

Inmunopotenciadores para la acuicultura

Rocmira Pérez,^{1*} Belkis Romeu,¹ Miriam Lastre,¹ Yeny Morales,² Osmir Cabrera,¹ Laura Reyes,¹ Elizabeth González,¹ Sergio Sifontes,² Oliver Pérez^{1**}

¹ Vicepresidencia de Investigaciones y Desarrollo. Instituto Finlay, Centro de Investigación – Producción de Vacunas. Ave.27 No.19805. A.P.16017, C.P.11600. La Lisa, La Habana, Cuba.

² Centro de Bioactivos Químicos (CBQ). Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Santa Clara, Villa Clara, Cuba.

email: oliverp@finlay.edu.cu

La acuicultura es una de las actividades económicas de mayor crecimiento para la producción de alimentos. Uno de sus principales retos es la obtención de grandes volúmenes de producción con la mayor calidad posible. Esto conlleva a una reducción de la aplicación de antibióticos y productos quimioterapéuticos. Una de las estrategias más prometedoras es la aplicación de inmunopotenciadores, principalmente en los cultivos intensivos. El objetivo de este trabajo fue revisar los principales inmunopotenciadores, así como las tendencias y retos de su uso mundial. Se resumen las particularidades moleculares y funcionales de los mismos y se hace énfasis en los más estudiados: levamisol, β -glucanos, lipopolisacárido, vitamina C, extractos de plantas y hormonas. Todos estos compuestos de naturaleza heterogénea inciden mayoritariamente en los componentes de la inmunidad innata de los peces, fortaleciendo y potenciando la resistencia a enfermedades; adicionalmente algunos de ellos tienen funciones antiestrés y favorecen su crecimiento. Se concluye que los inmunopotenciadores constituyen una estrategia viable para reducir las pérdidas por problemas sanitarios en el sector de la acuicultura; pero aún quedan por solucionar aspectos como la vía de administración y la etapa de inmunización adecuada para cada especie y tipo de cultivo.

Palabras clave: acuicultura, inmunopotenciadores, estrés, enfermedades de peces.

Introducción

La acuicultura es uno de los sectores de mayor crecimiento para la producción de alimentos. Esta aporta actualmente cerca del 50% de la oferta mundial de pescado y se considera que será una de las principales actividades económicas del presente siglo. En el 2010 la producción mundial acuícola fue de alrededor de 59,9 millones de toneladas; los peces de agua dulce dominaron la producción (56,4%), seguido por los moluscos (23,6%) y los crustáceos (9,6%) (1). El reto de obtener grandes volúmenes de producción ha traído consigo la creciente intensificación de los cultivos, lo que establece un ambiente potencialmente estresante para los peces por factores como la siembra en altas densidades, la manipulación, el transporte y la nutrición deficiente. El efecto aditivo de estos factores provoca inmunosupresión en el animal (2) y por consiguiente la aparición de enfermedades bacterianas, parasitarias, micóticas y virales. De esta forma surgen problemas sanitarios que reducen la productividad de este sector a en el mundo (3).

Uno de los factores limitantes de las producciones acuícolas es la carencia de herramientas inmunoterapéuticas profilácticas (vacunas o inmunopotenciadores) (4) para reducir el efecto de las enfermedades en los diferentes cultivos. Si bien las vacunas pueden ser el método más eficiente, su uso se encuentra limitado a solo una pequeña gama de agentes biológicos contra un amplio rango de patógenos a

los que se exponen los peces en su ambiente natural (5). Por esta razón se estudia la posibilidad de utilizar inmunopotenciadores que favorezcan no solo las funciones del sistema inmunológico, sino que, además, funjan como factores de crecimiento (6) y reductores de los efectos inmunosupresivos del estrés (7, 8).

Por ello, este artículo brinda una breve panorámica alrededor de los principales inmunopotenciadores que se utilizan en la acuicultura, sus características y sus perspectivas de uso, así como analiza algunos retos que enfrenta el uso de estos tratamientos en la acuicultura en el mundo.

Definición y tipos de inmunopotenciadores

Algunos autores definen como inmunopotenciador o inmunoestimulador a un químico, droga, estresor o acción que potencie la respuesta inmune innata por interacción directa con las células que componen el sistema inmune innato (6, 11). Aunque esta definición es una de las más comunes, otros autores los definen como compuestos químicos (sintéticos o naturales) que actúan sobre los mecanismos de la respuesta inmune del hospedero para el control de patógenos (12).

