



Boletín Técnico



**AquaVac[®]
Ergosan[®]**

Alimento Complementario para Peces

AquaVac Ergosan Bajo Extrusión

AquaVac Ergosan es un alimento complementario extraído de algas marinas destinado para uso en peces.

La optimización del estado nutritivo de los peces es de importancia primordial para lograr el crecimiento más eficiente posible, permitiendo a la vez que los mismos puedan responder a situaciones de estrés.

Estas situaciones de estrés pueden deberse a cambios ambientales (por ej., fluctuaciones en la temperatura del agua), o a prácticas normales dentro del cultivo de peces (por ej., transferencia al agua de mar, clasificación, manipulación y transporte). El uso de AquaVac Ergosan forma parte de una dieta de alta calidad que puede permitir un rendimiento productivo óptimo durante estas condiciones de estrés.

Durante muchos años AquaVac Ergosan ha sido utilizado con gran éxito en dietas para alevines, donde se lo añade a la superficie del alimento, ya sea en el centro de cultivo o en la planta productora del alimento. Dado que cada vez está más comprobado el beneficio de usar AquaVac Ergosan en peces más grandes, existe ahora la necesidad de desarrollar un método con costo y tiempo más eficiente para mezclar AquaVac Ergosan con el alimento.

Este boletín presenta los datos más recientes acerca de la preparación de una dieta con AquaVac Ergosan mediante extrusión.

Diseño del Estudio

Carnevali et al (2006) estudiaron el efecto de alimentar con AquaVac Ergosan con los parámetros intrínsecos al estrés y la respuesta inmune de la trucha arco iris. El estudio demostró que la expresión de genes de Proteína de Choque Térmico 70, Interleukina 1, y Factor de Necrosis Tumoral 2 puede cuantificarse y

correlacionarse con el uso de AquaVac Ergosan en la alimentación de los peces.

El estudio aquí presentado utiliza estos parámetros para evaluar el efecto de la extrusión en AquaVac Ergosan.

Dieta A:

Alimento de disponibilidad comercial, recubierto con AquaVac Ergosan (50 mg/Kg de pez).

Equipo Utilizado

- Se elaboraron pequeños lotes de alimento recubierto utilizando una mezcladora de cemento con una capacidad de 25Kg.

Método

- Se pesaron las cantidades requeridas de AquaVac Ergosan, y se las colocó en bolsitas de polietileno.
- Cada bolsita de polietileno contenía suficiente cantidad de AquaVac Ergosan para recubrir 25Kg de pellets de alimento.
- Se vació una bolsa de 25Kg de pellets de alimento en la mezcladora, y se inició el proceso de mezcla.
- La cantidad requerida de AquaVac Ergosan fue rociada sobre los pellets mientras éstos giraban en la mezcladora. Este proceso duró unos 30 segundos.
- La mezcladora siguió mezclando durante 1 minuto antes de agregarse un revestimiento de aceite de pescado, a una proporción de 250ml por cada 25Kg.
- A continuación, el alimento, AquaVac Ergosan y el revestimiento de aceite se mezclaron durante otros 2 minutos.
- Esta mezcla fue embolsada y sellada.
- Este recubrimiento se llevó a cabo a una temperatura ambiente de 13°C.

El recubrimiento se realizó el 8 de mayo de 2007. El alimento así recubierto fue utilizado por primera vez 18 días después de su preparación.

Dieta B:

Alimento de disponibilidad comercial – Control.

Dieta C:

Alimento de disponibilidad comercial extruido con AquaVac Ergosan (50 mg/Kg de pez).

