



ALLIANCE™

[.https://www.globalseafood.org](https://www.globalseafood.org)Health &
Welfare

Efecto de un probiótico microencapsulado sobre el microbioma intestinal del camarón blanco del Pacífico

5 September 2023

By Chung-Hung Liu

La microencapsulación de *Bacillus subtilis* E20 demostró ser eficaz para abordar los problemas de probióticos relacionados con la inclusión durante la fabricación de alimentos

Varios estudios han reportado los beneficios de incluir probióticos en las dietas de los camarones y modificar el perfil bacteriano del intestino del camarón. A pesar de los beneficios reportados, se cree que la administración directa de probióticos vivos reduce su viabilidad celular, socavando todo el potencial del probiótico. En particular, la sensibilidad de las bacterias probióticas al calor limita su aplicación en los procesos de fabricación de alimentos para camarones, que utilizan altas temperaturas.

Las técnicas de encapsulación como el secado por aspersión, la liofilización y la electrodinámica se



Los resultados de este estudio mostraron que la microencapsulación fue efectiva para abordar los problemas de probióticos relacionados con la inclusión durante la fabricación de alimentos, que la administración de *B. subtilis* E20 encapsulado aumentó las cepas beneficiosas de bacterias como *Bacillus* y redujo las bacterias dañinas de *Vibrio*, y que la encapsulación de *B. subtilis* E20 tiene el potencial de modular la microbiota intestinal y controlar especies de *Vibrio* en camarones. Foto de Darryl Jory.

consideran estrategias efectivas para permitir una alta viabilidad y proporcionar un alto grado de protección contra el procesamiento, el almacenamiento y las condiciones gastrointestinales. Estas técnicas controlan la liberación de probióticos en el intestino para ejercer efectos moduladores sobre la microbiota intestinal.

La aplicación de técnicas de secuenciación de próxima generación (NGS; una tecnología para determinar la secuencia de ADN o ARN para estudiar variaciones genéticas asociadas a diversos fenómenos biológicos; permite secuenciar muchas hebras de ADN al mismo tiempo, en lugar de una a la vez como con secuenciación tradicional) para camarones pueden ayudar a dilucidar la interacción camarón-bacteria. Hasta la fecha, ningún estudio ha abordado específicamente los efectos de los probióticos encapsulados sobre la composición, diversidad y función de la microbiota en los camarones.

Este artículo – resumido de la **publicación original** (<https://doi.org/10.3390/fishes8050264>) (Cheng, A-C. et al. 2023. Microencapsulation of *Bacillus subtilis* E20 Probiotic, a Promising Approach for the Enrichment of Intestinal Microbiome in White Shrimp, *Penaeus vannamei*. *Fishes* 2023, 8(5), 264) – reporta sobre un estudio que analizó la microbiota asociada con el intestino de camarones blancos del Pacífico (*Litopenaeus vannamei*) alimentados con probióticos encapsulados y sin encapsular mediante secuenciación de próxima generación (NGS) de ARN ribosómico 16S (16S rRNA; es el gen marcador más utilizado en ecología microbiana).



(<https://bspcertification.org/>).

Configuración del estudio

Los camarones *L. vannamei* se obtuvieron del Departamento de Acuicultura de la Universidad Nacional de Ciencia y Tecnología de Pingtung, en Pingtung, Taiwán. Antes del estudio, los camarones en etapa de intermuda se aclimataron durante siete días en tanques de cemento de 10 metros cúbicos que contenían 5 toneladas de agua de mar con una salinidad de 20 ppt y aireación por difusión. Luego, 200 camarones juveniles ($1,89 \pm 0,06$, media \pm SE), con todos los apéndices en buen estado, se distribuyeron en dos tanques de cemento ($6 \times 2 \times 1$ m).

Los camarones se asignaron a dos tratamientos dietéticos ($n = 100$ cada uno), uno como control y el otro con el probiótico encapsulado, *B. subtilis* E20 (EP). El probiótico *B. subtilis* E20 se encapsuló en micropartículas de bicapas de alginato-quitosano siguiendo un **procedimiento publicado** (<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.11.001>). Se prepararon formulaciones de dieta que utilizaban el probiótico encapsulado a 10^7 UFC/kg (EP) y una dieta de control basal y se alimentaron a camarones durante 60 días. Las dietas experimentales se prepararon en base a la dieta de nuestro estudio anterior con el mayor rendimiento de crecimiento y un mejor estado de salud.

Para obtener información detallada sobre el diseño experimental, la cría de animales, la recopilación de datos, el análisis de la microbiota intestinal mediante secuenciación de próxima generación, y la biodiversidad y abundancia de las determinaciones de la microbiota intestinal, consulte la publicación original.

Resultados y discusión

El microbioma intestinal del camarón consta de varios microbios y genes críticos para la salud, el metabolismo y la patogénesis de las enfermedades. Como los camarones están íntimamente conectados con el ambiente acuático, gran parte de sus microbios intestinales están influenciados por los microbios presentes en el ambiente circundante. En consecuencia, los sistemas de cultivo intensivos o desfavorables afectan negativamente la interacción microbiana entre el camarón y el medio ambiente, lo que resulta en la proliferación de patógenos oportunistas que causan brotes de enfermedades.

