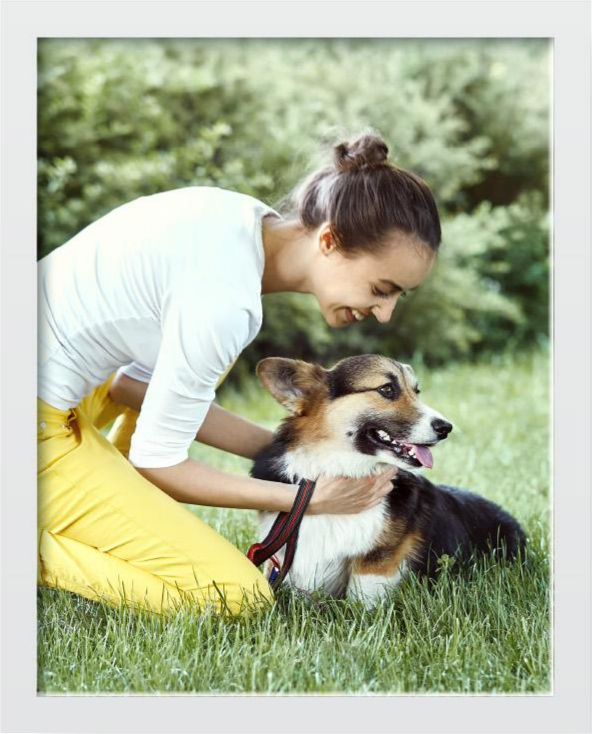
# LEVEDURAS E DERIVADOS COMO ADITIVOS NA NUTRIÇÃO DE PEIXES E CAMARÕES

**Dr. João Fernando Albers Koch**
Gerente Técnico Global e de Produtos Biorigin Aquacultura

17/11/2021

# Biorigin

- Fundada em 2003 , a **Biorigin** é uma empresa brasileira com presença global e que utiliza conhecimento e tecnologia para promover a saúde e qualidade de vida.
- Utilizando **processos biotecnológicos**, a Biorigin produz ingredientes naturais para melhorar o sabor, reduzir o conteúdo de sódio e aumentar a vida útil dos alimentos.
- Também desenvolve ingredientes para **enriquecimento nutricional e para promover a saúde animal**.



Biorigin
Art in Natural Ingredients

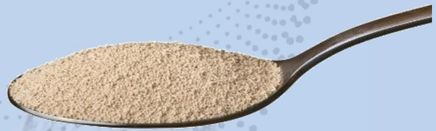
# Mercado Aqua – Tendências/oportunidades

- Restrição ao uso de antibióticos;
- Diferentes rações durante o ciclo produtivo;
- Novos patógenos a cada ano – TILV, ISKNV, Novas cepas *Streptococcus*…;
- Sistemas cada vez mais intensivos;
- Oportunidades para aditivos e ingredientes funcionais: principalmente aqueles focados em ***sistema imunológico*** e ***saúde intestinal***;

**Leveduras (íntegras e autolisadas) e seus derivados**

Parede celular (MOS e glucanas)

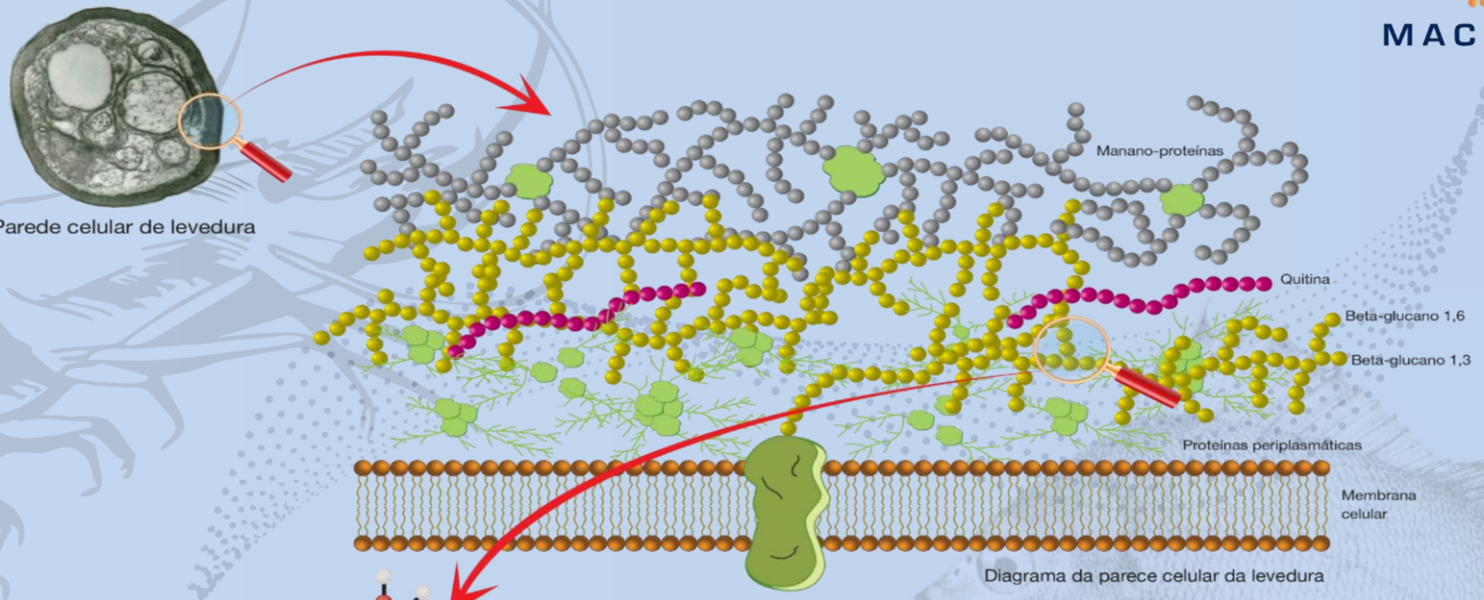
Extrato (RNA – nucleotídeos)

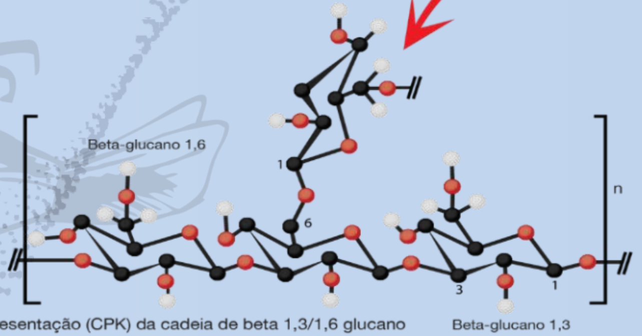


Enriquecimento/processo:

- Leveduras selenizadas;
- Adsorventes micotoxinas;
- Palatabilidade;
- Maior digestibilidade (aa´s, proteína e energia)

# Beta Glucanas




Um polissacarídeo linear, com ligações beta 1,3/1,6, extraído da parede celular de leveduras, algas e fungos.

(Dalmo & Bøgwald 2008)

# Modo de Ação

MACROGARD®

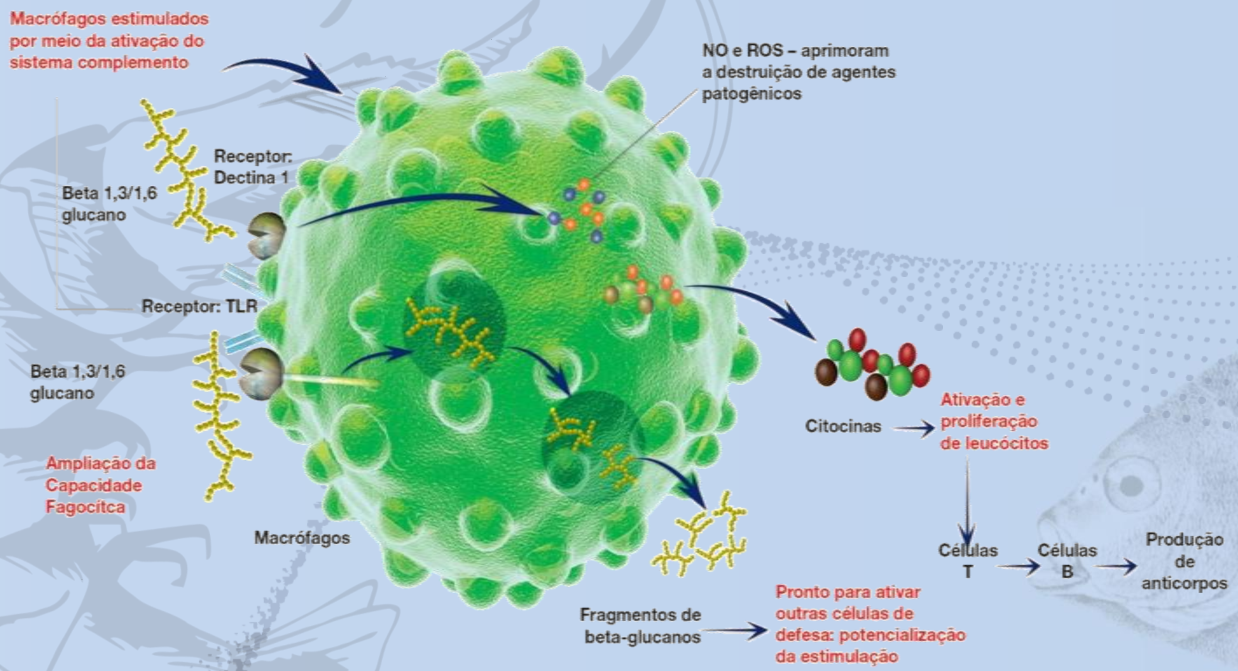



Ilustração do modo de ação dos beta 1,3/1,6 glucanos

- Melhoria nas respostas imunes;
- Melhoria sobrevivência inespecífica (patógenos, transferência, T°);
- Cicatrização de feridas;
- Redução de gordura visceral e qualidade hepática;
- Aumento nas respostas vacinais;
- Modulação microbiota intestinal.

# Estudo 1

Aquaculture International
https://doi.org/10.1007/s10499-019-00436-9

Check for updates

## Dietary β-1,3/1,6-glucans improve the effect of a multivalent vaccine in Atlantic salmon infected with *Moritella viscosa* or infectious salmon anemia virus

Fernando de O. Roberti Filho[1] · João Fernando Albers Koch[1] · Christian Wallace[2] · Miguel Costa Leal[3]

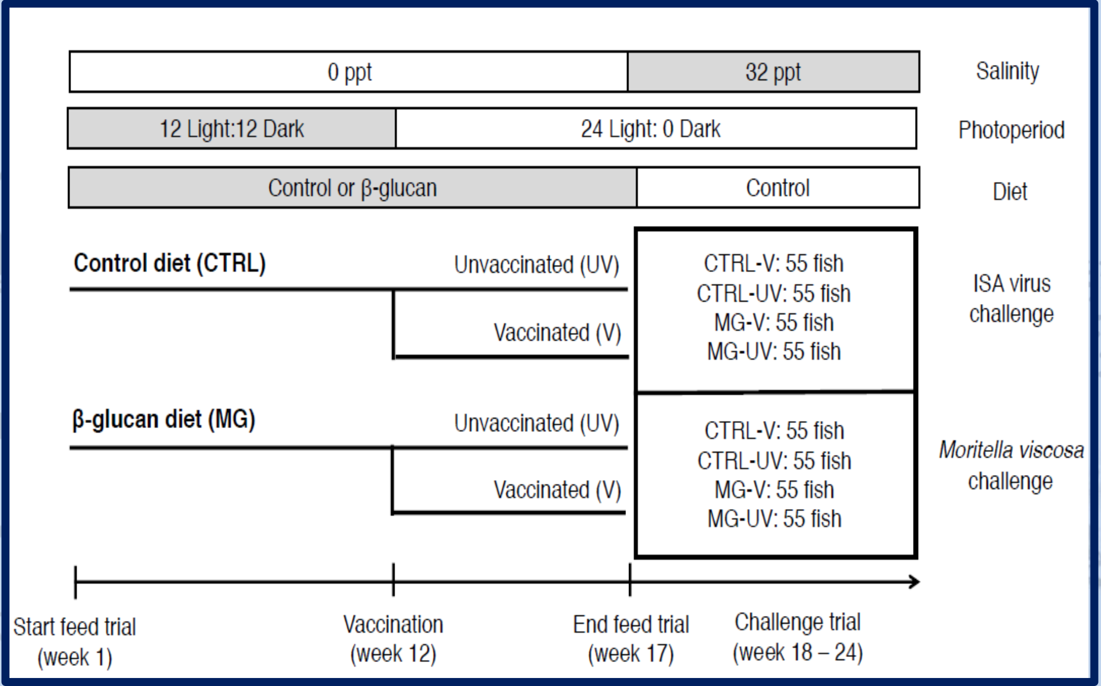
Received: 8 May 2019 / Accepted: 10 July 2019/Published online: 22 July 2019


MACROGARD®

## Objetivo

Avaliar o efeito de β-1,3/1,6-glucanas (MacroGard®) em uso com vacinas na sobrevivência de salmão do Atlântico (*Salmo salar*) desafiados com *M. viscosa* ou vírus ISA.

