

Patología de organismos acuáticos y biotecnología acuícola

Ruben Avendaño-Herrera, Rute Irgang, Diana Tapia-Cammas, Jörn Bethke, Juan Guzmán, Felipe Morán, Johan Quezada, Cristian Oliver, Héctor Levipán, Matías Poblete-Morales



Universidad Andrés Bello, Facultad de Ciencias Biológicas, Torre C, BIO-416, Viña del Mar, Chile

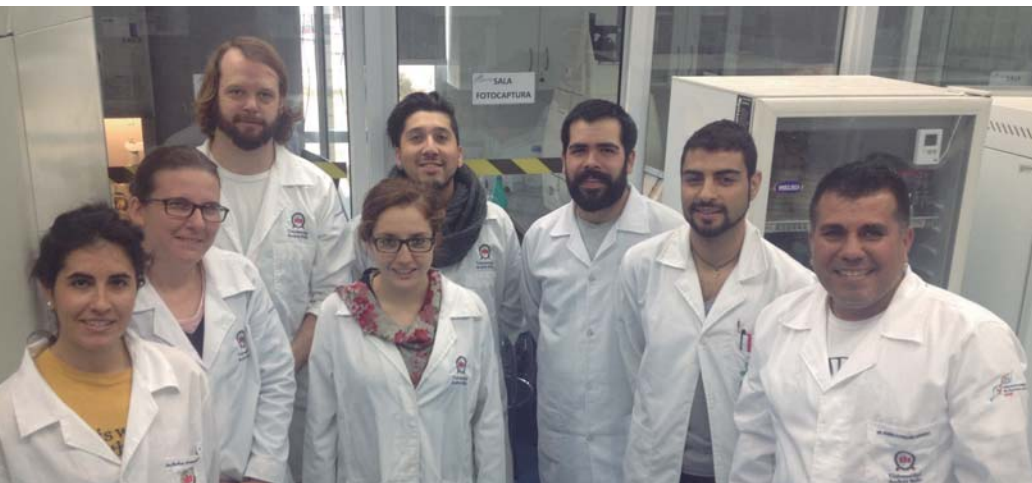


Foto de grupo.

Algunos de los miembros del grupo «Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola» (de izquierda a derecha): Beatriz Carnicero, Jörn Bethke, Felipe Morán, Diana Tapia-Cammas, Matías Poblete-Morales, Johan Quezada y Rubén Avendaño-Herrera.

El grupo de Patología de Organismos Acuáticos y Biotecnología Acuícola, es relativamente joven, se formó en el año 2010 con la incorporación del Dr. Ruben Avendaño-Herrera al Departamento de Ciencias Biológicas de la Universidad Andrés Bello, quien dejó sus labores en una reconocida empresa farmacéutica en donde centraba sus esfuerzos en el desarrollo de vacunas para peces. Desde entonces, se ha convertido en un grupo multidisciplinario constituido por profesionales con una fuerte formación biológica, destacando Ingenieros en Acuicultura, Biotecnología y Agrónomos, Biólogos Marinos, y Biólogos así como estudiantes de pre- y post-grado. Nuestro grupo es muy versátil y con capacidad de afrontar desafíos con bacterias de las más variadas características y grupos taxonómicos, aportando a Chile en el conocimiento no sólo del microorganismo (patógeno o no), sino la generación de nuevas herramientas de diagnóstico y de medidas de control y prevención.

Actualmente, hemos consolidado colaboraciones científicas y de amistad con diversos grupos de investigación tanto en Chile como

en España, Francia, México, Alemania e Inglaterra, fortaleciendo nuestras capacidades y productividad. Además, hemos sido reconocido como Miembro del Grupo de Acuicultura (AWG) del Clinical and Laboratory Standards Institute y parte del Comité de Expertos para el Servicio Nacional de Pesca y Acuicultura de Chile. Desde 2010, hemos obtenido financiamiento para más de 15 proyectos en convocatorias competitivas tanto nacionales como internacionales, que han dado como resultado 42 publicaciones científicas en revistas de prestigio, también el único libro en español de patología titulado «Enfermedades infecciosas del cultivo de salmónidos en Chile y el mundo» y la formación de más de 12 estudiantes de pre- y post-grado. Es de destacar que uno de los hitos del grupo, es ser miembro del único Centro de Excelencia financiado por el Gobierno de Chile para el desarrollo de la acuicultura sustentable (www.incar.cl).