Actualmente, su uso como suplemento dietético se considera una estrategia prometedora para disminuir las pérdidas económicas por enfermedades y reducir a su vez el uso

*Licenciada en Ciencias Biológicas.

**Doctor en Medicina, Doctor en Ciencias Médicas, Presidente de la Sociedad Cubana de Inmunología.

indiscriminado de antibióticos y productos quimioterapéuticos que pueden provocar, en algunos casos, efectos colaterales indeseables como el desarrollo de resistencia a antibióticos en bacterias patógenas, la acumulación de residuos en los tejidos del pez, inmunosupresión y la reducción de la preferencia de los consumidores por los peces tratados con estos productos (9, 11).

Los inmunopotenciadores pueden sostener o incrementar la duración de la respuesta inmune específica, tanto mediada por células como por anticuerpos, seguida de la vacunación; por lo que algunos investigadores utilizan las vacunas combinadas o adyuvadas con estas sustancias para fortalecer y potenciar la respuesta inmune (11). Otra de sus novedosas aplicaciones es su combinación con antibióticos, la combinación de varios estimulantes y el uso de distintas vías de inmunización en un mismo tratamiento, con el fin de inducir la respuesta de diferentes receptores inmunológicos (12).

Según Maqsood y cols. (10) estos compuestos pueden clasificarse en seis grandes grupos, independientemente de su modo de acción, tales como:

1. **Químicos sintéticos:** levamisol, FK-565 y muramil dipéptido (MDP).

2. **Derivados de microbios:** Ej.: β -glucanos, peptidoglicanos, lipopolisacáridos (LPS), bacterinas, adyuvante completo de Freud y EF203.
3. **Factores nutricionales:** Vitaminas C y E.
4. **Extractos de plantas y animales:** polisacáridos, quitosano, quitina, lentinanos, esquizofilano y oligosacáridos.
5. **Hormonas:** lactoferrina, hormona de crecimiento, hormona tiroidea y prolactina.
6. **Citoquinas y otros:** IL-2, TNF- α , TGF- β y RNA de doble cadena.

La aplicación de estos productos *in vitro* induce el fortalecimiento e incremento de componentes involucrados en la respuesta innata, como son la actividad fagocítica, la producción de anticuerpos naturales y compuestos antimicrobianos, la activación del sistema del complemento y la actividad bactericida del suero. Sumado a estas funciones se demostró un incremento de la tasa de crecimiento y de la resistencia a enfermedades parasitarias, bacterianas, virales y fúngicas en peces que se trataron con estos productos (13).

Tabla. Principales inmunopotenciadores comerciales disponibles para la acuicultura.

| Nombre del Producto | Tipo | Compañía |
|----------------------|--|--|
| ERGAMISOL® | Clorhidrato de tetrahidro6-fenilimidazoltiazol | Sigma-Aldrich |
| AquaVac® Ergosan™ | Acido alginico y polisacáridos, <i>Laminaria digitata</i> y <i>Ascophyllum nodosum</i> | MERCK Animal Health |
| Immustim® | β -1,3/1,6glucano, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | ImmuDyne Inc. |
| Immuto® | β -1,3/1,6glucano, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Biotec Pharmacon |
| MacroGard® | β -1,3/1,6glucano, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Biotec Pharmacon |
| VitaStim® | β -1,3glucano, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Taito Co. Ltd. |
| EcoActiva® | β -1,3glucano, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Carlton United Breweries Ltd. |
| PenStim® | β -1,3glucano, <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | International Aquaculture Biotechnologies Ltd. |
| EcLPS | LPS, <i>Escherichia coli</i> | Sigma-Aldrich |
| ROVIMIX® STAY-®35 | L-ascorbil-2-monofosfato | DSM Corporate Ltd. |
| Vitamina C | Ascorbato sódico | Sigma-Aldrich |
| Immuplus (Aqualmmu)® | Formulación polihierbal | Indian Herbs Supply y Research Company Limited |
| Lactoferrina | Leche vacuna | DMV International |
| AquaGen™ | Nucleótidos (DNA, RNA) | NOVARTIS-AG Ltd. |

El efecto biológico de los inmunopotenciadores depende mayoritariamente de los receptores de las células blanco que los reconocen como un riesgo potencial y desencadenan las respuestas de defensa, por lo cual es importante profundizar el conocimiento básico sobre los receptores involucrados en la respuesta ante estos antígenos (14).