XVII FENACAM'21

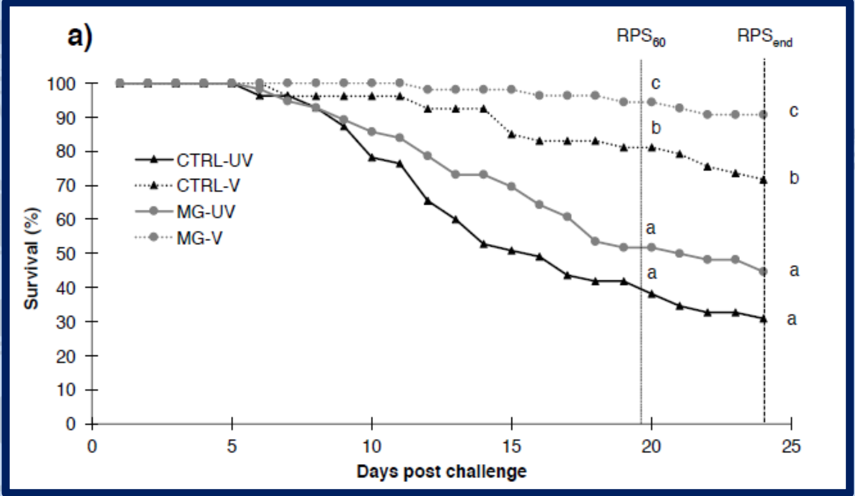


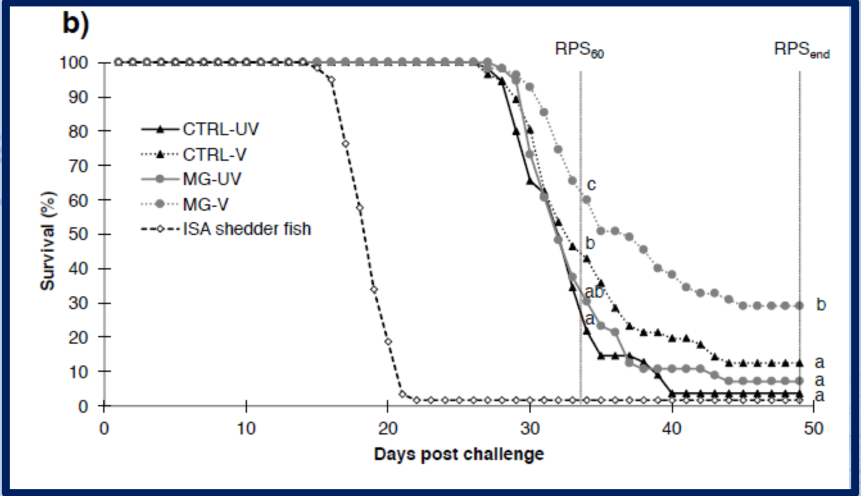

# Material e Métodos

- Salmão do Atlântico (N = 475; PMI: 23.2 g)
- Vacina commercial hexavalente (0.1 mL por peixe, Norvax® Minova 6; Intervet Norbio AS, Bergen, Noruega).
- Vacina hexavalente contra: furunculose, vibrioses clássica, vibrioses de água fria, wound disease e infectious pancreas necrosis (IPN) em salmões.

# Resultados

## Sobrevivência pós-inoculação




*M. viscosa*: desafio via banho

ISA: desafio via inoculação intraperitonial

# Conclusão

MacroGard (beta-glucanas purificadas) foi capaz de atuar em sinergismo com a vacina, aumentando a sobrevivência em modelo de desafio **bacteriano e viral**

# Estudo 2

Pesq. Vet. Bras. 37(1):73-78, janeiro 2017
DOI: 10.1590/S0100-736X2017000100012

## Immunomodulatory effects of dietary β-glucan in silver catfish (*Rhamdia quelen*)[1]

Janine Di Domenico[2], Raíssa Canova[3], Lucas de Figueiredo Soveral[4], Cristian O. Nied[4], Márcio Machado Costa[5], Rafael Frandoloso[6] and Luiz Carlos Kreutz[6]*

**ABSTRACT.-** Di Domenico J., Canova R., Soveral L.F., Nied C.O., Costa M.M., Frandoloso R. & Kreutz L.C. 2017. **Immunomodulatory effects of dietary β-glucan in silver catfish (*Rhamdia quelen*).** *Pesquisa Veterinária Brasileira 37(1):73-78.* Laboratório de Microbiologia e Imunologia Aplicada, Programa de Pós-Graduação em Bioexperimentação, Universidade de Passo Fundo, Campus I, Bairro São José, BR-282 Km 171, Passo Fundo, RS 99052-900, Brazil. E-mail: lckreutz@upf.br

MACROGARD®

## Objetivo

Avaliar β-glucanas na resistência de jundiás desafiados com *Aeromonas hydrophila*

XVII FENACAM'21

# Material e Métodos

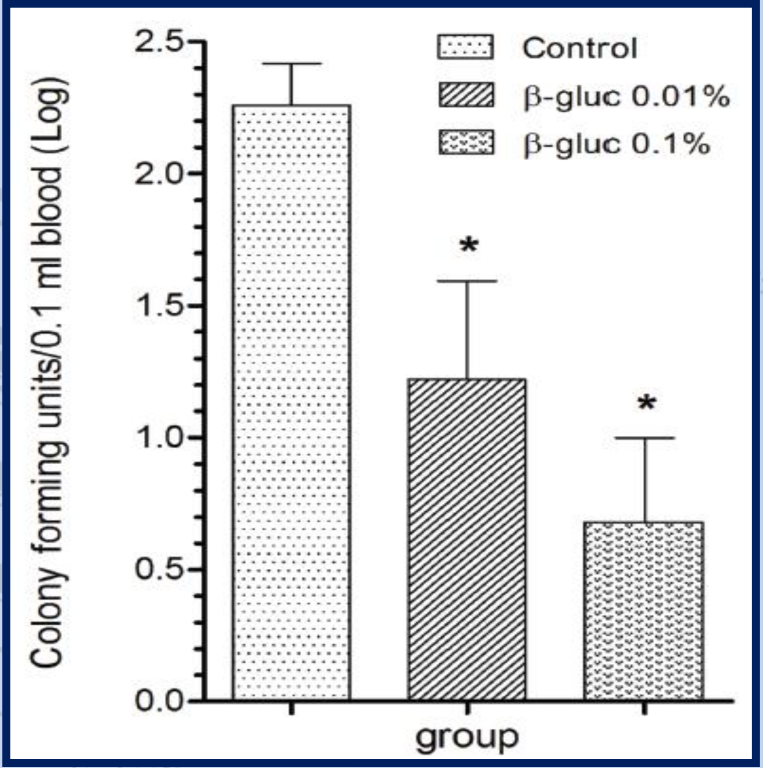
- 150 peixes (70-90g)
- Três grupos (control; 0,01 e 0,1% de MacroGard® (60% de β-glucanas purificadas) em duplicatas (25 peixes /tanque)
- Peixes mantidos nos tanques com contínuo fluxo de água e alimentados até a saciedade aparente com dietas contend (42% protein)
- Período de alimentação: 42 dias

MACROGARD®

# Material e Métodos

- Peixes desafiados intraperitonealmente com (2x108 CFU cada)
- Após 24h, 10 peixes de cada grupo for a capturados para analises
- Presença de bacteremia: 100 µl de sangue total em placas de Brain Heart Infusion (BHI)
- Placas foram incubadas a 37C por 24h e o número de CFU foi contabilizado
- Peixes remanescentes foram observados diariamente por 7 dias (avaliação sinais clínicos e sobrevivência pós-desafio)

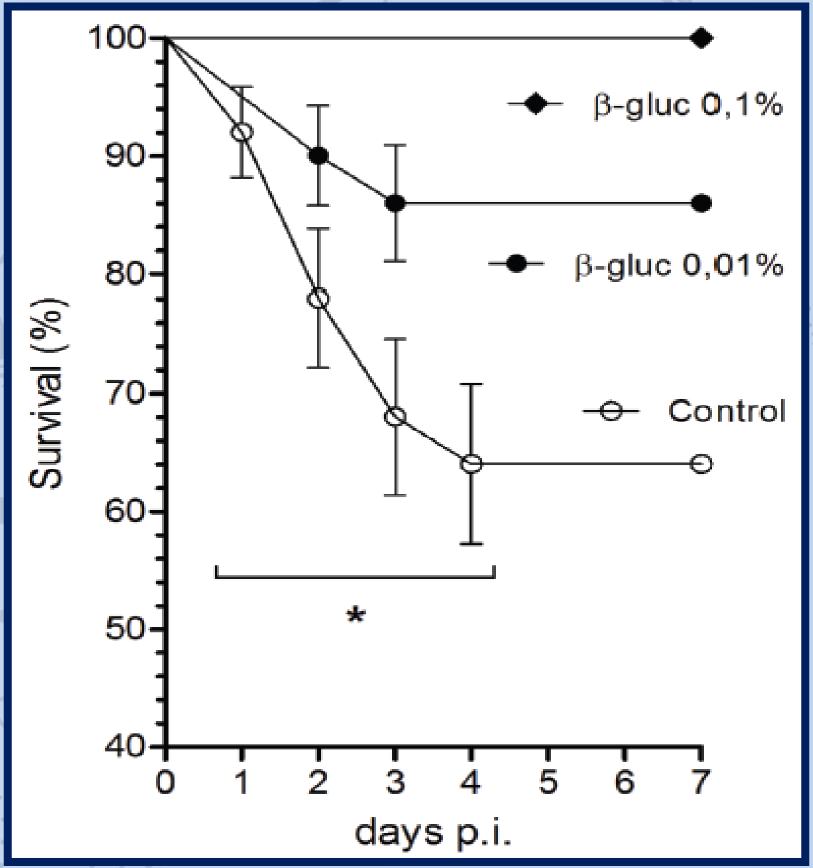
XVII FENACAM'21




Número de Unidades Formadoras de Colônia (CFU) no sangue de jundiás desafiados com *Aeromonas hydrophila* ($2x10^8$ CFU/peixe)

## Resultados

Redução na quantidade de UFC após 24hrs da inoculação bacteriana (estatisticamente diferente para ambas concentrações de MacroGard)




MACROGARD®

**Efeito de β-glucanas na sobrevivência de jundiás desafiados intraperitonealmente com *Aeromonas hydrophila* (2x10$^{8}$ CFU/peixe)**

## Resultados

Aumento da sobrevivência após desafio com *A. hydrophila*;

Inicio da mortalidade mais tardia no grupo 0,01% de MacroGard.

XVII FENACAM'21

## Conclusão

β-glucanas (MacroGard) na dieta reduziu a bacteremia e aumentou a resistência dos animais em desafios com *A. hydrophila*.

