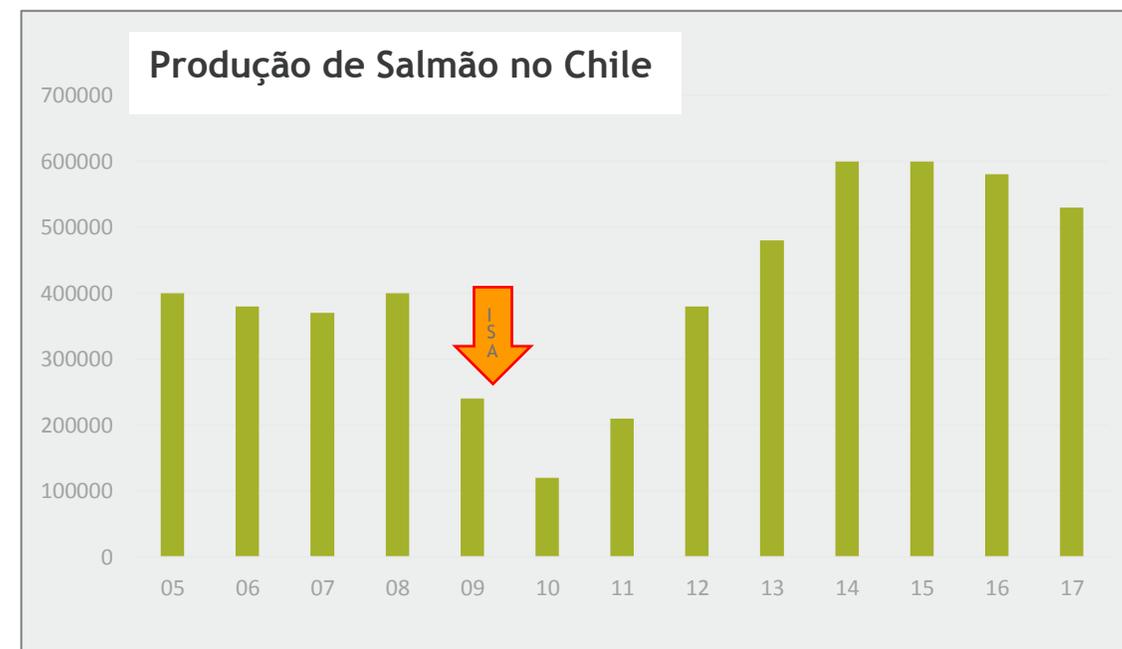


Aditivos funcionais para rações, chave para apoiar a prevenção de doenças na aquicultura

Waldo Nuez, PhD
w.nuezortin@nutriad.com



A doença é o principal gargalo que restringe a "Revolução Azul"



– Doenças na aquicultura: > U\$ 6 bilhões / ano (World Bank Report 2014)

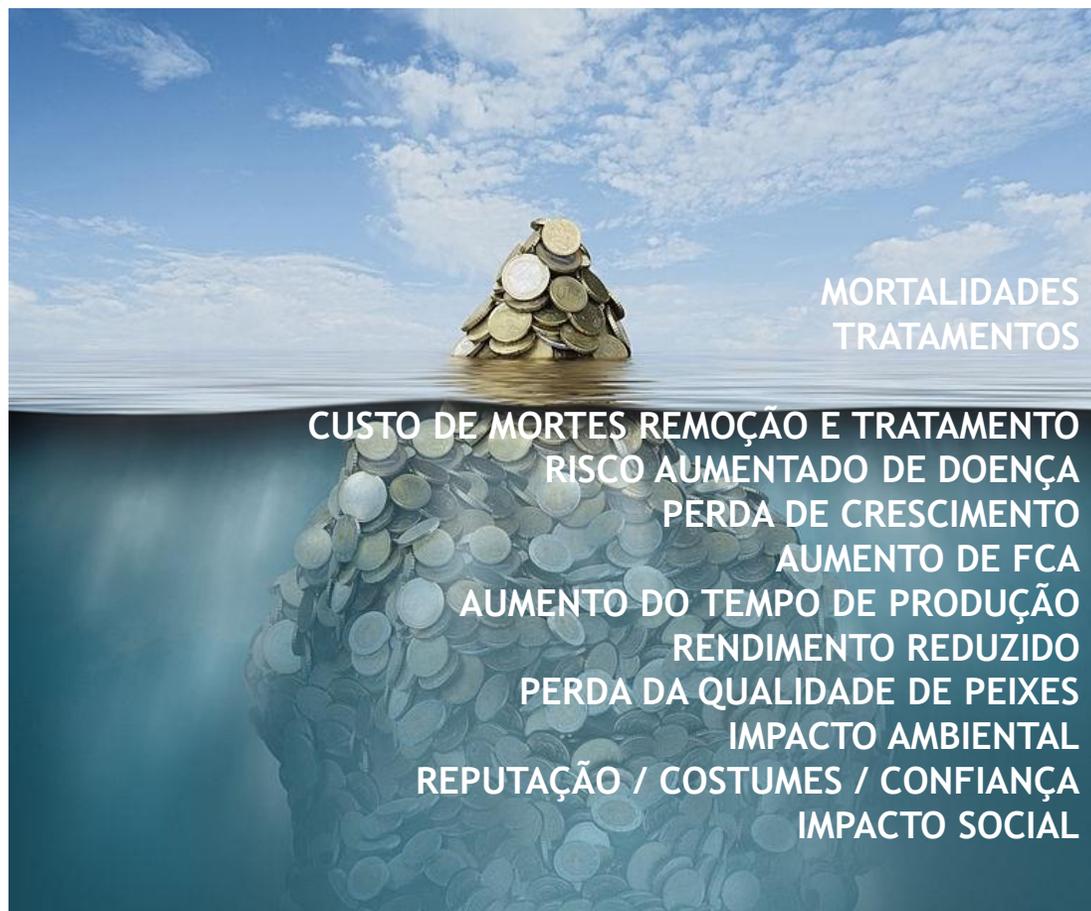
Doença em fazendas de peixes no Brasil



Fatores	Unidades	Valores
Área de produção	Ha, bilhões	2
Densidade de estocagem	peixe/m ²	5
Número de peixes cultivados	bilhões	10
Preço médio de produção por peixe	\$ USD	0,28
Mortalidade média	%	15
Número total de peixes mortos por ano	Milhões	300
Perda total na produção de peixe por ano	\$USD, milhões	84

Tavares-Dias and Martins, 2017

Controle de Doenças: curativo vs preventivo



Eficácia reduzida e uso de tratamentos antibióticos e antiparasitários



- Maior resistência ao tratamento

JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH, PART B
2016, VOL. 51, NO. 12, 817–823
<http://dx.doi.org/10.1080/03601234.2016.1208457>



Relationship between antibiotic residues and occurrence of resistant bacteria in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in cage-farm



Research Article

Antibiotic-Resistant Vibrios in Farmed Shrimp

- Restrições crescentes ao uso de antibióticos

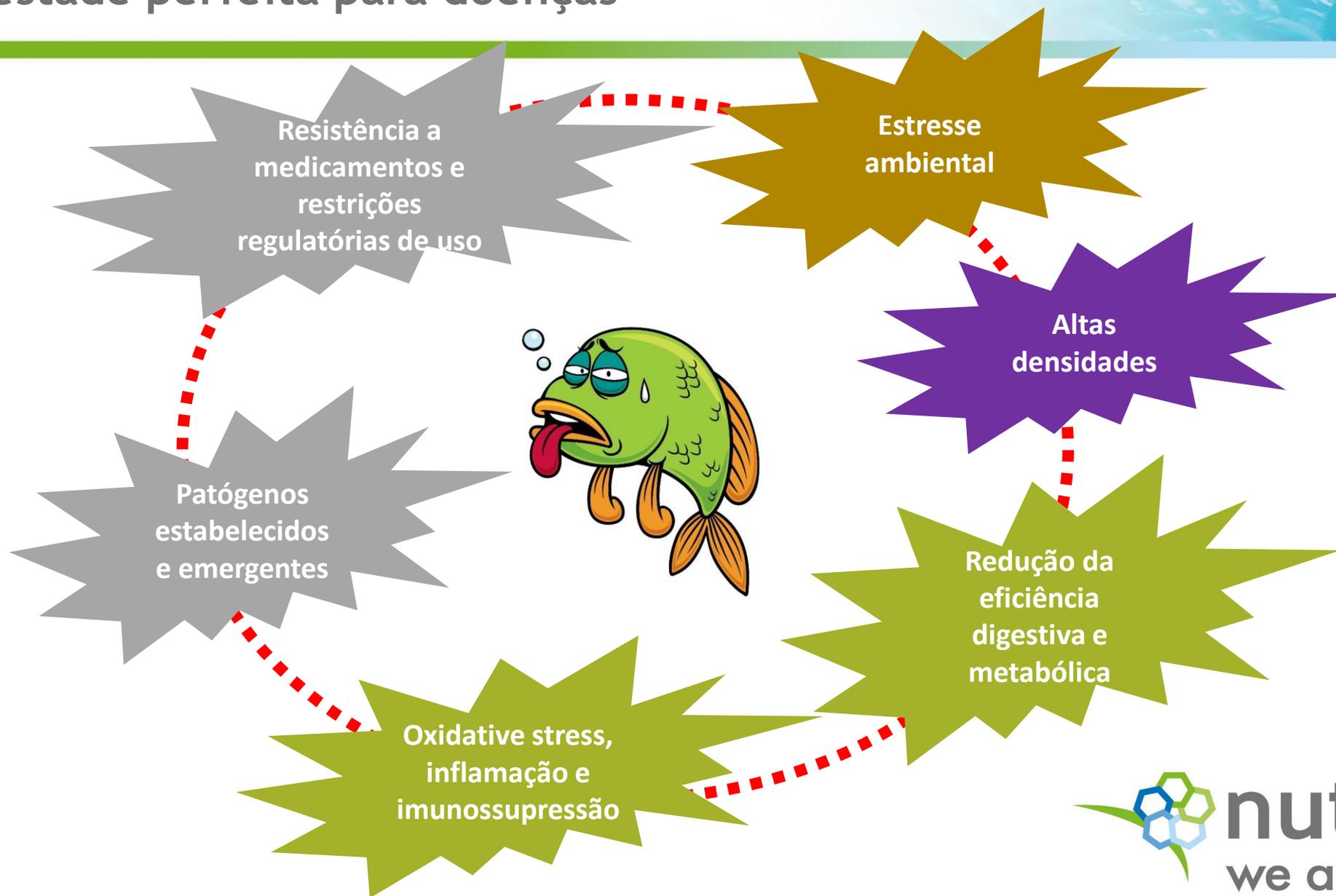


- Tratamentos antiparasitários são altamente restritos

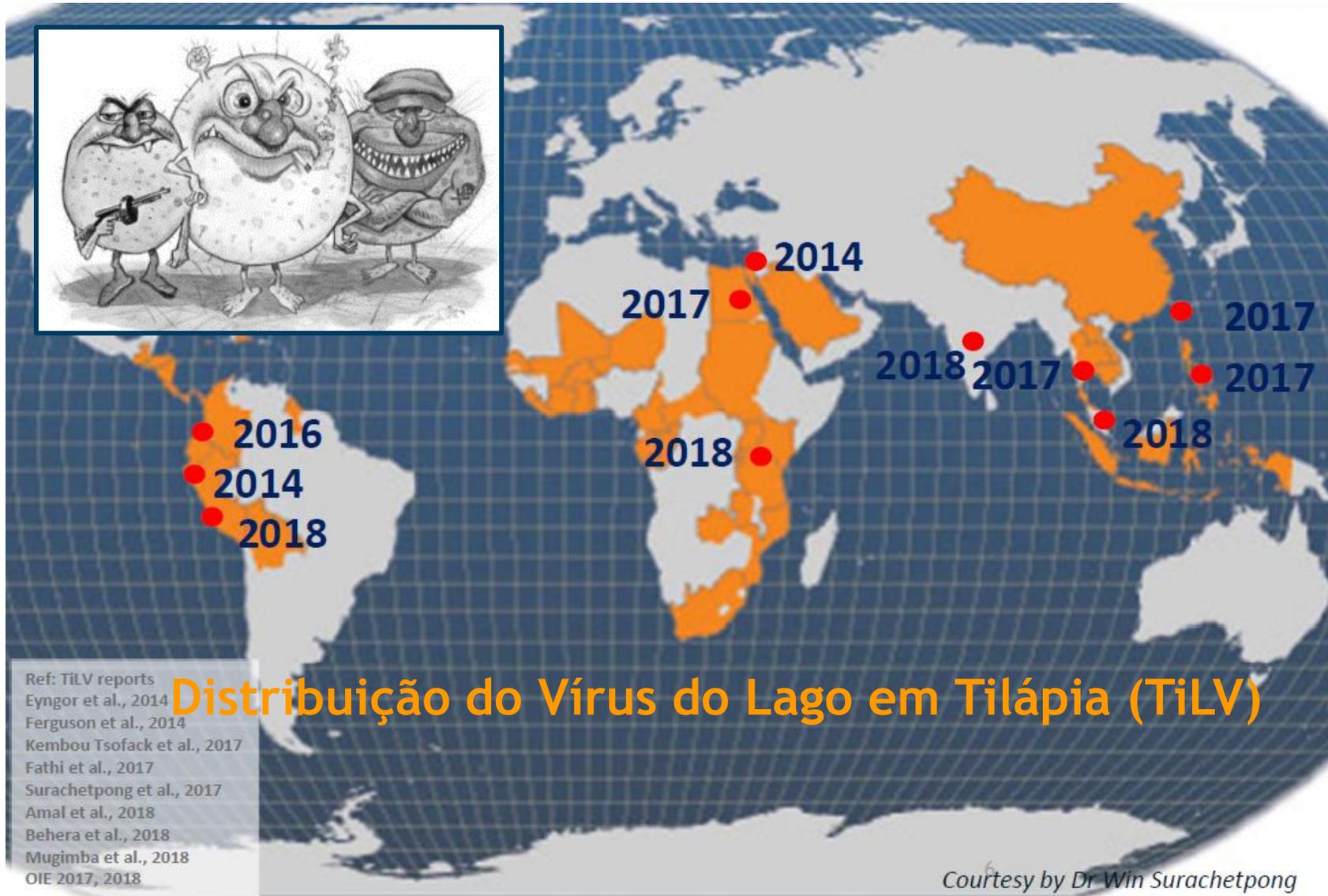
- A doença não é apenas um problema produtivo !!



Uma tempestade perfeita para doenças



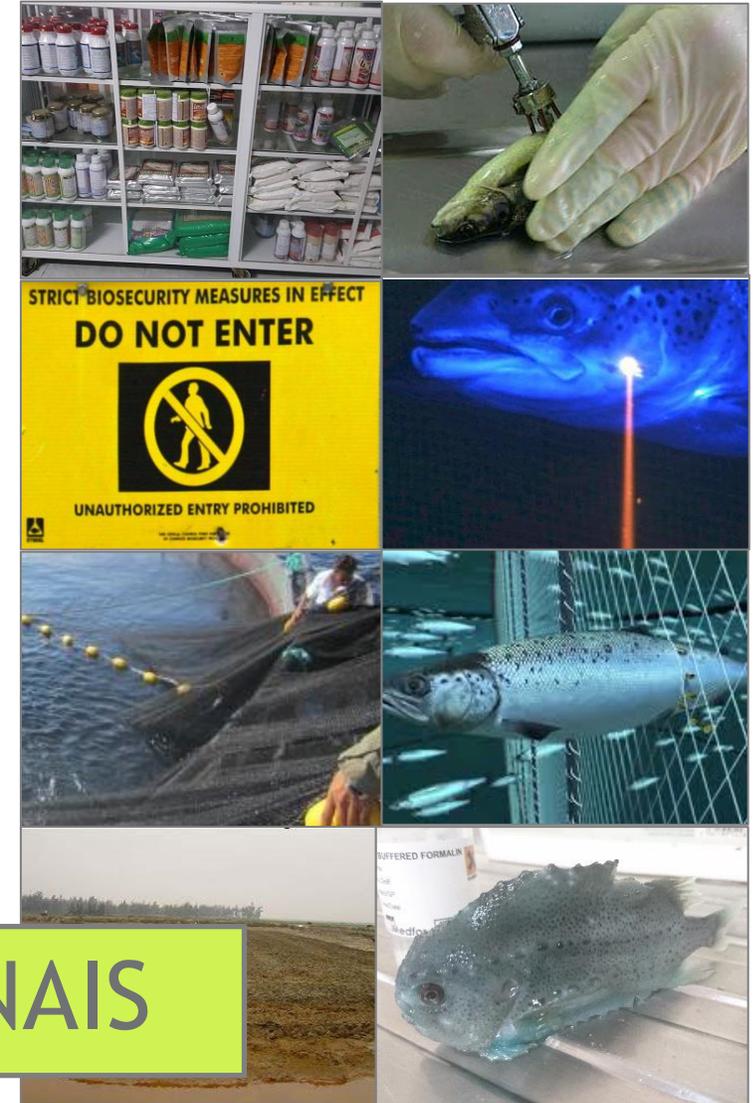
Não se esqueça de infecções secundárias



Estratégias para prevenir doenças

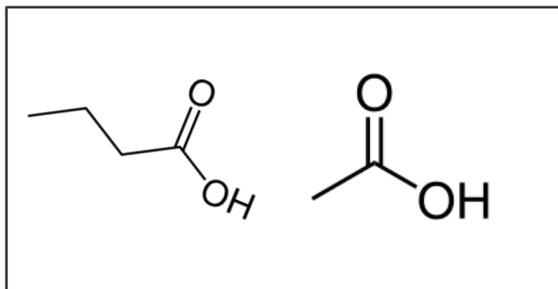


- Boas práticas de manejo: manejo de água e solo, banheiros de camarão, estratégias all-in all-out, etc.
- Manejo Integrado de Pragas (MIP)
- Medidas mecânicas e biológicas: áreas de natação restritas, laser, armadilhas flexíveis, predadores parasitas
- Vacinação
- Químicos / tratamentos medicinais também são uma necessidade

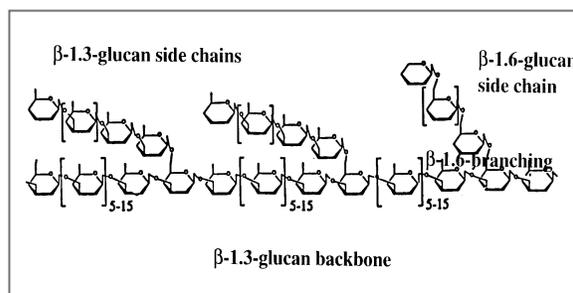


+ ADITIVOS FUNCIONAIS

Aditivos funcionais para alimentação animal para promover a saúde



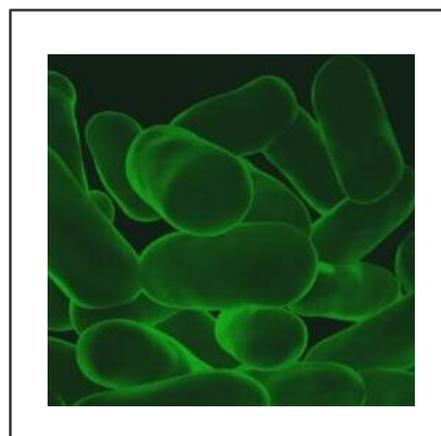
Ácidos orgânicos



Prebióticos



Fitobióticos



Probióticos

Contents lists available at ScienceDirect

Fish and Shellfish Immunology

ELSEVIER journal homepage: www.elsevier.com/locate/fsi

Full length article

Effect of yeast (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) and plant (Saint John's wort, lemon balm, and rosemary) extract based functional diets on antioxidant and immune status of Atlantic salmon (*Salmo salar*) subjected to crowding stress

Check for updates

Parasites & Vectors

RESEARCH Open Access

Dietary phytochemicals modulate skin gene expression profiles and result in reduced lice counts after experimental infection in Atlantic salmon

Aquaculture Nutrition

doi: 10.1111/anu.12451

Effect of oregano (*Origanum onites* L.) essential oil on growth, lysozyme and antioxidant activity and resistance against *Lactococcus garvieae* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Aquaculture

ELSEVIER journal homepage: www.elsevier.com/locate/aqua-online

Contents lists available at ScienceDirect

Aquaculture

ELSEVIER journal homepage: www.elsevier.com/locate/aquaculture

Antiparasitic efficacy of commercial curcumin against *Ichthyophthirius multifiliis* in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)

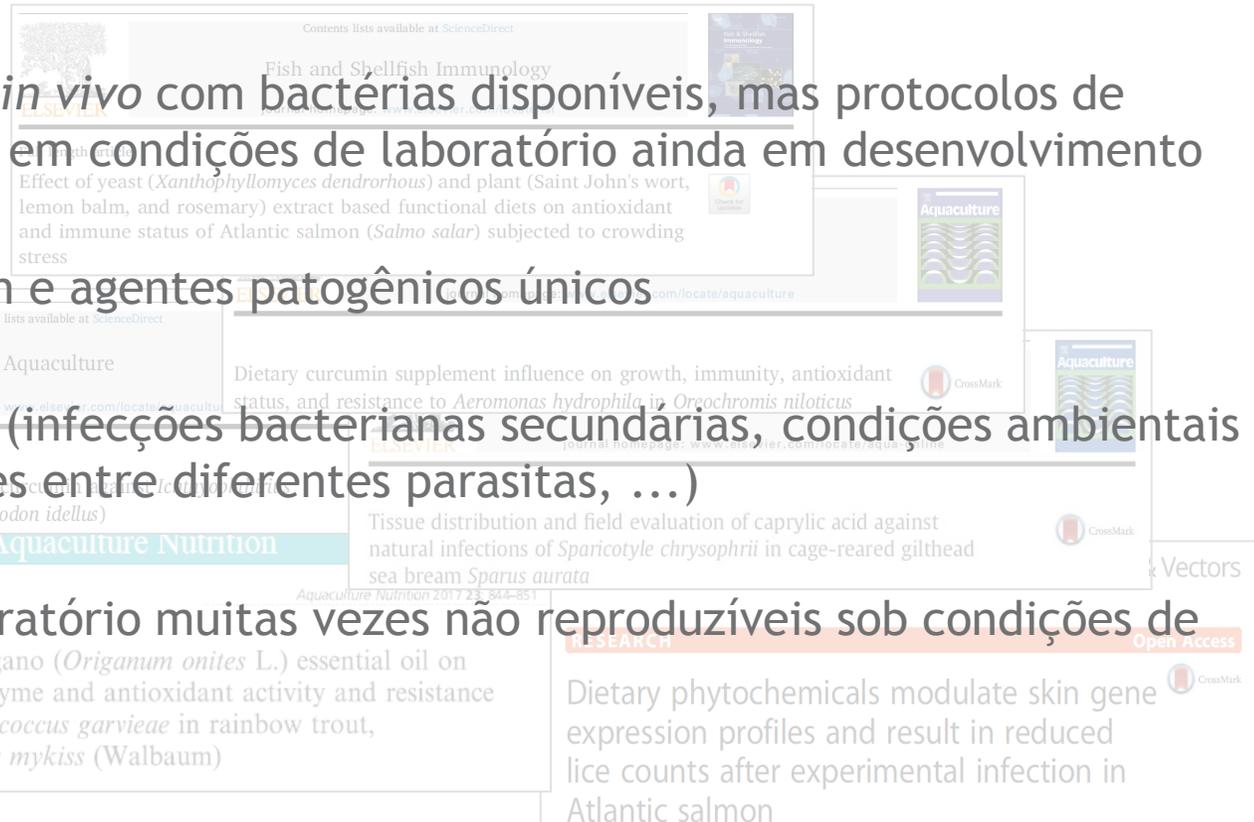


Investigação sobre prevenção de doenças na aquicultura - através de aditivos funcionais para rações



COMPLEXO !

- Desafios *in vitro* e *in vivo* com bactérias disponíveis, mas protocolos de desafio parasitário em condições de laboratório ainda em desenvolvimento
- Pesquisa focada em e agentes patogênicos únicos
- Múltiplas variáveis (infecções bacterianas secundárias, condições ambientais sazonais, interações entre diferentes parasitas, ...)
- Resultados de laboratório muitas vezes não reproduzíveis sob condições de produção



Aditivos fitogênicos para a alimentação animal, visando melhorar a saúde e a digestão na aquicultura



Horseradish



Juniper



Yarrow



Ginger



Rosemary



Thyme

Para uma **composição ideal** baseada em pesquisa de ingredientes naturais



Cassia



Milk thistle



Pine



Garlic



Aniseed

- ◇ > 12.000 metabólitos isolados de plantas secundárias: terpenóides, derivados de aminoácidos, flavonóides, ...
- ◇ Ampla variedade de ações:
 - anti-oxidante, antimicrobiano, antiparasitário, aumento do apetite, estimulante da secreção de bÍlis e atividade enzimática digestiva, promotores de crescimento...
- ◇ Alternativa para os promotores de crescimento de antibióticos (AGP)

Prevenção de doenças através de aditivos funcionais para rações



➔ Como parte integrante da estratégia de prevenção de doenças

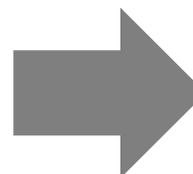
➔ Complemento à nutrição ideal

PATÓGENO

- Inibição direta do crescimento de bactérias patogênicas
- Inibição do quorum sensing
- Interrupção do ciclo de vida do parasita

HOSPEDEIRO / ANIMAL

- Modulação da composição da microbiota intestinal
- Reforço da integridade intestinal
- Melhoria da resposta antioxidante
- Promoção de respostas imunes protetoras na pele e no muco



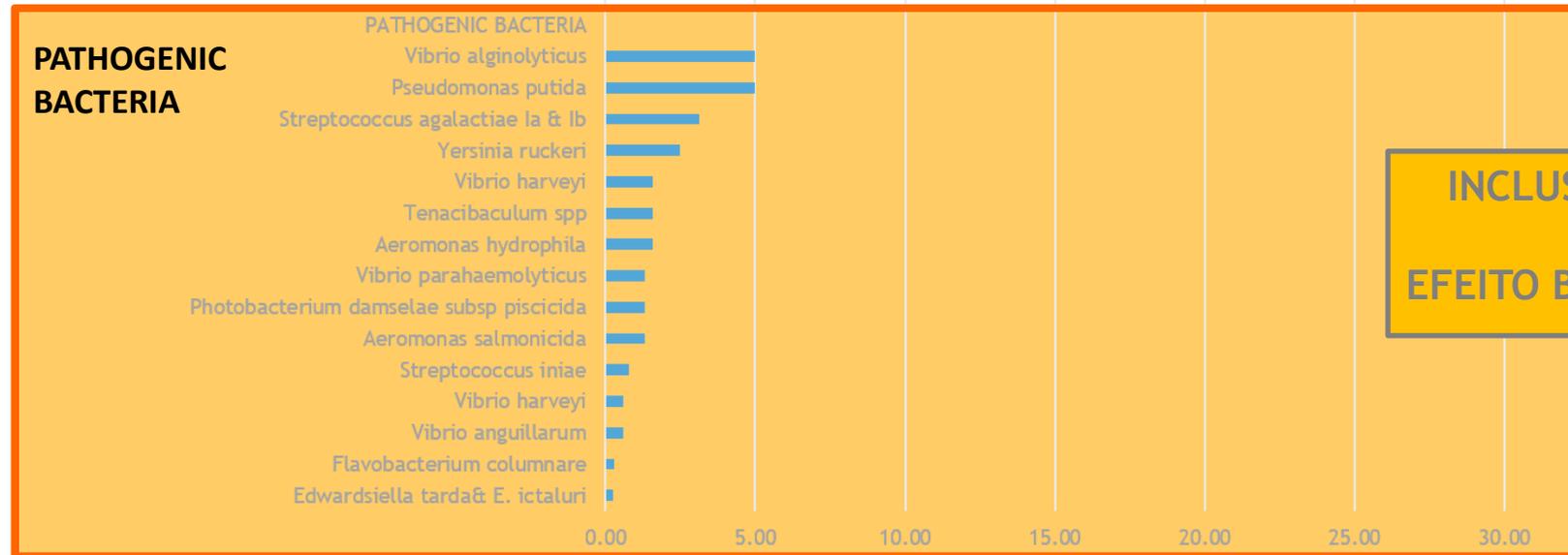
PREVENÇÃO DE DOENÇA

PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO

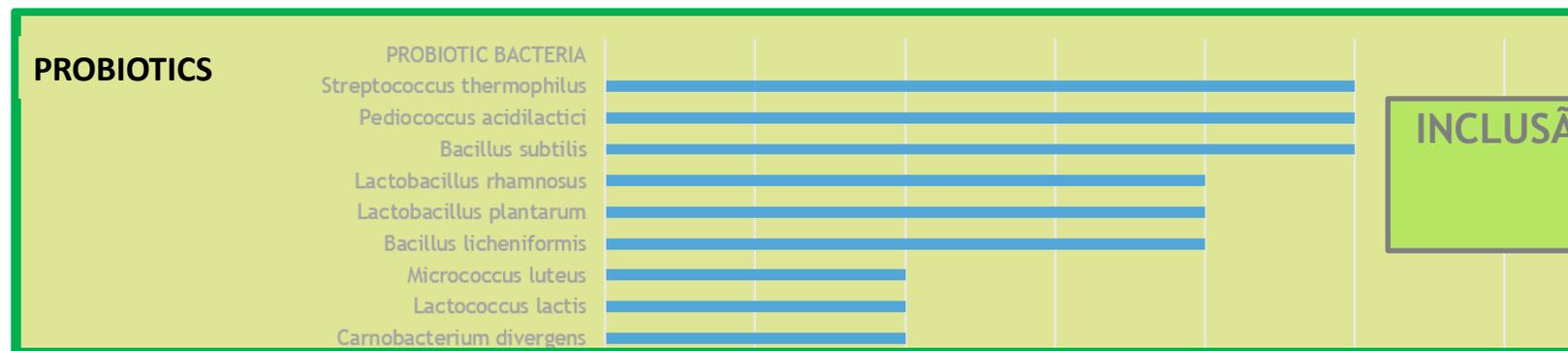
 **SANACORE® GM**

 **nutriad**
we add more

Ensaio *in vitro* - Valores mínimos de concentração inibitória (MIC) do aditivo funcional da ração (SANACORE® GM) para diferentes bactérias patogênicas e probióticas



INCLUSÃO NA DIETA DE 2-5 KG / MT
↓
EFEITO BACTERICIDA/BACTERIOSTATICO



INCLUSÃO NA DIETA DE 2-5 KG / MT
↓
SEM EFEITO

CONCENTRATION OF SANACORE GM (mg/ml)

Teste *in vitro* - valores de MIC de SANACORE® GM e BACTINIL® AQUA para patógenos que afetam a tilápia do Nilo cultivada no Brasil



	%	4	2	1	0.5	0.25	0.125	0.06	0.03	0.015	0.0075	0.00375	0.001875
	µg/ml ; g/kg ; Kg/mT	40	20	10	5	2.5	1.25	0.6	0.3	0.15	0.075	0.0375	0.01875
SANACORE® GM	<i>Streptococcus agalactiae</i>	BC	BC	BC	BC	R	R	R	R	R	R	R	R
	<i>Francisella noatunensis subsp. orientalis</i>	BC	BC	BC	BC	BC	BC	R	R	R	R	R	R
BACTI-NIL® AQUA	<i>Streptococcus agalactiae</i>	BC	BC	BC	BC	BC	R	R	R	R	R	R	R
	<i>Francisella noatunensis subsp. orientalis</i>	BC	BC	BC	BC	BC	BC	BC	BC	R	R	R	R
COMPETITOR 1	<i>Streptococcus agalactiae</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	<i>Francisella noatunensis subsp. orientalis</i>	BC	BC	BC	R	R	R	R	R	R	R	R	R
COMPETITOR 2	<i>Streptococcus agalactiae</i>	BC	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	<i>Francisella noatunensis subsp. orientalis</i>	BC	BC	BC	BC	BC	R	R	R	R	R	R	R