Adicionalmente, la historia evolutiva de la especie en cuestión determina los factores individuales de respuesta inmunológica y la magnitud de la misma ante el agente inmunopotenciador particular (9), por tanto existe cierta heterogeneidad en los resultados de las investigaciones que se reportan hasta el momento. Su uso comercial e investigativo se extendió en los últimos años (10). En la Tabla se muestran algunos de los productos licenciados para el uso comercial con el fin de fortalecer y prolongar la respuesta inmune de los peces dentro de los sistemas acuícolas.

Levamisol

El levamisol es un fenilimidazol con uso extensivo en humanos y en los animales, como agente antihelmíntico e inmunopotenciador. En los mamíferos se conoce su efecto estimulador de los linfocitos y los macrófagos. En el caso de los peces se reportan efectos estimuladores del complemento, la actividad de la lisozima, la producción de anticuerpos, la fagocitosis y la citotoxicidad no específica, tanto en tratamientos *in vitro* como *in vivo*, así como el aumento de la tasa de supervivencia relativa ante patógenos como *Aeromonas hydrophila* (15) y su acción como promotor del crecimiento (3). Autores como Anderson y Jeney, 1992, utilizan este compuesto también como adyuvante en formulaciones vacunales (16). Otros observaron inmunosupresión cuando se administran altas dosis a los peces, por lo cual se recomiendan estudios de dosis de este producto para cada especie de estudio (10). Este medicamento no tiene efectos directos sobre las bacterias, los virus y los hongos, por lo que sirve principalmente para inmunoterapia (17-19).

β-glucanos

Los glucanos son los inmunopotenciadores más populares que se utilizan en la acuicultura, derivan principalmente de la pared celular de las levaduras, hongos, algas y de algunas plantas superiores. El más estudiado por su potencia es el β-1,3 glucano que es una micropartícula con un diámetro de alrededor de 2-4 μm, compuesto de más de un 95% de unidades de glucosa (20).

Los β-glucanos no son antigénicos en los animales, pero se consideran como potentes inmunopotenciadores en un amplio rango de peces (21). Funcionan adecuadamente al ser utilizados por vías parenterales o aplicados de forma oral, incrementando la supervivencia en condiciones

comprometidas o de estrés (4, 5), lo cual es muy importante bajo las condiciones de cultivo intensivo.

Algunos autores coinciden en que los glucanos además de activar los componentes del sistema inmune innato, tienen un papel importante en la activación de los linfocitos B, dando como resultado un aumento de la producción de anticuerpos (22). En carpas comunes infestadas con ectoparásitos y tratadas con 1,3-β-glucano se observó un incremento de la tasa de supervivencia y mejores valores de los parámetros hematológicos. En algunos casos se presentan fenómenos de retroalimentación negativa en la aplicación de estos compuestos cuando se utilizan altas dosis (10).

LPS

El LPS se conoce como uno de los más potentes moduladores de la respuesta inmunológica de los mamíferos. La molécula está presente en todas las bacterias gramnegativas sin importar su cepa y patogenicidad, está compuesta de un polisacárido unido al lípido A y se encuentra enganchada en la membrana externa de las células (23) que consiste en dos glucosaminas sustituidas con fosfatos y un número variable de ácidos grasos; pero es pobremente reconocido por el sistema inmune de los peces (24, 25). A pesar de esto se conoce que estas moléculas activan y movilizan los macrófagos, los neutrófilos y los complejos melanomacrófagos (23). Adicionalmente activan los linfocitos B, aún en bajas temperaturas, lo cual es significativo debido a la conocida dependencia de la temperatura de estas células para la producción de anticuerpos en los peces (26).

Varios autores refieren un aumento significativo de la supervivencia en larvas de *Hippoglossus hippoglossus* expuestas por baño de inmersión a LPS de *Aeromonas salmonicida* (44). Por otra parte, Selvaraj y cols. 2004, detectaron un aumento significativo en la tasa de supervivencia, el conteo de leucocitos, el porcentaje de neutrófilos y monocitos, así como en el título de anticuerpos en carpas tratadas intraperitonealmente con LPS purificado de *Aeromonas hydrophila* (45). Otros autores señalan que el LPS en salmón del atlántico y en truchas puede desencadenar la producción de proteínas de fase aguda, como las lectinas, y activan la vía alternativa del complemento (9). Por todo esto el LPS se utiliza como componente de vacunas, adyuvantes o como inmunopotenciadores administrados por vía oral, intraperitoneal (27) o baño de inmersión (44).