# Estudo 3

MACROGARD®

Revista Brasileira de Zootecnia
© 2015 Sociedade Brasileira de Zootecnia
ISSN 1806-9290
www.sbz.org.br

R. Bras. Zootec., 44(5):165-173, 2015

**Performance and immunological resistance of *Litopenaeus vannamei* fed a β-1,3/1,6-glucan-supplemented diet after *per os* challenge with the Infectious myonecrosis virus (IMNV)**

Hassan Sabry Neto[1], Alberto Jorge Pinto Nunes[1]

[1] *Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Fortaleza, CE, Brasil.*

## Objetivo

O presente estudo objetivou determinar se β-1,3/1,6-glucano extraído de parede celular de levedura *Saccharomyces cerevisiae* poderia aumentar a sobrevivência e parâmetros imunológicos de *L. vannamei* após desafio com IMNV.

XVII FENACAM'21
NATAL/RN-BRASIL
16 a 19 de novembro de 2021

# Material e Métodos

MACROGARD®

* Conduzido em Eusébio-CE

* 20 tanques de 500L

* Dietas: COM: dieta comercial de alta performance; REF: dieta basal feita em laboratório; IMNV-REF: dieta basal laboratorial para camarões desafiados com IMNV; IMNV-BetG: dieta basal laboratorial com inclusão de MacroGard (1g/kg) e desafio por IMNV

* 4000 *L. vannamei* juvenis (2.6±0.4 g) obtidos de fazenda comercial;

* 57 camarões/tanque (100 shrimp/m²);

* Camarões foram avaliados para: Taura syndrome virus (TSV), White spot syndrome virus (WSSV), Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus (IHHNV) and Infectious myonecrosis virus (IMNV).

XVII FENACAM'21 NATAL/RN-BRASIL

# Material e Métodos

MACROGARD®

Table 1 - Experimental design adopted during the study with *L. vannamei* challenged with the Infectious myonecrosis virus (IMNV)

| Treatment | IMNV *per os* challenge[1] | β-1,3/1,6-glucan[2] supplementation |
|---|---|---|
| Com[3] | No | - |
| Ref[4] | No[5] | No |
| IMNV-Ref[6] | Yes | No |
| IMNV-BetG[7] | Yes | 1,000 mg/kg |

[1] Shrimp *per os* challenge with the Infectious myonecrosis virus (IMNV).
[2] Commercial polysaccharide extracted and purified from the cellular wall of the baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae* with 60% of active β-1,3/1,6-glucan (Raa, 2000, 2003).
[3] Commercial pelleted shrimp feed (with 35% crude protein; Camaronina 35 hp, Cargill Nutrição Animal Ltda., São Lourenço da Mata, Brazil).
[4] Lab-manufactured pelleted diet with 31.4% crude protein (basal diet).
[5] Although shrimp were not intentionally challenged with IMNV, PCR analysis indicated shrimp were IMNV-positive at harvest.
[6] Basal diet fed to IMNV-challenged shrimp.
[7] Basal diet containing 1,000 mg/kg of a commercial β-1,3/1,6-glucan.

* Animais foram alimentados por 5 horas diariamente (das 07:30 às 10:00 h e da 13:30 às 16:00 h). Ração foi espalhada igualmente durante os dois períodos de alimentação;

* 70 dias de alimentação;

* Ração não consumida em 2,5 horas após alimentação foi coletada, pesada e descartada;

* Temperatura (28.4±0.09 °C), salinidade (34.8±0.41 ppt) e pH (7.45±0.05);

* Animais foram desafiados por IMNV por três dias consecutivos (peso entre 4,9 e 6,9g) --- 29 dias após alimentação com dietas experimentais;

XVII FENACAM'21

Table 2 - Composition and chemical proximate values of diets used in the study

| Ingredients | Feed (g/kg of diet) | | |
|---|---|---|---|
| | Ref or IMNV-Ref | IMNV-BetG | Com |
| Wheat flour[1] | 350.00 | 350.00 | - |
| Soybean meal[2] | 220.79 | 220.79 | - |
| Broken rice[3] | 70.00 | 70.00 | - |
| Fishmeal, anchovy[4] | 167.11 | 167.11 | - |
| Fishmeal, Brazilian[5] | 100.00 | 100.00 | - |
| Fish oil[6] | 30.00 | 30.00 | - |
| Soy lecithin[7] | 20.00 | 20.00 | - |
| Cholesterol[8] | 1.50 | 1.50 | - |
| Attractant[9] | 5.00 | 5.00 | - |
| Common salt | 10.00 | 10.00 | - |
| Vitamin-mineral premix[10] | 10.00 | 10.00 | - |
| Synthetic binder[11] | 5.00 | 5.00 | - |
| Dicalcium phosphate | 12.00 | 12.00 | - |
| Bentonite | 3.60 | 2.60 | - |
| β-1,3/1,6-glucan[12] | 0.00 | 1.00 | - |
| Chemical composition[13] | | | |
| Crude protein (g/kg) | 314 | 313 | 366 |
| Crude fat (g/kg) | 101 | 100 | 87 |
| Ash (g/kg) | 100 | 103 | 106 |
| Crude fiber (g/kg) | 51 | 43 | 76 |
| Gross energy (kcal/kg)[14] | 3,706 | 3,817 | 3,713 |

MACROGARD®

# Material e Métodos

* Inoculação feita via tecido infectado;

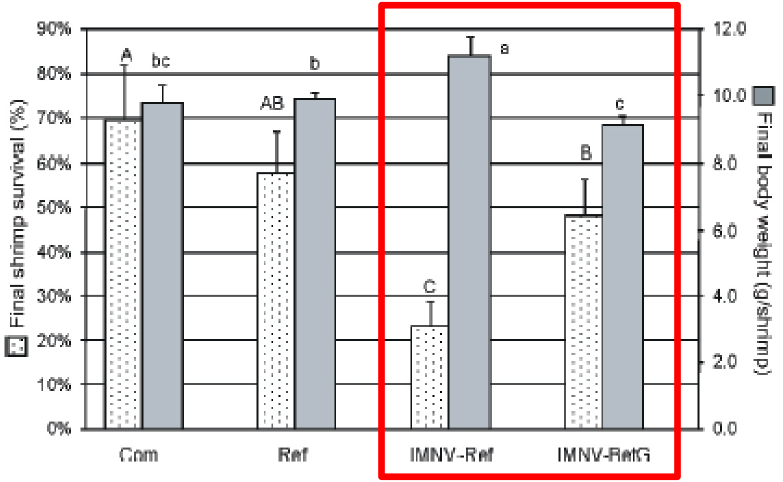
* Parâmetros imunológicos avaliados: 2 dias antes da infecção, 17 dias após infecção e ao término do desafio;

* Análises: 6 animais/tanque (30 por tratamento);

XVII FENACAM'21

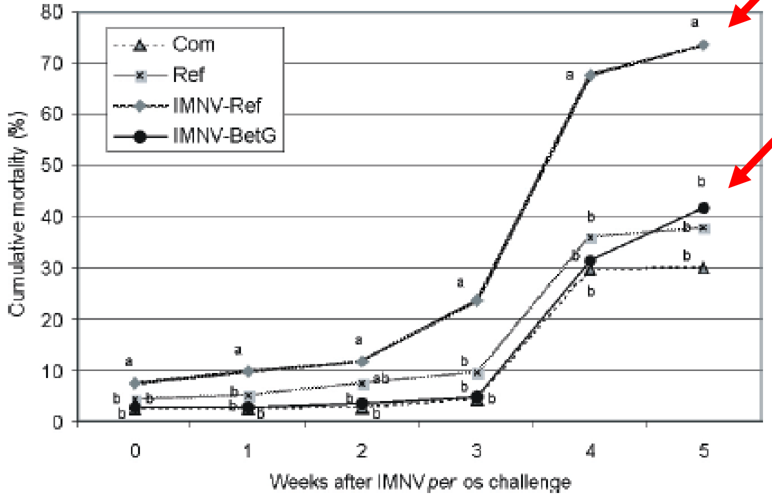
# Resultados

*




Values for each treatment are presented as means ± standard error obtained from five replicate tanks.

Figure 2 - Mean survival (%) and final body weight (g/shrimp) of *L. vannamei* juveniles (2.6±0.4 g) stocked in 500-L polyethylene indoor tanks for 70 days and *per os* challenged with IMNV.




The "0" (zero) week refers to three days after the beginning of the *per os* viral challenge.
In each week, results that do not share the same letter are statistically different according to Turkey's multiple range test (P<0.05).
Com - commercial pelleted shrimp feed under no IMNV challenge; Ref - lab-manufactured diet without β-1,3/1,6-glucan supplementation and no IMNV challenge; IMNV-Ref - same as Ref, but under IMNV challenge; IMNV-BetG - lab-manufactured diet with β-1,3/1,6-glucan supplementation and under IMNV challenge.

# Resultados

* Sinais claros de infecção pode ocorrer em camarões de todos tamanhos, embora mais comum em animais de 6 a 8 g (Nunes et al., 2004);

* Rodríguez et al. (2007): aumento sobrevivência *L. vannamei* após larvas (tanques de 0,2ha) serem alimentadas com probióticos e β-1,3/1,6-glucanos por 15 dias antes de inoculação oral com WSSV;

* López et al (2003): 40 dias após alimentação de *L. vannamei* juvenis com 2.000 mg/kg de β-1,3-glucano houve respostas positivas ao choque de salinidade;

*** 44.3% queda na atividade da PO após desafio com IMNV no grupo IMNV-Ref sugere forte depressão no sistema imunológico. Sob mesma condição, IMNV-BetG exibiu 4.2% de aumento na atividade da PO.**

IMNV-Ref

| Phenoloxidase activity (U/min/mg) | | |
|---|---|---|
| Before | After | Harvest |
| 14.3±1.4 | 14.6±5.5 | 17.9±9.5 |
| 23.8±1.4 | 16.1±5.7 | 27.0±4.2 |
| 23.0±5.1 | 12.8±1.3 | 17.4±5.5 |
| 18.8±6.7 | 19.6±6.7 | 24.8±17.0 |
| | NS | |
| | NS | |
| | NS | |

MACROGARD®

# Conclusão

- **Resultados obtidos demonstraram ação positiva da administração de β-1,3/1,6-glucano (oral) para *L. vannamei* desafiados com IMNV.**
- **Dessa forma, a adição de 1.000 mg/kg de β-1,3/1,6-glucanos em dietas de *L. vannamei* aumenta a sobrevivência desses animais desafiados oralmente pelo vírus da mionecrose.**
- **Sinal de fadiga imunológica não foi detectado quando os animais foram continuamente expostos as dietas.**

# + 65 artigos publicados com MacroGard em Peixes

MACROGARD®

Table 1. Major effects of feeding with β-glucan.

