

Protec versus Anemia Infecciosa del Salmón (ISA)

● **Skretting ha realizado una contribución significativa al desarrollo de soluciones nutricionales de manera de lograr peces mejor preparados para enfrentar los distintos desafíos sanitarios. El presente reporte muestra la información que avala los resultados de Protec como una herramienta para el control ISAv.**

Las dietas funcionales como parte fundamental de los programas de Salud Animal se están utilizando crecientemente en los sistemas de producción acuícola. Los alimentos funcionales son definidos por ILSI Europe* como aquellas dietas que han demostrado poseer un efecto benéfico sobre una o varias funciones específicas del organismo, más allá de los efectos nutricionales habituales, siendo esto relevante para mejorar la salud y el bienestar animal, y con ello disminuir el riesgo a enfermar.

MAYOR RESISTENCIA AL ISA

Skretting ha tenido como objetivo central el demostrar dichos beneficios para la salud de peces producidos en Chile y frente a las principales enfermedades que afectan a nuestra industria. Para ello realizamos una serie de pruebas controladas de desafíos infecciosos, mediante ensayos *in vivo* en el centro experimental de Fundación Chile (Aquadvice) con smolts de salmón del Atlántico de un peso promedio de 155 gramos. En estos ensayos, analizamos el impacto del ISA en peces alimentados con una dieta Protec y con otra dieta Control durante 6 semanas previas al desafío, el que consistió en infectar los peces troyanos con el virus ISA HPR7b, con una titulación del virus en células ASK de $1 \times 10^{5,13}$ DICT50/ml. Es importante mencionar que esta cepa es la que presenta la mayor patogenicidad y fue la responsable de la crisis sanitaria ocurrida el 2008 en Chile.

En el desafío experimental de ISAv con la dieta funcional se utilizó como metodología un estudio *in vivo* por cohabitación. En este tipo de estudio se replican mejor las condiciones naturales de la enfermedad y además se expresan de manera más evidente los beneficios de una nutrición funcional. Esta prueba consiste en enfermar a los peces vía intraperitoneal con un antígeno conocido (a estos peces se los llama "troyanos"). Posteriormente, estos peces ya infectados son trasladados para que contagien de manera natural a los peces susceptibles (llamados cohabitantes); luego se evalúan las dietas en ambos grupos.

Gráfico N°1. Mortalidad de peces troyanos y cohabitantes por dieta, durante desafío con ISAv

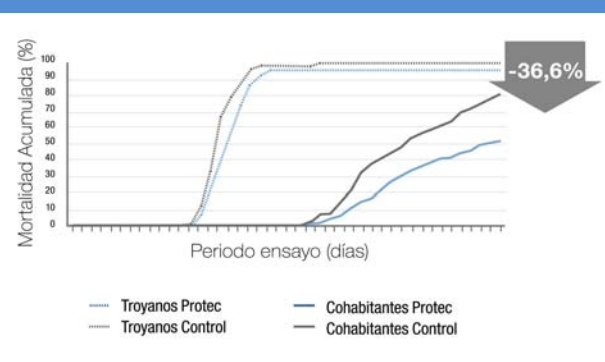
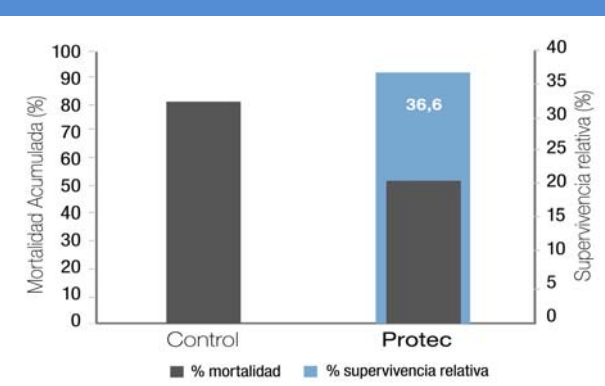


Gráfico N°2. Tasa de Supervivencia relativa (RPS) por dieta durante desafío con ISAv



POTENCIA EFECTO VACUNAS

Por otra parte, además de disminuir el impacto de la mortalidad generada por el virus ISA, y gracias a sus ingredientes funcionales que estimulan el sistema inmune, Protec permite expresar el efecto de las vacunas con mayor potencia, mejorando la tasa de protección. Un reciente estudio demostró que peces alimentados 6 semanas antes de la aplicación intraperitoneal de una vacuna multivalente de uso comercial, y posterior desafío con la enfermedad presentó menores mortalidades, logrando un 25% de mayor

protección relativa sobre la dieta control (Ver Gráfico 3).

Los resultados son explicados principalmente por los 1,3 B Glucanos, aditivos funcionales que generan una estimulación del sistema inmune inespecífico mediante la activación de los macrófagos. Existe una vasta documentación sobre las ventajas de estos inmunoestimulantes, como los realizados en nuestro centro experimental en Noruega (ARC), donde en un desafío de cohabitación en Salmón del Atlántico se demostró que los peces alimentados con dietas fortalecidas con 1,3 B Glucanos estaban un 22% más protegidos al desafío con ISAv (Ver Gráfico 4).

