

T  
638.543  
MON.

ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DEL LITORAL

INSTITUTO DE TECNOLOGIAS

PROGRAMA DE TECNOLOGIA EN ALIMENTOS

INFORME DE PRACTICAS PROFESIONALES

Previo a la obtención del título de  
TECNOLOGO EN ALIMENTOS

REALIZADO EN: LABORATORIO DE LARVA DE CAMARON  
MACROBIO S.A.

AUTOR: VERONICA MONJE Q.

Profesor guía: Tecnólogo Gustavo Uribe L.



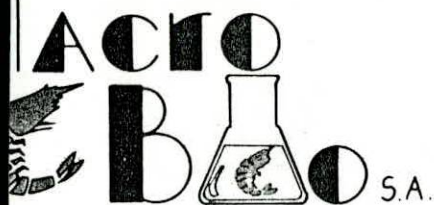
AÑO LECTIVO

1991 - 1992

GUAYAQUIL - ECUADOR

2da REVISIÓN :

Yanilda Reyes Lopez -  
aprobado.



C E R T I F I C A D O

POR MEDIO DE LA PRESENTE CERTIFICO QUE LA SRTA. VERONICA MONJE Q. LABORA PARA NUESTRA COMPAÑIA ( LABORATORIO DE LARVAS DE CAMARON "MACROBIO S.A."), COMO AYUDANTE EN EL DEPARTAMENTO DE BACTERIOLOGIA DESDE FEBRERO 14/91 HASTA LA PRESENTE FECHA. (JUN. 25/91).

AUTORIZO PARA QUE LA INTERESADA HAGA USO DE ESTE CERTIFICADO COMO CONSIDERE CONVENIENTE.

ES TODO LO QUE PUEDO CERTIFICAR EN HONOR A LA VERDAD.

ATENTAMENTE,

  
MACROBIO S.A.  
ALEJANDRO AGUILAR G.  
Jefe/PRODUCCIÓN

Guayaquil, 12 de julio de 1.991.

Tecnóloga  
Katya Santistevan Ch.  
COORDINADORA DEL PROGRAMA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
Ciudad.

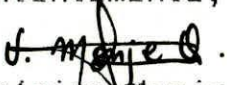
De mis consideraciones

La presente tiene por objeto presentar ante usted, el informe correspondiente a las PRACTICAS PROFESIONALES, que realicé en el Laboratorio de larva de camarón MACROBIO S.A. ubicado en Aguangel Chico, a 3 Km. de Ayangue.

Este trabajo contiene información, que espero sirva de aporte tanto para los estudiantes de tecnología en alimentos, como para otras personas interesadas.

Esperando cumplir los requisitos reglamentarios, quedo de usted muy agradecida.

Atentamente,

  
Verónica Monje Q.

## INDICE

|                                                                                                         | PAG. |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| RESUMEN .....                                                                                           | 1    |
| INTRODUCCION .....                                                                                      | 2    |
| DETALLE DEL TRABAJO REALIZADO .....                                                                     | 3    |
| DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO .....                                                                     | 4    |
| DESCRIPCION DE LOS PUNTOS, PARAMETROS DE CONTROL,<br>FRECUENCIA Y OBJETIVOS DEL MISMO EN EL PROCESO ... | 5    |
| DESCRIPCION DE LOS ANALISIS .....                                                                       | 13   |
| - FUNDAMENTOS                                                                                           |      |
| - TECNICAS                                                                                              |      |
| - CALCULOS                                                                                              |      |
| ASPECTOS GENERALES DE LA EMPRESA .....                                                                  | 24   |
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....                                                                    | 27   |
| BIBLIOGRAFIA .....                                                                                      | 29   |
| ANEXOS .....                                                                                            | 30   |



## RESUMEN

Este informe expuesto a continuación fue desarrollado en base a las PRACTICAS PROFESIONALES realizadas en el laboratorio de larvas de camarón MACROBIO S.A.

El mismo trabajo consta de una breve descripción del proceso de producción de larvas y de los factores que se deben controlar durante el desarrollo larvario, estos son: temperatura, oxígeno, alimentación, actividad de la larva y el uso de antibióticos. Este último factor es controlado por el Departamento de Microbiología, que es en donde me desenvolví como practicante, por lo que de una manera más detallada describo las actividades realizadas en éste tales como: análisis de determinación de vibrios en Agar TCBS, que tiene gran importancia debido a la patogenicidad de los vibrios en especies marinas, y realización de pruebas con diferentes antibióticos utilizados; el uso adecuado de éstos conducirá a mantener una larva sana y por lo tanto a un elevado porcentaje de sobrevivencia, lo que constituye justamente una de las principales metas de la larvicultura.

Finalmente mediante las conclusiones y recomendaciones expondré mi criterio sobre otros pormenores.

## INTRODUCCION

En los últimos años se ha producido un gran desarrollo de la industria camaronera, lo que ha conducido a una elevada demanda de larvas de camarón, estableciéndose numerosos laboratorios dedicados a la producción de post-larvas con el fin de garantizar los sistemas productivos de las camaroneras.

Uno de los principales objetivos de dichos laboratorios es llegar a criar la mayor cantidad de larvas de camarón con el menor porcentaje de mortalidad posible, es aquí donde adquiere mucha importancia el área de microbiología, pues su labor consiste en determinar el grado de contaminación existente en los diferentes estadios larvarios y establecer los antibióticos y las cantidades utilizadas para combatir los microorganismos que más tarde podrían ser causantes de enfermedades en la larva y por consiguiente de la mortandad.

Un adecuado control microbiológico y de los factores ambientales asegurará una producción con un alto índice de supervivencia de larvas lo que significa ganancias y mejoras para la empresa.