| Species | Dose | Trial Duration | Main Effects | Refs |
|---|---|---|---|---|
| Atlantic salmon (*Salmo salar*) | 500 or 1000 mg/kg diet | 70 days | MacroGard reduced the number of lice-infested fish by 28%. | Refs |
| Red tilapia (*Oreochromis niloticus x O. mossambicus*) | Vaccine with adjuvant, the vaccine was emulsified in an equal volume of 2% | 28 days | MacroGard increased the effectiveness of vaccine produced from *Streptococcus iniae* in fish. | Suany |
| Common carp (*Cyprinus carpio*) | 10 mg/kg body weight | 14 days | β-Glucan feeding did show significant effects on both CRP and complement profiles, suggesting that MacroGard stimulated CRP and complement responses to *A. salmonicida* infection in common carp. | Pion Frost a |
| Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) | 0.1, 0.2, or 0.3% | 6 weeks | Lysozyme activity and ACH50 were significantly higher in 0.2% and 0.3% β-glucan fed fish. Elevated growth performance (final weight, specific growth rate, and food conversion ratio) was observed in fish fed 0.1, 0.2, or 0.3% β-glucan compared to the control group. | Aran |
| Pompano fish (*Trachinotus ovatus*) | 0, 0.5, 1, 2, or 4 g/kg diet | 8 weeks | β-Glucan supplementation is effective for improving growth, intestinal *Vibrio* counts. Fish fed 0.05% or 0.20% β-glucan showed better resistance against salinity. | Do H |
| Common carp (*Cyprinus carpio*) | 100 µg/mL (in vitro) | Not mentioned | β-Glucans stimulate carp macrophages to increase the production of reactive oxygen and nitrogen radicals and affect the expression patterns of cytokine genes that can differ among activated pattern recognition receptors. | Pie |
| Atlantic (*Salm* | | | | |
| Nile (*Oreochrom* | | | | |

| Species | Dose | Trial Duration | Main Effects | Reference |
|---|---|---|---|---|
| (*Oreochromis niloticus*) | | | infection. Specifically, BG01 increased immunostimulation, while BG02 improved growth performance. | Souza and Zanuzzo [11] |
| Turbot (*Scophthalmus maximus*) | 0.5 g/L MacroGard (Artemia enrichment) | 13 days post hatching | Mortality was significantly reduced by 15% and an alteration of the larval microbiota was observed. At 11 DPH, gene expression of trypsin and chymotrypsin was elevated in the MacroGard fed fish, which resulted in heightened tryptic enzyme activity. MacroGard induced an immunomodulatory response and could be used as an effective measure to increase survival in rearing of turbot. | Miest, et al. [186] |
| Matrinxa (*Brycon amazonicus*) | 0.1% β-glucan | 15 days | β-Glucan modulated the cortisol profile prior to and after the stressor, increasing the number and activity of leukocytes. Our results suggest that β-glucan-induced cortisol increase is one important mechanism to improve the innate immune response in matrinxa. | Montoya, et al. [187] |
| Nile tilapia | 0.1, 0.2, 0.4, or 0.8% and vitamin C (400 or | 60 days | 0.1–0.2% β-Glucan and 600 mg/kg vitamin C increased fish resistance to stress. | Barros, et al. [188] |
| | | 21 successive days prior to bacterial challenge and during the seven | β-Glucan can modulate the antioxidant, inflammation, stress, and immune-related genes in Nile tilapia, moreover, 0.2% β-glucans showed better protective effect with *Streptococcus* | Salah, et al. [189] |

Table 1. *Cont.*

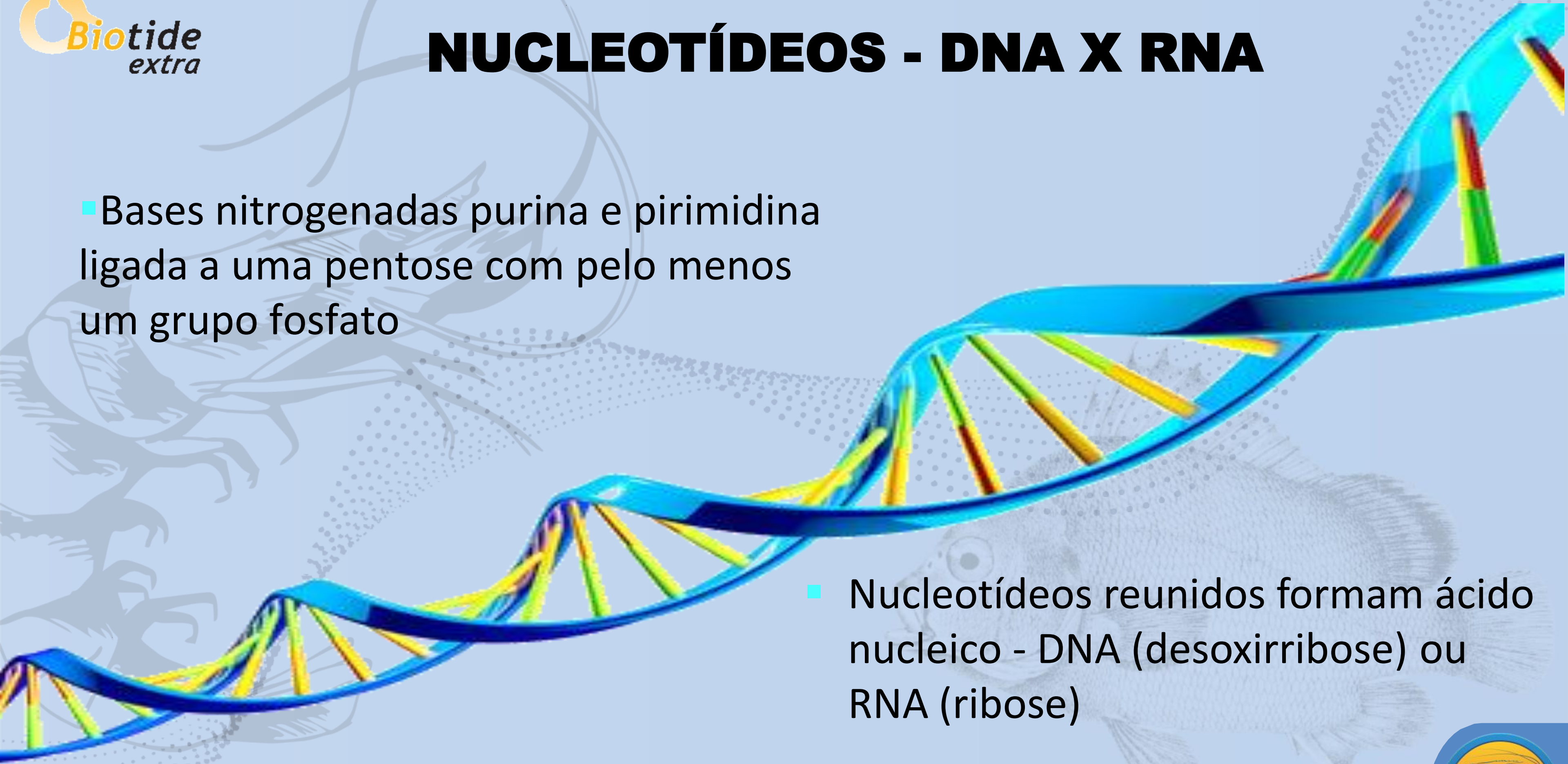
| Species | Dose | Trial Duration | Main Effects | Reference |
|---|---|---|---|---|
| Carp (*Cyprinus carpio*) | 1% of feed | 14 | β-Glucan can boost the host innate immune defense by inducing neutrophil extracellular trap formation and by stabilizing neutrophil extracellular traps against bacteri nuclease degradation, and thereby reduce the severity of infection of *A. hydrophila*. | |
| Carp (*Cyprinus carpio*) | 20 mg/mL in in vitro head-kidney cells | Not mentioned | β-Glucan stimulation of scratch-wounded fibroblasts cultu did not enhance wound recovery. | |
| Carp (*Cyprinus carpio*) | 20 mg/mL in in vitro head-kidney cells | Not mentioned | Both methods compared during this study, showed the capa to detect and measure the respiratory burst response of ca head kidney cells after stimulation with β-glucans. | |
| Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) | 0; 0.1; 0.2; 0.5% of feed | 15 × 30 days | Feeding low doses of β-glucans may help to boost immu function in case of a bacterial infection, especially the inflammatory response, while feeding high doses of β-gluc may result in a more or less rapid stress and immune exhaustion or feedback regulation, making appropriate response to subsequent pathogenic threat impossible. Additionally, the effects of β-glucans on the immune-relat gene expression mainly concern spleen tissue, both prior a after bacterial infection, suggesting a targeted reinforcemer immune functions in this organ. | |
| Matrinxã (*Brycon amazonicus*) | 0.1% on feed | 15 | Inclusion of β-glucan in fish diet may help to prepare ther face stressful practices in fish farming. | |
| Carp (*Cyprinus carpio*) | 0.1; 1.0; 2.0% of feed | 14 and 28 | Dietary MacroGard may affect the composition of the ca intestinal microbial communities. Furthermore, positive eff on intestinal microvilli length and density were also obser Indeed, these changes at 1% and 2% MacroGard supplementation might be contributory factors to the impr growth performance recently observed in carp fed 1% and dietary MacroGard. | |

Table 1. *Cont.*

| Species | Dose | Trial Duration | Main Effects | Reference |
|---|---|---|---|---|
| Juvenile Pompano (*Trachinotus ovatus*) | 0.1; 0.2% of feed | 21 + 10 challenge | Supplementation of β-glucan in the diet is beneficial in boosting nonspecific immunity, growth performance, survival rate, and tolerance to *Streptococcus iniae* infection of pompano *T. ovatus*. The addition of 0.10% of β-glucan to the pompano diet is recommended to boost disease resistance, immunity, and growth performance. | Do-Huu, Nguyen and Tran [138] |
| Juvenile pompano (*Trachinotus ovatus*) | 0; 0.05; 0.1; 0.2; 0.4; 0.5% of feed | 56 | The results of the present study confirmed that supplementation of β-glucan in the diet could improve the growth, protein content in flesh, feed conversion ratio, feed conversion efficiency, protein efficient ratio, and protein productive value in pompano, *T. ovatus*. It is recommended that supplementation of 0.5–1.0 g/kg β-glucan in the diet to obtain maximal growth, feed utilization and protein utilization of juvenile pompano. | Do-Huu, et al. [197] |
| Carp (*Cyprinus carpio*) | 0.1% in vivo | 42 days. Fish were sampled every week from week 2 to 6. | Application of MacroGard after the third week post hatching resulted in a significant increase in classical complement activity when compared to fish fed the control diet. The results demonstrate that feeding with β-glucan enriched diet enhances the immune defense parameters of juvenile carp. | Sych, et al. [198] |
| Carp (*Cyprinus carpio*) | 6 mg/kg in vivo | 14 days | β-Glucan supplemented diet administered to common carp decreased the transcript levels of several pro-inflammatory cytokines in gut and head kidney tissues. The infection with *A. salmonicida* did not modify this tendency in gut. Levels of TNFα1, TNFα2, IL-1β, and IL-6 became significantly higher in fish fed β-glucan supplemented diet at 6 h post infection. Such differential effects may reflect the complex interactions between the bacterium and the immunostimulant relationship with the inflammatory response of the host. | Falco, Frost, Miest, Pionnier, Irnazarow and Hoole [155] |
| Carp (*Cyprinus carpio*) | Not mentioned | Kidney cells incubated for 30 min. | β-Glucan stimulated the kidney derived neutrophil to produce more neutrophil extracellular traps and entrapped a significantly higher percentage of bacteria than the head kidney derived neutrophil extracellular traps. | Brogden, et al. [199] |

# NUCLEOTÍDEOS - DNA X RNA

- Bases nitrogenadas purina e pirimidina ligada a uma pentose com pelo menos um grupo fosfato