DISMINUYE CARGA VIRAL

Otro de los aditivos funcionales que presenta un efecto comparado contra el agente de la Anemia Infecciosa del Salmón es Natumix. Desarrollado por ARC, éste es un ingrediente de origen natural (extractos vegetales) que presenta una importante actividad antimicrobiana, la cual está determinada por los grupos funcionales de dichos extractos (sulfurados, fenólicos, etc.) que inhiben el metabolismo de los patógenos mediante la alteración de la permeabilidad de su pared celular.

Para la comprobación del efecto antiséptico de Natumix se aplicó una técnica ampliamente utilizada en la determinación de la eficacia de los antibióticos que permite evaluar la susceptibilidad del agente patógeno frente a una sustancia antimicrobiana determinada, mediante una dilución seriada. Esta técnica consiste en determinar en condiciones *in vitro*, la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM o MIC), es decir la mínima concentración que produce la inhibición del crecimiento del agente y la Concentración Viricida Mínima (CVM), equivalente a la mínima concentración que tiene como consecuencia muerte del virus. Para ello, se utilizaron cepas aisladas a partir de casos clínicos recibidos en el Laboratorio ADL Diagnostic.

Para el estudio de su efecto en Virus, la metodología *in vitro* utilizada con el virus ISA consistió en la realización de una prueba inicial de citotoxicidad de la línea celular de Salmón del Atlántico (Salmon Head Kidney) SHK-1. Posteriormente se determinó el efecto sobre el virus ISAv en una prueba realizada a una escala de diluciones de Kass, desde 800 ppm hasta 300 ppm, frente a un aislado de concentración conocida de ISAv (extraído de brotes naturales de ISA en Chile) y confirmados por IFAT, RT-PCR, microscópica electrónica y secuenciamiento genético.

Los resultados indican que el ISAv es eliminado a partir de una concentración de 500 ppm de Natumix. También se descubrió que esta destrucción se encuentra en directa relación con el tiempo de exposición. Es decir, a medida que disminuye el tiempo de contacto entre el patógeno y el extracto vegetal, se requiere una mayor concentración de este último para la destrucción del patógeno (Ver Tabla 5).

Gráfico N°3. Mortalidad acumulada de grupos vacunados y no vacunados, alimentados con dieta funcional (Protec) y dieta Control

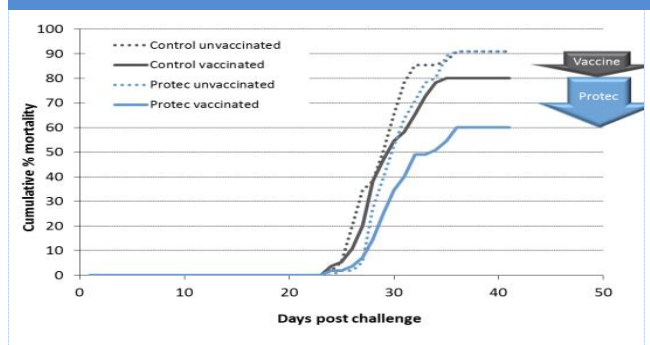


Gráfico N°4. Mortalidad acumulada por estanque en desafío experimental con ISA en peces alimentados con dieta control y dieta con 1,3 B Glucanos

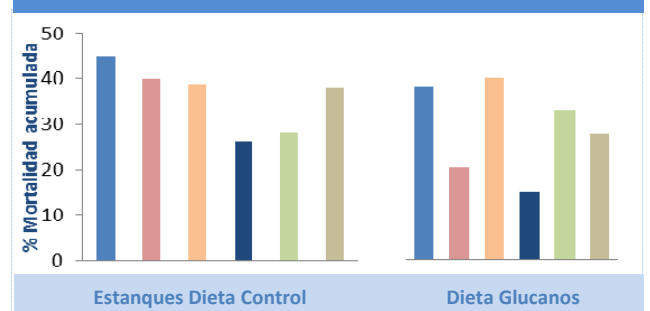


Tabla N° 5. Resultados prueba de viabilidad viral de ISAv tratado con distintas concentraciones de Natumix y tiempos de exposición

Concentración (ppm)	Tiempo			
	30'	60'	240'	360'
800	A	A	A	A
750	A	A	A	A
700	P	A	A	A
650	P	A	A	A
600	P	A	A	A
550	P	P	A	A
500	P	P	P	A
450	P	P	P	P
400	P	P	P	P
350	P	P	P	P
300	P	P	P	P

A: Ausencia virus P: Presencia virus

CONCLUSIÓN

La dieta funcional Protec posee una sólida base científica y constituye una herramienta eficaz para la prevención y control de la Anemia Infecciosa del Salmón (ISA). Para ello recomendamos su uso continuo por un periodo de 6 semanas en aquellos centros ubicados en los barrios bajo vigilancia epidemiológica por brotes de ISA, y en forma continua en los centros vecinos más cercanos al centro afectado.

*International Life Science Institute