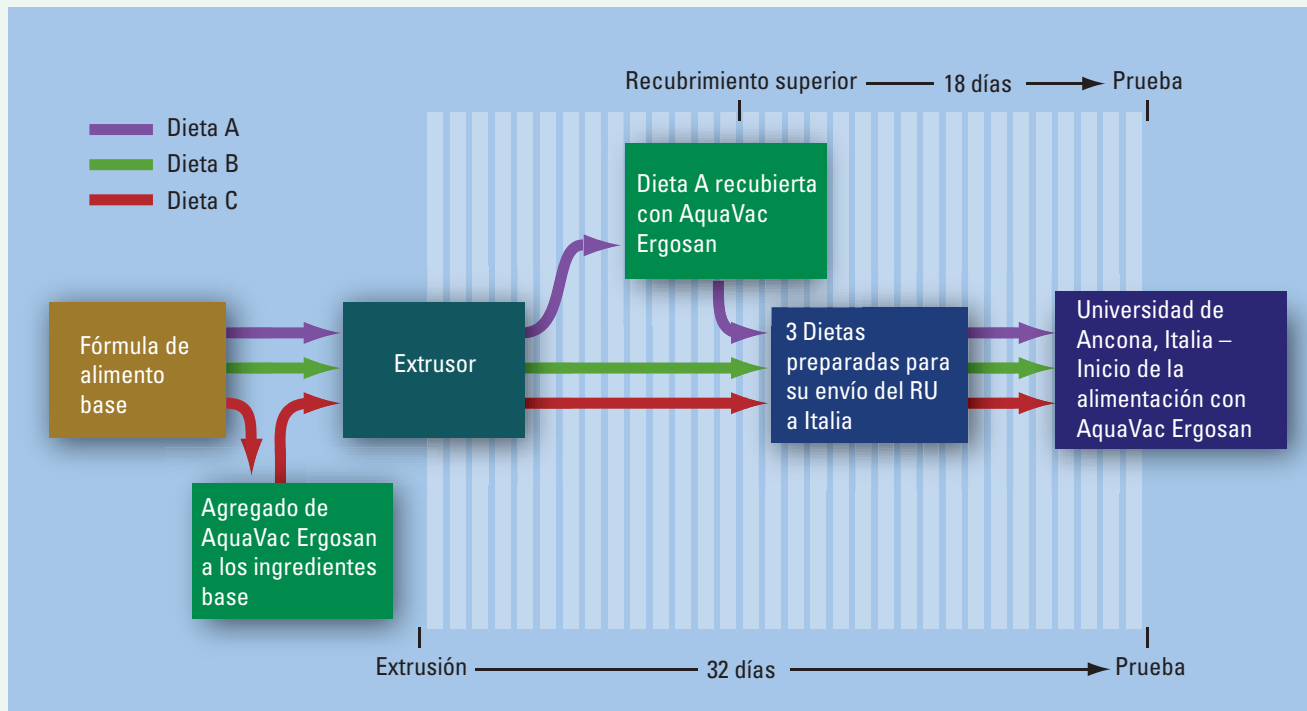
- Una cantidad medida de AquaVac Ergosan se mezcla con los ingredientes del alimento base.
- El alimento se coloca en un preacondicionador, y se lo calienta por inyección de vapor a una temperatura de 70°C a 80°C.
- El alimento permanece en el preacondicionador durante aproximadamente 5 minutos.
- El alimento pasa al cilindro de extrusión, donde permanece durante alrededor de 1 minuto a una temperatura de 70°C.
- A continuación el alimento pasa al secador, donde se lo expone a una temperatura de aproximadamente 50°C durante unos 20 minutos.
- Durante este proceso la temperatura del aire en el secador es de 140°C.
- Los pellets luego se enfrían y se envasan a una temperatura de 20°C a 25°C.

La extrusión se realizó el 24 de abril de 2007.

El alimento extruido fue utilizado por primera vez 32 días después de su preparación.

Todas las dietas se conservaron en un lugar seco a temperatura ambiente (20°C - 25°C) antes de su uso.

Producción de las Dietas Para el Ensayo



Grupos y Programas del Ensayo

Grupos de Peces

- Una partida de truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) de 10 g de peso promedio, provenientes de un criadero local y con el mismo origen, fue dividida en 3 grupos.
- Cada grupo fue conformado por 150 peces distribuidos al azar.
- Se permitió a los peces un período de aclimatización de 3 semanas antes de iniciarse el ensayo.
- Todos los peces fueron alimentados con una dieta de disponibilidad comercial antes de iniciarse el ensayo.
- Durante el período del estudio los peces no fueron expuestos a desafíos ni estreses específicos.

Grupo A:

Alimentado con la Dieta A: Alimento de disponibilidad comercial revestido con AquaVac Ergosan.

Para obtener 50mg por Kg de pez se mezcló al alimento un 0,2% por peso de AquaVac Ergosan, y se suministró durante 10 días a una tasa diaria de alimentación de 2,5%.

Grupo B:

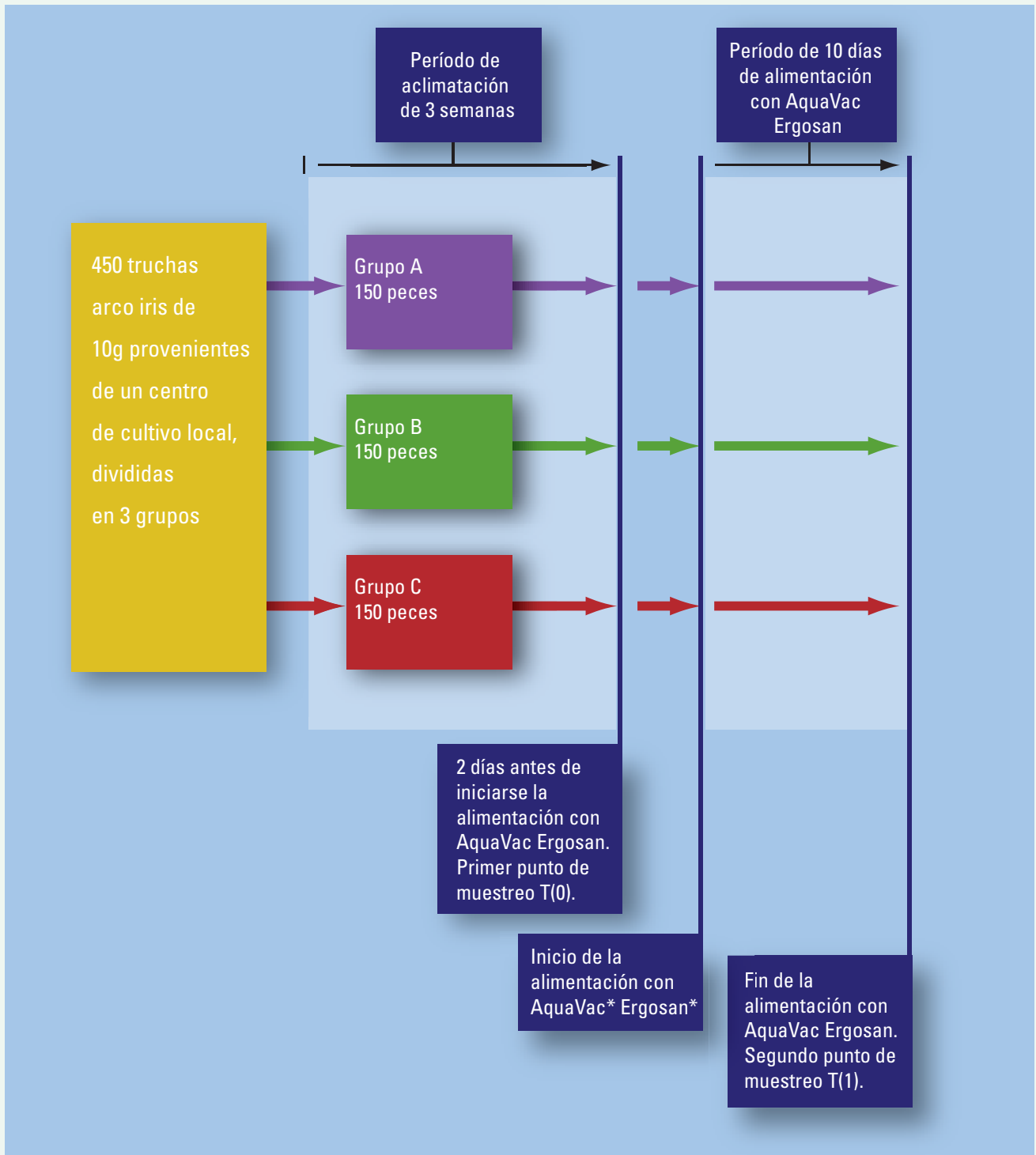
Alimentado con la Dieta B: Alimento de disponibilidad comercial estándar empleado como control. La tasa diaria de alimentación de los peces fue de 2,5%.