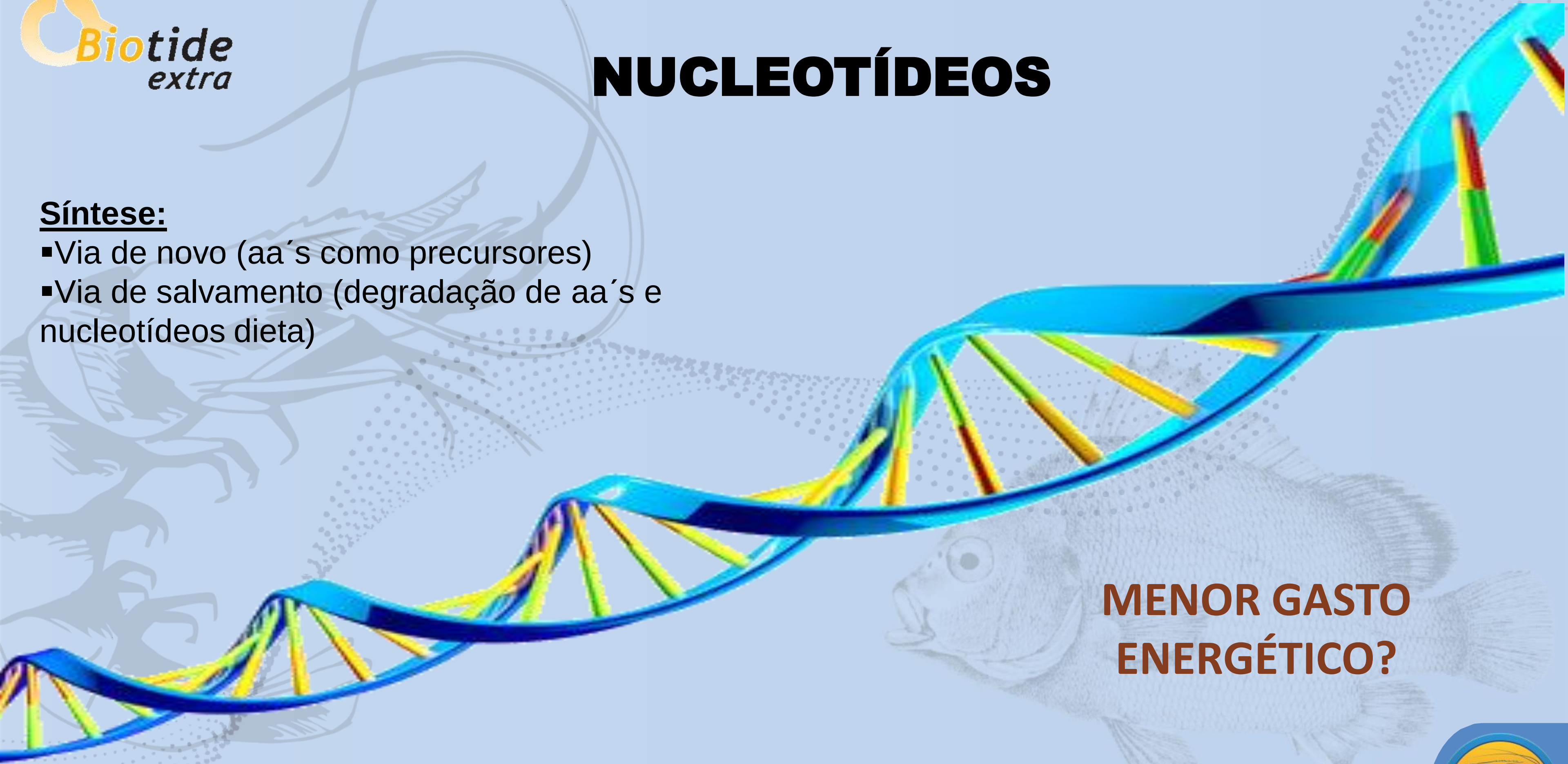


- Nucleotídeos reunidos formam ácido nucleico - DNA (desoxirribose) ou RNA (ribose)

# NUCLEOTÍDEOS

**Síntese:**

- Via de novo (aa´s como precursores)
- Via de salvamento (degradação de aa´s e nucleotídeos dieta)



**MENOR GASTO ENERGÉTICO?**

# NUCLEOTÍDEOS

- Divisão celular, crescimento da célula;
- Modulação do sistema imunológico e de processos bioquímicos essenciais;
- Precursores dos ácidos nucléicos (DNA e RNA);
- Fonte de energia (ATP, ADP, AMP, GTP);
- Cofatores (FAD, NAD, NADP);
- Reguladores fisiológicos (AMPc, GMPc).

# NUCLEOTÍDEOS

**Necessários:** órgãos de alta renovação celular (via salvamento);

Epitélio intestinal: *via de novo* não teriam suprimento em velocidade adequada à demanda;

**Essenciais:** rápida divisão celular, especialmente desafio imunológico.

**Tecidos sistema imunológico:** capacidade limitada de síntese de novo, dependendo fundamentalmente da via de salvamento;

# Estudo Prevet Jaboticabal

## Objetivo

Comparar RNA (fonte de nucleotídeos) com produto a base de nucleotídeos livres;

## Material e Métodos

- Tilápia do Nilo (8 gramas)
- 56 dias experimento
- Dieta controle; RNA – Fonte de Nucleotídeos (320 ppm); Competidor (isonucleotídica);

# Estudo Prevet Jaboticabal

## Resultados

Table 1 – Live performance parameters of Nile tilapia.

| Weight gain (g) | Control | Biotide extra | Competitor |
|---|---|---|---|
| **Mean** | **$33.69^{b}$** | **$43.33^{a}$** | **$31.3^{b}$** |
| Standard deviation | 7.0565 | 0.9014 | 4.1769 |

| Average daily weight gain (g) | Control | Biotide extra | Competitor |
|---|---|---|---|
| **Mean** | **$0.561^{b}$** | **$0.722^{a}$** | **$0.521^{b}$** |
| Standard deviation | 0.1176 | 0.015 | 0.0696 |

**SUPERIOR PERFORMANCE WITH BIOTIDE EXTRA**

**28.61%**
Higher weight gain compared with the control treatment.

kg

**38.4%**
Compared with the competitor.

**ROI**
**3.7X**

# Estudo ELOAQUA – Dr. Fernando Sutili

## Objetivo

Avaliar duas doses de RNA (fonte de nucleotídeos) contra nucleotídeos purificados (dose recomendada pelo fabricante);

## Material e Métodos

- 350 juvenis de tilápias (7,85g);
- 15 peixes/tanque (4 trat x 3 rep);
- 12 tanques (aeração individual, sistema de recirculação, filtragem mecânica e biológica).

# Estudo ELOAQUA – Dr. Fernando Sutili

## Resultados

Table 2 – Growth parameters of Nile Tilapia fed diets containing different additives (60 days)

| Variable | Treatment (additives) Control | Competitor (170 ppm - 0,5 g/kg) | Biotide extra (170 ppm - 1,13 g/kg) | Biotide extra (320 ppm - 2,13 g/kg) | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| Final Weight (g) | 34.7 ± 0.25 | 35.5 ± 0.89 | 33.7 ± 0.57 | 36.8 ± 0.77* | 0.062 |
| Relative weight gain (%) | 340.9 ± 3.2 | 350.9 ± 11.3 | 327.8 ± 7.2 | 367.4 ± 9.8* | 0.062 |
| Specific growth rate (%/day) | 2.48 ± 0.01 | 2.51 ± 0.04 | 2.43 ± 0.02 | 2.57 ± 0.03* | 0.060 |
| Feed efficiency ratio (g/g) | 0.87 ± 0.003 | 0.89 ± 0.006 | 0.87 ± 0.01 | 0.90 ± 0.01 | 0.067 |

**SUPERIOR PERFORMANCE WITH BIOTIDE EXTRA**

**6%**
increased final bodyweight when compared with the control group.

kg %

**3.7%**
compared with the competitor.

Table 3 – Intestinal histology of Nile Tilapia fed diets containing different additives (60 days)

| Variable | Treatment (additives) Control | Competitor (170 ppm - 0.5 g/kg) | Biotide extra (170 ppm - 1.13 g/kg) | Biotide extra (320 ppm - 2.13 g/kg) | p-value |
|---|---|---|---|---|---|
| VH | 260.7 ± 2.8 | 272.6 ± 3.7 | 278.0 ± 4.0* | 276.7 ± 4.5* | <0.001 |
| ASA | 181.0 ± 6.2 | 208.7 ± 9.0 | 231.5 ± 8.8* | 215.3 ± 10.4 | <0.001 |

Data are reported as the mean ± SEM. VH - villus height (µm) and ASA - absorption surface area ($ASA/mm^2$). (*) indicates significant difference between the control and treatment group - ANOVA and Dunnett's test or Kruskal-Wallis test when appropriate, p< 0.005.

**HIGHER WEIGHT GAIN**
Biotide extra inclusion aids to maintain fish gut health, promoting better feed utilization.

XVII FENACAM'21 NATAL/RN-BRASIL 16 a 19 de novembro de 2021

# Estudo ELOAQUA – Dr. Fernando Sutili

## Objetivo

Avaliação de RNA de levedura (fonte de nucleotídeos dietéticos) em tilápias desafiadas por *Aeromonas hydrophila*

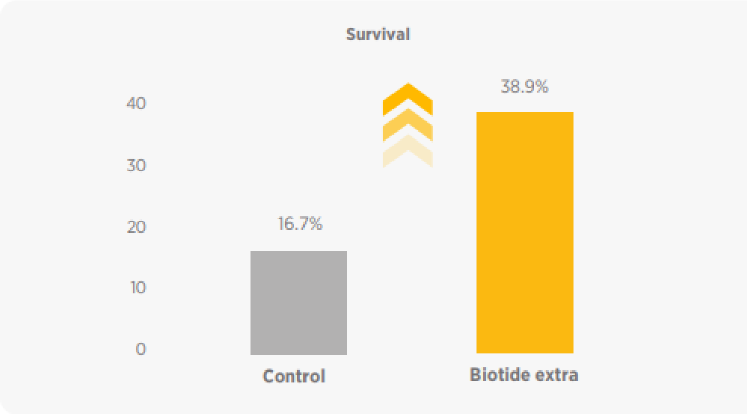
## Material e Métodos

- Juvenis de tilápia (20g);
- Tanques de 70L (recirculação de água);
- 15 peixes/tanque;
- 50 dias de alimentação;
- 7 peixes/trat (imunologia); 18 peixes/trat (desafio *Aeromonas*)

# Estudo ELOAQUA – Dr. Fernando Sutili

## Resultados

Figure 1. Survival rate of Nile tilapia fed a diet with no additives (control) or Biotide extra for 50 days and then challenged with *Aeromonas sp.*




**HIGHER RETURN ON INVESTMENT WITH BIOTIDE EXTRA**

Survival
**2.3X**
fold higher

ROI
**15X**

Table 4. Leukocyte respiratory burst and lysozyme in the sera of fish fed Biotide extra for 50 days.

| | Treatments | | |
|---|---|---|---|
| Parameter | Control | In-feed Biotide extra (320ppm RNA) | P-value |
| Respiratory burst | 0.397 ± 0.006 | **0.422 ± 0.005** | 0.010 |
| Lysozyme | 135.7 ± 19.4 | **278.5 ± 17.3** | <0.001 |

Data are described as mean ± standard deviation (n = 7 fish/treatment). Leukocyte respiratory burst: O2 production (OD 540nm), Lysozyme: serum lysozyme activity (units/mL). ANOVA and Tukey's (LRB) or Kruskal-Wallis (Lys) tests; P<0.05.

**STRENGTHENS NATURAL DEFENSES**

The use of **Biotide extra** strengthens natural defenses.

# Mananoligossacarídeos - MOS

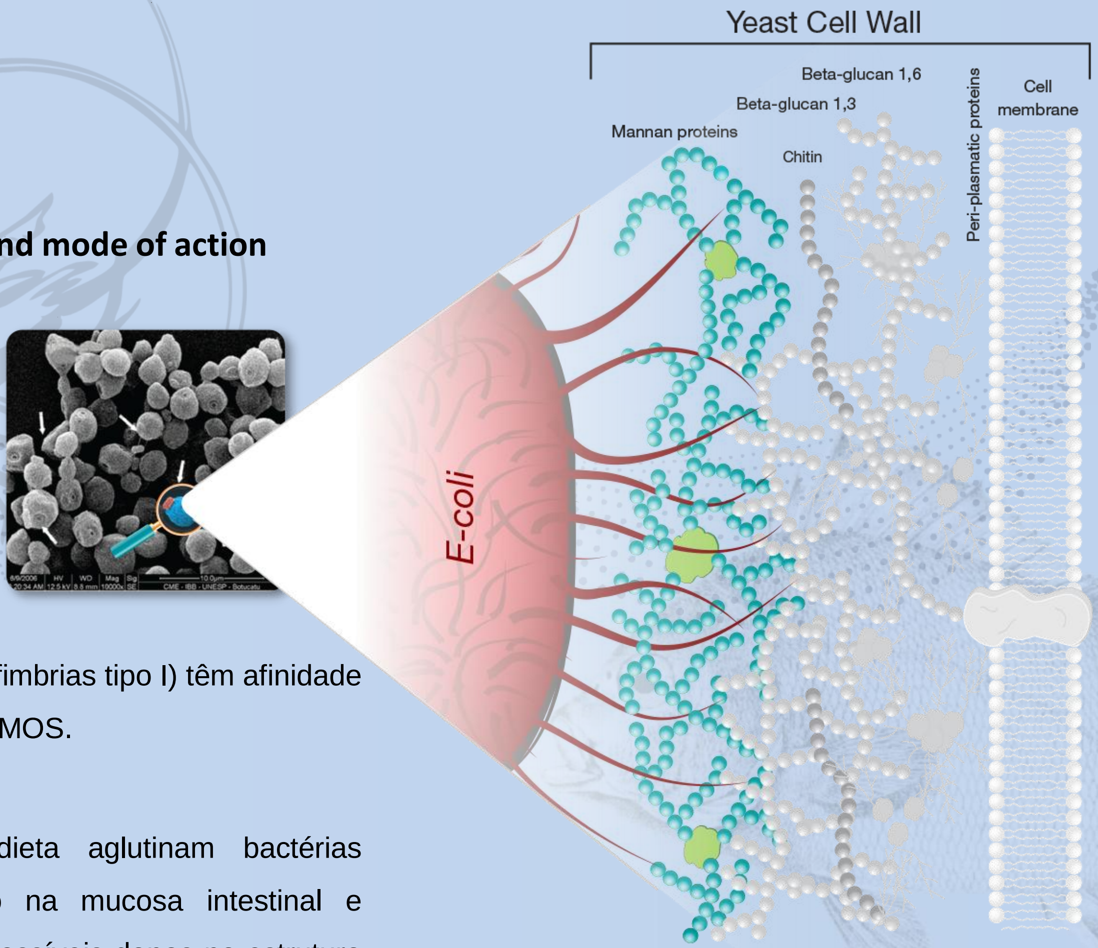
**Mananoligossacarídeos** (MOS), capazes de modular a microbiota intestinal e contribuir para melhor funcionalidade do intestino.

Extraído de uma cepa selecionada de leveduras *Saccharomyces cerevisiae (*cultura pura*)*, o produto é seco em spray drier.

# Prebióticos

São definidos como ingredientes não digeríveis, que afetam de maneira benéfica o intestino do animal, estimulando o crescimento e / ou atividade de um número limitado de bactérias benéficas, como *Lactobacillus* e *Bifidobacterium spp*. no trato gastrointestinal enquanto limita bactérias potencialmente patogênicas (Manning e Gibson, 2004).

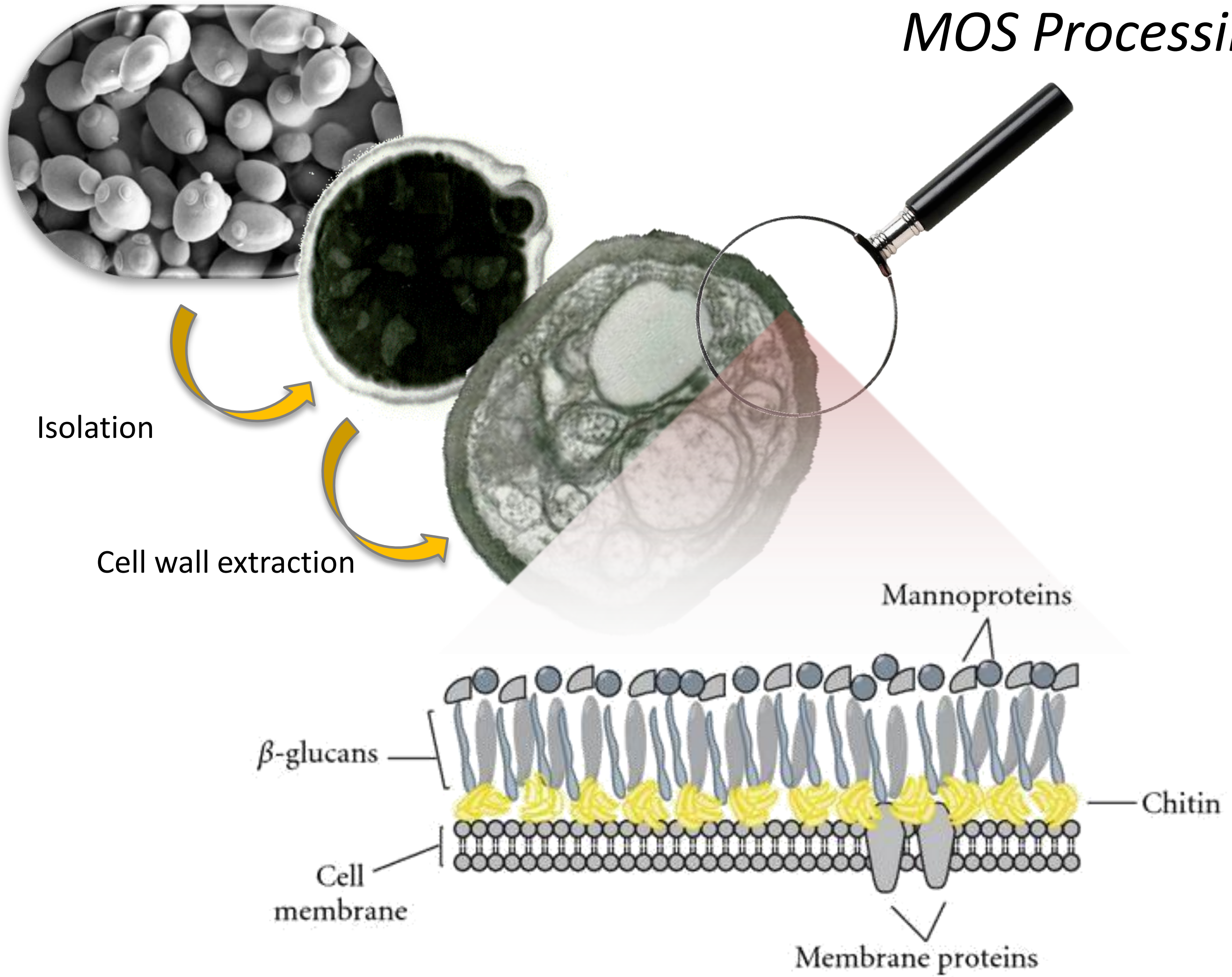
## Composition and mode of action




Bactérias patogênicas gram-negativas (fimbrias tipo I) têm afinidade por CHO´s específicos, particularmente MOS.

Dessa forma, MOS presente na dieta aglutinam bactérias patogênicas, prevenindo sua adesão na mucosa intestinal e consequentemente sua proliferação e possíveis danos na estrutura de absorção de nutrientes.

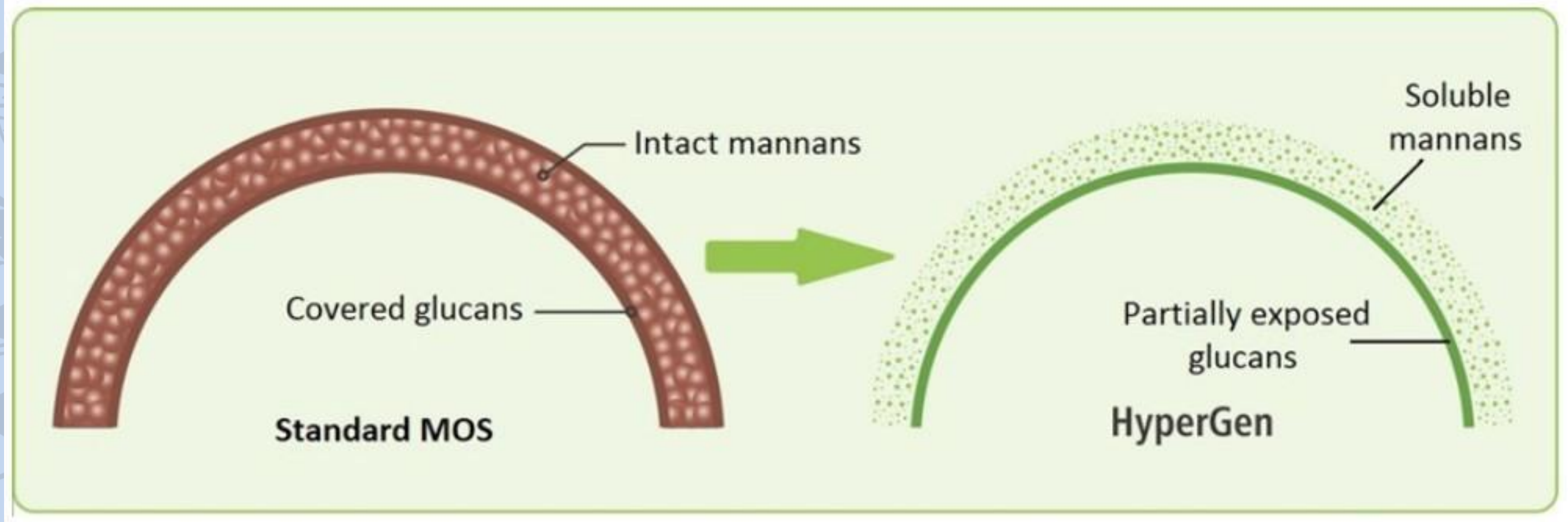
# MOS Processing




# MOS de 2ª geração

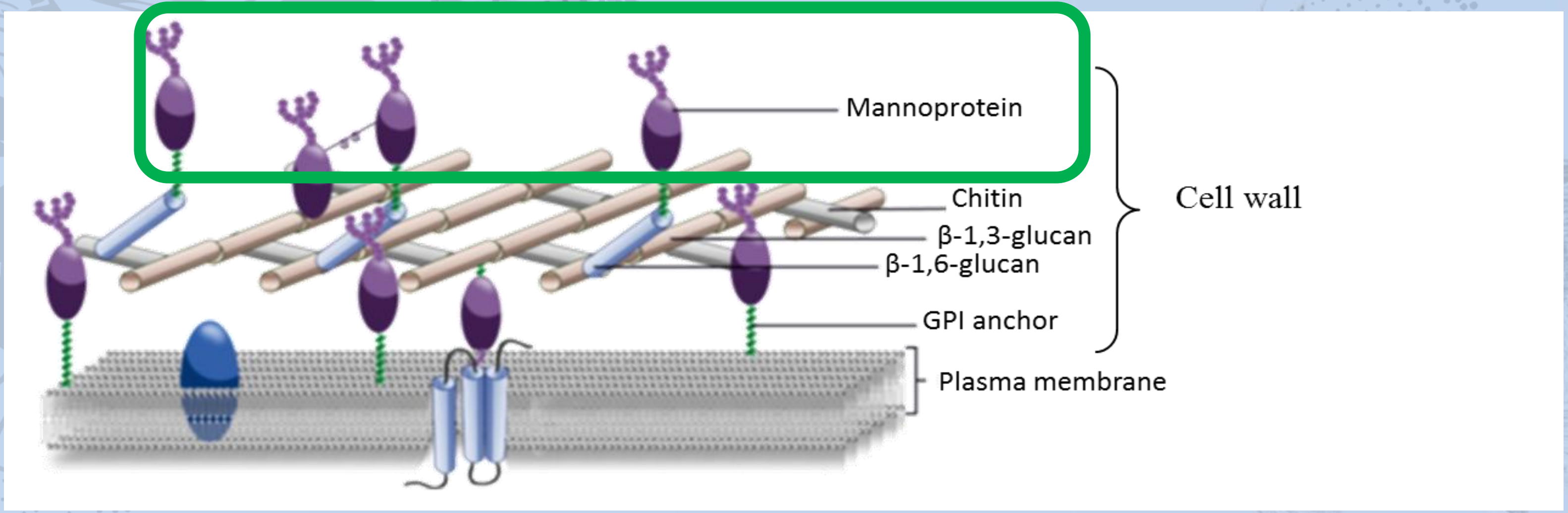
- Nova geração de prebióticos de levedura, capaz de modular o ambiente intestinal
- Apresenta um efeito prebiótico potencializado, sendo capaz de modular a imunidade local do intestino

**Processo de produção inovador:** comparativo entre MOS de primeira e segunda geração



- As mananas são solubilizadas e por isso possuem menor tamanho de partícula;

- A camada de beta-glucanas está parcialmente exposta, exercendo respostas imunológicas



# Estudo 1: Universiti Sains Malaysia

HyperGen

42 | Feed Technology

## Dietary mannan oligosaccharide as a tool against AHPND

In challenge trials, supplementation improved survival and resistance against *V. parahaemolyticus* with less histopathological damage to the hepatopancreas

By João Fernando Albers Koch, Nadira Afina Ismail, Kok-Onn Kwong and Wing-Keong Ng

## Objetivo

Investigar os efeitos da inclusão de MOS de 2° geração na resistência de camarões brancos do Pacífico.