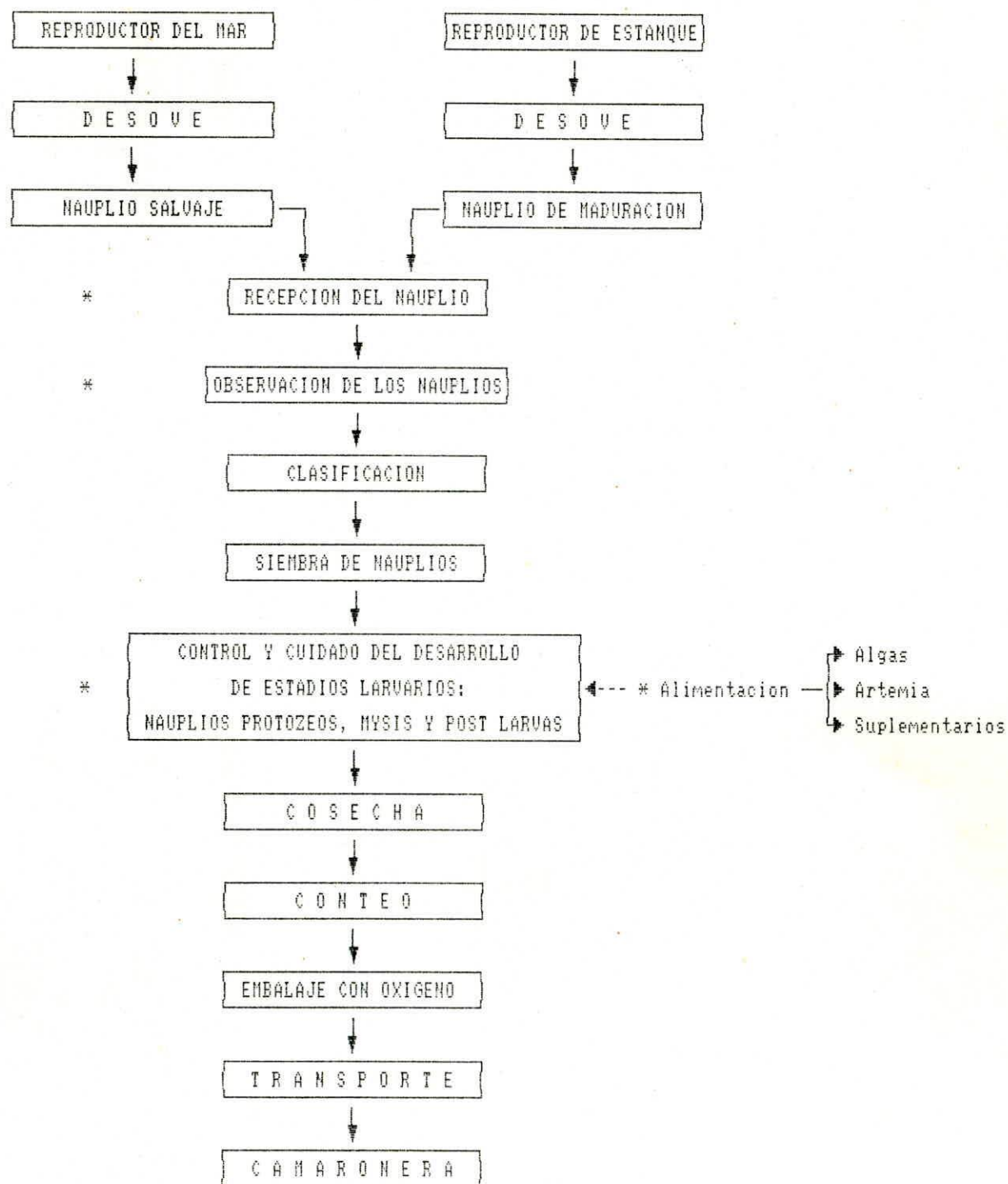
## DETALLE DEL TRABAJO REALIZADO

Mi función en el laboratorio de larvas MACROBIO S.A. fue específicamente en el área de microbiología como asistente del jefe del departamento, la labor que realicé principalmente consiste en tomar muestras, realizar los análisis para la determinación de vibrios, tanto del macerado de larvas como del agua de los tanques, conteo de placas, observación de bacterias luminiscentes, esterilización del material utilizado y análisis de los resultados finales obtenidos para establecer el tipo de antibiótico a usar diariamente.

Estas actividades las realicé en horario de 8h00 a 16h00 durante 3 meses en calidad de practicante, recibiendo una ayuda económica de 50.000 sucres más alimentación y vivienda.

# DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO EN GENERAL

4





DESCRIPCION DE LOS PUNTOS, PARAMETROS DE CONTROL  
FRECUENCIA Y OBJETIVOS DEL MISMO

La producción de larvas de camarón consiste en sí en proporcionar todas las condiciones óptimas para el buen desarrollo de la larva, desde su primer estadio, después de la eclosión del huevo, hasta obtener post-larvas sanas y de buen tamaño, listas para ser entregadas a las camaroneras. Generalmente la especie de camarón más utilizada para este fin es el *PENAEUS VANNAMEI* debido a su adecuado tamaño y a no presentar mayores dificultades durante su cultivo. Aunque también en otras ocasiones se ha experimentado con camarones de la especie *PENAEUS STYLIROSTRIS* que alcanzan un gran tamaño pero que presentan la desventaja de devorarse unos a otros en ciertas ocasiones, por la cual no suele utilizarse esta última especie.

El proceso dentro del laboratorio, se inicia en sí con la recepción de los nauplios (primer estadio larvario) los mismos que pueden ser: nauplios salvajes que se obtienen del desove de hembras grávidas o preñadas, provenientes del mar y que se adquieren de diferentes proveedores particulares; y nauplios de maduración que son el resultado de una inseminación artificial en camaroneras reproductoras (nombre que reciben las hembras que encuentran sexualmente maduras), a las cuales se les realiza una ablación (corte) en un ojo y se les extrae la hormona sinus-X que es la encargada de regular la actividad sexual, esto se hace con el fin de acelerar la copulación y por lo tanto producir desoves más seguidos; obteniendo así mayor cantidad de nauplios. El departamento de maduración es el encargado de realizar todo este proceso.



## RECEPCION DE NAUPLIOS

Los nauplios utilizados en el laboratorio generalmente son nauplios salvajes ya que estos presentan cierta ventaja con respecto a los nauplios de maduración en cuanto al tamaño se refiere, pues son más desarrollados, es justamente por ello que únicamente cuando hay escasez de nauplios salvajes el laboratorio siembra los de maduración, el resto del tiempo se los suele vender a los laboratorios que así lo requieran.

Los nauplios llegan al laboratorio en fundas con agua y oxígeno dentro de cajas de cartón selladas, cada caja contiene aproximadamente 300.000 nauplios; una vez abiertas se procede a colocar el contenido de las fundas en baldes de 20 litros de capacidad.

En este paso del proceso se realiza un control microbiológico de mucha importancia, que permitirá conocer el grado de contaminación y por consiguiente el estado en que se encuentran los nauplios. Se toma muestras de los nauplios de cada proveedor y se realiza un análisis del agua en la que llegaron los nauplios y de un macerado de los mismos, para determinar vibrios en agar TCBS (agar con thiosulfato, citrato, sales biliosas y sucrosa).

## OBSERVACION

Es una observación primero visual y luego al estereomicroscopio de los nauplios para determinar su estadio, comprobar que se encuentran íntegros, que no presentan ningún tipo de lesiones o necrosis; también se observa la cantidad de nauplios que se fondean pues esa tendencia a ir al fondo caracteriza a los animales débiles.

### CONTEO Y LAVADO DE NAUPLIOS

Una vez que se tiene los nauplios en baldes de 20 litros se procede a tomar con una pipeta una muestra de 1 ml. y se cuenta cuantos nauplios hay en ese volumen y finalmente se obtiene una relación entre los nauplios por mililitro y el volumen total recibido; así se logra determinar la cantidad de nauplios comprada.

Luego de que los nauplios han sido contados se continúa con una aclimatación y lavado, este lavado dura 20 minutos con agua a temperatura de 29 °C; el lavado se realiza con una solución de yodo al 0,1 ppm. Después de este lavado se vuelve a realizar un control microbiológico para determinar cuan eficaz ha sido el tratamiento con yodo para reducir la cantidad de microorganismos.

### CLASIFICACION

Se coloca a los nauplios en tanques de desove con agua y aireación, se tapa los tanques y se los deja reposar durante 4 horas esto se hace con la finalidad de que los animales descansen y que los nauplios débiles se fondeen para luego proceder a clasificación.

El tanque de desove tiene en el centro un tubo de PVC que en su parte central posee una lámina blanca, en la cual se refleja la luz proveniente de una lámpara que se encuentra en la parte superior del tanque, los nauplios por poseer fototaxismo positivo siguen la luz reflejada, caen dentro del tubo y son recibidos en la parte inferior del tanque en una especie de cascos, de esta manera solo los nauplios que se encontraban en buen estado y no se fondearon serán recosechados.

### SIEMBRA EN TANQUES

Los nauplios recosechados son colocados en tanques a una densidad de 100 nauplios por litro con agua a 29°C hasta el 30% de su capacidad, poco a poco durante su crecimiento se irá subiendo el nivel del agua; cada tanque posee su sistema de aireación. Generalmente antes de sembrar los nauplios se añade al agua de los tanques el alimento; que al inicio es fitoplancton en una cantidad de 40.000 células por litro.

### CONTROL Y CUIDADO DEL DESARROLLO DE ESTADIOS LARVALES

Este es el paso más importante y fundamental de todo el proceso ya que un adecuado control de el desarrollo de los animales conducirá a un bajo porcentaje de mortalidad.

La larva pasa por 4 estadíos (VER ANEXO 1) antes de llegar a convertirse en juvenil, éstos son en el orden respectivo: Nauplio 1, 2, 3, y 4; protozoea 1, 2 y 3; Mysis 1, 2, y 3 y finalmente post-larva que es como se entrega a las camaroneras; en cada una de estas etapas la larva presenta diferentes características y requiere un seguimiento e inspección minuciosas.

Son varios los factores que deben controlarse durante los diferentes estadíos larvales; entre los más importantes están:

- La temperatura del agua de los tanques que debe oscilar entre los 26 a 30 °C.



- La aireación de cada tanque, ya que esto a más de proveer el Oxígeno necesario, permite la circulación del agua y mantiene los materiales alimenticios en suspensión.
  
- La alimentación de cada estadio; durante el primer estadio (nauplio 1, 2, 3 y 4) el animal no ingiere alimentos pues posee reserva de lípidos y subsiste en su propia yema; el siguiente estadio es Protozoa y la alimentación consiste en fitoplancton (algas) y alimentos suplementarios, (micro encapsulados); la etapa de Mysis aún se alimenta de fitoplancton y alimentos suplementarios pero se añade a su dieta zooplancton (artemia salina), finalmente a partir de post larva el animal no ingiere fitoplancton y se alimenta únicamente de zooplancton y suplementarios.
  
- Otro factor es el aspecto de la larva en sí, esto se controla observándola al microscopio, visualizando principalmente la actividad de la larva (movimiento), presencia de hongos o protozoos y necrosis.

La observación de la larva al microscopio también nos permite conocer el estadio en el que se encuentra y realiza mediciones de su cuerpo, esto es importante para detectar la presencia de enanismo o deformidades.

- La presencia de enfermedades causadas por microorganismos en las larvas se controla con el uso de antibióticos; un factor de gran importancia del cual se encarga el departamento de microbiología es el de determinar el tipo y la cantidad de antibióticos a utilizar. Para ello diariamente se muestrea cada tanque de larvas para realizar análisis de vibrios, debido a la elevada patogenicidad, que estos presentan en animales marinos y específicamente en larvas de camarón. Se realiza pruebas con diferentes antibióticos en



placas con agar TCBS para determinar cual tiene mejor acción en el animal y de acuerdo a los resultados obtenidos en la placa se establece los antibióticos o mezcla de antibióticos que se usará ese día y su cantidad. Los antibióticos más usados son: furazolidon, cloranfenicol, citromicina, oxitetraciclina y neomicina en cantidades que van desde 0,4 hasta 7 ppm.

El control microbiológico también se realiza a los alimentos que ingieren las larvas con la finalidad de evitar contaminaciones elevadas de los mismos que más tarde afectan a las larvas.

#### COSECHA

Cuando las larvas han llegado al estadio de post-larva 12, aproximadamente, se procede a la cosecha, la misma que se inicia con el descenso del nivel del agua del tanque luego se abre la válvula de drenaje para permitir la salida de los animales y estos son colocados en baldes de 10 litros de capacidad.

#### CONTEO

Para conocer el porcentaje de mortalidad de las larvas y la cantidad de animales que se van a vender se realiza un conteo, tomando 100 ml. de alícuota de cada balde de 10 litros, luego se mezclan todas estas alícuotas en un balde y se vuelve a sacar 100 ml. finalmente se cuenta la cantidad de larvas en ese volumen y se saca una relación con el volumen total.

## EMBALAJE

Las larvas de camarón antes de ser embaladas deben ser enfriadas desde los 26 a 28 °C hasta que se encuentre a 22 °C aproximadamente, esto se hace cuando el destino de las larvas es distante con la finalidad de reducir la razón metabólica y por lo tanto se reduzca el consumo de oxígeno. Luego las larvas son colocadas en cubetas que contienen agua de mar limpia y finalmente se embalan en fundas plásticas con oxígeno que se ponen en cajas de cartón cerradas y listas para ser transportadas.

## TRANSPORTE

Es importante que durante la cosecha, embalaje, transporte y descarga se evite el manipuleo y maltrato excesivo del animal ya que la larva puede estresarse (tensión larval), lo que la debilita enormemente.

El transporte terrestre es el más utilizado cuando se trata de distancias cortas en las que las descargas se realizan en menos de 10 horas.

Las cosechas, embalaje y transporte de las larvas generalmente se realiza en las noches, esto se debe a que la temperatura es inferior y esto favorece al buen mantenimiento de las larvas, en tanto que durante el día se tendría que usar transporte refrigerado.

Finalmente las larvas llegan hasta su destino a la camaronera en donde serán sometidas a un nuevo proceso de desarrollo hasta convertirse en camarones.

DESCRIPCION DE LOS ANALISIS REALIZADOS: FUNDAMENTO,  
TECNICA, CALCULO Y PREPARACION DE REACTIVOS

GENERALIDADES.-

En el Departamento de Microbiología del Laboratorio de larvas de camarón MACROBIO S.A. se realiza en la actualidad únicamente determinación de vibrios, esto se debe a la importancia que tiene esta especie de microorganismos en las enfermedades de animales marinos, específicamente larvas de invertebrados, presentando graves problemas de mortalidad razón por la cual se consideran altamente patógeno.

Los vibrios son bacilos gram negativos, facultativos anaerobios que no poseen requerimientos nutricionales exigentes para su desarrollo, son halófilos, se desarrollan mejor a pH alcalino, poseen metabolismo oxidativo y fermentativo.

Los vibrios más asociados a procesos infecciosos son: el vibrio parahaemolyticus, vibrios alginolyticus y vibrios luminiscentes, este último conocido también como vibrio harveyi.

La bacteria luminiscente o vibrio harveyi, cuya principal característica es la emisión de luz, es la más temida en la industria de larvas de camarón, ya que presenta elevados índices de mortandad y es relativamente poco lo que se conoce sobre ella.

Hasta el momento su presencia ha sido combatida con el uso de antibióticos, aunque en ciertos casos no se ha logrado la eficacia esperada.



La bacteria luminiscente produce enzimas proteasas que tienen la capacidad de hidrolizar las proteínas. Las larvas en sus diferentes estadios poseen un metabolismo muy acelerado, en el cual las proteínas cumplen un papel importantísimo. Al actuar las proteasas sobre la proteína de la larva se produce un resultado catastrófico, la muerte del animal lo que se traduce en grandes pérdidas.

#### DETERMINACION DE VIBRIOS EN AGAR TCBS.

##### FUNDAMENTO:

Se basa en la siembra de las muestras (tanto de larvas de camarón como del agua de los tanques de larvas) en un medio de cultivo selectivo, como lo es el agar TCBS en donde únicamente crecerán especies de vibrios.

La selectividad del medio TCBS (agar con thiosulfato, citrato, Bilis y SUCROSA) se debe a la presencia de sales biliosas en descomposición, las mismas que inhiben las bacterias gram positivas, desarrollándose, así vibrios por ser gram negativos y en ciertas ocasiones flora bacteriana de acompañamiento como *Escherichia coli* y *Pseudomonas* que se reconocen por la coloración y el aspecto.

Las colonias de vibrio alginolyticas fermentan la sacarosa presente en el medio de cultivo produciendo acidez y al variar el pH el indicador azul de bromotimol actúa formando colonias de color amarillo.

En tanto que el vibrio parahaemolyticus no fermenta el azúcar y al no variar el pH se forman colonias verdes azuladas en 1 a 2 mm. de diámetro.

En cuanto al vibrio luminiscente realmente es muy poca la aportación científica existente, en ocasiones cuando hay en las placas mucha contaminación con vibrios parahaemolyticas, estos presentan cierta tendencia a brillar, aunque no siempre se comportan de esta manera esta observación puede ser valiosa para el análisis de los resultados finales.

### TECNICA UTILIZADA

#### RECuento EN PLACAS CON AGAR TCBS.

Para determinar vibrios en placas con agar TCBS, se cumplen los siguientes pasos:

- Se prepara el agar TCBS (VER ANEXO 2) y se vierte aproximadamente de 10 a 15 ml. del medio en cada caja petri.
- Se deja solidificar el medio de cultivo y se procede a la siembra de muestras.

#### SIEMBRA DE MUESTRAS DE AGUA DE LOS TANQUES:

- Se toma muestra del agua de cada tanque de larvas.
- Se realizan las respectivas diluciones de las muestras, que varían de acuerdo a el grado de contaminación de la placa del día anterior; por lo general se hacen 2 diluciones: 1:10 y 1:100
- Con la mayor asepsia posible se toma con una pipeta estéril 0,2 ml. del tubo de la muestra diluida y se coloca en la caja petri que contiene el medio de cultivo solidificado.
- Se homogeniza la muestra sembrada.
- Luego se coloca las cajas petri en una caja de madera, previamente esterilizada con alcohol, junto al mechero con la finalidad de que la muestra se seque en el menor tiempo posible.
- Finalmente se invierten las cajas y se los incuban a temperaturas de 30 a 32 °C por 18 a 24 horas.

#### SIEMBRA DE MUESTRAS DE LARVAS:

- Se muestrea cada uno de los tanques de larvas, observando que en cada tubo muestreado haya la suficiente cantidad de larvas para macerar.

- Luego, una vez desinfectado el lugar donde se va a sembrar se procede a pasar la muestra a través de unas mallas, usando diferentes diámetros de malla (100, 200, 300 y 400 micras) de acuerdo al estadio en el que se encuentra la larva.
- Posteriormente se enjuaga las larvas retenidas en la malla, con agua salada estéril, para eliminar impurezas que se hayan quedado en la larva provenientes del agua de los tanques.
- Se continúa con el macerado de las larvas, que en el laboratorio por falta de instrumentos necesarios se realiza de una manera improvisada. Se coloca la malla que contiene las larvas en la base de una caja petri y con la ayuda de un recipiente de vidrio, previamente flameado, se macera totalmente la larva.
- Luego se coloca 9 ml. de agua estéril sobre las larvas maceradas obteniendo así una dilución 1:10.
- Se homogeniza la muestra y con una pipeta estéril se toma 0,2 ml. para colocarlos en la caja petri que contiene el medio de cultivo solidificado.
- Se colocan las cajas petri a secar junto al mechero, en una caja de madera previamente desinfectada con alcohol, durante 30 minutos.
- Finalmente las cajas invertidas son incubadas a 30 - 32 °C por 18 a 24 horas.



### SIEMBRA DE MUESTRAS DE ALIMENTO PARA LARVAS

- Para el análisis de las muestras de algas y artemia, que constituyen el principal alimento de las larvas se procede de la misma manera que para la siembra de agua de los tanques, variando únicamente en el número de diluciones.

La artemia por tener un mayor grado de contaminación es sembrada en diluciones 1:10.000 e inclusive de 1:100.000, en tanto que las algas por ser cultivadas en un medio de gran asepsia no requieren diluirse para ser sembradas pues no presentan mayor contaminación.

### SIEMBRA DE MUESTRAS DE MAR Y CISTERNA

El análisis de estas muestras es muy importante, ya que toda el agua utilizada para los tanques de larvas en agua proveniente del mar que fue bombeada y previo paso por el UV. (fuente de luz ultravioleta) fue almacenada en la cisterna, es por ello que estos análisis van a determinar más tarde el estado microbiológico de los tanques de larvas.

La siembra de estas muestras se realiza de igual manera que la de el agua de los tanques de larvas, diferenciándose únicamente en que, tanto en la muestra de mar como en la de cisterna, se siembra 0,5 ml. sin diluir la muestra.

### PRUEBAS CON ANTIBIOTICOS

Las pruebas realizadas con antibióticos son necesarias para determinar la efectividad de éstos al combatir el crecimiento de bacterias patógenas; estas pruebas permiten establecer si la bacteria es sensible o resistente al antibiótico y en base a ello determinar el tipo de antibiótico que se va a utilizar.

Las pruebas con los diferentes antibióticos se realizan de la siguiente manera:

- Una vez que se ha sembrado la muestra de larvas maceradas en el agar TCBS, de la forma que se indicó anteriormente, se procede a colocar 0,1 ml. del antibiótico en la caja petri, se realiza pruebas hasta con 6 antibióticos diariamente.
- Luego se homogeniza la muestra y el antibiótico en la caja petri, de tal manera que se mezclan íntimamente.
- Se continúa secando las cajas sembradas junto al mechero, en una caja de madera desinfectado durante 30 minutos.
- Se incuba las cajas invertidas a 30 - 32 °C. por 18 a 24 horas.

La concentración de los antibióticos utilizados varía desde 0,4 hasta 7 ppm. dependiendo de: el estadio larval, el grado de contaminación de la larva y de la resistencia que presenten las bacterias frente a los antibióticos utilizados.

Los antibióticos más utilizados por haber producido menos resistencia son: furazolidon, cloranfenicol, tetraciclina, critromicina, neomicina y sulfonamida. En ocasiones en que existe una elevada contaminación en las larvas y estas presentan resistencia a la mayoría de los antibióticos probados se suele usar mezclas de antibióticos, lo que ha dado resultados satisfactorios.

Definitivamente el uso de antibióticos es un instrumento valioso para combatir la aparición de enfermedades en la larva y por lo tanto mantener el porcentaje de mortalidad en los niveles más bajos, ha sido esta situación lo que ha provocado que en los últimos tiempos los laboratorios de larvas de camarón le hayan dado una mayor importancia al área de microbiología.

### CALCULOS Y RESULTADOS

Después de 18 a 24 horas de incubar las placas se procede a su conteo directo, de la siguiente manera:

- De acuerdo al número de colonias que tenga cada caja, este se cuenta directamente o en caso de haber mucho crecimiento se divide la caja en 2, 4, 6 y hasta 8 secciones, se cuenta el número de colonias en una sección y se multiplica este resultado por el número de secciones, obteniendo así el número de colonias por cajas.
- Luego se multiplica el número de colonias de la caja por el factor de dilución y por el número que me permite obtener la respuesta en vibrios por mililitro.

#### EJEMPLO:

- En una caja en la que se sembró 0,2 ml. de una muestra de dilución 1:10 se obtienen los siguientes resultados:

|                                                    |     |
|----------------------------------------------------|-----|
| VIBRIOS ALGINOLYTICUS (amarillos)<br>colonias/caja | 200 |
| VIBRIOS PARAHAEMOLYTICUS<br>colonias/caja          | 50  |
| VIBRIOS LUMINESCENTES<br>colonias/caja             | 2   |



Entonces:

Se multiplica este número de colonias por 10 por ser el factor de dilución (1:10) y como se sembró 0,2 ml de muestra se debe multiplicar por 5 para obtener la respuesta en vibrios por mililitro, de tal manera que:

\* *V. alginolyticus* (amarillos)

$200 \times 50 = 10.000$  vibrios/ml.

\* *V. parahaemolyticus*

$50 \times 50 = 2.500$  vibrios/ml.

\* *V. luminiscentes*

$2 \times 50 = 100$  vibrios/ml.

V = Vibrios.

En el caso de las cajas en la que se realiza pruebas con antibióticos se procede así:

- Se cuenta el número de vibrios *alginolyticus* y el número de vibrios *parahaemolyticus* y luego se calcula el porcentaje del total de vibrios corresponden los vibrios *parahaemolyticus*. Esto nos permite conocer cual de los antibióticos ejerció mejor su acción; teniendo por lo tanto esa caja el menor porcentaje de vibrios *parahaemolyticus*.

EJEMPLO

- Caja con Furazolidona 1 ppm.

VIBRIOS TOTALES = 280 colonias/caja

VIBRIOS ALGINOLYTICUS = 200 colonias/caja

VIBRIOS PARAHAEMOLYTICUS = 80 colonias/caja

VIBRIOS LUMINISCENTES = Ausencia

280 100%

80 x

|                |
|----------------|
| Respuesta: 28% |
|----------------|

- Caja con critromicina 1 ppm

VIBRIOS TOTALES = 400

VIBRIOS ALGINOLYTICUS = 200

VIBRIOS PARAHAEMOLYTICUS = 200

VIBRIOS LUMINISCENTE = Ausencia

400 100

200 x

|               |
|---------------|
| RESPUESTA 50% |
|---------------|

De acuerdo a este resultado el antibiótico más eficaz sería FURAZOLIDONA.

### ASPECTOS GENERALES DE LA EMPRESA

El laboratorio de larvas MACROBIO S.A. se encuentra ubicado a orilla del mar en la zona Aguangel Chico a 3 kilómetros de Ayangue, esta asentado sobre 10 hectáreas de terreno, en el cual se encuentran distribuidos sus diferentes departamentos, la vivienda de los biólogos y el comedor para los obreros.

El departamento de larvas del laboratorio cuentan con 20 tanques para la siembra de nauplios, los mismos que tienen las siguientes capacidades, 4 tanques de 9 toneladas, 12 tanques de 14 toneladas y 4 tanques de 19 toneladas, teniendo un total de 42 toneladas de capacidad instalada.

