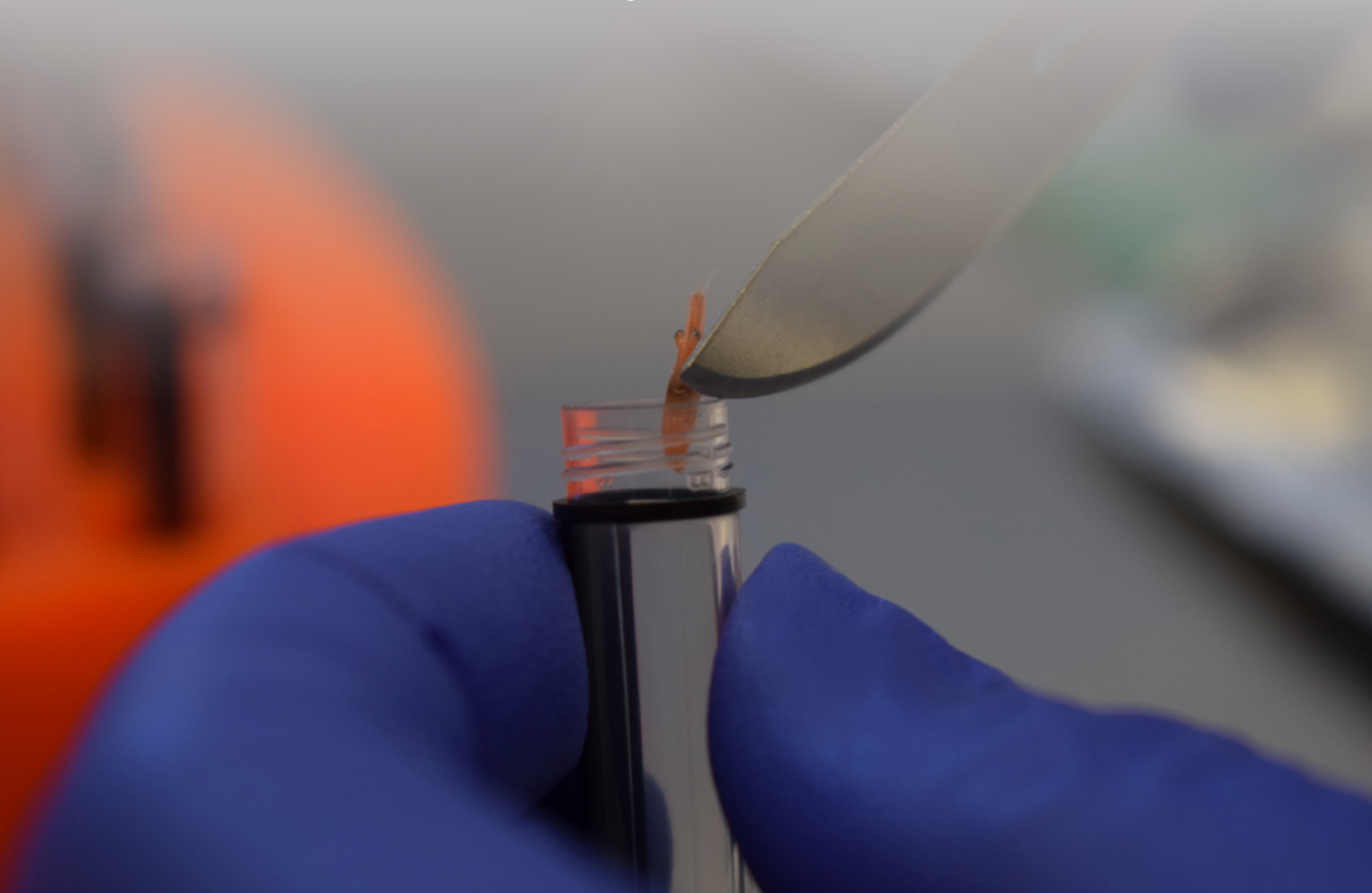


GENICS

Serie Educativa

Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS), Enfermedad de la Necrosis Aguda del Hepatopáncreas (AHPND) y Síndrome de Mortalidad del *Penaeus monodon* (PmMS)