XVII FENACAM'21 NATAL/RN-BRASIL 16 a 19 de novembro de 2021

# Introdução

- *Vibrios spp*. estão entre os mais importantes patógenos que afetam camarões cultivados;
- Estas bactérias causam a doença conhecida como Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), também conhecida como EMS (*early mortality syndrome*), a qual tem afetado fazendas de camarão ao redor do globo desde 2009;
- MOS (mananoligossacarídeos) são conhecidos por sua habilidade de aglutinar patógenos e com isso favorecer o balanço da microbiota e consequente saúde intestinal;
- MOS são também conhecidos por melhorar as defesas naturais, possibilitando maior resistência a doenças e com isso auxiliando os animais submetidos a períodos críticos (como estágios iniciais de criação).

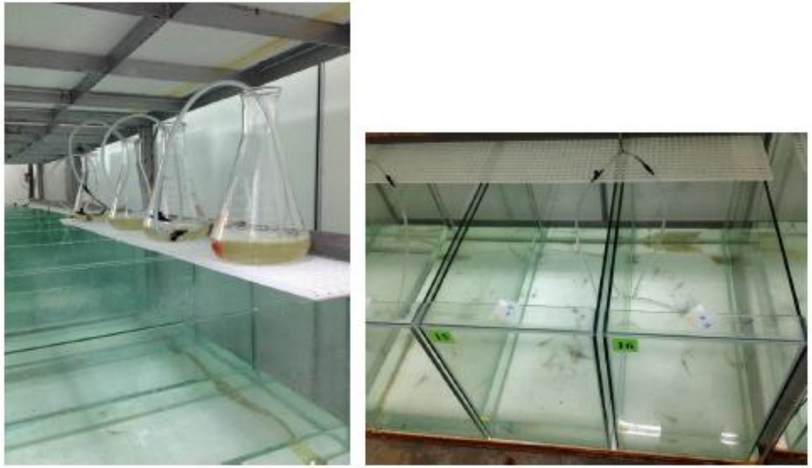
# Material e Métodos

- Pesquisa conduzida no Aquaculture Research Complex da Universiti Sains Malaysia;
- PL9 (SPF);
- Utilizada três dietas práticas isolipídicas (com óleo de fígado de lula) com 42% de proteína bruta à partir de farinha de peixe e farelo de soja → 14 dias de alimentação;
- 2 níveis de HyperGen foram adicionados (0.2 or 0.4%), em adição a um controle negativo (sem inclusão de HyperGen);
- Desafio patogênico com controle positivo: sem aditivos e com inoculação de patógenos;
- 4 tratamentos e 4 repetições ;
- Aquários de 1L foram utilizados (13 PL9 saudáveis por unidade experimental);
- Alimentação: 3x /dia (9:00, 13:00 e 17:00) até a saciedade aparente;
- Trocas de água: 10% diariamente;

# Material e Métodos

- Após 14 dias de alimentação os animais foram desafiados;
- Camarões de cada unidade experimental, dentro do mesmo tratamento foram unidos (formação de pool) e posteriormente redestribuídos (10 camarões/aquário);
- Aquários de 100L foram usados (mas com 15L de água).
- Ambiente controlado e estático.
- Três repetições/tratamento;
- *V. parahaemolyticus* AHPND (3 HP strain) adicionado em uma dosage final de 106 CFU / mL.
- Camarões do grupo controle foram “desafiados” com solução estéril TSB (controle negativo); Controle positivo: control diet + *V. parahaemolyticus*)

Bio-secure temperature-controlled room used for disease challenge tests in USM.



Shrimp was challenged with AHPND-causing bacteria in conical flasks by immersion and mortality monitored in 100 L aquarium over seven days.

HyperGen

Ingredient composition (% dry matter) of experimental diets

| Ingredient | Experimental diets | | |
|---|---|---|---|
| | Control | 0.2% MOS | 0.4% MOS |
| Danish fish meal[a] | 19.16 | 19.16 | 19.16 |
| Soybean meal[b] | 41.19 | 41.19 | 41.19 |
| Squid liver oil[c] | 3.53 | 3.53 | 3.53 |
| Soybean lecithin | 0.75 | 0.75 | 0.75 |
| Cholesterol | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| Corn starch | 19.18 | 19.18 | 19.18 |
| Vitamin premix[d] | 2.00 | 2.00 | 2.00 |
| Mineral premix[e] | 4.00 | 4.00 | 4.00 |
| Vitamin C[f] | 0.05 | 0.05 | 0.05 |
| Myoinositol[g] | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| Choline chloride[h] | 0.50 | 0.50 | 0.50 |
| Prototype MOS[i] | 0.00 | 0.20 | 0.40 |
| Alpha-cellulose | 7.14 | 6.94 | 6.74 |
| Binder[j] | 1.00 | 1.00 | 1.00 |

[a]Danish fish meal: 73.05% crude protein, 10.28% crude lipid, 15.75% ash.

[b] Solvent extracted soybean meal: 50.98% crude protein, 3.04% crude lipid, 8.62% ash.

[c] Squid liver oil is acquired from Sri Putra Trading Sdn. Bhd. (Kedah, Malaysia).

[d, e] Vitamin premix is Rovimix 6288 (DSM) and mineral premix as in Romano *et al.* (2015).

[f]Rovimix® Stay-C® 35 (DSM).

[g, h]Myo-inositol and choline chloride not included in the commercial vitamin premix and are added separately (Sigma-Aldrich Chemical Co.) to meet the optimum requirements for *Litopenaeus vannamei* (NRC, 2011).

[i]Prototype mannan oligosaccharide Biorigin (Brazil). The additives were used "as is".

[j]Pegabind® (Bentoli/Bentoli AgriNutrition Co., Ltd., Thailand).

Proximate composition (% dry matter) of experimental diets

| | Experimental diets‡ | | |
|---|---|---|---|
| | Control | 0.2% MOS | 0.4% MOS |
| Dry matter | 87.73 | 86.10 | 86.68 |
| Protein | 41.77 | 42.50 | 41.98 |
| Lipid | 6.49 | 6.70 | 5.85 |
| Fiber | 1.28 | 1.56 | 2.31 |
| Ash | 9.63 | 9.87 | 9.71 |
| NFE[a] | 28.56 | 25.47 | 26.83 |
| Gross energy[b] | 12.64 | 12.95 | 12.62 |

‡Values are average of triplicate analysis.

[a] Nitrogen-free extract (NFE) = % dry matter - % (crude protein + crude lipid + ash + crude fiber).

[b] Gross energy (kJ $g^{-1}$): 23.6 kJ $g^{-1}$ protein, 39.5 kJ $g^{-1}$ lipid and 17.2 kJ $g^{-1}$ carbohydrate (NRC, 2011)

XVII FENACAM'21

# Resultados

HyperGen

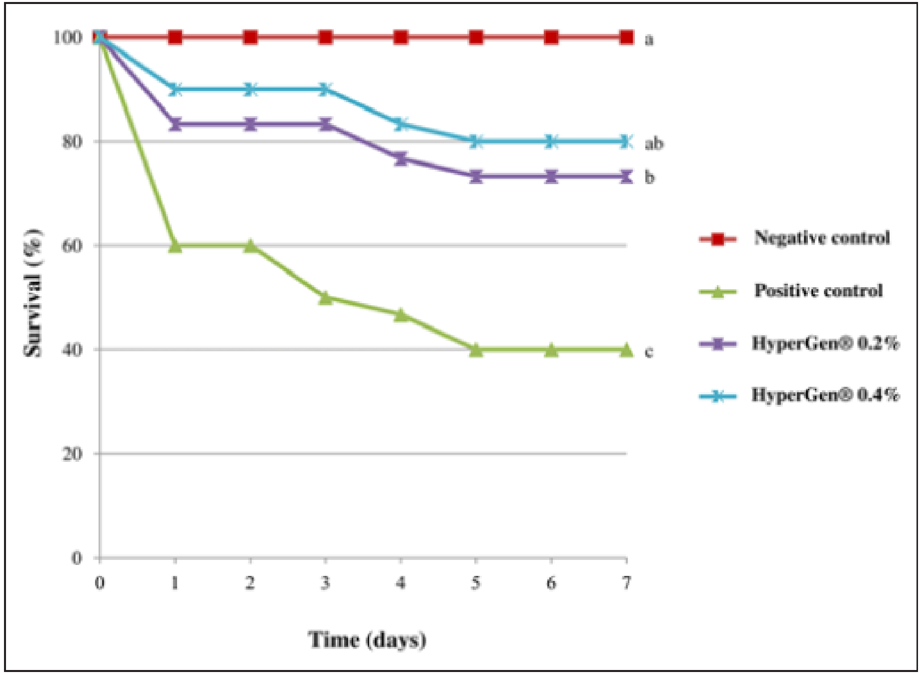


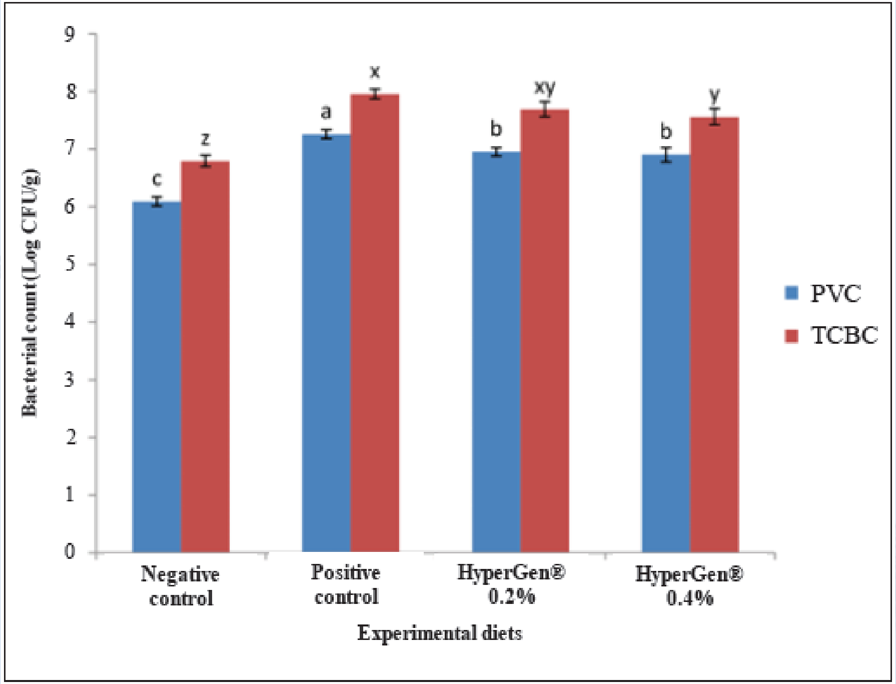

Figure 1. Survival of *Litopenaeus vannamei* fed mannan oligosaccharide HyperGen®-added diets and challenged with AHPND-causing bacteria, after a feeding trial period of 14 days. Different letters indicate significant difference among groups (ANOVA followed by Duncan's post-hoc test, $P < 0.05$).

