



XVIII Congreso Nacional de ACUICULTURA

2022 Del 21 al 24 de
Noviembre

Palacio de Congresos de Cádiz
"Acuicultura: mares y ríos de oportunidades"

Libro de resúmenes

SEA
SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
ACUICULTURA



Libro de resúmenes del

XVIII Congreso Nacional de

ACUICULTURA

“Acuicultura: mares y ríos de oportunidades”

CÁDIZ

Del 21 al 24 de Noviembre 2022

Editores: Juan Antonio Martos-Sitcha, Manuel Yúfera, Juan Miguel Mancera e Ismael Jerez-Cepa
Año de Publicación: 2022
ISBN: 978-84-09-46240-7

Actividad inmunomoduladora y antiviral del Propil Propano Tiosulfinato, un compuesto derivado de la cebolla, frente a betanodavirus

Patricia Moreno (Universidad de Málaga), Alberto Baños-Arjona (DMC Research Center, Granada), M. Carmen Alonso (Universidad de Málaga), Esther García Rosado (Universidad de Málaga), Julia Béjar Alvarado (Universidad de Málaga)

Abstract

The organosulphur compounds from *Allium* plants, such as propyl-propane-thiosulfinate (PTS), are included as functional additives in animal feeds due to their antimicrobial properties. However, their antiviral activity has not been characterized. In this study, the ability of PTS to modulate the transcription of several antiviral genes, as well as its antiviral activity against nervous necrosis virus (NNV), one of the main viral pathogens in Spanish aquaculture, has been evaluated *in vitro*. Results show that PTS stimulates the transcription of the immunogenes *mx*, *tlr3*, *e3* and *hsp70*. Furthermore, PTS increases the survival rate of NNV-infected cells and decreases the yield of infective viral particles. Therefore, PTS shows immunomodulatory activity, protecting cells from NNV.

Resumen

Los compuestos organosulfurados de las especies del género *Allium*, como el PropilPropano Tiosulfinato (PTS), se utilizan como aditivos funcionales en alimentación animal por sus propiedades antimicrobianas. Sin embargo, su actividad antiviral no ha sido caracterizada. Este trabajo evalúa *in vitro* la capacidad de este compuesto de modular la transcripción de genes implicados en la defensa frente a infecciones víricas, así como su actividad antiviral frente al virus de la necrosis nerviosa viral (NNV), uno de los virus más relevantes para la acuicultura española. Los resultados indican que PTS estimula la transcripción de los inmunogenes *mx*, *tlr3*, *e3* y *hsp70*. Además, la presencia de PTS aumenta la supervivencia de las células infectadas por NNV, y disminuye el número de partículas víricas que se generan. Por tanto, PTS presenta un efecto inmunomodulador y protector frente a NNV.

Introducción

Los compuestos organosulfurados que contienen las especies del género *Allium*, entre los que se encuentra el PropilPropano Tiosulfinato (PTS), suscitan mucho interés en acuicultura por sus propiedades antimicrobianas (Kyung, 2012). Su actividad bactericida está bien documentada, y de hecho se utilizan como suplemento de piensos para diferentes especies de mamíferos, aves y, recientemente, también peces (Guillamón, 2021). Sin embargo, los estudios sobre su actividad antiviral son escasos.

En este trabajo se ha evaluado *in vitro* la actividad inmunomoduladora de PTS, así como su actividad antiviral frente al virus de la necrosis nerviosa (NNV), el agente etiológico de la retinopatía y encefalopatía viral. Esta enfermedad afecta a un amplio rango de especies marinas y dulceacuícolas a nivel mundial, destacando su efecto en las principales especies de la acuicultura española: la lubina (*Dicentrarchus labrax*), la dorada (*Sparus aurata*) y el lenguado senegalés (*Solea senegalensis*) (Bandín y Souto, 2020).

Material y métodos

La línea celular E11 se cultivó en su medio habitual (10% de suero) a 20°C. El virus SpDI_IAusc965.09, perteneciente a la especie RGNNV y aislado de lubina, se propagó y tituló en las células E11, a 25°C, según el método de la dosis infectiva 50 (TCID₅₀). Para evaluar la actividad inmunomoduladora de PTS, las células E11 se trataron con este compuesto a una concentración de 10µM, recogiendo a las 6, 24, 48 y 72 h del inicio del tratamiento. A partir de estas células se llevó a cabo la cuantificación de la transcripción de los genes del sistema inmune *e3*, *tlr3*, *mx* y *hsp70* mediante PCR cuantitativa (PCRq). Para evaluar la actividad antiviral de PTS se realizaron tres ensayos: i) Neutralización: se incubó 1 h el PTS (10µM) junto al virus (0,05 MOI). Esta mezcla se añadió a las células E11 durante 1 h (adsorción viral); se retiró la mezcla y las células se incubaron en medio de mantenimiento (2% de suero); ii) Tratamiento pre-adsorción: las células se incubaron con PTS (10µM) 1 h, se retiró el medio con PTS y se añadió el virus (0,05 MOI) 1 h (adsorción), se retiró el medio con el virus y se incubaron las células en medio de mantenimiento; y iii) Tratamiento post-adsorción: las células se infectaron con el virus (0,05 MOI) durante 1 h (adsorción), se retiró el medio con el virus y las células se incubaron en medio de mantenimiento con PTS (10µM).