Grupo C:

Alimentado con la Dieta C: Alimento de disponibilidad comercial combinado con AquaVac Ergosan previo a la extrusión de la dieta.

Para obtener 50mg por Kg de pez se mezcló al alimento un 0,2% por peso de AquaVac Ergosan, y se lo alimentó durante 10 días a una tasa diaria de alimentación de 2,5%.

Programa del Ensayo



Programa de Muestreo

Se tomaron de cada grupo 10 peces al azar como muestra dos días antes de iniciarse el ensayo, y al finalizar el período de alimentación. Los peces fueron anestesiados

con MS-222, y se tomaron muestras de los hígados en presencia de hielo seco, para colocarlas de inmediato en nitrógeno líquido y conservarlas a -80°C hasta su análisis.

Parámetros de Medición y Resultados

Se midieron los niveles de expresión de tres genes, asociados con la respuesta inmunológica y al estrés en la trucha, a fin de evaluar el efecto del proceso de extrusión en AquaVac Ergosan.

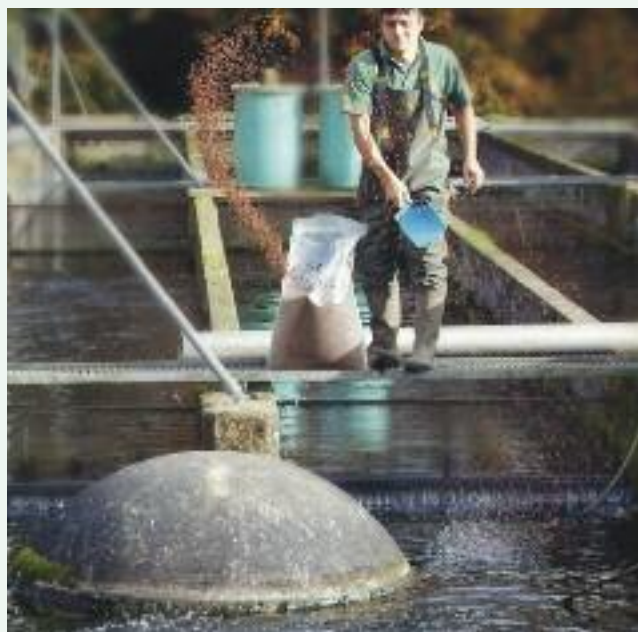
- 1) Proteína de Choque Térmico 70 (HSP70)
- 2) Interleukina 1 (IL-1)
- 3) Factor de Necrosis Tumoral (TNF 2)

Los resultados corresponden a muestras tomadas 2 días antes de alimentar a los peces con AquaVac Ergosan (T0) y al finalizar el período de alimentación de 10 días (T1).

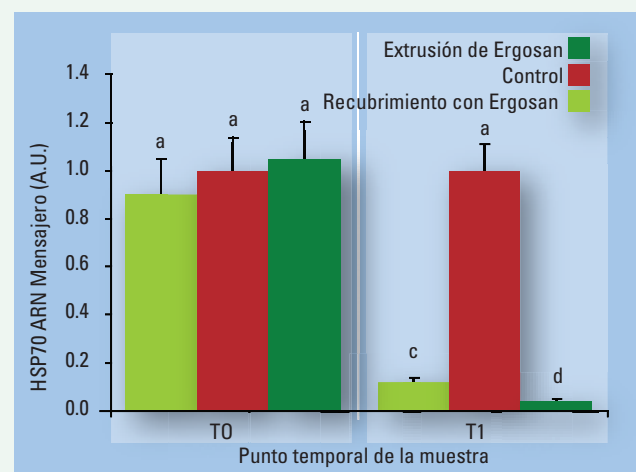
El método de análisis estadístico utilizado fue el "análisis de varianza unidireccional" seguido por el "test de comparación múltiple de Dunnetts" para determinar las diferencias entre los grupos. El nivel de significancia estadística aceptado fue $p < 0,05$. Todos los análisis estadísticos se efectuaron utilizando el software SigmaStat 2.03 (Jandel Scientific Software, Chicago, IL, USA).

1) Proteína de Choque Térmico 70

A nivel celular, el estrés activa la expresión de genes de HSP70. La proteína resultante (HSP70) desempeña un importante papel en una diversidad de procesos fisiológicos, incluyendo las respuestas celulares generales al estrés. Una menor expresión de genes de HSP70 señala que los peces sufren menos estrés (lo cual equivale a un mejor bienestar) y en consecuencia, no expresan tanta HSP70 para hacer frente a los efectos de los daños provocados por el estrés (Feder ME, Hofmann GE 1999, Fink AL. 1999, Tripathi G., Verma P. 2003).



Resultado de la Expresión de Genes de HSP70



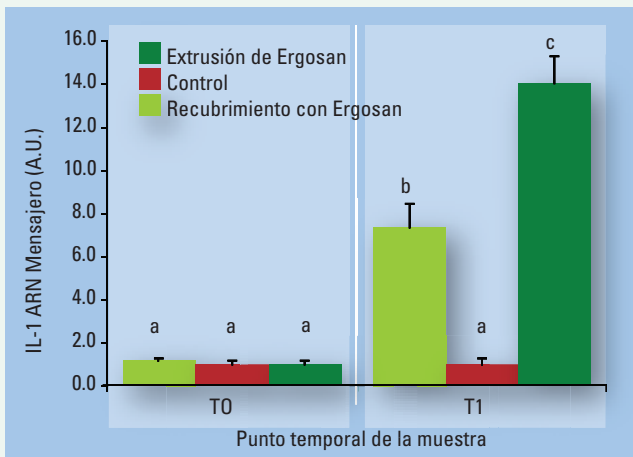
Los niveles iniciales de expresión de HSP70 son estadísticamente iguales en todos los grupos y continúan siéndolo para el grupo de control hasta el final del período de alimentación. Los niveles de expresión en los grupos alimentados con AquaVac Ergosan son significativamente inferiores ($P = 0,0023$ para el grupo con alimento recubierto con AquaVac Ergosan en comparación con el grupo de control, y $P = 0,0001$ para el grupo con alimento extruido con AquaVac Ergosan en comparación con el grupo de control).

La reducción en la expresión de HSP 70 indica que los peces alimentados con AquaVac Ergosan experimentaron menos estrés a causa del medio ambiente y el experimento que los peces de control.

2) Interleukin 1

IL-1 es una de las citoquinas proinflamatorias de respuesta temprana que permiten a los organismos responder a los desafíos infecciosos no propios e inducir una cascada de efectos que provocan inflamación. Muchos de estos efectos están indirectamente mediados a través de un aumento o una reducción en la regulación de otras citoquinas. (Nicola NA. 1994, Pelegrín P et al 2001, Secombes CJ et al 2001, Secombes CJ, et al 1998, Zou J, Cunningham C, Secombes CJ. 1999, Zou J et al 1999).