R	Resistente
BC	Bactericida



LABORATORY OF FISH BACTERIOLOGY



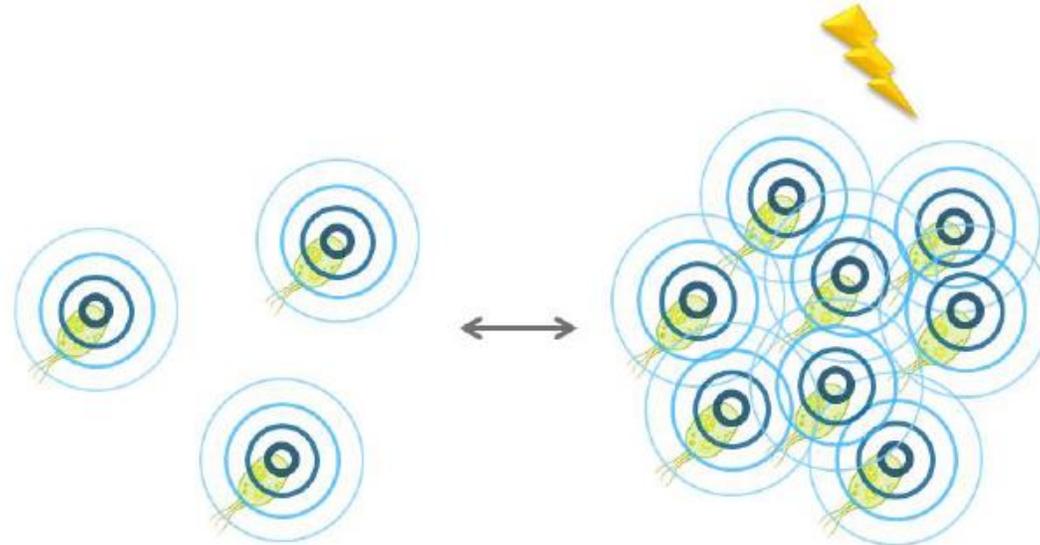
UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA



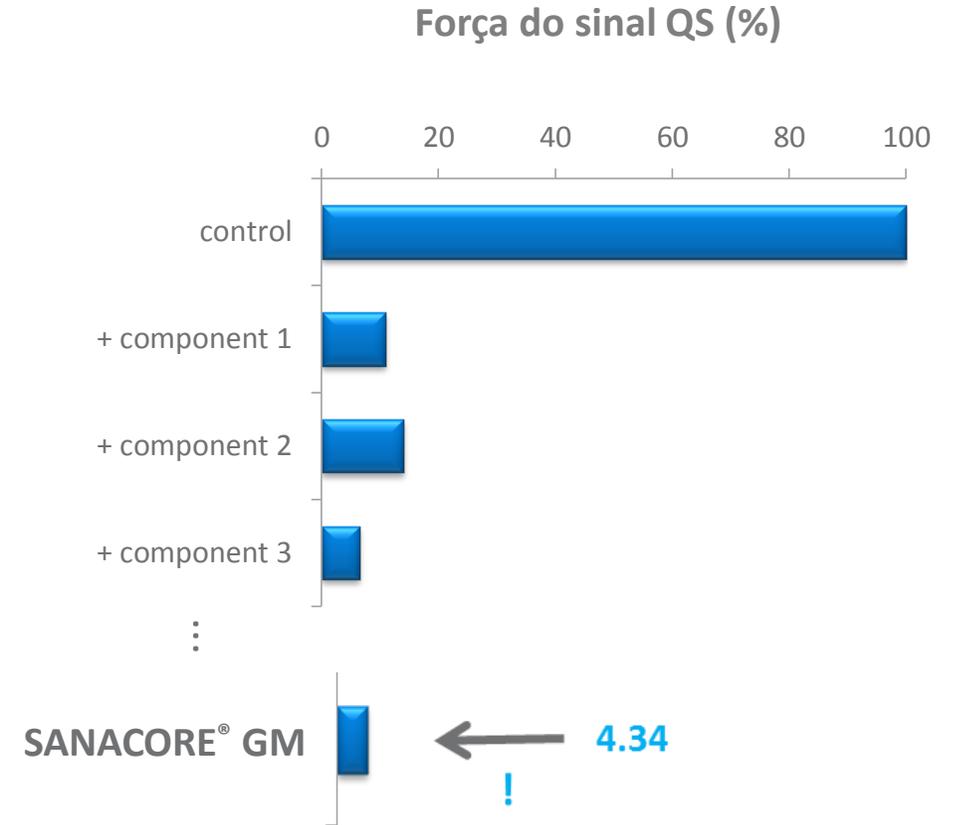
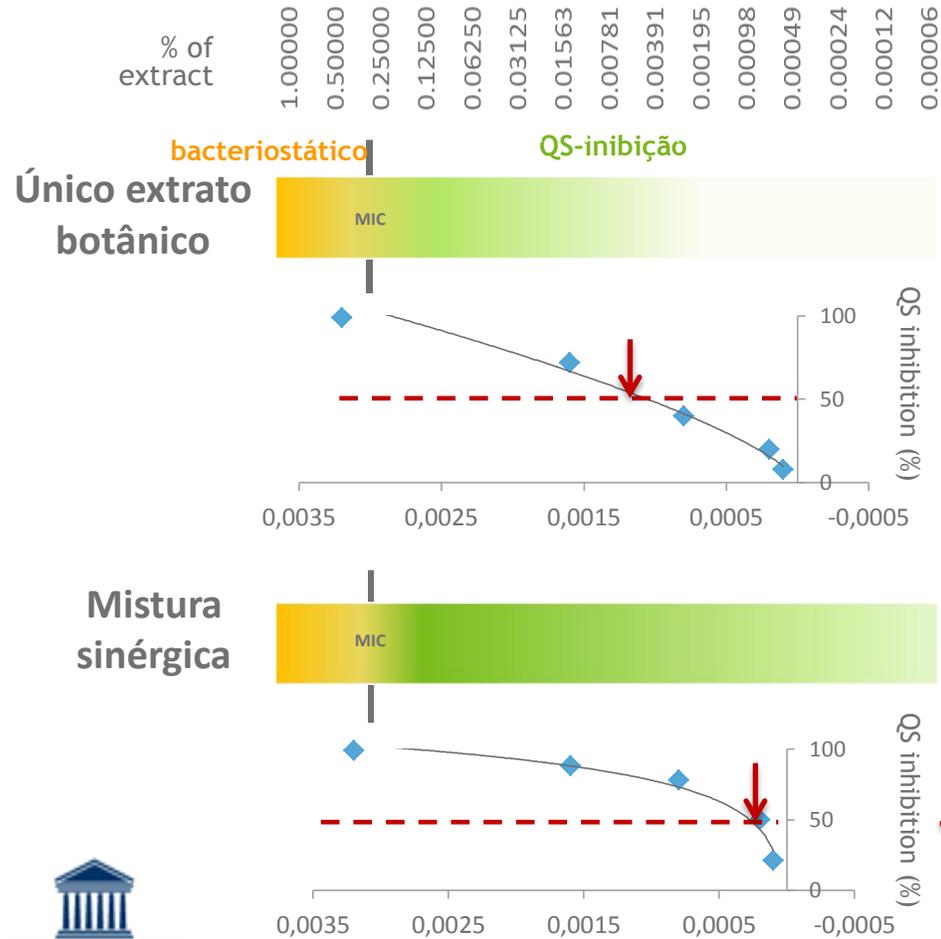
Ensaio *in vitro* - Quorum Sensing (QS) para desenvolver aditivos alimentares para a saúde



- Componentes antibacterianos vão acabar no trato gastrointestinal de animais em níveis muito abaixo do MIC
- O QS é uma forma de comunicação bacteriana, frequentemente associada à patogenicidade e outras respostas bioquímicas críticas em bactérias



Teste *in vitro* - Combinações sinérgicas (SANACORE® GM) mostram inibição mais forte do Quorum Sensing



Testes *in vivo* - SANACORE® GM promove o crescimento e reduz a mortalidade contra *Francisella spp.* e *Streptococcus agalactiae* (tipo 3) em tilápia do Nilo



- Duas infecções experimentais separadas: *Francisella spp.* e *Streptococcus agalactiae*
- n = 2
- Peixe alimentado por 20d pré-infecção
- Infecção:
 - *Francisella spp.* - imersão 10^7 UFC / ml água durante 2h
 - *S. agalactiae* - intraperitoneal 10^5 UFC / peixe
- Monitorado 20d pós-infecção

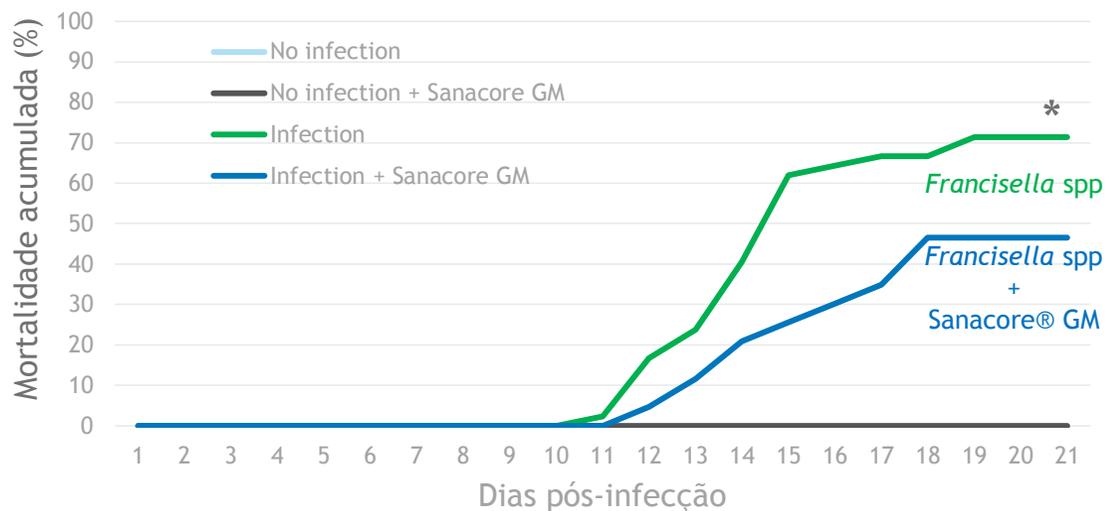
	Initial weight (g)	Final weight (g)	Daily weight gain (g)	Feed/fish/day (8 day acclimation)	Feed/fish/day (20 days)	FCR	SGR
No infection	35,73	55,3	0,70	0,56	0,72	1,83	2,08
No infection + Sanacore®GM	34,7	63	1,01	0,56	0,75	1,30	2,84
Infection <i>Francisella spp.</i>	36,4	53,2	0,60	0,53	0,69	2,03	1,81
Infection <i>Francisella spp.</i> + Sanacore®GM	32,4	50,1	0,63	0,54	0,67	1,91	2,08
Infection <i>S. agalactiae</i>	34,6	48,32	0,49	0,53	0,67	2,45	1,60
Infection <i>S. agalactiae.</i> + Sanacore®GM	34,4	53,5	0,68	0,53	0,72	1,83	2,10

- Efeito promotor de crescimento em peixes não infectados
- FCR melhorado em 6% e SGR em 15% em peixes infectados com *Francisella spp.*
- Ingestão melhorada em 7%, FCR melhorada em 25% e SGR em 30% em peixes infectados por *S. agalactiae*.

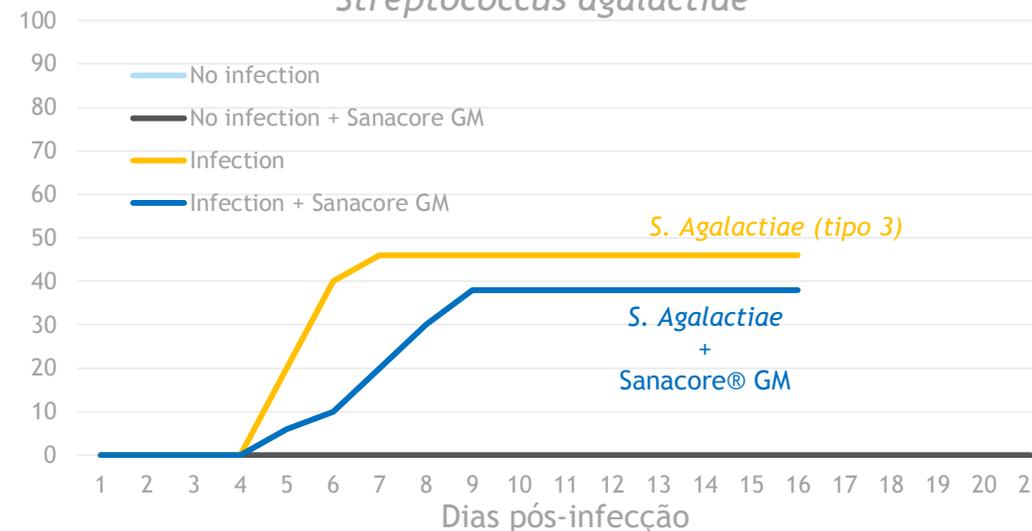
Teste *in vivo* - SANACORE® GM reduz a mortalidade contra *Francisella spp* e *Streptococcus agalactiae* em tilápia do Nilo



Taxa de mortalidade acumulada contra *Francisella spp*



Taxa de mortalidade acumulada contra *Streptococcus agalactiae*



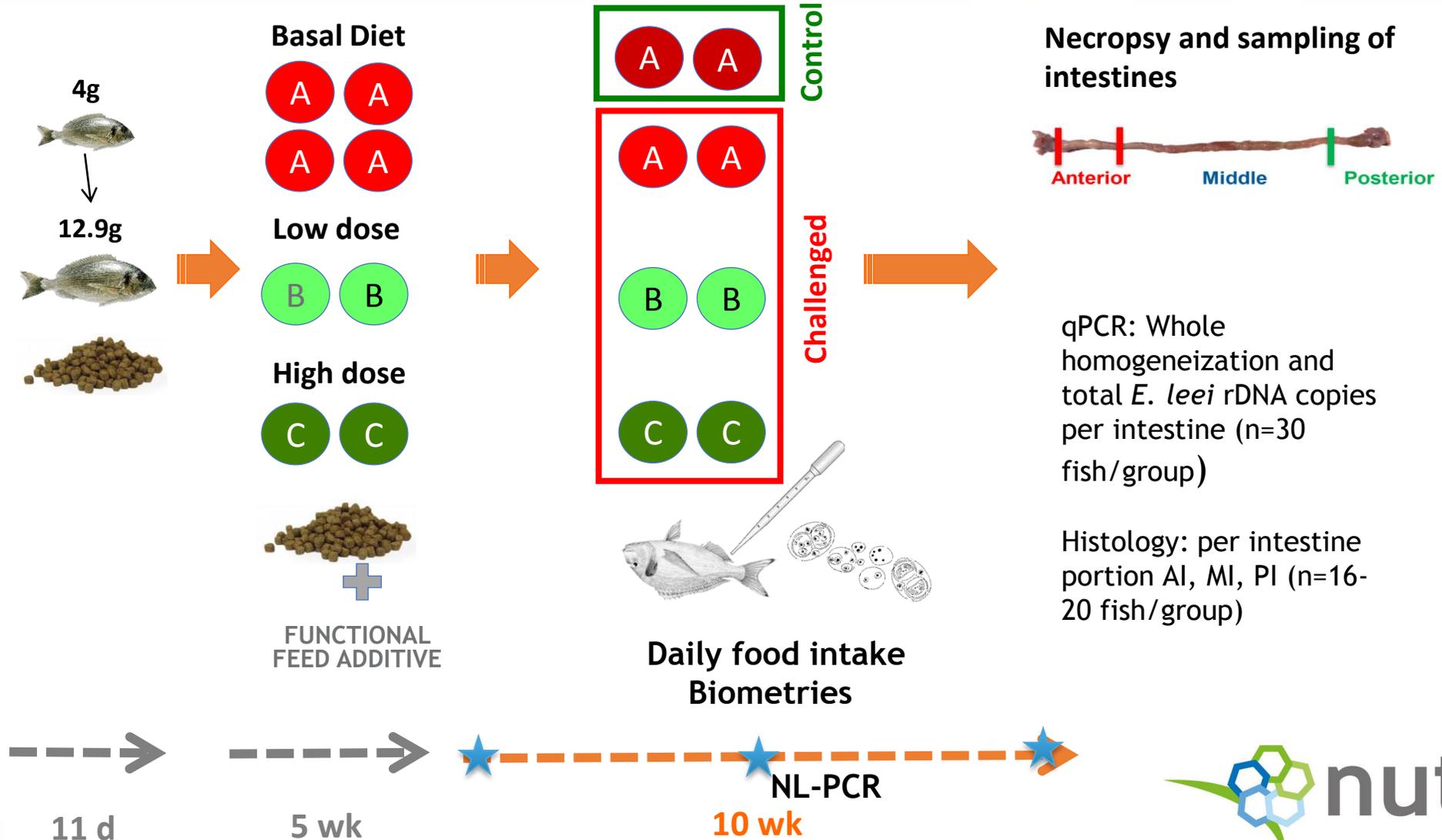
- Aos 20 dias após a infecção, reduziu a mortalidade em 35% contra *Francisella spp*. em 17% contra *S. agalactiae*

Desafio *in vivo* (espécie alvo) - SANACORE® GM contra infecção por *Enteromyxum leei* em dourada



- Perda de peso e crescimento interrompido
 - Danos estruturais diretos do epitélio intestinal
 - Anorexia e gasto extra de energia
- Nem vacinas nem medicamentos de prescrição eficazes

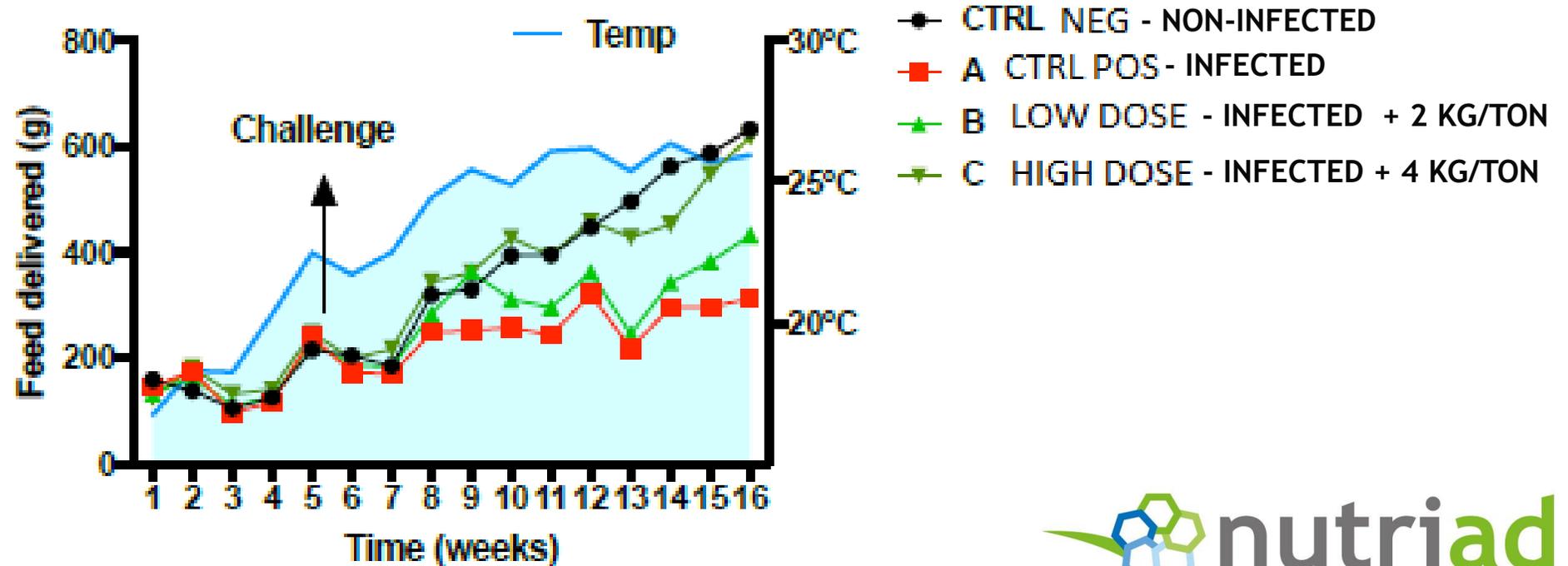
Desafio *in vivo* (espécie alvo) - SANACORE® GM contra infecção por *Enteromyxum leei* em dourada