La supervivencia celular se evaluó a los 7 días de la infección mediante el ensayo colorimétrico de MTT. Además, se cuantificó mediante PCRq el genoma viral a las 24, 48 y 72 h de la infección, y se determinó el número de partículas víricas infectivas en el sobrenadante de las células a las 72 h de la infección.

Resultados y discusión

PTS aumenta la transcripción de los cuatro genes testados. El gen que mostró una estimulación más temprana (6 h) es *mx*, mientras que *tlr3* y *e3* se inducen de forma significativa a las 24 h del tratamiento y *hsp70* a las 48 h. Por tanto, PTS tiene actividad moduladora sobre genes del sistema inmune antivirico en células E11, incluyendo genes con actividad antiviral directa, como *mx*, o genes clave en la inducción de la respuesta inmune innata, como *tlr3*.

En cuanto a la capacidad de PTS de proteger a las células frente a la infección por RGNNV, el ensayo de neutralización y el tratamiento pre-adsorción no dieron resultados positivos. Sin embargo, en los ensayos de post-adsorción la supervivencia de las células infectadas fue significativamente mayor en presencia que en ausencia de PTS. De hecho, la supervivencia en las células tratadas con PTS fue similar a la de los controles sin infectar (Figura 1A), lo que indica que PTS protege a las células frente a la infección por RGNNV.

La replicación del virus se analizó por tanto, solo en el ensayo de post-adsorción. En cuanto a la replicación de genoma viral, las diferencias entre los controles y las células tratadas con PTS no fueron significativas, por lo que la síntesis de genoma viral no parece verse afectada por la presencia del compuesto. En cambio, sí se registraron diferencias significativas en el número de partículas víricas infectivas entre ambos grupos experimentales (Figura 1B), lo cual indica que el PTS afecta al ensamblaje de las partículas víricas, haciendo que su número se reduzca.

Por tanto, la inclusión de PTS en el pienso de las especies susceptibles a RGNNV podría tener un efecto beneficioso en la lucha frente a este virus en acuicultura.

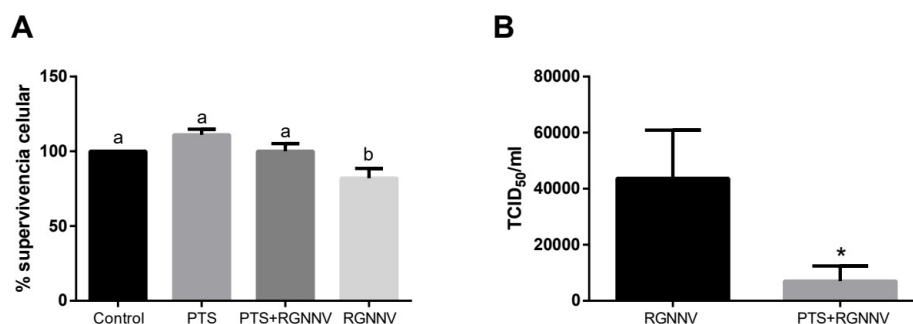


Figura 1. Actividad antiviral postadsorción de PTS. A) Supervivencia de células control sin tratar, tratadas con PTS, infectadas con RGNNV y posteriormente tratadas con PTS o solo infectadas con RGNNV; B) Título viral a las 72 h de la infección con RGNNV en células control (negro) y tratadas con PTS (gris).

Bibliografía

Bandín, I., S. Souto. 2020. Betanodavirus and VER Disease: A 30-year Research Review. *Pathogens*. 9: 106.

Guillamón, E., P. Andreo-Martínez, N. Mut-Salud, J. Fonollá, A. Baños. 2021. Beneficial Effects of Organosulfur Compounds from *Allium cepa* on Gut Health: A Systematic Review. *Foods*, 10, 1680.

Kyung, K.H. 2012. Antimicrobial properties of *Allium* species. *Current Opinion in Biotechnology*, 23: 142-147.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el Proyecto de Excelencia P18-RT-1067 y por el proyecto FEDER UMA20-FEDERJA-020, ambos de la Junta de Andalucía.