Estudios recientes de nuestro laboratorio muestran que el tratamiento oral de alevines de *Clarias gariepinus* con AFCo3a y AFCo3b (Adyuvantes Finlay Cocleato) obtenidos de subproductos del proceso de obtención del proteoliposoma de *Neisseria meningitidis* serogrupo B) incrementa la sobrevivencia de estos peces sometidos a condiciones de estrés propias del cultivo intensivo. Estos resultados preliminares

sustentan el empleo de inmunopotenciadores de esta naturaleza como una variante económica para el cultivo de peces en condiciones intensivas, reducen las pérdidas que ocasionan el manejo continuo y las altas densidades de siembra en las granjas de producción.

Vitamina C

El estado nutricional también afecta el sistema inmunológico de los peces y una de las deficiencias nutricionales más comunes son las vitamínicas. La vitamina C es una de las más estudiadas en este grupo, por el papel que juega como cofactor en diferentes reacciones de hidroxilación de residuos de prolina en tejidos conectivos de los vertebrados (28-30).

Esto la convierte en un potente antioxidante que ofrece protección contra el daño oxidativo a varios tejidos. Se demostró que esta vitamina participa en reacciones que inciden en el mantenimiento de la integridad funcional y estructural de los componentes celulares del sistema inmune de los peces (31). Por esta razón las deficiencias de este micronutriente provoca un aumento de la susceptibilidad a enfermedades bacterianas causadas por *Vibrio spp.*, *Aeromonas spp.*, entre otros patógenos (27, 31), y por consiguiente bajas tasas de supervivencia (26).

Dabrowsky y cols. 2004 exponen que esta vitamina tiene un efecto positivo sobre la respuesta del pez ante situaciones de estrés (28). Además, la vitamina C se relaciona con la respuesta hormonal de los peces vía cortisol y catecolaminas, mientras otros estudios señalan que influye en el incremento de la síntesis de proteínas (32). Pimpimol y cols. 2012, demuestran que la tasa de crecimiento, los parámetros hematológicos y la concentración de glucosa se incrementó en *Pangasianodon gigas* durante el suplemento dietético con esta vitamina a 250 mg/kg-1 (30).

Extractos de plantas

La aplicación de productos provenientes de plantas en los peces muestra efectos como antiestresantes, promotores del crecimiento, estimuladores del apetito, tónicos, inmunopotenciadores y antimicrobianos; debido a componentes como alcaloides, flavonoides, pigmentos, fenoles, terpenoides, esteroides y aceites esenciales (8, 33, 34). Devasagayam y Sainis, 2002, demostraron la actividad de algunas plantas obtenidas de la India en la estimulación de la fagocitosis y la quimiotaxis (35). Otros autores coinciden que el uso de los extractos de plantas contribuye al aumento de la supervivencia de los peces durante el tratamiento del síndrome epizoótico ulcerativo y algunas enfermedades parasitarias como mixobolosis, trichodinosis, gyrodactylosis y argulosis (36, 37).

Los compuestos activos de algunas plantas pueden inhibir o bloquear la transcripción de los virus, reducen su replicación en las células del hospedero (37). Entre las especies y géneros de plantas que más se utilizan, resaltan: *Ocimum spp.* (39) *Aloe vera* (8, 40) y *Zingiber officinale* y *Cytrus spp.* (8, 41), las cuales poseen efectos positivos sobre la proliferación del número de los neutrófilos, los macrófagos y los linfocitos e incrementan la capacidad fagocítica, la actividad de la lisozima y favorecen la actividad bactericida del suero (8).

Hormonas

Numerosos autores señalan a las hormonas como inmunomoduladores e inmunopotenciadores adecuados a la práctica acuícola (9, 10, 13). En los peces se debe investigar el potencial efecto inmunomodulador de las hormonas asociadas con las adaptaciones fisiológicas y ambientales, particularmente el papel de la lactoferrina, la angiotensina II y las hormonas tiroideas. Esto contribuiría a un mejor entendimiento de las interacciones entre el sistema inmunológico y el endocrino, no solo en teleosteos sino también en mamíferos. La lactoferrina, extraída principalmente de leche vacuna, es una de las hormonas que más se investigan. En tilapia y pez gato se registra un aumento de la actividad de la lisozima y de los fagocitos, cuando se tratan con esta hormona. Mientras los efectos endocrinos de las hormonas circulantes pueden modular la competencia inmunológica general, los efectos locales paracrinos y autocrinos pueden ser más significativos (41).

Retos del uso de los inmunopotenciadores en la acuicultura

Establecer la etapa de cultivo, la edad o el peso en que se debe realizar el tratamiento y la vía de administración más adecuada para el mismo son los retos comunes que dificultan el uso masivo de los inmunopotenciadores o inmunomoduladores en la producción acuícola.

En cuanto a definir la edad o etapa de cultivo, se realizaron algunos estudios que demuestran que estos son factores intrínsecos muy influyentes en el desarrollo de inmunocompetencia del pez, por lo que influye en la vía de inmunización y en la duración de la respuesta (43). Mulero y cols., 2007, señalan que es posible el desarrollo de cierta tolerancia inmunológica en tratamientos ante antígenos en estado larvario de los peces (42). Esto puede reducir el uso de los inmunopotenciadores antigénicos desde etapas tempranas del cultivo como la larvicultura. Este fenómeno de tolerancia es una de las contraindicaciones o efectos adversos más frecuentes de la aplicación de estos productos en los peces, junto a la competencia antigénica. Por otra parte, se considera que en la etapa larval los inmunoestimuladores incrementan la respuesta inmune innata, mientras el sistema

inmune adaptativo no se ha desarrollado lo suficiente como para desencadenar una respuesta efectiva ante el patógeno (42).

En el caso de la inmunización de alevines existen algunos resultados contradictorios con respecto a la inmunotolerancia ante inmunopotenciación con LPS (43-45). Swain y cols., 2002, concluyen que larvas y alevines de carpa muestran resultados alentadores en cuanto a protección contra *E. tarda* (46), mientras que Evans y cols., 2004 (47) demuestran que en alevines de tilapia el tamaño y la edad inflúan positivamente en la protección ante *Streptococcus agalactiae*, independientemente de la vía de inmunización.

Lo antes expuesto permite deducir que no existe homogeneidad en las conclusiones con respecto a la edad o etapa más adecuada para estos tratamientos, aunque los mayores índices de mortalidad están en las primeras etapas de los cultivos. Por esta razón consideramos que las investigaciones deben enfocarse en garantizar mayores índices de supervivencia en estas etapas. Una de las alternativas para ello son los inmunopotenciadores que pueden ser administrados ante situaciones estresantes, como largos traslados y selecciones seriadas por peso, todo esto por supuesto con un trasfondo inmunológico que justifique la efectividad del producto en cuestión.

Otro de los retos a enfrentar por los investigadores es definir la estrategia o método de aplicación más adecuado de los inmunopotenciadores para cada tipo de cultivo. Los métodos o vías que más comúnmente se utilizan para administrar inmunopotenciadores a peces son la inyección, la inmersión y la administración oral como suplemento dietético (23). Cada uno de ellos tiene ventajas y desventajas, razón por la cual muchos autores los utilizan indistintamente. En el caso de la inyección, principalmente intraperitoneal, se demuestra en numerosos estudios que es la vía o ruta inmunológicamente más efectiva y asegura la misma dosis para todos los peces (47). Sin embargo, los costos, las dificultades de implementación a peces menores de 15 g, el estrés causado por la manipulación (27), la poca factibilidad de su aplicación a grandes masas y en el cultivo extensivo reducen su aplicabilidad en el sector (9). El método de inmersión facilita el tratamiento de grandes masas de peces pequeños; pero tiene como desventaja el riesgo de degradación de los compuestos en el agua (49) y el estrés al trasladar los peces al recipiente de tratamiento (49, 28).

La administración oral es un método económicamente sostenible. Este reduce la manipulación de los peces durante su aplicación, puede utilizarse en cualquier etapa de cultivo, por lo que el tamaño no es un factor limitante (30) y se puede emplear tanto en cultivos extensivos como intensivos. Estas son las razones por la cual se considera a este método como la vía ideal de vacunación e inmunopotenciación en los peces (24). No obstante, tiene como inconvenientes que es difícil

determinar la dosis consumida por cada pez; muchas veces se logran niveles bajos de protección y poco duraderos, comparados con el método de inyección y que los antígenos se pueden degradar en el sistema digestivo de los peces o en el agua.

Una de las formas de solucionar este problema es el recubrimiento de los antígenos en estructuras que impidan su degradación o destrucción (25, 49). En este sentido los cocleatos funcionan con este fin pues son resistentes a la digestión enzimática (50), lo que favorecería tanto la respuesta inmune como la funcionabilidad de la formulación antigénica y de la vía oral como método de aplicación. Teniendo en cuenta esto, en nuestro laboratorio se valora la formulación de cocleatos a partir de LPS u otros patrones moleculares asociados a microbios, para su administración oral en los peces.

