



INFORME FINAL

“EVALUACIÓN DE LA EFICACIA *in vitro* DE SC 1000 FRENTE A *Tenacibaculum dicentrarchi*, *Vibrio anguillarum* y *Vibrio sp.*”

EQUIPO DE TRABAJO

Área I + D

Álvaro Sandoval, Jefe de Área I+D - Méd. Vet. Mg. Cs. Vet.
Náyade Silva, Jefe de Proyectos - Biól., Mg. en Medio Ambiente

Área Laboratorio

Maritza Grandon, Encargada Unidad de Bacteriología - Ing. Biotec.

Agosto de 2017

1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la eficacia *in vitro* de SC 1000 frente a *Tenacibaculum dicentrarchi*, *Vibrio anguillarum* y *Vibrio sp.*

2. METODOLOGÍA

Antecedentes

Para la evaluación del producto SC 1000 se realizó un ensayo *in vitro* con *Tenacibaculum dicentrarchi*, *Vibrio anguillarum* y *Vibrio sp.* En Chile, tanto en la salmonicultura como en cultivos experimentales de corvina, *Tenacibaculum dicentrarchi* es un agente bacteriano causante de manifestaciones patológicas que afectan a las branquias, piel y aletas. Por otro lado, las bacterias pertenecientes al género *Vibrio* son habitantes naturales de los ambientes marinos, produciendo cuadros en diversas especies acuáticas de cultivo, denominados genéricamente como Vibriosis. Si bien la mayor parte de los Vibrios se les considera patógenos oportunistas, *Vibrio anguillarum* (*Listonella anguillarum*) se ha descrito como patógeno primario de importancia, dado que se han reportado mortalidades masivas asociadas a este agente en especies tan diversas como ostiones, salmón del Atlántico y salmón del Pacífico, donde produce cuadros septicémicos con lesiones hemorrágicas y exudativas características en la piel de los peces.

Principio del Método *in vitro*

Ensayo actividad antibacteriana

Para realizar los desafíos antibacterianos se utilizó el método British Standards Institution (BSI), basado en el protocolo BS EN 1656:2009, prueba de evaluación de la actividad bactericida de desinfectantes químicos usados en el ámbito veterinario.

Principio del método

Una muestra del producto se diluyó en agua obteniéndose ocho concentraciones., Posteriormente se añadió una suspensión bacteriana en solución, manteniéndose la mezcla a 15°C durante 5, 15 y 30 minutos. Al final del tiempo de contacto, se tomó una alícuota y se neutralizó la actividad del producto mediante dilución. Finalmente se determinó el número de bacterias vivas en cada muestra y se calculó la reducción del título inicial.

Como control del ensayo se utilizó una suspensión bacteriana estándar de cada patógeno, ajustada a 0,5 Mc Farland con medio de cultivo en caldo; sin la adición de producto.

Expresión de los resultados

La reducción ($R = N_c/N_d$) es expresada en logaritmo, donde:

N_c : Título Bacteriano solución control.

N_d : Título Bacteriano solución desafiada.

Como criterio de eficacia del producto se considera una reducción de ≥ 5 logaritmos.

3. RESULTADOS

En las Tablas 1 al 3, se muestran los resultados de eficacia bactericida *in vitro* de SC1000 frente a *Tenacibaculum dicentrarchi*, *Vibrio anguillarum* y *Vibrio sp.* El producto presentó eficacia frente a *Tenacibaculum dicentrarchi* desde 1000 ppm en 30 minutos de contacto (Tabla 1). Sin embargo, la eficacia para *Vibrio anguillarum* se presentó a partir de una concentración mayor de producto 5000 ppm, en los mismos tiempos de exposición (Tabla 2). A diferencia de los resultados anteriores, para *Vibrio sp.*, el producto fue efectivo desde las 1000 ppm en 15 y 30 minutos de contacto (Tabla 3).

Tabla 1. Eficacia de SC1000 frente a *Tenacibaculum dicentrarchi* según concentración y tiempo.

CONCENTRACIÓN (ppm)	CONCENTRACIÓN (%)	TIEMPO (min)		
		1	5	30
25	0,0025	No eficaz	No eficaz	No eficaz
50	0,005	No eficaz	No eficaz	No eficaz
100	0,01	No eficaz	No eficaz	No eficaz
250	0,025	No eficaz	No eficaz	No eficaz
500	0,05	No eficaz	No eficaz	No eficaz
1.000	0,1	No eficaz	No eficaz	Eficaz
5.000	0,5	No eficaz	Eficaz	Eficaz
10.000	1	Eficaz	Eficaz	Eficaz
Control Negativo		N	N	N
Control Positivo		P	P	P

No eficaz: Células viables, crecimiento de *T. dicentrarchi*, positivo.

Eficaz: Células no viables, crecimiento de *T. dicentrarchi*, negativo.

Tabla 2. Eficacia de SC1000 frente a *Vibrio anguillarum* según concentración y tiempo.

CONCENTRACIÓN (ppm)	CONCENTRACIÓN (%)	TIEMPO (min)		
		1	5	30
25	0,0025	No eficaz	No eficaz	No eficaz
50	0,005	No eficaz	No eficaz	No eficaz
100	0,01	No eficaz	No eficaz	No eficaz
250	0,025	No eficaz	No eficaz	No eficaz
500	0,05	No eficaz	No eficaz	No eficaz
1.000	0,1	No eficaz	No eficaz	No eficaz
5.000	0,5	No eficaz	No eficaz	Eficaz
10.000	1	Eficaz	Eficaz	Eficaz
Control Negativo		N	N	N
Control Positivo		P	P	P

No eficaz: Células viables, crecimiento de *V. anguillarum*, positivo.

Eficaz: Células no viables, crecimiento de *V. anguillarum*, negativo.

Tabla 3. Eficacia de SC1000 frente a *Vibrio spp.* según concentración y tiempo.

CONCENTRACIÓN (ppm)	CONCENTRACIÓN (%)	TIEMPO (min)		
		1	5	30
25	0,0025	No eficaz	No eficaz	No eficaz
50	0,005	No eficaz	No eficaz	No eficaz
100	0,01	No eficaz	No eficaz	No eficaz
250	0,025	No eficaz	No eficaz	No eficaz
500	0,05	No eficaz	No eficaz	No eficaz
1.000	0,1	No eficaz	Eficaz	Eficaz
5.000	0,5	Eficaz	Eficaz	Eficaz
10.000	1	Eficaz	Eficaz	Eficaz
Control Negativo		N	N	N
Control Positivo		P	P	P

No eficaz: Células viables, crecimiento de *Vibrio spp.*, positivo.

Eficaz: Células no viables, crecimiento de *Vibrio spp.*, negativo.

4. CONCLUSIONES

- El producto SC1000 presentó eficacia bactericida *in vitro* frente a *Tenacibaculum dicentrarchi* en un rango de concentraciones de 1000 a 10.000 ppm en 30 minutos de contacto. Consecuentemente, se recomienda el uso del producto frente al agente en las dosis y tiempo mencionados.
- SC1000 presentó eficacia bactericida *in vitro* frente a *Vibrio anguillarum* en un rango superior de concentraciones de 5000 a 10.000 ppm en 30 minutos de exposición. