Boletín Informativo No.73
30 de enero del 2003
CENAIM INFORMA

Por Mariuxi Sotomayor, Ac.
Jefe Lab. de Microbiología

Evaluación de mezclas de cepas probióticas en juveniles *Litopenaeus vannamei.* (II parte)

Estudiante: *José Luis Balcázar, Universidad de Machala*

INTRODUCCION

La producción del camarón en sistemas intensivos y la restricción al uso de ciertos antibióticos, ha hecho necesario la utilización de probióticos comerciales a fin de manejar las comunidades bacterianas potencialmente patógenas presentes en los sistemas de cultivo. En el boletín anterior presentamos los resultados *"in vitro"* de este trabajo. Con base en estos resultados se continuó el trabajo *"in vivo"* con las tres mezclas seleccionadas (P62-P64, P62-P63-IIi y P63-IIi), mediante la utilización de ensayos de infección con *Vibrio harveyi,* y desafío con el virus de la mancha blanca WSV.

METODOLOGIA

Camarones juveniles alimentados por 46 días con las mezclas P62-P64, P62-P63-IIi y P63-IIi, se desafiaron con *V. harveyi* por 96 horas, aplicando el vibrio mediante el método de baño ($1x10^8$ UFC/ml), en inoculación diaria. Se evaluó supervivencia, colonización e inhibición.

Además, otro grupo de animales alimentados por 56 días con las mezclas, se desafiaron con WSV (mediante papilla infectada). La duración del ensayo fue de 4 días posterior a la infección. Se evaluó supervivencia y diagnóstico mediante la prueba de PCR utilizándose las branquias de los animales al inicio y final del ensayo. Los datos obtenidos fueron evaluados por análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de confianza del 95% por la prueba de Fisher (Least Significant Difference, LSD).

RESULTADOS

1.- Evaluación "in vivo" de las combinaciones probióticas desafiando juveniles con V. harveyi.

Se encontraron diferencias entre los animales tratados con las mezclas probióticas y el control patógeno al analizar los porcentajes de colonización de *V. harveyi* (Figura 1).

- La mezcla P62-P64 logró el mayor porcentaje de inhibición en el crecimiento de *V. harveyi*, y flora del hepatopáncreas.
- La mezcla, P62-P63-IIi compitió con las cepas patógenas y con la flora natural, sin embargo su capacidad de inhibir el crecimiento de *V. harveyi* fue menor que la mezcla P62-P64.
- La mezcla P63-IIi presentó menor efecto de inhibición en la colonización de *V. Harveyi.*

La supervivencia fue de 100% durante el período experimental en todos los tratamientos. La mezcla P62-P64 fue la única que presentó un efecto a nivel inmunitario con disminución del número total de hemocitos, mayor actividad antibacteriana y fenoloxidasa, respecto a los otros tratamientos. Estos resultados reflejan la buena capacidad de esta mezcla para estimular el sistema inmune. Sin embargo, es importante repetir este ensayo de desafío con cepas más virulentas.

2.- Evaluación "in vivo" de las combinaciones probióticas desafiando juveniles con virus de la Mancha Blanca (WSV).

La supervivencia de los tratamientos con probióticos fue mayor respecto al control (Figura 2). Los tratamientos reportaron una supervivencia del 55% y el control de 35%. Los animales muertos fueron PCR positivos para WSV. Los resultados indicarían una posible inmunoestimulación sobre los camarones, preparándolos de una manera no específica al ataque de agentes virales. No se conoce el mecanismo que explique estos resultados y es necesario más estudios.

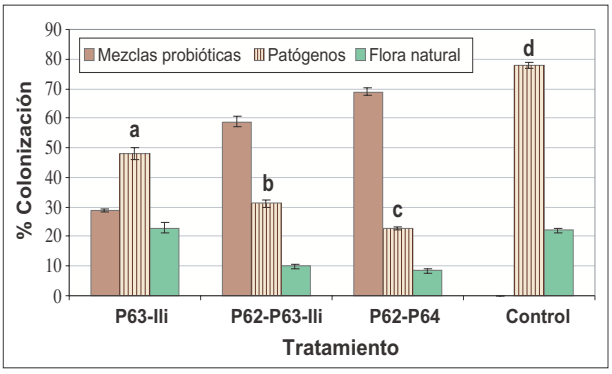

Figura 1. *Interacción de las mezclas P62-P64, P62-P63-IIi y P63-IIi-contra vibrios patógenos (V. harveyi.).*

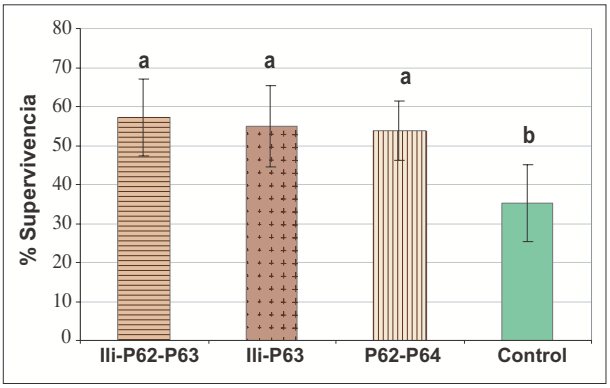

Figura 2. *Porcentajes de supervivencia de animales alimentados con mezclas probióticas, después de 4 días de infección con WSV.*

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Las mejores mezclas de cepas probióticas fueron P62-P64 y P62-P63-IIi por mostrar mayor capacidad de colonización e inhibición de cepas patógenas *"in vitro" e "in vivo"*.

La combinación P62-P64 mostró en ensayos *"in vivo"*, mayor capacidad de colonización, inhibición de patógenos, incremento en la respuesta de la actividad fenoloxidasa y antibacteriana.

Este estudio preliminar de evaluación del efecto de las mezclas probióticos sobre el virus de la mancha blanca, sugiere un efecto positivo frente a este agente viral, cuando el grado de infección es moderado, pero se recomienda el estudio de las cualidades inmunoestimulantes de las mezclas y su acción en infecciones virales. Por otra parte, en estos momentos, se realiza trabajos para la liofilización de las mezclas probióticas en colaboración con la Unidad de Diagnóstico (CSA) con el objetivo de facilitar la aplicación de las mezclas en sistemas comerciales intensivos y semi-intensivos.

GLOSARIO

Actividad fenoloxidasa: La actividad fenoloxidasa, es la responsable de la melanización observada en los procesos inflamatorios de los artrópodos (manchas negras en los animales). La experiencia indica valores superiores a 250 m D.O. como ideales en los animales saludables.