Conclusiones

El constante crecimiento de la población mundial implica necesariamente un desafío en cuanto a la producción de grandes volúmenes de alimentos con alta calidad nutritiva. El exceso de manipulación, el traslado y las altas densidades de siembra en la acuicultura intensiva son factores estresantes que favorecen estados inmunosupresivos y por tanto, el incremento de pérdidas económicas por enfermedades. Los inmunopotenciadores que actúan principalmente sobre la respuesta innata de los peces constituyen una estrategia viable, prometedora y económica en la acuicultura, haciendo este proceso más sustentable, ya que reduce el uso indiscriminado de antibióticos y productos quimioterapéuticos.

No obstante, la aplicación de los inmunopotenciadores no se extiende masivamente en todos los cultivos, las especies y las naciones. Esto se debe en algunos casos a las dificultades que tiene la aplicación de los mismos a grandes poblaciones de peces. Por esto, el estudio de los mecanismos inmunológicos innatos y específicos de los peces es un factor que puede ayudar a esclarecer y plantear nuevas estrategias profilácticas, incentivar la búsqueda de inmunopotenciadores más efectivos, así como elaborar y estandarizar el uso de productos económicos con este fin.

Consecuentemente, se deben realizar estudios sistemáticos bajo las condiciones específicas de cada cultivo y dirigir las investigaciones a resolver problemas concretos de las producciones, al particularizar en cada especie y región. En nuestra opinión, la búsqueda de inmunopotenciadores eficientes y económicos en las primeras etapas del cultivo de peces resulta una alternativa promisoriosa a desarrollar, para el aumento de la producción acuícola dentro del contexto nacional.

La evaluación de la capacidad estimulante y potenciadora de subproductos de la industria biotecnológica, como el LPS, posibilitará resolver un problema sanitario en el sector y obtener productos de menor costo.

Referencias

1. FAO Fisheries Department. State of world Fisheries and Aquaculture 2012. FAO Fisheries Technical Paper. Rome: FAO; 2012.
2. Harikrishnan R, Balasundaram C, Kim MC, Kim JS, Han YJ, Heo MS. Effect of a mixed herb-enriched diet on the innate immune response and disease resistance of *Paralichthys olivaceus* against *Philasterides dicentrarchi* infection. *J Aquat Animal Health* 2010;22:235-43.
3. Sakai M. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture* 1999;172:63-92.
4. Kumari J, Sahoo PK. Dietary levamisole modulates the immune response and disease resistance of Asian catfish *Clarias batrachus* (Linnaeus). *Aquaculture Research* 2006;37:500-9.
5. Dimitroglou A, Merrifield DL, Moate R, Davie SJ, Spring P, Sweetman J, et al. Dietary mannan oligosaccharide supplementation modulates intestinal microbial ecology and improves gut morphology of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Anim Sci* 2009;87:3226-34.
6. Heo GJ, Kim JH, Jeon BG, Park KY, Ra JC. Effects of FST-Chitosan mixture on cultured rockfish (*Sebastes schlegelii*) and olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Kor J Vet Pub Health* 2004;25:141-9.
7. Kumar M, Kumar J, Satyanarayana Y, Devivaraprasad A. Animal and plant originated immunostimulants used in aquaculture. *J Nat Prod Plant Resour* 2012;2(3):397-400.