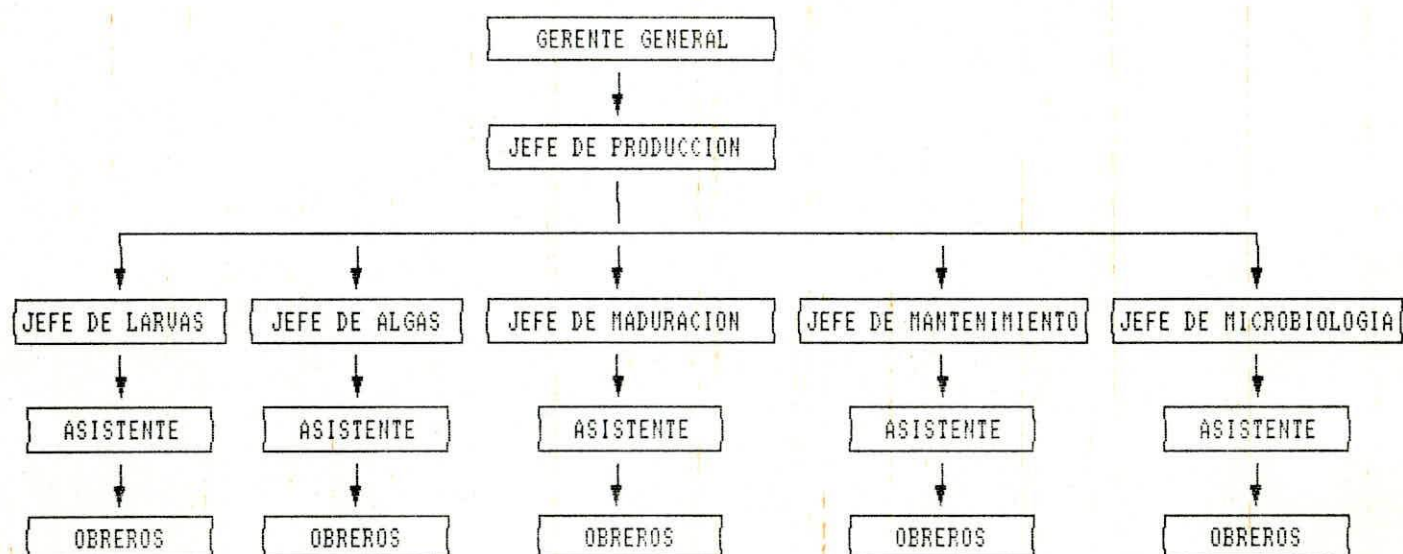
La densidad de siembra es de 100 nauplios por litro lo que equivale a una producción de 23'000.000 de larvas por corrida (cada corrida dura 25 a 30 días) y en ocasiones inclusive se sobrecarga la producción obteniendo hasta 25'000.000 de larvas, sacando un promedio, el laboratorio aprovecha del 90 a 100% de su capacidad instalada.

La empresa MACROBIO S.A. se dedica desde hace 6 años a la actividad de producción de larvas de camarón. Sus propietarios poseen además 3 camaroneras: PESAMAR, POSAMAR Y BIOREY; una empacadora de camarón: EXPALSA S.A. y una fábrica de alimento balanceado: DIMASA, siendo un grupo de accionistas dedicado de manera general a la industria camaronera.

MACROBIO comercializa las larvas que produce con diferentes camaroneiras, tanto pertenecientes al grupo como particulares. Sin embargo el laboratorio no cuenta con un sistema de distribución ya que los encargados de recoger y transportar la larva desde el laboratorio hasta la camaroneira es el personal de la propia empresa camaroneira.



ORGANIGRAMA GENERAL DEL  
LABORATORIO DE LARVAS MACROBIO S.A.



### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

La realización de prácticas profesionales es de gran provecho para el estudiante ya que le permite adquirir mayor experiencia y destreza, al mismo tiempo que lo relaciona con el medio industrial.

El departamento de microbiología en un laboratorio de larvas es un valioso instrumento que permite combatir la mortalidad de la larva, es por eso que en la actualidad se considera imprescindible contar con sus servicios, pues muchos laboratorios han fracasado debido a no contar con este departamento.

La producción de larvas de camarón es un proceso que no depende únicamente del trabajo y control de la mano del hombre sino que se encuentra decisivamente influenciada por el comportamiento del mar. Las diferentes corrientes marinas, la presencia de marea roja y otros fenómenos marinos favorece a las enfermedades y mortalidad de la larva.

Los vibrios son considerados los microorganismos de mayor patogenicidad durante el desarrollo de las larvas de camarón, llegando a producir infecciones internas con índices de mortalidad del 98%.

El departamento de microbiología de MACROBIO S.A. no cuenta con los instrumentos y equipos necesarios para la realización de los análisis, sin embargo el contar con personal preparado que conoce el oficio permite que con adaptaciones e improvisaciones se obtengan resultados de gran eficacia.

Es importante mantener el ambiente en el área de microbiología lo más aséptico posible, a fin de obtener resultados veraces, para ello es recomendable desinfectar por lo menos 2 veces por semana el departamento con una solución de cloro.

Todo el material utilizado en el laboratorio debe ser previamente esterilizado, controlando cuidadosamente el tiempo y temperatura de esterilización pues cualquier variación podría provocar una mala esterilización que afectaría los resultados finales.

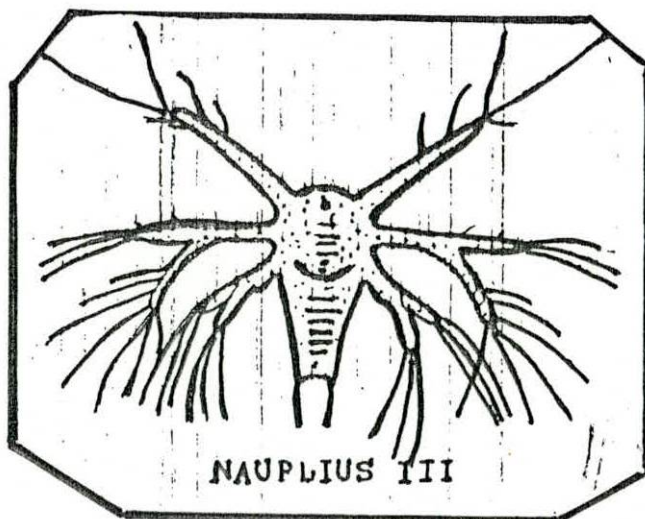
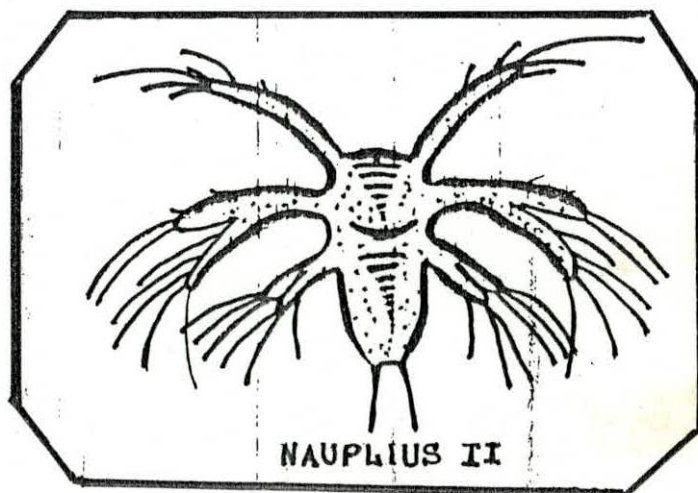
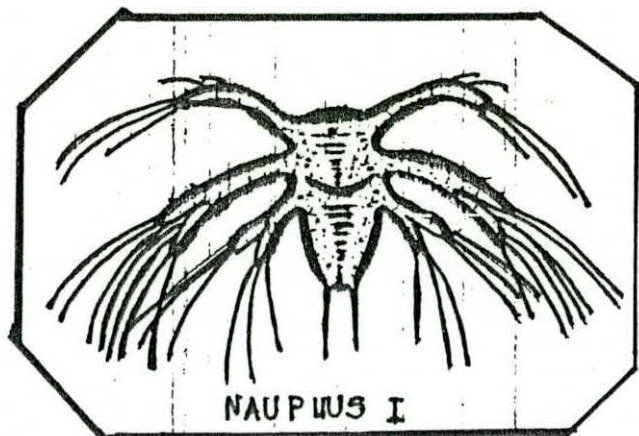
BIBLIOGRAFIA