Resultado de la Expresión de Genes de IL-1



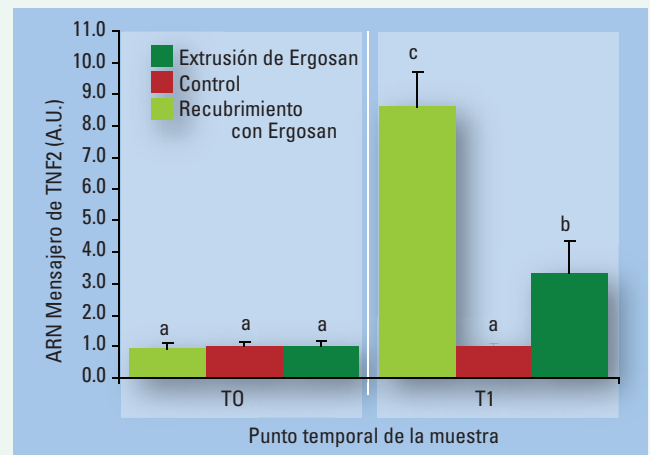
Los niveles iniciales de expresión de IL1 son estadísticamente iguales en todos los grupos, y continúan siéndolo para el grupo de control hasta el final del período de alimentación.

Ambos grupos con AquaVac Ergosan muestran significativos aumentos en la expresión de genes de IL-1 en comparación con el grupo de control. Esto demuestra que AquaVac Ergosan conserva su actividad con el proceso de fabricación por extrusión. (P = 0,009 para el grupo con alimento recubierto con AquaVac Ergosan en comparación con el grupo de control, y P = 0,0068 para el grupo con alimento extruido con AquaVac Ergosan en comparación con el grupo de control).

3) Factor de Necrosis Tumoral

TNF es una proteína transmembránica de tipo II, o glicoproteína y desempeña un papel de crucial importancia en las respuestas inmunes del huésped y los procesos inflamatorios (inmunidad innata). (Gruss HJ.1996, Ware C et al 1998, - Zou J et al 2003, Zou J et al 2002, Laing KJ et al 2001).

Resultados de la Expresión Genética del Factor de Necrosis Tumoral



Los niveles iniciales de expresión de TNF 2 son estadísticamente iguales en todos los grupos, y continúan siéndolo para el grupo de control hasta el final del período de alimentación.

Ambos grupos con AquaVac Ergosan muestran significativos aumentos en la expresión de genes de TNF2 en comparación con el grupo de control, demostrándose así una vez más que AquaVac Ergosan conserva su actividad con el proceso de fabricación por extrusión. (P = 0,02 para el grupo con alimento recubierto con AquaVac Ergosan en comparación con el grupo de control, y P = 0,03 para el grupo con alimento extruido con AquaVac Ergosan en comparación con el grupo de control).



Resumen

Este estudio demuestra con claridad que AquaVac Ergosan conserva su actividad con el proceso de extrusión, y que la dieta extruida mantiene su estabilidad durante un período de 42 días a partir de su fabricación.

Esto incluye:

- Modulación del estrés a través una menor expresión de HSP 70
- Mejor respuesta inmunológica demostrada por el aumento en la actividad de las citoquinas

Conclusión

- AquaVac Ergosan es adecuado para incorporar a la fórmula del alimento previamente a su extrusión.
- Sobre la base de los resultados de este estudio, el alimento recubierto con AquaVac* Ergosan* es eficaz cuando se lo utiliza dentro de un período de 28 días a partir del proceso de recubrimiento.
- Sobre la base de los resultados de este estudio, el alimento extruido con AquaVac Ergosan es eficaz cuando se lo utiliza dentro de un período de 42 días a partir de su fabricación.