Entre los aportes realizados por nuestro grupo podemos destacar las siguientes: a) El único método de diagnóstico molecular para *Vibrio ordalii*, b) el desarrollo de una técnica de diagnóstico y genotipificación para el virus

de la necrosis pancreática infecciosa (IPNV) usando como matrices cultivos celulares y tejidos de órganos de peces, c) el desarrollo del primer medio líquido para el cultivo microbiológico del patógeno intracelular *Piscirickettsia salmonis*, d) la estandarización y validación de un método de susceptibilidad a antimicrobiano para *P. salmonis*, la cual se incluyó en la directriz CLSI y e) el conocimiento de la estructura poblacional del principal agente causante de mortalidades de salmónidos en agua dulce, *Flavobacterium psychrophilum*.

En la actualidad las líneas de trabajo que nuestro grupo desarrolla se pueden resumir en las siguientes:

- Estudio de mecanismos de patogenicidad de bacterias causantes de enfermedades en organismos acuáticos de interés comercial, incluyendo vías de infección y la respuesta inmune innata de los peces.
- Identificación, caracterización y tipificación de microorganismos patógenos de especies de cultivo, coleccionando bac-

terias representante de los principales patógenos bacterianos que afectan la salmonicultura chilena que permitan conocer la estructura y distribución de estos microorganismos.

- Desarrollo de métodos innovadores de diagnósticos, evaluando nuevos sistemas de diagnósticos moleculares y anti-génicos en bacterias y virus que afectan a organismos acuáticos.
- Identificación de nuevas especies bacterianas asociadas a ambientes acuáticos, evaluando su potencial patogénico y/o biotecnológico.
- Estandarización de procedimientos de control y validación del apropiado uso de antibióticos, permitiendo conocer la susceptibilidad de diversos patógenos bacterianos que afectan la acuicultura chilena y reportando los valores y criterios que permiten diferenciar entre un aislado silvestre de aquellos que no lo son.
- Diseño de modelos de infección para evaluar vacunas para patologías acuática, estudiando los mecanismos de patogenicidad y seleccionando aquellos aislados bacterianos que afectan la salmonicultura chilena en orden a probarlos en infecciones controladas. Así, mediante la aplicación de distintas estrategias de inoculación se proponen modelos de infección para patógenos de las bacterias más prevalentes en nuestro país.

Además, los distintos financiamientos asociados a proyectos en terreno han permitido obtener una importante colección de bacterias aisladas en la Antártida Chilena y otras fuentes acuáticas en distintas áreas geográficas de Chile (i.e. FIA PYT 2013-04, INACH_08-13, FONDAP 1511027, FONDECYT 1190054, FONDECYT 1110219, FONDECYT 1150695). Asimismo, hemos coleccionado bacterias a partir de ejemplares silvestres de salmón Chinook (*Oncorhynchus tshawytscha*) (FIP 2014-87), así como peces cultivados, incluyendo salmón del Atlántico (*Salmo salar*), trucha arcoiris (*Oncorhynchus mykiss*) y salmón coho (*Oncorhynchus kisutch*). En este sentido, durante los últimos años nos hemos interesado por el desarrollo de la acuicultura de especies nativas, estudiando la microbiota asociada al congrio colorado (*Genypterus chilensis*, FONDECYT

Post-Doctorado N° 3140296) y lenguado chileno (*Paralichthys adspersus*). Esta enriquecida colección bacteriana nos ha permitido realizar estudios de distinta naturaleza, incluso en algunos casos siendo identificadas nuevas especies taxonómicas.

Contamos con infraestructura y las capacidades humanas para desarrollar una inmensa variedad de análisis en áreas de la bacteriología, biología molecular, cultivo celular y dos unidades experimentales en donde mantenemos especies salmónidas y nativas (lenguados y congrios colorados). Asimismo, una fuerte componente de nuestras investigaciones se sustentan en las necesidades científico-técnicas de los principales actores de la industria salmonera chilena, con quienes trabajamos en pos de generar innovación y dar soluciones a los más diversos problemas sanitarios.

PUBLICACIONES SELECCIONADAS RECIENTES

Ruiz P, Balado M, Toranzo AE, Poblete-Morales M, Lemos ML y Avendaño-Herrera A. (2016) Iron assimilation and siderophore production by *Vibrio ordalii* strains isolated from diseased Atlantic salmon *Salmo salar* in Chile. *Dis Aquat Org* 118: 217-226.