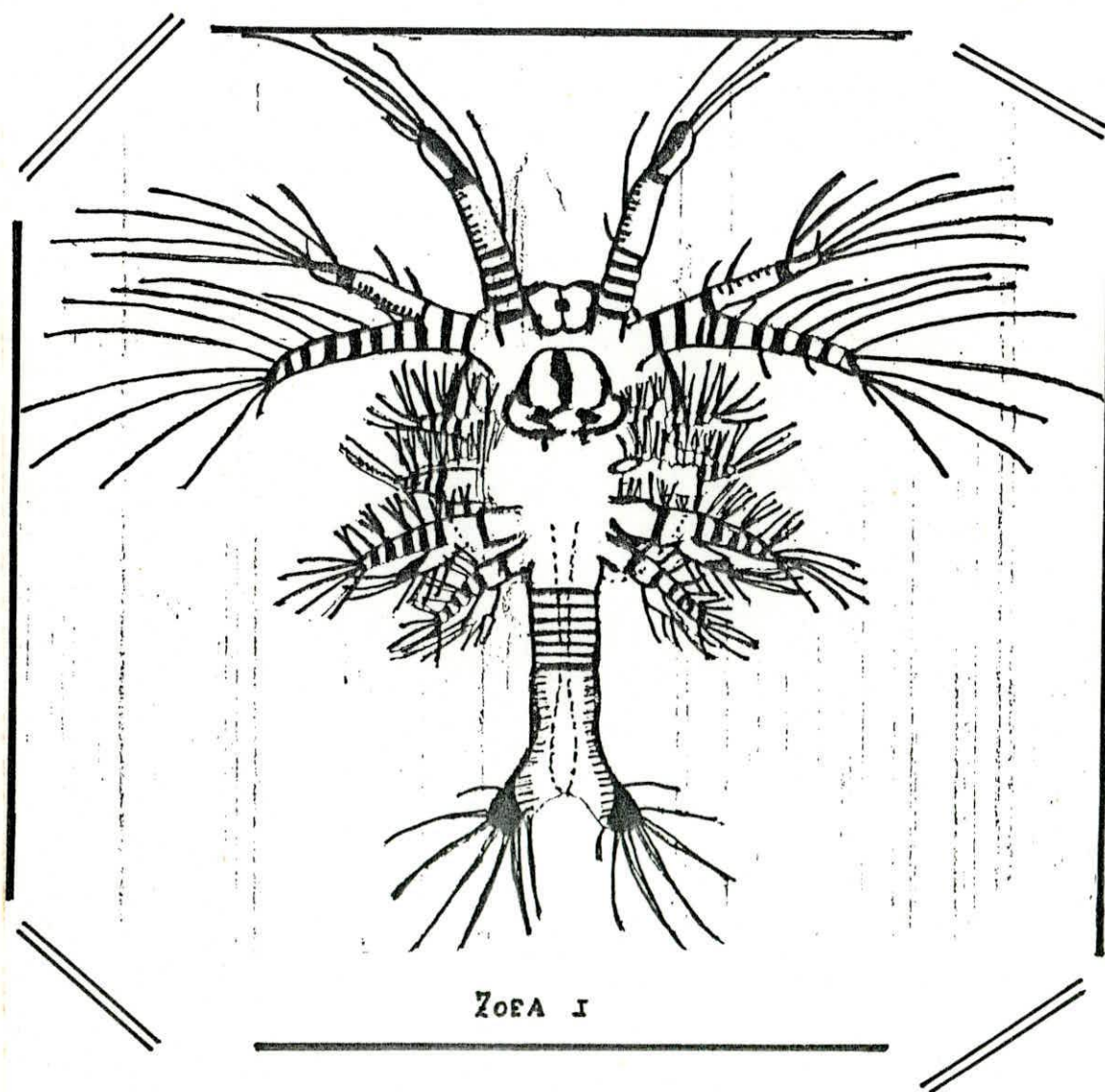
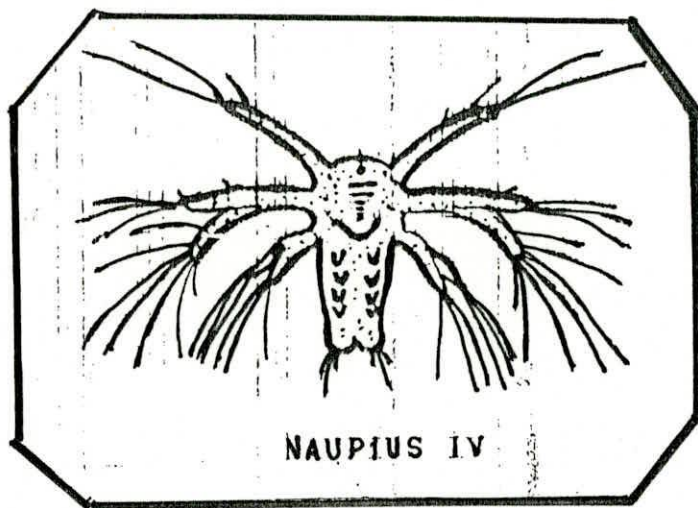
- Q.F. Fernando Carvaca Castro  
MANUAL PRACTICO DE BACTERIOLOGIA MARINA  
ESPOL Facultad de Ingeniería Marítima  
Guayaquil - Ecuador
  
- Ing. Fernando Espinoza  
FOLLETO DE MICROBIOLOGIA EN LARVAS DE CAMARON  
Laboratorio LIFE  
Guayaquil - Ecuador
  
- ESPOL - FONAPRE  
INTRODUCCION AL CULTIVO DE CAMARONES EN ECUADOR  
Facultad de Ingeniería Marítima y Ciencias del Mar  
Guayaquil - Ecuador.