Las bacterias probióticas vivas – que generalmente se consideran seguras debido a sus efectos beneficiosos inmunomoduladores, antimicrobianos y antioxidantes – a menudo se incorporan a los alimentos como suplementos dietéticos para mantener el equilibrio microbiano en el intestino del

camarón. Sin embargo, la viabilidad de los probióticos se ve muy afectada por numerosos factores, especialmente durante la producción, el almacenamiento, la alimentación y el paso por el sistema gastrointestinal. Se ha informado que varias técnicas de microencapsulación preservan y protegen la viabilidad de las células probióticas.

Si bien la mayoría de estos estudios se centraron en la respuesta inmune y el rendimiento del crecimiento, así como en la microbiota intestinal tras la administración de probióticos vivos sin encapsulación, los estudios sobre el microbioma intestinal tras la administración de probióticos encapsulados son limitados.

En este estudio, la cepa *B. subtilis* E20 fue encapsulada con alginato-quitosano para proteger la viabilidad celular y determinar las comunidades bacterianas generadas. Los datos del análisis NGS revelaron una presencia dominante de proteobacterias en toda la microbiota del camarón. Otros investigadores informaron resultados similares cuando se proporcionó a los camarones harina de soja fermentada (FSBM) y *B. subtilis* E20.

Estos resultados sugieren que la microencapsulación de *B. subtilis* E20 (EP) puede inducir la proliferación y diversificación de bacterias en la microbiota del camarón.

El análisis taxonómico reveló que la mayoría de los géneros bacterianos se distribuyeron entre diferentes familias (193), y los camarones alimentados con la dieta de control indicaron un mayor número de géneros (275) que los camarones alimentados con la dieta EP (236) (Fig. 1). Entre las muestras intestinales del grupo control y EP, los géneros bacterianos compartidos fueron 89 y 67, respectivamente.

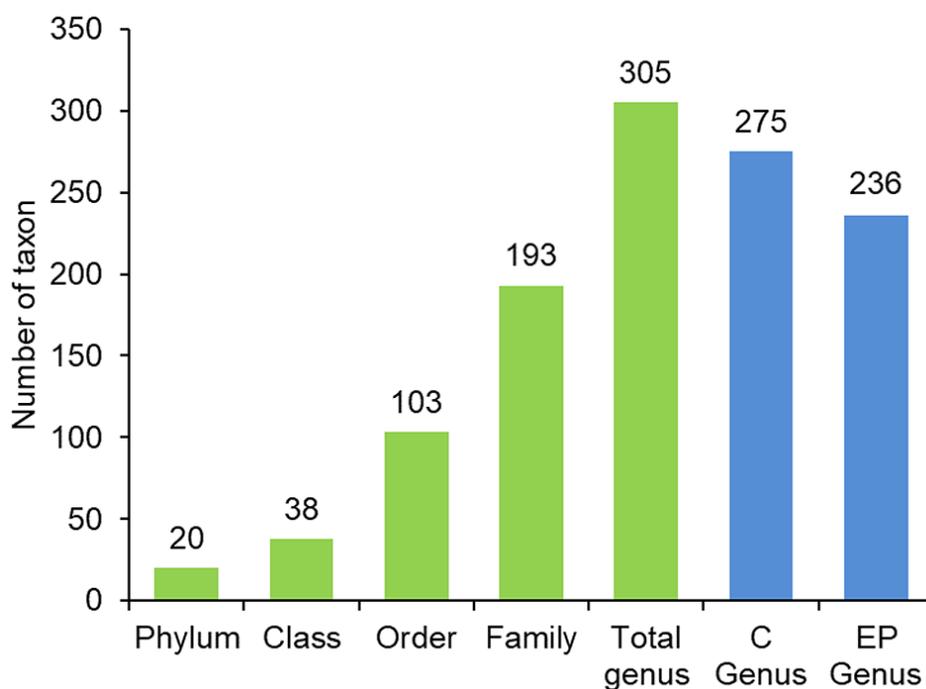


Fig. 1: Identificación taxonómica de la microflora intestinal de camarón blanco alimentado con la dieta control (C) y la dieta probiótica de *B. subtilis* E20 encapsulada (EP).

A nivel de filo, la abundancia relativa de grupos bacterianos en la microbiota intestinal de los camarones alimentados con la dieta control y EP fue predominantemente *Proteobacteria* con 85,24 por ciento y 63,13 por ciento, respectivamente. La dieta EP estuvo influenciada además por el filo *Tenericutes* (12,96 por ciento), *Bacteroidetes* (10,80 por ciento) y *Firmicutes* (10,68 por ciento), todos los cuales se expresaron mínimamente en el grupo de control. En los camarones alimentados con la dieta control, los más abundantes a nivel genérico fueron *Vibrio* (70,74 por ciento), en comparación con el grupo EP, que tuvo una menor abundancia de *Vibrio* de 30,25 por ciento.