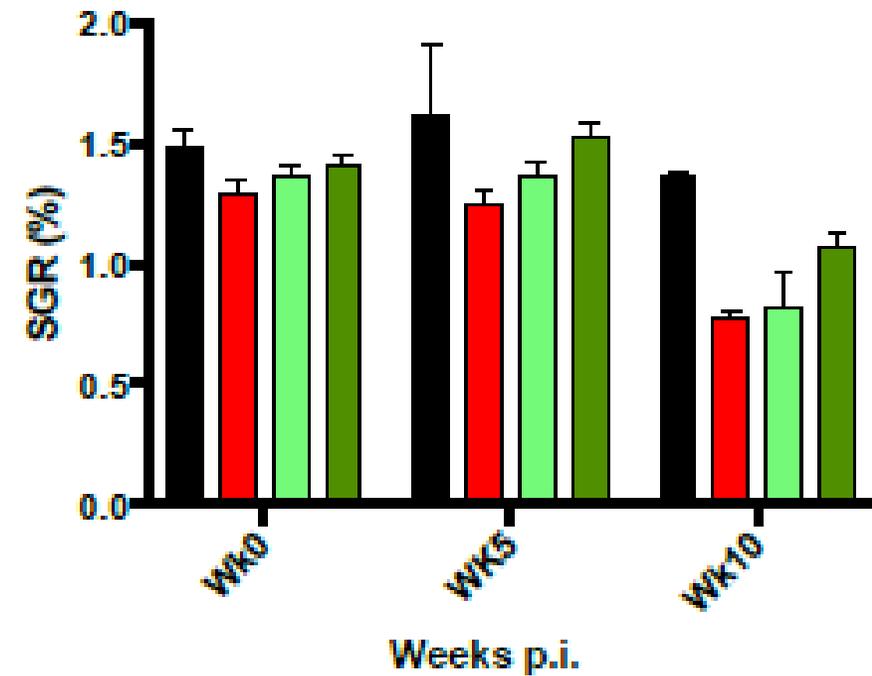
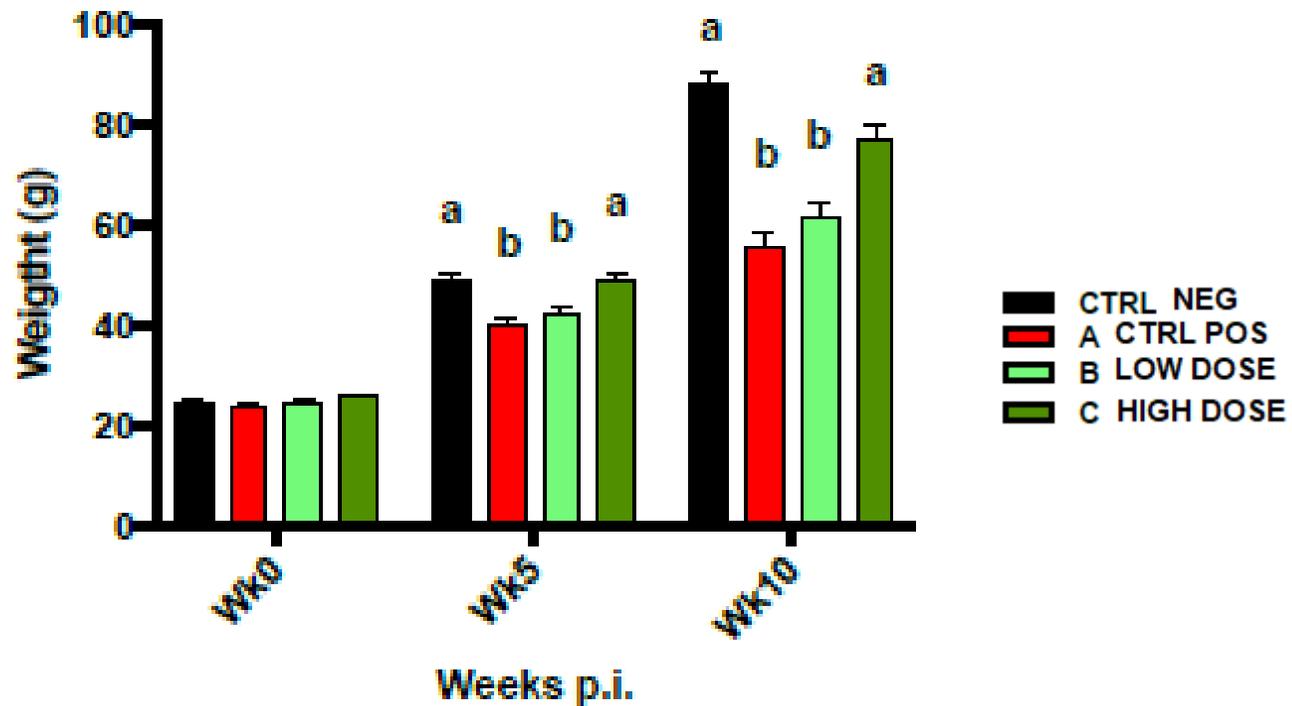
Desafio *in vivo* (espécie alvo) - SANACORE® GM contra infecção por *Enteromyxum leei* em dourada



- Desafio a 21 °C, de 18° a 26.5 ° C
- Efeitos na ingestão uma semana após o desafio e mais evidente no final do ensaio:
- - CTRL NEG e C-dose alta: consumo de ração não afetado
- - CTRL POS e B-dose baixa: consumo de ração significativamente afetado



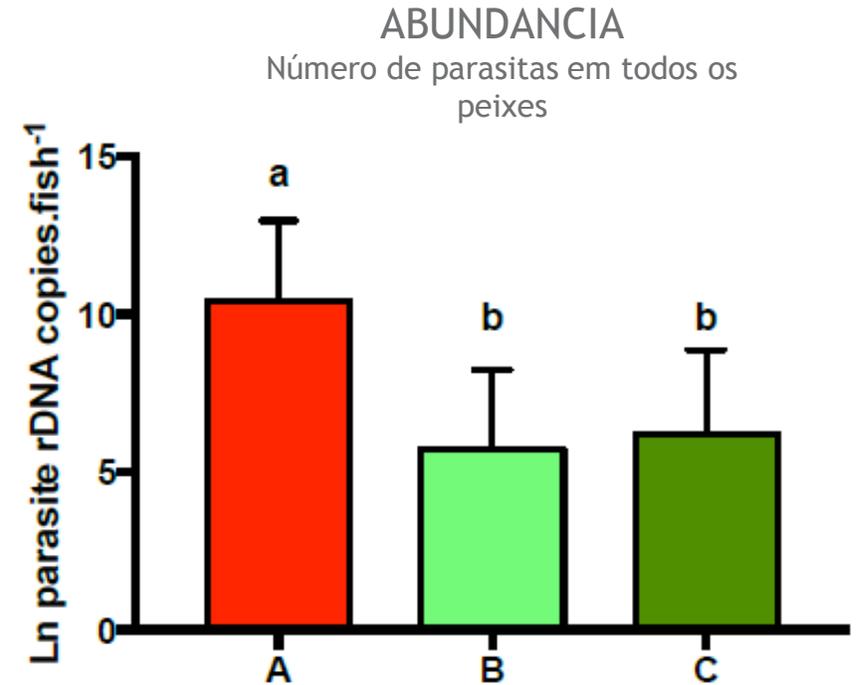
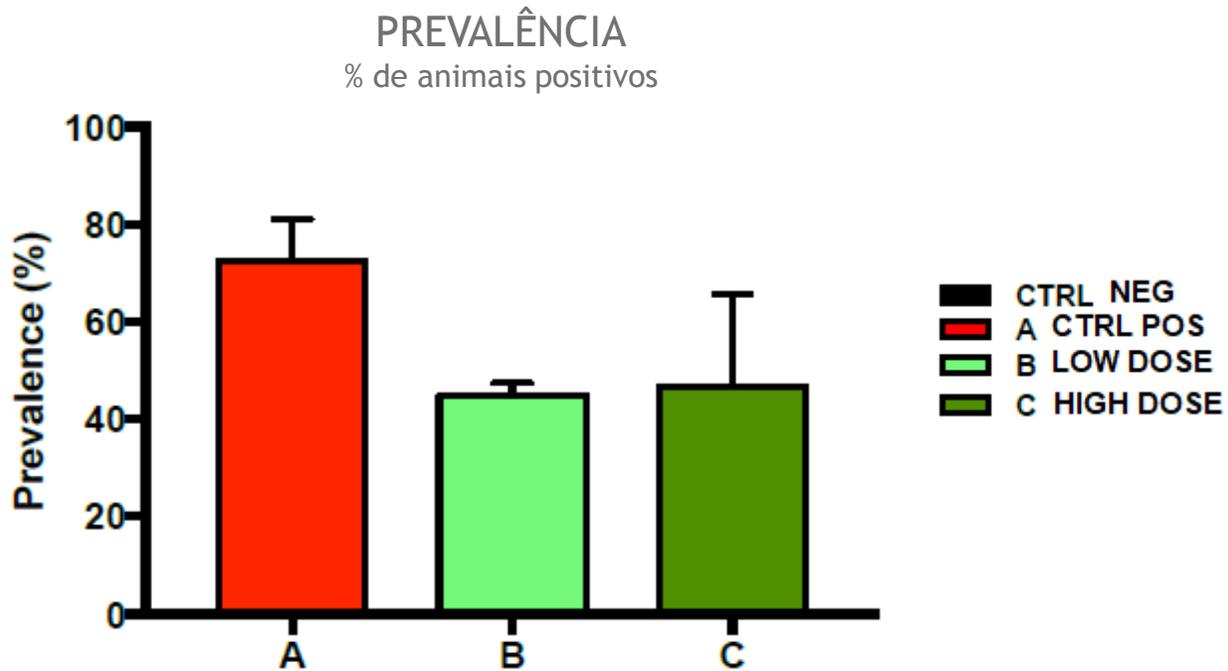
Desafio *in vivo* (espécie alvo) - SANACORE® GM contra infecção por *Enteromyxum leei* em dourada



Desafio *in vivo* (espécie alvo) - SANACORE® GM contra infecção por *Enteromyxum leei* em dourada