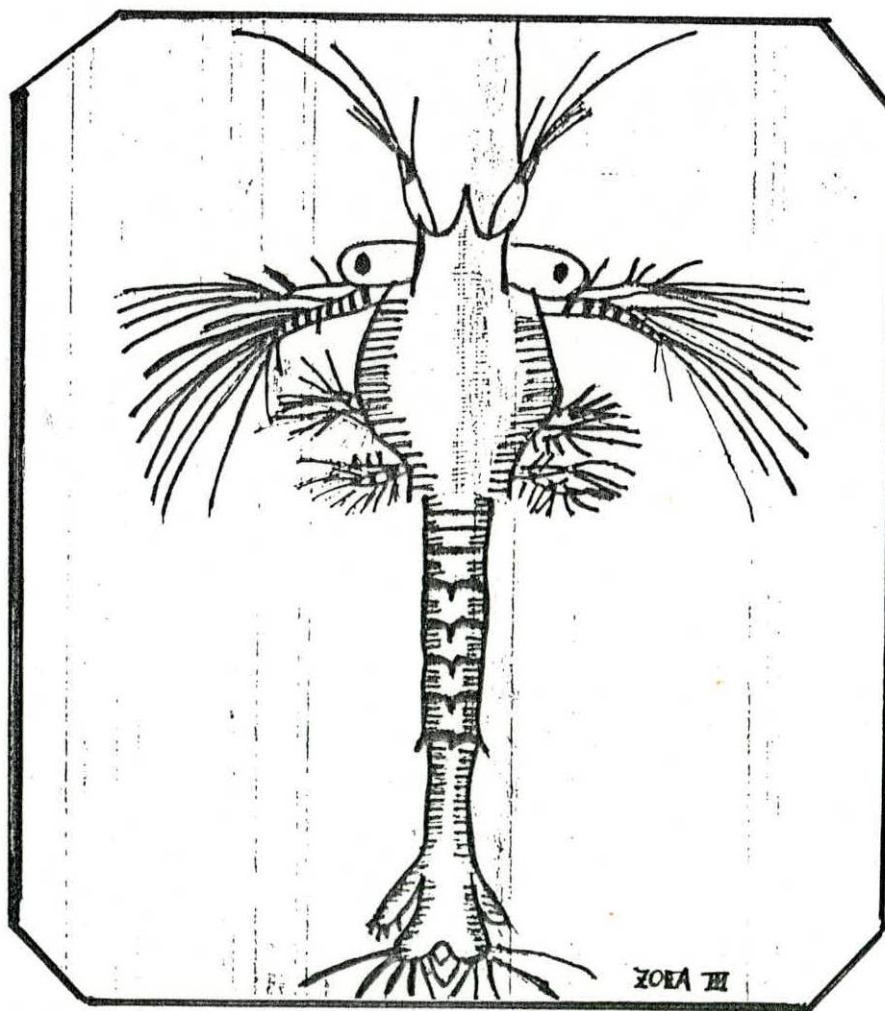
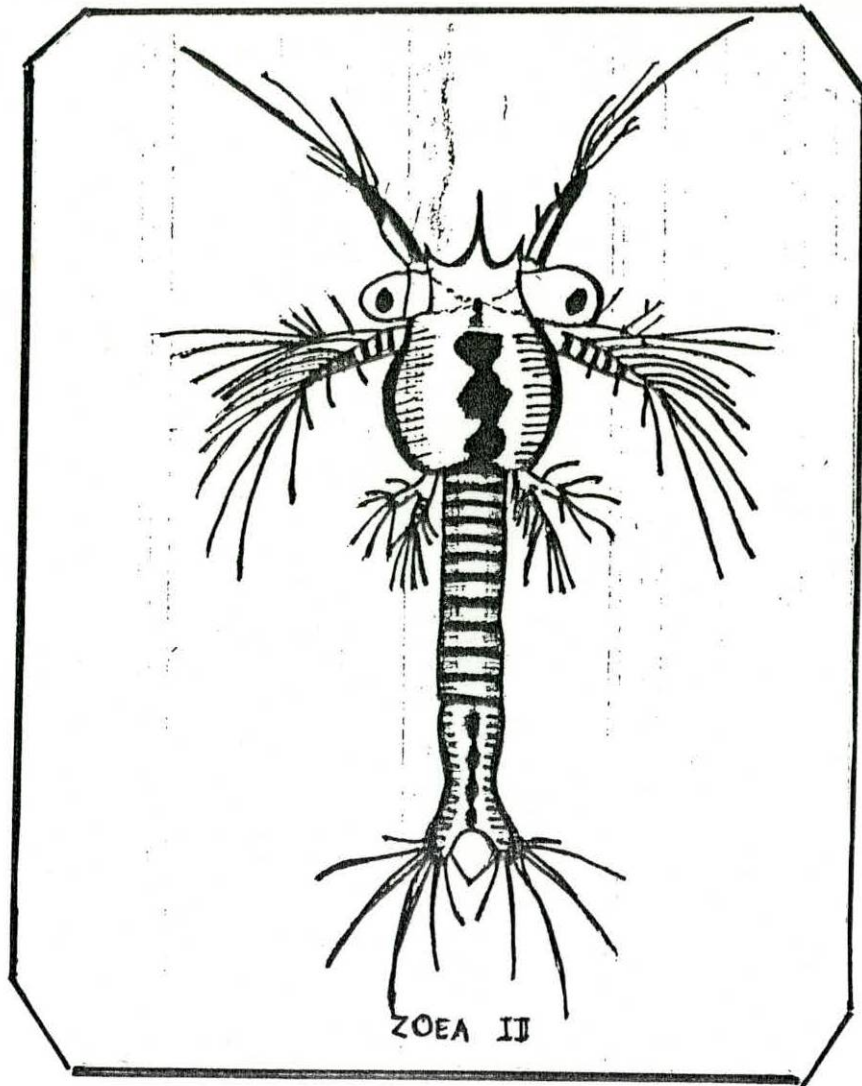


ANEXO #1

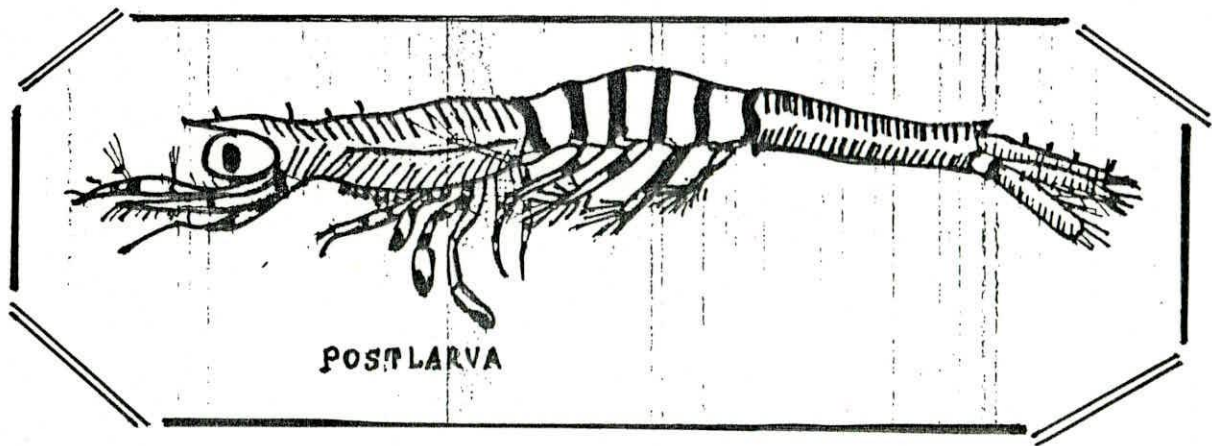
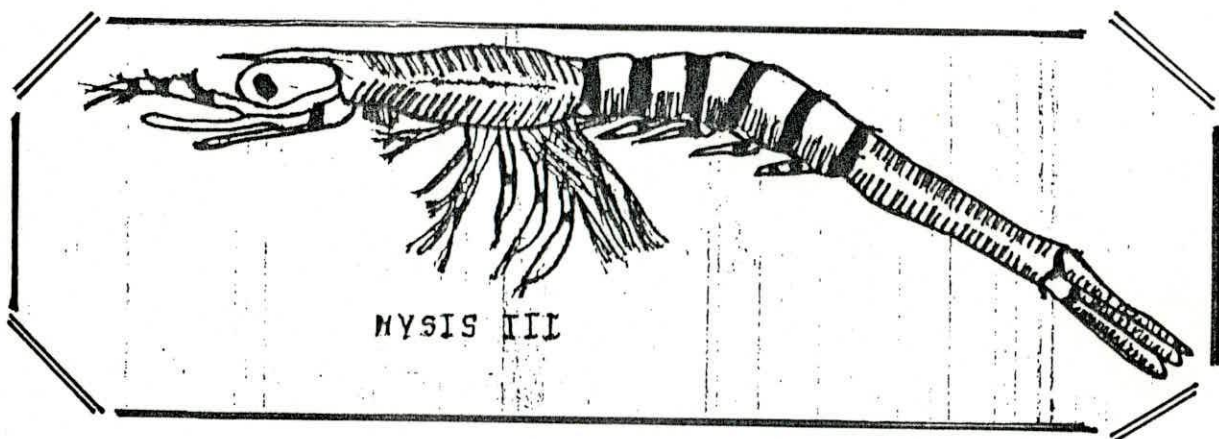
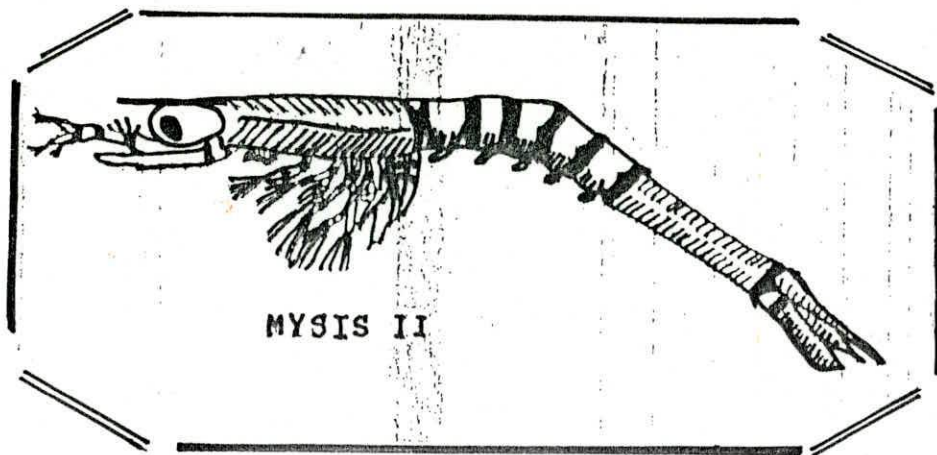
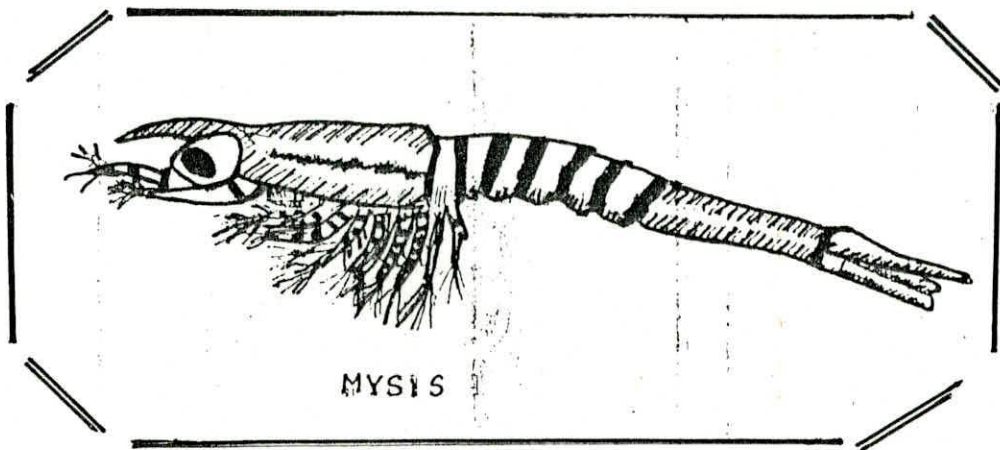
ESTADIOS LARVARIOS