En general, el estado de salud de los camarones y los peces puede reflejarse en la abundancia relativa de *Proteobacteria*, que es un signo microbiano de disbiosis (un desequilibrio de las especies microbianas y una reducción de la diversidad microbiana dentro de ciertos microbiomas corporales) y de enfermedades en la microbiota intestinal. Los *Tenericutes* son organismos de vida libre y exhiben una flexibilidad metabólica y de adaptabilidad comensales a la del huésped. Los *Firmicutes* ayudan a fermentar las fuentes de carbono y a controlar el equilibrio energético dentro del huésped.

De manera similar, los *Bacteroidetes* fermentan sustratos de origen vegetal en los intestinos mediante la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC) que permiten al huésped obtener un exceso de energía; Los AGCC también desempeñan funciones importantes en la homeostasis de las células inmunitarias en varios organismos. Por lo tanto, la interacción entre *Firmicutes* y *Bacteroidetes* probablemente promovió una fermentación más eficiente de los carbohidratos en la dieta y aumentó la absorción de energía en el intestino de los camarones alimentados con *B. subtilis* E20 encapsulado.

Además, las especies de *Vibrio* se encuentran entre los miembros dominantes de la microbiota del camarón *L. vannamei* y se consideran los patógenos bacterianos más importantes responsables de varias enfermedades y mortalidades masivas. Varios estudios han reportado la importancia de *Vibrio* durante las diferentes etapas de desarrollo del camarón. Las poblaciones de *Vibrio* en la microbiota intestinal del camarón suelen ser más altas durante la etapa de cría que en la etapa adulta, lo que indica que la microbiota en esta última etapa es más diversa que en la etapa de cría.

Cómo los niveles de salinidad afectan las tasas de infección por EHP en el camarón blanco del Pacífico

Una infección por EHP puede ocurrir a una salinidad tan baja como 2 ppt, pero la prevalencia y la gravedad de la infección por EHP es mayor a una salinidad de 30 ppt.



Global Seafood Alliance

Las especies de *Vibrio* se consideran patógenos oportunistas que tienen efectos perjudiciales sobre el crecimiento, la actividad metabólica, el equilibrio microbiano y la respuesta inmune del camarón. La alta expresión en el intestino es un indicador de enfermedad en los camarones. Por ejemplo, en camarones infectados, *V. parahaemolyticus* aumenta la permeabilidad intestinal y altera la capacidad de absorber los aminoácidos y la glucosa necesarios para mantener las actividades fisiológicas.

La suplementación con probióticos es un agente de biocontrol beneficioso para reducir los recuentos de *Vibrio* y prevenir la vibriosis. En este estudio, al analizar la comunidad microbiana, determinamos que el recuento de *Vibrio* y los niveles de abundancia de las especies de *Vibrio* se suprimieron en el intestino de los camarones alimentados con *B. subtilis* E20 encapsulado en comparación con los camarones alimentados con la dieta de control.

El probiótico microencapsulado de nuestro estudio también aumentó la abundancia de *Candidatus Bacilloplasma* en los camarones. *Candidatus Bacilloplasma* son las bacterias dominantes en los intestinos de los camarones sanos, y un cambio en su abundancia puede contribuir a cambiar las comunidades microbianas intestinales en los camarones que sufren patógenos. *Candidatus Bacilloplasma* son reconocidos como simbioses (dos organismos de diferentes especies que tienen una interacción biológica estrecha y de largo plazo) y pueden usarse como potenciales indicadores taxonómicos para evaluar el estado de salud del camarón.

En estudios anteriores, la detección de *Candidatus Bacilloplasma* mostró actividades comensales que inhibieron la proliferación de cepas bacterianas *Vibrio* y la infección. La mayor expresión de *Candidatus Bacilloplasma* en este estudio sugiere que la encapsulación de probióticos puede preservar su viabilidad hasta tal punto que estimula el crecimiento de varias bacterias beneficiosas que podrían perderse cuando el probiótico no está encapsulado.

Perspectivas

Este estudio concluye que la microencapsulación de *B. subtilis* E20 puede ser útil para abordar los problemas de sensibilidad asociados con los probióticos durante el procesamiento y la aplicación. Nuestros resultados indican que la administración de *B. subtilis* E20 encapsulado aumentó las cepas beneficiosas de bacterias como *Bacillus* y redujo las bacterias dañinas pertenecientes a la especie *Vibrio*. Por tanto, la encapsulación de *B. subtilis* E20 tiene el potencial de modular la microbiota intestinal y controlar las especies de *Vibrio* en los camarones.

Author



CHUNG-HUNG LIU

Corresponding author

Department of Aquaculture, National Pingtung University of Science and Technology, Pingtung
912301, Taiwan

chliu@mail.npust.edu.tw (<mailto:chliu@mail.npust.edu.tw>)

All rights reserved.