8. Galindo-Villegas J, Hosokawa H. Immunostimulants: Towards Temporary Prevention of Diseases in Marine Fish. En: Cruz Suárez LE, Ricque M, Nieto López MG, Villarreal D, Scholz U y González M. *Avances en Nutrición Acuícola VII Simposio Internacional de Nutrición Acuícola*. Hermosillo, Sonora, México, Noviembre 2004.p.16-9.
9. Sahoo PK. Role of immunostimulants in disease resistance of fish. *CAB Reviews* 2007;2(045):1-18.
10. Maqsood S, Singh P, Hassan M, Munir K. Emerging role of immunostimulants in combating the disease outbreak in aquaculture. *Int Aquat Res* 2011;3:147-63.
11. Mesalhy S, Abd-Allah O, Mahmoud A, Gafer H. Efficiency of Levamisole in Improving the Immune Response of Catfish (*Clarias gariepinus*) to *Aeromonas hydrophila* Vaccine: Clinic-Pathological Studies. *Mediterranean Aquaculture Journal* 2010;1(1):8-17.
12. Vázquez-Piñeiros MA, Rondón-Barraga IS, Eslava-Mocha PR. *Orinoquia* 2012;16(1):46-62.
13. Lim C, Webster CD. *Nutrition and Fish Health*. New York: Food Products Press; 2001.
14. Bricknell I, Dalmo RA. The use of immunostimulants in fish larval aquaculture. *Fish & Shellfish Immunology* 2005;19:457-72.
15. Maqsood S, Samoon MH, Singh P. Immunomodulatory and growth promoting effect of dietary levamisole in *Cyprinus carpio* fingerlings against the challenge of *Aeromonas hydrophila*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 2009;9:111-20.
16. Anderson DP, Jeney G. Immunostimulants added to injected *Aeromonas salmonicida* bacterin enhance the defense mechanisms and protection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet Immunol Immunopathol* 1992;34(3-4):379-89.
17. Renoux G. The general immunopharmacology of levamisole. *Drugs* 1980;20:89-99.
18. Munday BL, Zilberg D. Efficacy of, and toxicity associated with, the use of levamisole in seawater to treat amoebic gill disease. *Fish Pathology* 2003;23:3-6.
19. Rendón L, Balcázar JL. Inmunología de camarones: Conceptos básicos y recientes avances. *Revista AquaTIC* 2003;19:27-33.
20. Guselle NJ, Markham RJF, Speare DJ. Timing of intraperitoneal administration of β -1,3/1,6 glucan to rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), affects protection against the microsporidian *Loma salmonae*. *J Fish Diseases* 2007;30(2):111-6.
21. Sahan A, Duman S. Effect of β Glucan on Haematology of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Infected by Ectoparasites. *Mediterranean Aquaculture Journal* 2010;1(1):1-7.
22. Agius C, Roberts RJ. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. *J Fish Diseases* 2003;26:499-509.
23. Iliev D, Liarte C, Mackenzie S, Goetz F. Activation of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) mononuclear phagocytes by different pathogen associated molecular pattern (PAMP) bearing agents. *Mol Immunol* 2005;42:1215-23.
24. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006;124:783-801.
25. Penagos G, Barato P, Iregui C. Sistema inmune y Vacunación de peces. *Acta biol Colomb* 2009;14(1):3-24.
26. Bowden T, Bricknell I, Ellis AE. Fish Vaccination, an overview. In: Fiorillo J, Mutter R, Burke C. *IntraFish Industry Report 2003*. Bergen: Nordic Edition; 2003.p.5-20.
27. Sobhana KS, Mohan CV, Shankar KM. Effect of dietary vitamin C on the disease susceptibility and inflammatory response of