## ANEXO 2

### PREPARACION DEL AGAR TCBS. (AGAR CON THIOSULFATO, CITRATO, SALES BILIARES Y SACAROSA)

#### FORMULA:

|                      |        |
|----------------------|--------|
| Extracto de Levadura | 5 g    |
| Proteosa peptona     | 10 g   |
| Citrato Sódico       | 10 g   |
| Thiosulfato de Sodio | 10 g   |
| Bilis de buey        | 8 g    |
| Sacarosa             | 20 g   |
| Cloruro Sódico       | 10 g   |
| Citrato Férrico      | 1 g    |
| Azul de Bromo Timol  | 0,04 g |
| Azul de Timol        | 0,04 g |
| Agar Agar            | 15 g   |

pH final 8,4 +/- 0,2 a 25 °C

#### PREPARACION

Para preparar 1.000 ml. del medio, se pesan 89 g de agar TCBS, se lleva a ebullición para completa disolución lo cual se evidencia por la no formación de grumos en las paredes de la fiola, NO AUTOCLAVAR, para evitar la degradación de las sales biliares lo que le quitaría selectividad al medio; colocarlo luego en las cajas petri y esperar a que se solidifique.

### ANEXO 3

#### CLASIFICACION DEL GENERO Vibrio Y ALGUNOS ORGANISMOS RELACIONADOS

##### ESPECIES DE Vibrio QUE OCURREN EN ESPECIMENES HUMANOS

|                  |                     |
|------------------|---------------------|
| V. alginolyticus | V. hollisae         |
| V. cholerae      | V. metschnikovii    |
| V. damsela       | V. mimicus          |
| V. fluvialis     | V. parahaemolyticus |
| V. furnissii     | V. vulnificus       |

##### ESPECIES DE Vibrio y Photobacterium QUE NO OCURREN EN ESPECIES HUMANAS

|                   |                        |
|-------------------|------------------------|
| V. aestuarinus    | V. natriegens          |
| V. anguillarum    | V. nereis              |
| V. campbellii     | V. nigrigripulchritudo |
| V. costicola      | V. ordalii             |
| V. diazotrophicus | V. orientalis          |
| V. fischeri       | V. pelagius            |
| V. gazogenes      | V. proteolyticus       |
| V. harveyi        | V. splendidus          |
| V. logei          | V. tubiashii           |
| P. angustum       | P. leiognathi          |
| P. phosphoreum    |                        |

ANEXO 4

| BACTERIA         | SENSIBLE                                                  | MED. SENSIBLE                                                          | RESISTENCIA                                            |
|------------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| V. alginolyticus | Cloranfe.<br>Fosfomicina<br>Nitrofurano                   | Tetraciclina<br>Sulf. trimetro<br>Colistin<br>Canamicina               | Cefalotina<br>Carbenicili.<br>Amoxilina<br>Sulfonamida |
| V. parahaemoly   | Tetracicli.<br>Cloranfe.<br>Nitrofurano                   | Sulf. trimetro.<br>Cefalotina<br>Fosfomicina<br>Canamicina<br>Colistin | Sulfonamida<br>Carbenicili.<br>Amoxilina               |
| V. harveyi       | Cloranfe.<br>Tetracicli.<br>Nitrofurano<br>Sulf. trimetro | Fosfomicina<br>Canamicina<br>Colistin<br>Cefalotina<br>Sulfonamida     | Carbenicili.<br>Amoxilina                              |

## ANEXO 5

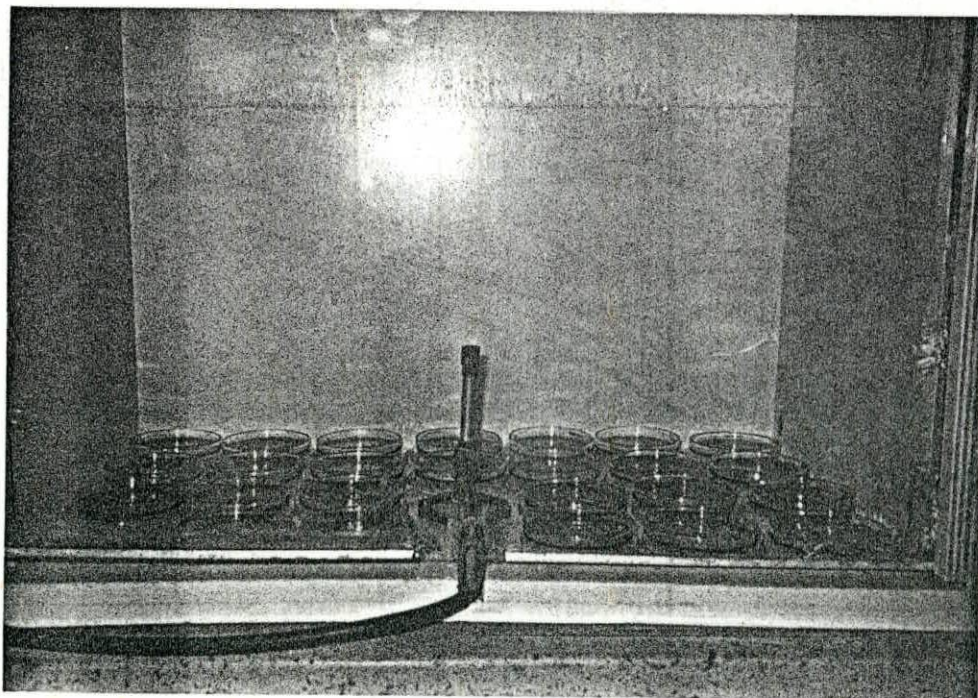
### ANTIBIOTICOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE VIBRIOS

| ANTIBIOTICOS    | ESTADIOS | DOSIS                                         |
|-----------------|----------|-----------------------------------------------|
| Furazolidona    | L/P1     | 1 - 5 ppm                                     |
|                 | J/A      | 500 mg/Kg<br>de alimento por<br>10 a 14 días. |
| Eritromicina    | L/P1     | 0,5 - 2 ppm                                   |
| Oxitetraciclina | L/P1     | 1 - 5 ppm                                     |
| Cloranfenicol   | L/P1     | 1 - 5 ppm                                     |

L = larvas  
P1 = post larvas  
J = juveniles  
A = adultos



ANEXO #6





ANEXO #7

CULTIVO DE ALGAS