Sandoval C, Infante J, Abad J, Ferguson HW, Paredes E, Valdebenito S, Yáñez AJ, Ildardi P y Avendaño-Herrera R. (2016) Case report: Strawberry disease in farmed Chilean rainbow trout. *J Aquat Anim Health* 28: 1-10.

Salazar S, Oliver C, Yáñez AJ y Avendaño-Herrera R. (2016) Comparative analysis of innate responses to *Streptococcus phocae* strains in Atlantic salmon (*Salmo salar*) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol* 51: 97-103.

Oliver C, Valenzuela K, Hernández M, Sandoval R, Haro RE, Avendaño-Herrera R, Cárcamo JG, Villar MT, Artigues A, Garduño R y Yáñez AJ. (2016) Characterization and pathogenic role of outer membrane vesicles produced by the fish pathogen *Piscirickettsia salmonis* under *in vitro* conditions. *Vet Microbiol* 29: 184-194.

Avendaño-Herrera R, Irgang R, Sandoval C, Moreno-Lira P, Houel A, Duchaud E, Poblete-Morales M, Nicolas P y Ildardi P. (2016) Isolation, characterization and virulence potential of *Tenacibaculum dicentrarchi* in salmonid cultures in Chile. *Transbound Emer Dis* 63: 121-126.

Avendaño-Herrera R y Poblete-Morales M. (2016) Genome sequence of *Streptococcus phocae* subsp. *phocae* strain ATCC 51973^T isolated from Harbor seal (*Phoca vitulina*). *Genome Announc* 19:3 (6), e01307-15.

Levicán A y Avendaño-Herrera R. (2015) Bacteria associated with mass mortality of post-larvae of red conger eel (*Genypterus chilensis*) cultured in a Chilean farm. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 35: 162-169.

Lasa A, Avendaño-Herrera R, Estrada JM y Romalde JL. (2015) Isolation and identification of *Vibrio toranzoniae* associated with diseased red conger eel (*Genypterus chilensis*) farmed in Chile. *Vet Microbiol* 179: 327-331.

Oliver C, Valenzuela K, Silva H, Haro RE, Cortés M, Sandoval R, Pontigo JP, Álvarez C, Figueroa JE, Avendaño-Herrera R, Troncoso JM y Yáñez AJ. (2015) Effectiveness of egg yolk immunoglobulin against the intracellular salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis*. *J Appl Microbiol* 119: 365-376.

Solís C, Poblete-Morales M, Cabral S, Valdés JA, Reyes AE, Avendaño-Herrera R y Feijóo CG. (2015) Neutrophil migration in the activation of the innate immune response to different *Flavobacterium psychrophilum* vaccines in zebrafish (*Danio rerio*). *J Immunol Res* 215: 515-517.

Ruiz P, Poblete M, Yáñez AJ, Irgang R, Toranzo AE y Avendaño-Herrera R. (2015) Cell-surface properties of *Vibrio ordalii* strains isolated from Atlantic salmon *Salmo salar* in Chilean farms. *Dis Aquat Org* 113: 9-23.

Avendaño-Herrera R, Houel A, Irgang R, Bernardet JF, Godoy M, Nicolas P y Duchaud E. (2014) Introduction, expansion and coexistence of epidemic *Flavobacterium psychrophilum* lineages in Chilean fish farms. *Vet Microbiol* 170: 298-306.

Avendaño-Herrera R, Balboa S, Castro N, González-Contreras A, Magariños B, Fernández J, Toranzo AE y Romalde JL. (2014) Comparative polyphasic characterization of *Streptococcus phocae* strains with different host origin and description of the subspecies *Streptococcus phocae* subsp. *salmonis* subsp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 1775-1781.

Avendaño-Herrera R, Ceballos C, Ramírez L, Poblete-Morales M y Irgang R. (2014) *Flavobacterium chilensis* and *Flavobacterium spartansii*, two novel non-pathogenic species to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) obtained from «Rio Branco» fish farm in Chile. *Bull Eur Assoc Fish Pathol* 34: 130-137.

Avendaño-Herrera R, Maldonado JP, Tapia-Cammas D, Feijóo CG, Calleja F y Toranzo AE. (2014) PCR protocol for detection of *Vibrio ordalii* by amplification of the *vohB* (hemolysin) gene. *Dis Aquat Org* 107: 223-234.