- mrigal, *Cirrhinus mrigala* (Hamilton) to experimental infection of *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture* 2002;207:225-38.
28. Dabrowski K, Lee KJ, Guz L, Verlhac V, Gabaudan J. Effects of dietary ascorbic acid on oxygen stress (hypoxia or hyperoxia), growth and tissue vitamin concentrations in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 2004; 233:383-92.
 29. Affonso EG, da Costa E, Tavares-Dias M, Cruz G, Melo CS, da Silva E, et al. Effect of high levels of dietary vitamin C on the blood responses of matrinxã (*Brycon amazonicus*). *Comparative Biochemistry and Physiology* 2007;147:383-8.
 30. Pimpimol T, Phoosamran K, Chitmanat C. Effect of dietary vitamin C supplementation on the blood parameters of Mekong giant catfish (*Pangasianodon gigas*). *Int J Agric Biol* 2012;14:256-60.
 31. Ai Q, Mai K, Tan B, Xu W, Zhang W, Liufu Z. Effects of dietary vitamin C on survival, growth and immunity of large yellow croaker, *Pseudosciaena crocea*. *Aquaculture* 2006;261:327-36.
 32. Andrade JIA, Ono EA, Menezes GC, Brasil EM, Roubach R, Urbinati EM, et al. Influence of diets supplemented with vitamins C and E on pirarucu (*Arapaima gigas*) blood parameters. *Comp Biochem Physiol* 2007;146:576-80.
 33. Citarasu T, Sekar RR, Babu MM, Marian MP. Developing Artemia enriched herbal diet for producing quality larvae in *Panaeus monodon*. *Asian Fish Sci* 2002;15:21-32.
 34. Sivaram V, Babu MM, Citarasu T, Immanuel G, Murugadass S, Marian MP. Growth and immune response of juvenile greasy groupers (*Epinephelus tauvina*) fed with herbal antibacterial active principle supplemented diets against *Vibrio harveyi* infections. *Aquaculture* 2004;237:9-20.
 35. Devasagayam TPA, Sainis KB. Immune system and antioxidants, especially those derived from Indian medicinal plants. *Ind J Exp Biol* 2002;40:639-55.
 36. Campbell RE, Lilley JH, Richards RH. The use of natural products in the treatment of EUS (Epizootic Ulcerative Syndrome). In: Kane AS, Poynton S.L, eds. Third International Symposium on Aquatic Animal Health, Baltimore, USA, 30 August - 3 September. APC Press-University of Maryland Foundation, Inc;1998.p.36-40.
 37. Citarasu T, Sivaram V, Immanuel G, Rout N, Murugan V. Influence of selected Indian immunostimulant herbs against white spot syndrome virus (WSSV) infection in black tiger shrimp, *Panaeus monodon* with reference to haematological, biochemical and immunological changes. *Fish Shellfish Immunol* 2006;21:372-84.
 38. Abasali H, Mohamad S. Immune Response of Common Carp (*Cyprinus carpio*) Fed with herbal Immunostimulants. *Diets Agric J* 2010;5(3):163-72.
 39. Alishahi M, Ranjbar MM, Ghorbanpour M, Mesbah M, Jalali M. Effects of dietary *Aloe vera* on some specific and nonspecific immunity in the common carp [*Cyprinus carpio*]. *Int J of Veterinary Res* 2010;4:189-95.
 40. Jayathirtha MG, Mishra SH. Preliminary immunomodulatory activities of methanol extracts of *Eclipta alba* and *Centella asiatica*. *Phytomedicine* 2004;11(4):361-5.
 41. Harris J, Bird DJ. Modulation of the fish immune system by hormones. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 2000;77:163-76.
 42. Mulero I, García-Ayala A, Meseguer J, Mulero V. Maternal transfer of immunity and ontogeny of autologous immunocompetence of fish: A minireview. *Aquaculture* 2007;268:244-50.
 43. Dalmo RA, Seternes T, Arnesen SM, Joergensen TO, Bogwald J. Tissue distribution and cellular uptake of *Aeromonas salmonicida* lipopolysaccharide (LPS) in some marine fish species. *J Fish Dis* 2002;21:321-34.
 44. Dalmo RA, Kjerstad A, Arnesen SM, Joergensen TO, Bogwald J. Bath exposure of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) yolk sac larvae to bacterial lipopolysaccharide (LPS): Absorption and distribution of the LPS and effect on fish survival. *Fish Shellfish Immunol* 2000;10:107-28.
 45. Selvaraj V, Sampath K, Sekar V. Extraction and Characterization of Lipopolysaccharide from *Aeromonas hydrophila* and Its Effects on Survival and Hematology of the Carp, *Cyprinus carpio*. *Asian Fish Sci* 2004;17:163-73.
 46. Swain P, Nayak SK, Sahu A, Mohapatra BC, Meher PK. Bath immunisation of spawn, fry and fingerlings of Indian major carps using a particulate bacterial antigen. *Fish Shellfish Immunol* 2002;13:133-40.
 47. Evans JJ, Klesius PH, Shoemaker CA. Efficacy of *Streptococcus agalactiae* (group B) vaccine in tilapia (*Oreochromis niloticus*) by intraperitoneal and bath immersion administration. *Vaccine* 2004;22:3769-73.
 48. Shao ZJ. Aquaculture pharmaceuticals and biologicals: current perspective and future possibilities. *Adv Drug Deliv Rev* 2001;50:229-43.
 49. Vandenberg GW. Oral vaccine for finfish: academic theory or commercial reality? *Anim Health Res Rev* 2004;5:301-4.
 50. McGhee JR, Kiyono H. Mucosal Immunology. In: Paul W.E. editor. *Fundamental immunology*. 4th ed. San Diego (CA). Academic Press: 1999.p.909-45.

Immune-potentiators for the Aquaculture

Abstract

Aquaculture represents one of the fastest-growing animal food-producing sectors worldwide. One of the main challenges is to obtain high-volume production with the highest possible quality, this leads to reduce the use of antibiotics and chemotherapeutics. A promising solution to these problems is the application of immune-potentiators mainly in intensive farming. This article aims to review the main immune-potentiators, as well as the trends and challenges of global use of them. It summarizes the main molecular and functional characteristics with emphasis on those most studied such as levamisole, β -glucans, lipopolysaccharide, vitamin C, plant extracts and hormones. All these heterogeneous compounds, mostly affect the innate immunity of fish, strengthening and enhancing disease resistance and some of them additionally have anti-stress effect and promote fish growth. We conclude that immune-potentiators are a viable strategy to reduce losses for health problems in aquaculture field, however, aspects such as administration route and appropriate immunization phase for each species remains to be solved.

Key Words: Aquaculture, immune-potentiators, stress, fish diseases

Recibido: Agosto de 2013

Aceptado: Septiembre de 2013