www.genics.com



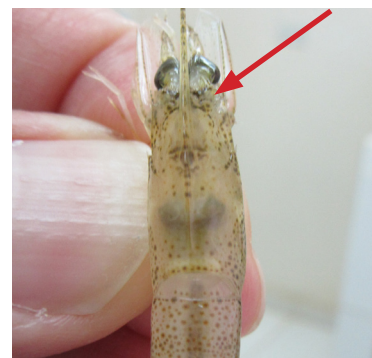
Los camarones también se enferman. Las enfermedades EMS, AHPND y PmMS son el resultado de la presencia de cepas de *Vibrio* que producen toxinas conocidas como Pir A y Pir B. Estas toxinas causan desprendimiento del revestimiento celular del hepatopáncreas (HP), estómago y del resto del tracto digestivo de los camarones, así como daños en los túbulos del hepatopancreas. Cuando estas toxinas se expresan en *Vibrio parahaemolyticus*, deben ser notificadas a la OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal), ya que, según la definición del caso, provocan EMS o AHPND. Se ha reportado que PmMS es debida a la expresión de estas toxinas en cepas patógenas de *V. harveyi*.

Estas enfermedades infecciosas se presentan en cultivos de *Penaeus (Litopenaeus) vannamei* y en *P. monodon*. Son altamente contagiosas y pueden producir altas tasas de mortalidad en sistemas semi-intensivos o intensivos. La mortalidad se puede observar tan pronto como a los 10 días de la siembra y se puede alcanzar una mortalidad de 100% entre 30 y 35 días post-siembra. Estas enfermedades infecciosas se vuelven problemáticas cuando la salinidad, la temperatura y las concentraciones de materia orgánica (MO), suspendida o de fondo, son propicias para que se proliferen cepas de bacterias patógenas portadoras de las toxinas Pir A/B. Las bacterias colonizan, principalmente, las partículas de MO. Se ha propuesto que, cuando las partículas de MO están completamente colonizadas por bacterias patógenas, la expresión de toxinas ocurre. Generalmente, altas concentraciones de toxinas son encontradas en MO.

Los camarones ingieren estas partículas, absorbiendo las toxinas, pudiéndose producir un brote de enfermedad aguda rápidamente. También se ha propuesto que las bacterias colonizan el estómago del camarón, donde forman un biofilm, resultando en posterior producción de toxinas. El impacto letal sobre los camarones de cultivo ha sido mayor en los países asiáticos (más del 80% de mortalidad) que en América Latina (20-40% de mortalidad) y que en Australia. La aparición y la gravedad de los brotes se han asociado con parámetros ambientales propicios, y también con la presencia de condiciones que favorecen la producción de toxinas. No parece haber ningún papel de los cambios genéticos localizados en los agentes etiológicos. (cepas bacterianas patógenas).

La prueba de PCR Shrimp **MultiPath Xtra**, ayudará a confirmar las infecciones por EMS-AHPND - PmMS y proporcionará información a los productores sobre la presencia y/o ausencia de estas bacterias y de otros patógenos de camarones frecuentes en sistemas de cultivo, de manera precisa, confiable y cuantitativa (número de patógenos por muestra).

Agentes causales de EMS o AHPND y PmMS. Originalmente se reportó que la enfermedad EMS/AHPND era causada por una cepa específica altamente virulenta de *V. parahaemolyticus* (VpAHPND), la cual contiene un plásmido de ~70 kbp con genes homólogos, relacionados con el insecto *Photorhabdus* (Pir), que codifican para la toxina binaria (Pir A y Pir B). La ingestión de estas toxinas similares a PirA/B por parte de camarones *P. vannamei* y *P. monodon* (y probablemente también *P. chinensis*) puede dañar el estómago y las células del túbulo epitelial del HP, en ambientes de producción en *hatchery* y granja. Estas toxinas se encuentran en el plásmido pVA, que es el factor primario de virulencia. La eliminación o "curado" del plásmido pVA (extracción de este plásmido en las bacterias patógenas), elimina la capacidad bacteriana de producir la enfermedad AHPND en las cepas de VpAHPND.



¿Preguntas?

+61 1300 895 515

info@genics.com

www.genics.com

Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS),
Enfermedad de la Necrosis Aguda del
Hepatopáncreas (AHPND) y Síndrome de
Mortalidad del *Penaeus monodon* (PmMS)



Hoy en día se sabe que otras especies distintas a *V. parahaemolyticus* (especie mencionada en el primer informe de etiología de EMS/AHPND en 2010) también podrían ser agentes causantes de esta enfermedad. Estas otras especies de vibrios incluyen *V. campbellii*, *V. harveyi*, *V. owensii* y *V. punensis*. En Australia, se ha determinado que toxinas similares a PirA/B, producen la enfermedad conocida como Síndrome de Mortalidad del *P. monodon* (*PmMS*).