**Sobrevivência durante 7 dias pós-inoculação**

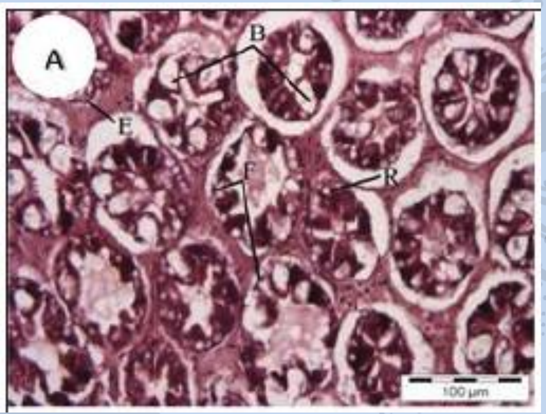
XVII FENACAM'21

# Resultados

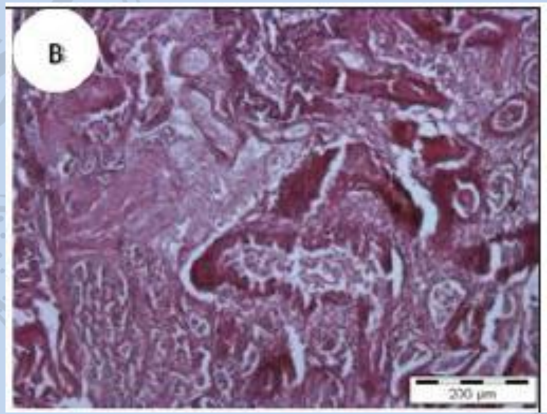
Contagem presuntiva de *Vibrio* spp. count (PVC) e contagem total de bactérias cultiváveis (TCBC) no hepatopancreas de *Litopenaeus vannamei* alimentados com HyperGen® e desafiados com AHPND-causing bacteria.



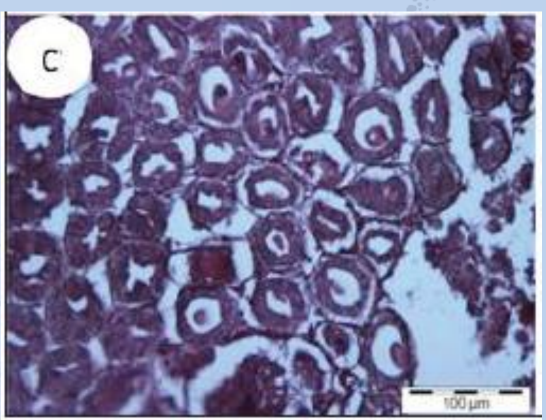
# Resultados



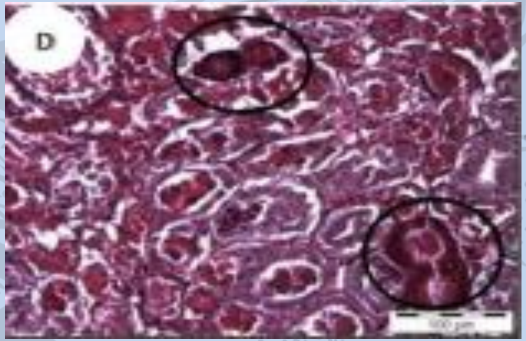

A: Camarões do grupo controle negativo demonstrando aparência normal do hepatopâncreas.




B: Camarões do grupo controle positivo demonstrando danos severos extensivos nas estruturas do hepatopancreas, incluindo necrose nos túbulos epiteliais.




C: Hepatopancreas de camarões alimentados com 0.2% de HyperGen® demonstrando menos lesões.



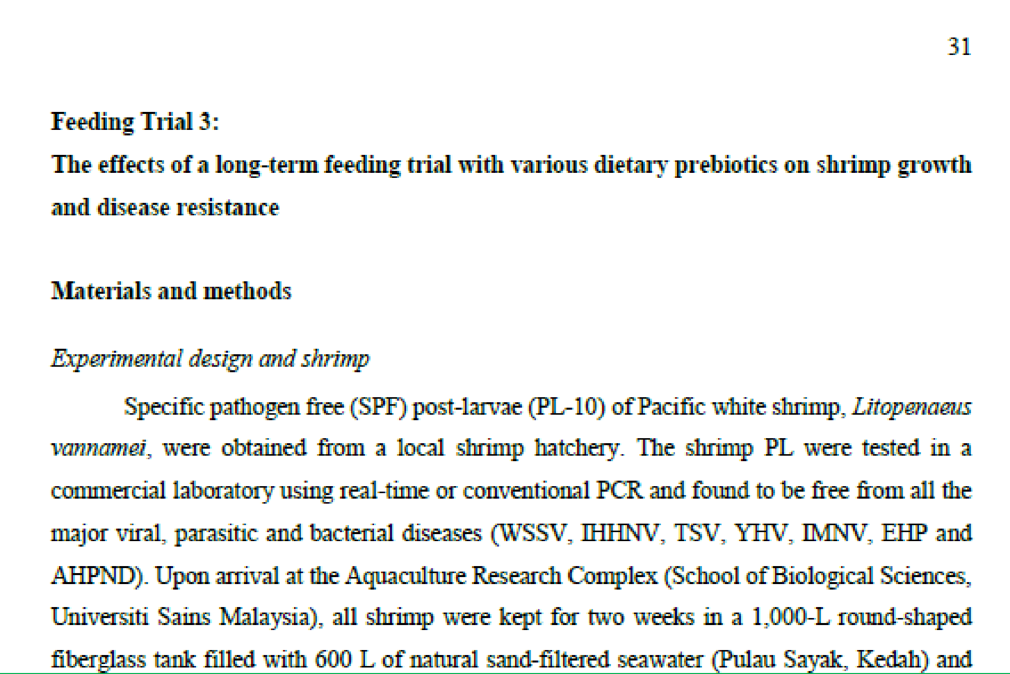

D: Hepatopancreas de camarões alimentados com 0.4% de HyperGen® demonstraram menos danos e com túbulos epiteliais melanisados (circulos).

# Conclusão

**Camarões alimentados com HyperGen demonstraram 45 – 50% melhor sobrevivência quando comparados aos grupos não suplementados e infectados.**

# Estudo 2: Aditivos isoladamente e em associação

HyperGen





**Feeding Trial 3:**

**The effects of a long-term feeding trial with various dietary prebiotics on shrimp growth and disease resistance**

**Materials and methods**

*Experimental design and shrimp*

Specific pathogen free (SPF) post-larvae (PL-10) of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, were obtained from a local shrimp hatchery. The shrimp PL were tested in a commercial laboratory using real-time or conventional PCR and found to be free from all the major viral, parasitic and bacterial diseases (WSSV, IHHNV, TSV, YHV, IMNV, EHP and AHPND). Upon arrival at the Aquaculture Research Complex (School of Biological Sciences, Universiti Sains Malaysia), all shrimp were kept for two weeks in a 1,000-L round-shaped fiberglass tank filled with 600 L of natural sand-filtered seawater (Pulau Sayak, Kedah) and

## Objetivo

Avaliar MOS de 1° geração, MOS de 2° geração, beta-glucanas purificadas e associação dos conceitos supracitados em desafios de *v. parahemoliticus* em camarões *Litopenaeus vannamei*.

# Material e Métodos

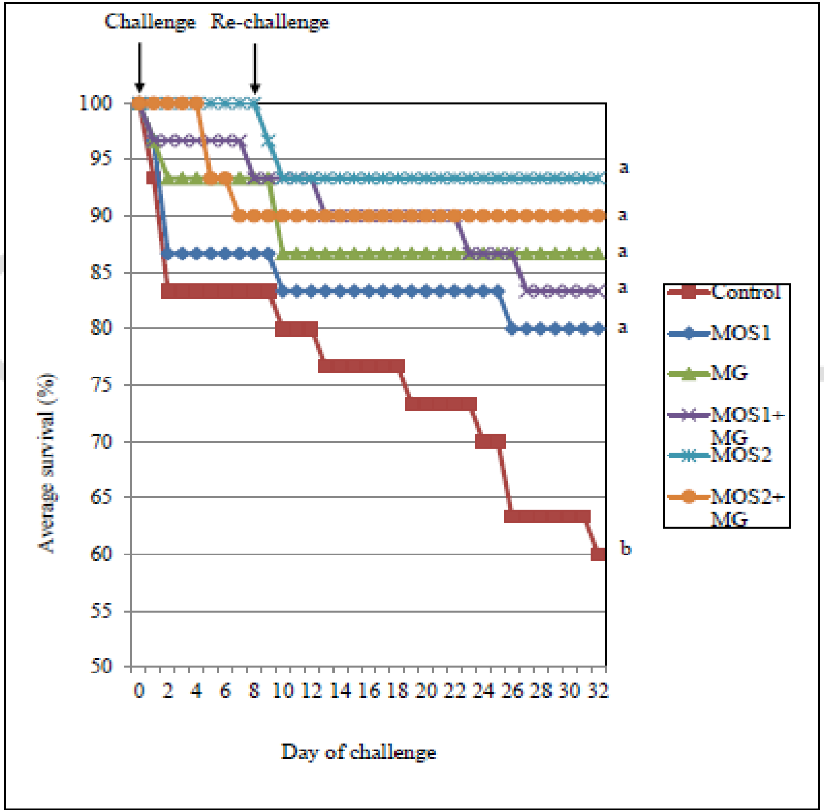
- Larvas SPF (PL-10);
- *Litopenaeus vannamei;*
- Testadas PCR contra WSSV, IHHNV, TSV, YHD, IMNV, AHPND;
- Avaliação de seis dietas;
- Dietas isoprotéicas e isolipídicas

## Material e Métodos

- As dietas experimentais foram: 1. Controle; 2. (0,4% ActiveMOS); 3. (0,1% MacroGard); 4. (0,4% ActiveMOS) + 0,1% (MacroGard); 5. (0,2% HyperGen); 6. (0,2% HyperGen) + (0,1% MacroGard).

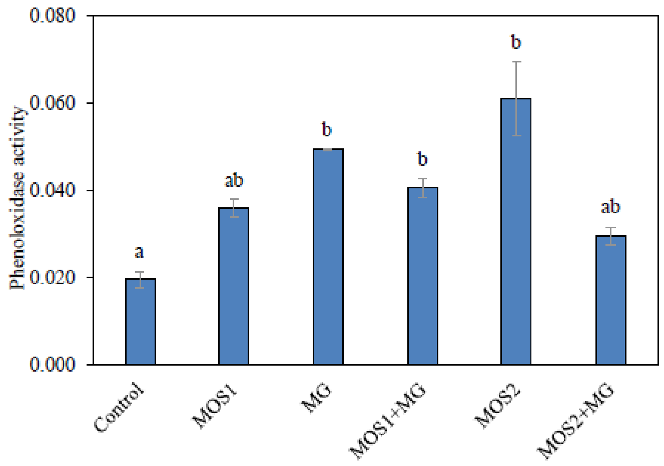
Experimental pelleted soybean meal-based shrimp diets used in the present study.

Cumulative survival (%) of Pacific white shrimp fed prebiotics-added diets‡ and challenged with AHPND-causing bacteria




‡Control: basal diet; MOS1: ActiveMOS; MG: MacroGard; MOS2: prototype MOS. MOS1, with 0.4% MOS1; MG, with 0.1% MG; MOS1+MG, with 0.4% MOS1 + 0.1% MG; MOS2, with 0.2% MOS2; MOS2+MG, with 0.2% MOS2 + 0.1% MG. Mean of triplicates (P<0.05).

# Resultados




Phenoloxidase activity (dopachrome 40 mL$^{-1}$) of hemolymph from *L. vannamei* challenged with *V. parahaemolyticus* (3HP) and given the various prebiotics dietary treatments. Different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

# Conclusão

Todos os tratamentos avaliados foram capazes de reduzir a mortalidade de camarões desafiados por AHPND;

Aditivos a base de parede de leveduras são efetivos para redução dos danos causados por *vibrio parahemoliticus*.

# ALIMENTO FUNCIONAL


*Fonte: Dr. Luis Otavio Brito da Silva*

Biorigin

# OBRIGADO


- joao.koch@biorigin.net
- www.biorigin.net