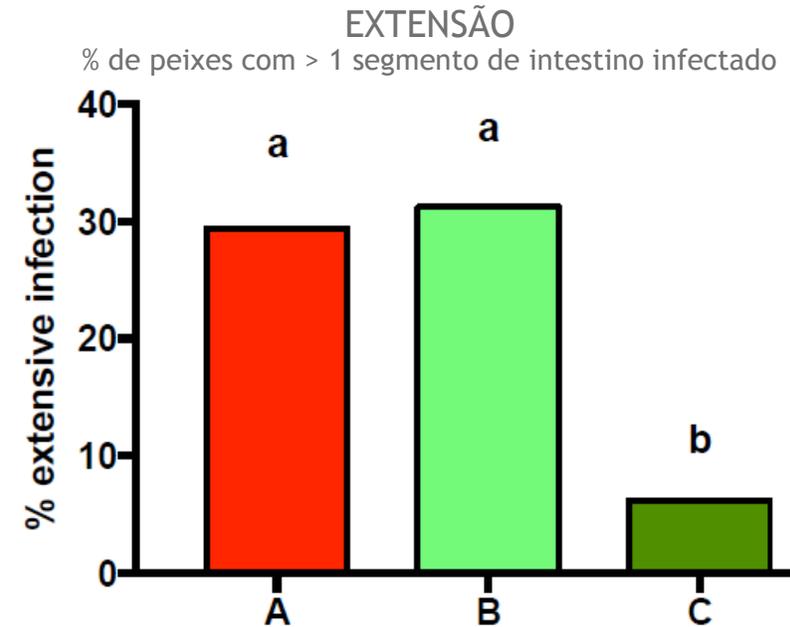
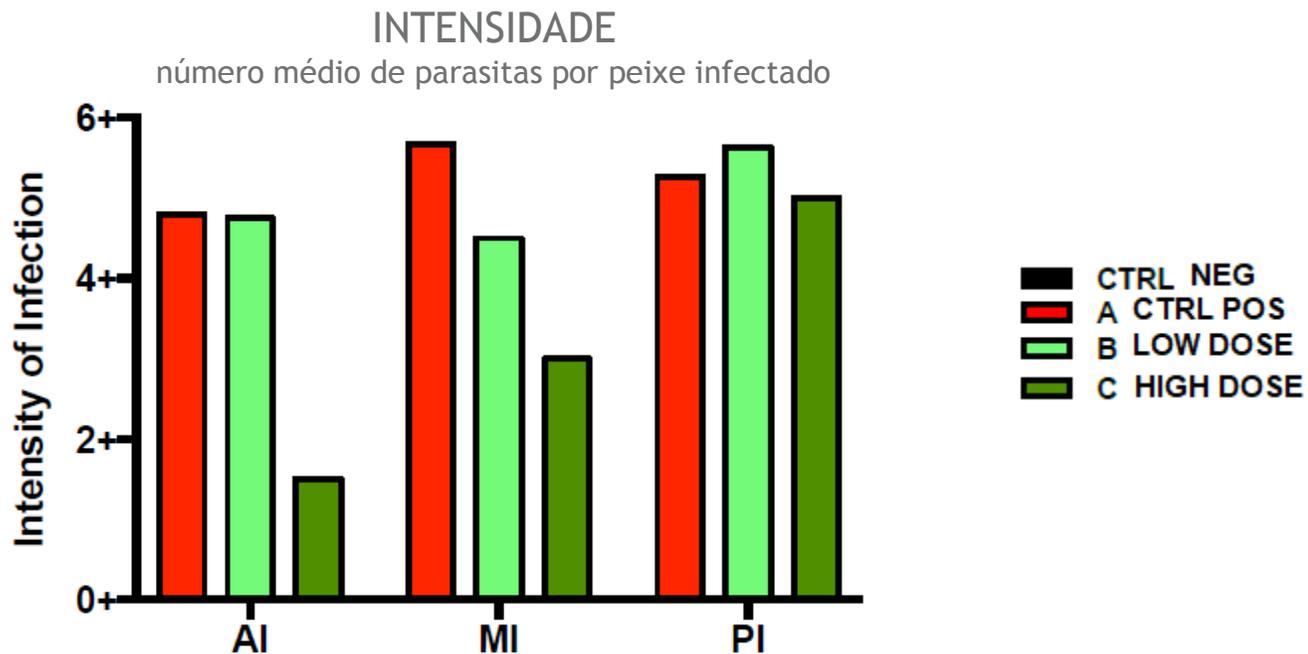
- qPCR - redução de cargas parasitas em todos os níveis em doses **baixas** e **altas**



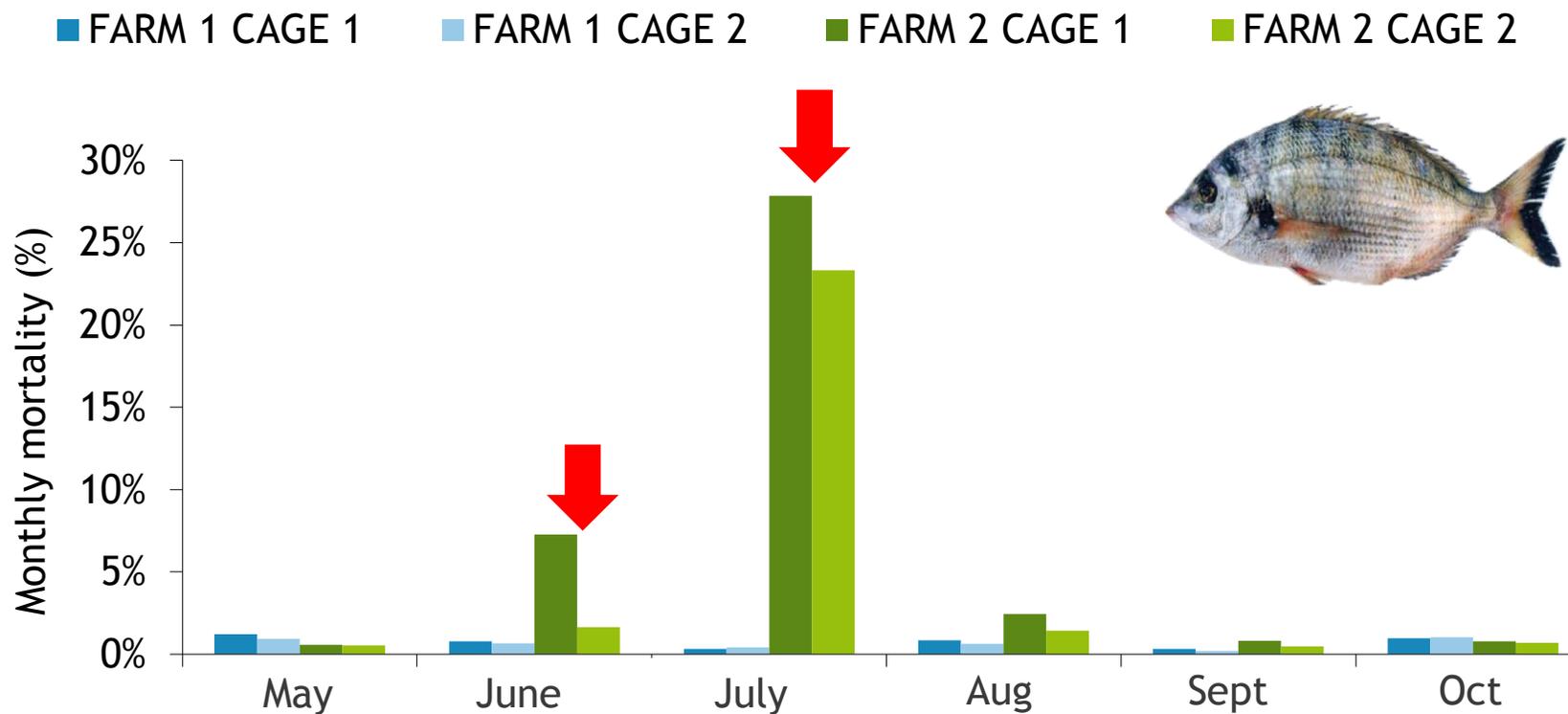
Desafio *in vivo* (espécie alvo) - SANACORE® GM contra infecção por *Enteromyxum leei* em dourada



- Histopatologia - grau de extensão do parasita nos PEIXES INFECTADOS do intestino posterior para anterior e médio é claramente reduzido em **altas doses**



Validação em fazendas - SANACORE® GM reduz a mortalidade por parasitas intestinais (Myxosporidia) em pedaços de pele



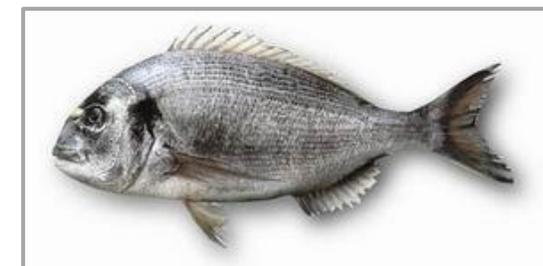
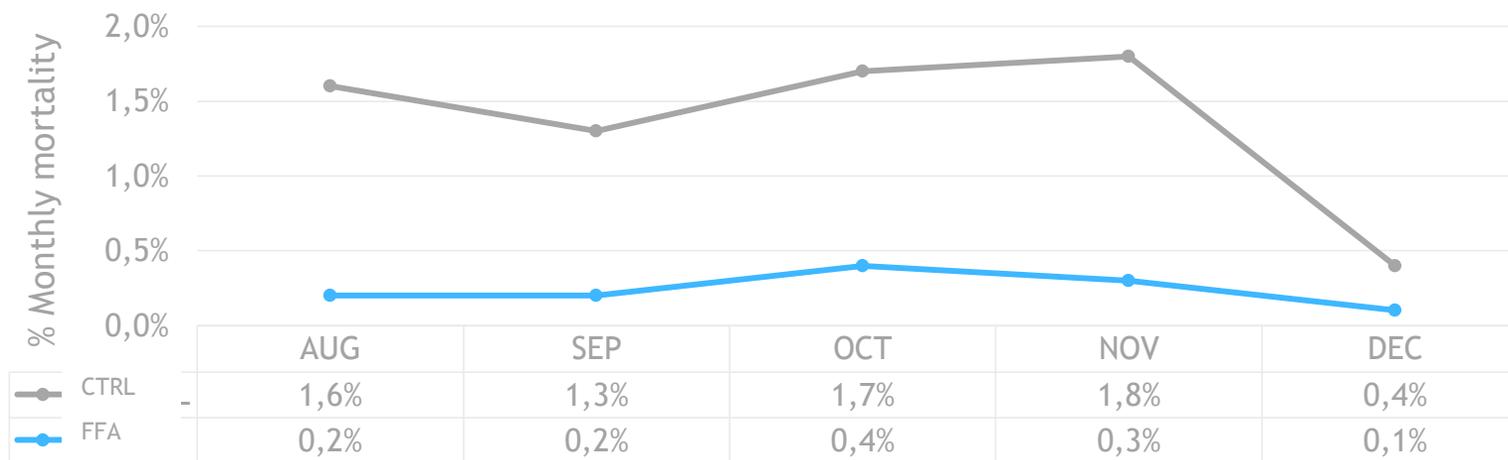
SUPPLEMENTATION OF FEED ADDITIVE