Ha sido reportado que algunas de cepas de estas especies bacterianas distintas de *Vibrio* expresan diferentes variantes de toxinas similares a Pir A/B. Éstas actúan como proteínas binarias que codifican los genes para Pir A y Pir B. Es necesario tener ambas proteínas para que se presente toxicidad en los camarones.

Las especies de camarones susceptibles a la enfermedad EMS/AHPND/*PmMS*, incluyen penaeidos como *P. vannamei*, *P. monodon* y eventualmente *P. chinensis*. El monitoreo y la detección de los agentes causantes de esta enfermedad en alimentos para reproductores de camarones es una labor crítica, debido a que permite a los productores alimentar sus animales solamente con dieta fresca de alta calidad y libres de estos patógenos. Así, se puede evitar que se presente posible infección en las postlarvas.

Signos clínicos de EMS/AHPND y *PmMS*. La aparición de signos clínicos y de mortalidad masiva puede ocurrir tan pronto como 10 días después de la siembra de las PLs. Los signos clínicos (ver la imagen de la derecha) incluyen un HP entre pálido y blanquecino, atrofia de los túbulos del HP, exoesqueleto blando, intestino vacío o parcialmente lleno y puntos negros visibles sobre el HP (túbulos melanizados). A diferencia de los camarones sanos, el HP no se puede aplastar fácilmente entre los dedos pulgar e índice.

A menudo se observan dos fases de la enfermedad durante un brote. Inicialmente, la fase aguda con degeneración masiva y progresiva de los túbulos del HP, que va desde el extremo proximal hacia la parte distal del órgano, con un marcado desprendimiento de células epiteliales de los túbulos, que van luego hacia la luz del túbulo del HP y hacia el estómago posterior, sin presencia de bacterias. Este proceso suele ser seguido por una fase terminal, que se caracteriza por una infiltración hemocítica intra-tubular severa (inflamación) e infecciones bacterianas secundarias masivas, asociadas con la presencia de células necróticas de los túbulos del HP.

También se ha sugerido que puede haber una fase no aguda, en la cual los animales pueden tener la enfermedad, pero sin presencia de signos que sugieran que se están afectando negativamente la salud de los camarones. Por ejemplo, las postlarvas en una planta de aclimatación, donde hay bajos niveles de toxinas presentes, pueden mostrar algún daño en el HP, y algunos animales afectados pueden desarrollar la fase aguda en presencia de niveles más altos de expresión de toxinas. Dependiendo del grado de daño, se cree que algunos camarones se pueden recuperar de la enfermedad. La aplicación abundante de recambio de agua, optimización de la cantidad y calidad de la alimentación y sifoneo del fondo dos veces al día, son procedimientos que pueden ayudar a reducir la mortalidad en postlarvas (en tanques o raceways), y ayudan en la recuperación de poblaciones enfermas, cuando se diagnostica la enfermedad oportunamente y recién están apareciendo los primeros signos clínicos.

¿Preguntas?

+61 1300 895 515

info@genics.com

www.genics.com

Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS),
Enfermedad de la Necrosis Aguda del
Hepatopáncreas (AHPND) y Síndrome de
Mortalidad del *Penaeus monodon* (*PmMS*)



La detección temprana mediante las pruebas de PCR Shrimp MultiPath puede dar a los productores un aviso de hasta 10 días antes de que aparezcan los signos clínicos y se presente la mortalidad masiva. Este es un período crítico que se puede utilizar para retrasar o detener la propagación de la enfermedad y maximizar los resultados de producción. La detección temprana permite la implementación de estrategias de mitigación rápidas, tales como sifoneo del fondo para la reducción de la MO, que es el sustrato primario que las bacterias colonizan, recambio frecuente del agua y/o adición de bacterias para la biorremediación; reducción del estrés a través de una mayor aireación, ajustes en el suministro de alimento, aumento de las medidas de bioseguridad alrededor de los estanques infectados (ej. dejar el manejo de los estanques afectados para el final de la rutina diaria, separar redes y equipos, poner barreras físicas, informar a los vecinos de otras fincas sobre la presencia de la infección, etc.) y cosechar estos estanques afectados de primeras, cuando alcancen talla comercial. Los planes de mitigación de la enfermedad deben incluir programas para la exclusión del patógeno.

La técnica de PCR Multipath para camarones se utiliza para confirmar si los reproductores o las postlarvas están infectados con las cepas bacterianas productoras de toxinas. Esta información se puede usar para eliminar reproductores y/o lotes de postlarvas infectadas de los sistemas de producción comercial, antes de sembrar estanques con organismos contaminados.