Referencias

- Carnevali O, Smith P, Gioacchini G. 'The effects of AquaVac® Ergosan® on the innate immunosystem and on the stress tolerance of trout'. 2006 University of Ancona, Italy. Aquaculture Europe 2006, Florence.
- Carnevali O, Smith P, Gioacchini G. 2006 'Effects of AquaVac® Ergosan® on early immune response of Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles. In press.
- Bagni M, Romano N, Finoia M. G., Abelli L., Scapigliati G., Tiscar P.G., Sarti M., Marino G., Short and Long term effects of a dietary yeast beta glucan (Macrogard) and alginic acid (AquaVac® Ergosan®) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish and Shellfish Immunology* 18 (2005) 311 - 325.
- Feder ME, Hofmann GE. Heat shock proteins, molecular chaperones, and the stress response: evolutionary and ecological physiology. *Anu Rev Physiol* 1999;61: 243-82.
- Fink AL. Chaperone-mediated protein folding. *Physiol Rev* 1999;79: 425-49.
- Gruss HJ. Molecular, structural, and biological characteristics of the tumor necrosis factor ligand superfamily. *Int J Clin Lab Res* 1996;26:143-59.
- Laing KJ, Wang T, Zou J, Holland J, Hong S, Bols NC, Hirono I, Aoki T, Secombes CJ. Cloning and expression analysis of rainbowtrout *Oncorhynchus mykiss* tumor necrosis factor- . *Eur. J Biochem* 2001;268:1315-22.
- Nicola NA. Guidebook to cytokines and their receptors. Oxford: Sambrook & Tooze Publications. 1994.
- S. Peddie, J Zou & C.J. Secombes Immunostimulation in the Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Following Intraperitoneal Administration of Ergosan® 2001
- Pelegrín P, García-Castillo J, Mulero V, Meseguer J. Interleukin-1 isolated from a marine fish reveals up-regulated expression in macrophages following activation with lipopolysaccharide and lymphokines. *Cytokine* 2001;16:67-72.
- Secombes CJ, Wang T, Hong S, Peddie S Crampe M, Laing KJ, Cunningham C , Zou J. Cytokines and innate immunity of fish. *Dev Comp Immunol* 2001; 25:713-23.
- Secombes CJ, Zou J, Daniels G, Cunningham C, Koussounadis A and Kemp G. Rainbow trout cytokine and cytokine receptor genes. *Immunol rev* 1998;166:333-40.
- Tripathi G., Verma P. Pathway-specific response to cortisol in the metabolism of catfish. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 2003;136, 463-471.
- Ware C, Santte S, Glass A. Tumor necrosis factor- related ligands and receptors. *The Cytokine Handbook* 1998:549-92.
- Zou J, Cunningham C, Secombes CJ. The rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* interleukin-1 gene has a different organization to mammals and undergoes incomplete splicing. *Eur J Biochem* 1999 A ;259:901-8.
- Zou J, Grabowski PS, Cunningham C, Secombes CJ. Molecular cloning of interleukin-1 from rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* reveals no evidence of an ICE cut site. *Cytokine* 1999 B ;11:552-60.
- Zou J, Peddie S, Scapigliati G, Zhang Y, Bols NC, Ellis AE, et al Functional characterisation of the recombinant tumor necrosis factor in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Dev Comp Immunol* 2003;27:813-22.
- Zou J, Wang T, Hirono I, Aoki T, Inagawa H, Honda T, Soma G-I, Ototake M, Nakanishi T, Ellis AE, Secombes CJ. Differential expression of two tumour necrosis factor genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* *Dev Comp Immunol* 2002;26:161- 172.

Regreso a la Naturaleza

Alimento Complementario para Peces a Base de Algas



AquaVac® y Ergosan® son propiedad de Intervet Internacional B.V. o empresas afiliadas o licencias y estan protegidas por derechos de autor, marcas registradas y otras leyes de propiedad intelectual.

Copyright © 2009 Intervet International B.V. Todos los derechos reservados.

Intervet/Schering-Plough Animal Health
Roseland, NJ 07068
EE.UU.

Tel + 1 862 245 3394
Fax + 1 862 245 3017

Intervet/Schering-Plough Animal Health
Aquaculture Centre, 24-26 Gold Street
Saffron Walden, Essex CB10 1EJ Reino Unido
Tel + 44 (0) 1799 528167
Fax + 44 (0) 1799 525546

Intervet/Schering-Plough Animal Health
PO Box 31 Boxmeer,
5830 AA Países Bajos

e-mail: spaquaculture@spcorp.com
<http://www.spaquaculture.com>
<http://aqua.intervet.com>