Avendaño-Herrera R, Suarez R, Lazo E, Bravo D, Llegues KO, Romalde JL y Godoy MG. (2014) Genome sequence of *Streptococcus phocae* subs. *salmonis* strain C-4T, isolated from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Genome Announc* 2(6): e01269-14.

Yáñez AJ, Valenzuela K, Matzner C, Olavarría V, Figueroa J, Avendaño-Herrera R y Cárcamo JG. (2014) Broth microdilution protocol for minimum inhibitor concentration (MIC) determinations of the intracellular salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* to florfenicol and oxytetracycline. *J Fish Dis* 37: 505-509.

Godoy MG, Kibenge MJT, Suarez R, Lazo E, Heisinger A, Aguinaga J, Bravo D, Mendoza J, Llegues KO, Avendaño-Herrera R, Vera C, Mardones F y Kibenge FSB. (2013) Infectious salmon anaemia virus (ISAV) in Chilean Atlantic salmon (*Salmo salar*) aquaculture: emergence of low pathogenic ISAV-HPRO and re-emergence of virulent ISAV-HPRDelta: HPR3 and HPR14. *Virology* 10: 344.

Barbier P, Lunazzi A, Fujiwara-Nagata E, Avendaño-Herrera R, Bernardet J-F, Touchon M y Du-

chaud E. (2013) From the *Flavobacterium* genus to the phylum Bacteroides: genomic analysis of dnd gene clusters. FEMS Microbiol Lett 348:26-35.

Yáñez AJ, Silva H, Valenzuela K, Pontigo JP, Godoy M, Troncoso J, Romero A, Figueroa J, Carcamo JG y Avendaño-Herrera R. (2013) Two novel blood-free solid media for the culture of the salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis*. J Fish Dis 36: 587-591.

Hedrerera MI, Galdanes JA, Jimenez-Reyes MF, Reyes AE, Avendaño-Herrera R, Romero J y Feijóo CG. (2013) Soybean meal induces intestinal inflammation in zebrafish larvae. PLoS One 8 (7): e69983.

Yáñez AJ, Godoy MG, Gallardo A y Avendaño-Herrera R. (2013) Identification of *Streptococcus phocae* strains associated with mortality of Atlantic salmon

(*Salmo salar*) cultured at low temperature in Chile. Bull Eur Assoc Fish Pathol 33: 58-63.

Poblete-Morales M, Irgang R, Henríquez-Núñez H, Toranzo AE, Kronvall G y Avendaño-Herrera R. (2013) *Vibrio ordalii* antimicrobial susceptibility testing – Modified culture conditions required and tentative epidemiological disk test cut-off values. Vet Microbiol 165: 434-442.

Patología Microbiana y Diagnóstico en Acuicultura

José Agustín Guijarro



Universidad de Oviedo-Facultad de Medicina-Dpto. Biología Funcional-Microbiología. C/ Julián Clavería, 6, 33006 Oviedo



Foto de grupo.

Grupo de Patología y Diagnóstico en Acuicultura (de izquierda a derecha): Desirée Cascales, Ana Isabel García, José Agustín Guijarro y Jessica Méndez.

Tras una trayectoria inicial en la investigación de diversos aspectos relacionados con el ciclo de vida de especies del género *Streptomyces*, en el año 1997 José Agustín Guijarro Atienza materializó su interés en la acuicultura, y más concretamente en las infecciones bacterianas que ocasionan importantes pérdidas económicas en el sector, con la formación del grupo Patología Microbiana y Diagnóstico en Acuicultura adscrito al Departamento de Biología Fun-

cional de la Universidad de Oviedo. Así, en colaboración con el SERIDA, concretamente con el Laboratorio de Sanidad Animal de Jove, inició una línea de investigación sobre patología infecciosa de salmónidos cuyo eje ha sido el estudio de tres importantes bacterias patógenas: *Flavobacterium psychrophilum* causante de la Enfermedad del agua fría (CWD), *Yersinia ruckeri*, agente causal de Yersiniosis o ERM y *Lactococcus garvieae* responsable de la lactococosis.

En este ámbito los trabajos de investigación del grupo se han centrado en dos líneas principales. Por un lado el desarrollo pionero de sistemas de diagnóstico basados en ensayos Taq-man de gran utilidad para el diagnóstico de la CWD y de una PCR múltiple que permitió identificar en muestras naturales, además de *F. psychrophilum*, otros patógenos como *Y. ruckeri* y *Aeromonas salmonicida*. El desarrollo de esta metodología que ha sido implementada en laboratorios de diagnóstico