Los estadios del ciclo de vida ideales para la detección temprana y precisa de la enfermedad incluyen postlarvas tardías (tanto en tanques de larvicultura como en raceways o precrías en fincas de engorde) y juveniles. La mortalidad en subadultos ha sido reportada en los días 46-96 después de la siembra.

Los órganos blanco para la detección de las cepas patógenas mediante PCR son los tejidos y órganos asociados con el tracto gastrointestinal, incluidos el HP y el estómago. Aunque no es tan sensible, las heces también pueden analizarse para detectar la presencia de los genes de las toxinas PirA/B de manera no letal, lo cual es útil si el productor está examinando reproductores valiosos. En este caso, las tiras fecales deben ser recogidas e incubadas en caldo de cultivo (TSB + NaCl) y posteriormente se debe examinar por PCR el sedimento bacteriano que ha quedado en el fondo.

La toma y preservación de muestras de tejidos para las pruebas de PCR deben realizarse en microtubos previamente rotulados y que puedan ser sellados; el fijador para PCR debe ser etanol 70-95% grado analítico o RNALater; las muestras también pueden ser congeladas para preservar el ADN del virus. El tamaño del tejido de la muestra puede ser de 2-5 mm² (50 mg aprox.). Los materiales de muestreo se deben esterilizar adecuadamente entre tubo y tubo para cada muestra.

Mantener los camarones muertos a temperatura ambiente durante aproximadamente 6 horas aumentará el recuento de bacterias en los tejidos, y será útil para mejorar la presencia del patógeno y facilitar su detección mediante PCR. La incubación de muestras sospechosas de HP y estómago en caldo de peptona a 30°C durante 24 horas, seguido de centrifugación, también mejorará la detección del patógeno mediante PCR. Además, existe la opción de enriquecer el agua del tanque de cultivo o raspar la biopelícula de las paredes del tanque, para enriquecerla y someterla luego a PCR.

¿Preguntas?

+61 1300 895 515

info@genics.com

www.genics.com

Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS),
Enfermedad de la Necrosis Aguda del
Hepatopáncreas (AHPND) y Síndrome de
Mortalidad del *Penaeus monodon* (*PmMS*)



El número de muestras y los Planes de Manejo de la Salud se deben establecer con su experto en salud acuícola, y deben considerar factores como el origen de nauplii/PLs, clima, tamaño y ubicación de la granja, estructura de la empresa, factores de riesgo, canales de mercado para la venta del producto, etc. Para la detección de EMS/AHPND y PmMS, también existe la posibilidad de agrupar muestras en pools, con el fin de maximizar la inversión para las pruebas de PCR, aunque puede reducir la sensibilidad de la prueba dando como resultado falsos negativos.

Las soluciones a largo plazo para el control de las enfermedades EMS/AHPND y PmMS causadas por *Vibrio* spp. productores de toxinas incluyen la cría de camarones para tolerancia y resistencia. Se ha encontrado que la aplicación de buenas prácticas sanitarias y de medidas de bioseguridad ayuda a evitar y/o controlar la enfermedad. Éstas incluyen, entre otras cosas, la reducción del estrés en las poblaciones en cultivo, mejorar las condiciones sanitarias de los laboratorios de larvicultura, monitoreo frecuente de las postlarvas mediante la técnica de PCR, manejo adecuado de reproductores y uso de postlarvas de alta calidad. Así mismo, buen manejo de la finca camaronera que incluye control estricto de la tasa de alimentación, reducción de la materia orgánica en tanques y estanques y uso de una densidad de siembra adecuada a las instalaciones.

La detección temprana de patógenos y la reducción de riesgos mediante el uso de Shrimp MultiPath Xtra es una herramienta fundamental para minimizar las consecuencias de un potencial brote de *Vibrio* spp. en un estanque.

Póngase en contacto con Genics a través de nuestro correo electrónico info@genics.com si desea analizar estas opciones para su operación camaronera, o visite nuestra página web www.genics.com para obtener mayor información.

Mire a continuación el [video instructivo](#) para la disección de órganos con el fin de realizar la prueba Shrimp **MultiPath Xtra**:



¿Preguntas?

+61 1300 895 515

info@genics.com

www.genics.com

Síndrome de Mortalidad Temprana (EMS),
Enfermedad de la Necrosis Aguda del
Hepatopáncreas (AHPND) y Síndrome de
Mortalidad del *Penaeus monodon* (PmMS)