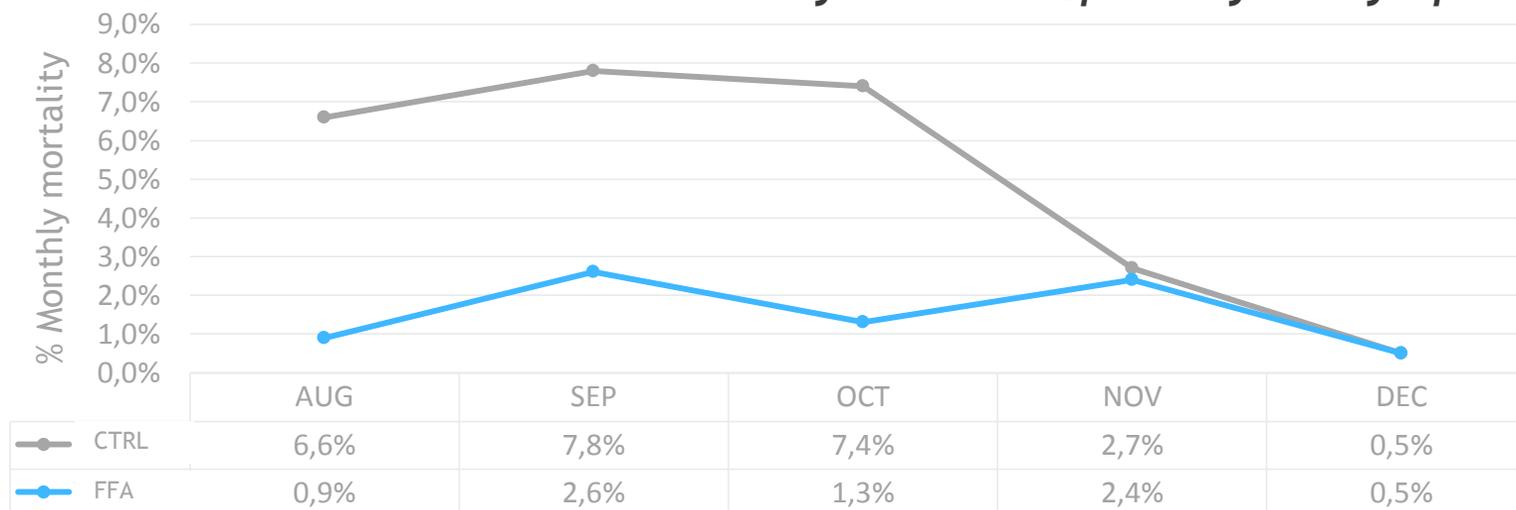
Validação em fazenda - SANACORE® GM reduz mortalidade por *Enteromyxum leei* (endo) e *Sparicotyle chrysophrii* (ecto) em dourada



FAZENDA 1: Seabream infectado com *Enteromyxum leei*



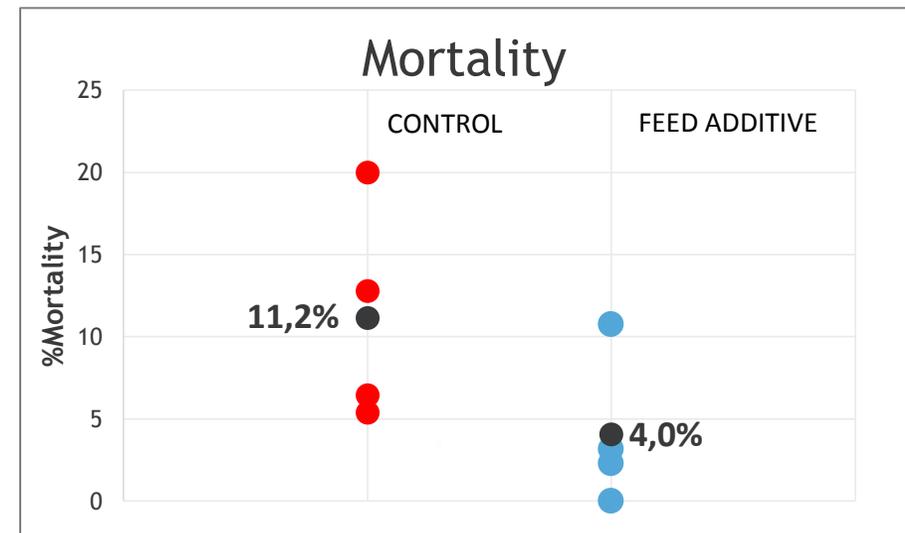
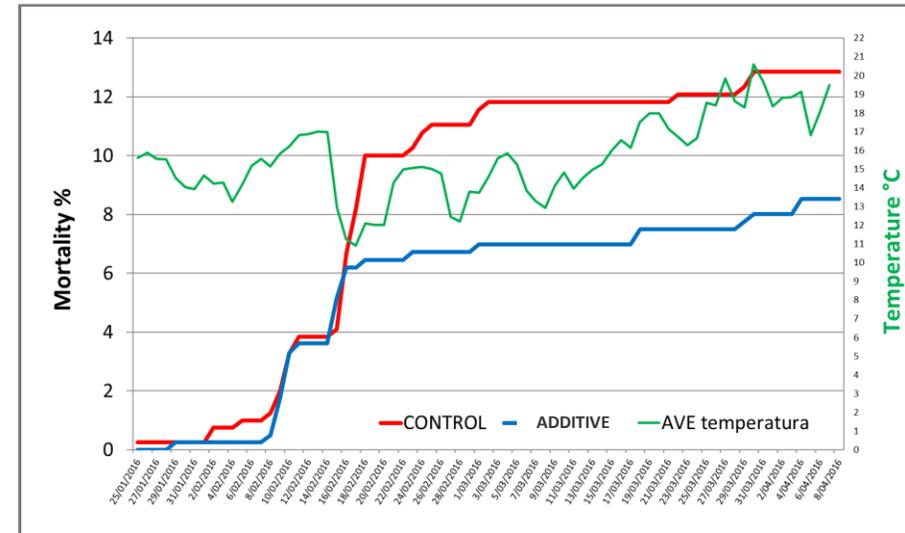
FAZENDA 2: Seabream infectado com *Enteromyxum leei* e *Sparicotyle chrysophrii*



Validação em fazenda - o SANACORE® GM reduz a mortalidade causada por surtos de vermes de emalhar no robalo europeu durante o inverno



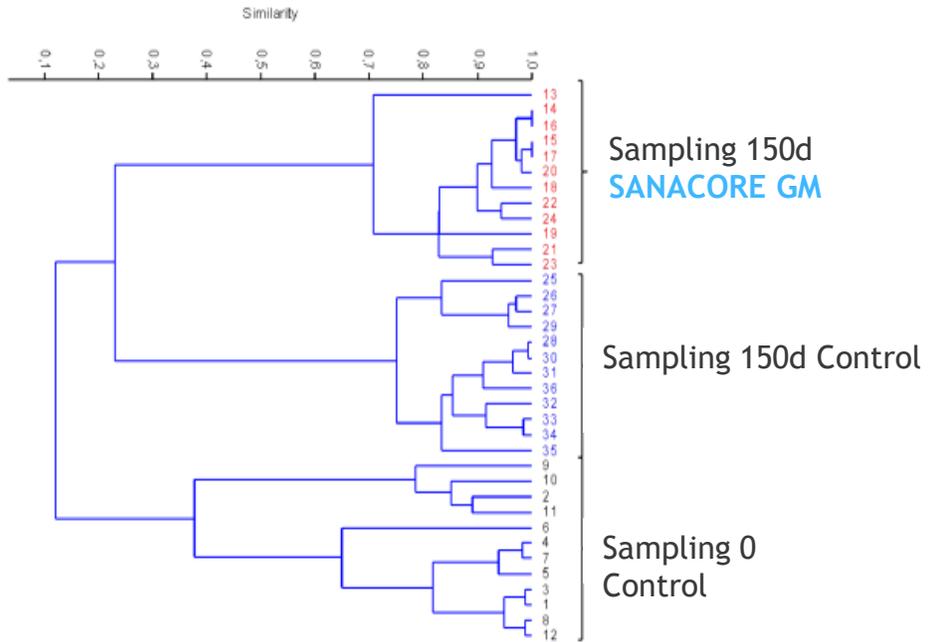
- 67g robalo
- 4 repetições/ TRT, 100 peixes / tanque
- Inverno/Primavera
- Diagnóstico: ectoparasitas, predominante *Diplectanum spp.*



SANACORE® GM afeta positivamente a composição da microbiota intestinal do robalo europeu



- DGGE (Eletroforese em Gradiente de Gel Desnaturante)



	Richness R	Shannon's Index H'
Seabass		
Sampling 150d SANACORE GM	33 ± 0.7 ↑	2.72 ± 0.1 ↑
Sampling 150d Control	30 ± 1.3	2.39 ± 0.1
Sampling 0 Control	32 ± 3.0	2.5 ± 0.1

Validação em fazenda - SANACORE® GM impacta positivamente o crescimento e reduz a prevalência de parasitas em tilápia vermelha durante o período de alevinagem e crescimento (Tailândia)



	Average weight (g)			
	Sampling 2	Sampling 3	Sampling 4	Sampling 5
Control	35.1	125.74	247.05	536.1
Sanacore® GM 0.5%	38.37	133	-	-
Sanacore® GM 0.3% + X aditivo 0.3%	-	-	247.05	563.7
% Improvement	9	6	0	5

Prevalence = % of positive animals (n =90)		Skin		Gill	
		<i>Trichodina</i> spp.	Flukes	<i>Trichodina</i> spp.	Flukes
1g	Control	19%	18%	12%	2%
	Sanacore® GM	13%	9%	9%	2%
	% Reduction	45%	50%	33%	0%
40g	Control	100%	15%	100%	0%
	Sanacore® GM	65%	10%	36%	20%
	% Reduction	35%	33%	64%	0%





Validação em fazenda - o SANACORE® GM reduz a intensidade do parasita em tilápia vermelha durante o período de alevinagem e crescimento (Tailândia)

Intensity = mean of parasites per infected fish (n = 90)			1g				40g			
			4+	3+	2+	1+	4+	3+	2+	1+
Skin	Control	<i>Trichodina</i> spp.	-	-	6%	94%	100%	-	-	-
		Flukes	-	13%	25%	63%	-	-	-	100%
	Sanacore®GM 0.5%	<i>Trichodina</i> spp.	-	-	-	100%	-	-	23%	77%
		Flukes	-	-	-	100%	-	-	-	100%
Gill	Control	<i>Trichodina</i> spp.	-	-	-	100%	15%	15%	45%	25%
		Flukes	-	-	50%	50%	-	-	-	-
	Sanacore®GM 0.5%	<i>Trichodina</i> spp.	-	-	-	100%	-	-	-	100%
		Flukes	-	-	-	100%	-	-	-	100%



Conclusão - Aditivos funcionais para apoiar a prevenção de doenças



- 1) Parte integral da estratégia de prevenção de doenças (patógenos primários o secundários)
- 2) Complemento à nutrição ótima
- 3) Verificação da eficácia em laboratório e condições de campo
- 4) Efeitos:
 - Diferentes modos de ação
 - Antimicrobiano
 - Gut modulator
 - Ampla espectro
 - *Francisella spp.*
 - *Streptococcus agalactiae*
 - *Trichodina spp.*
 - Dosagem dependente da pressão da doença



Obrigado!

Waldo Nuez, PhD
w.nuezortin@nutriad.com

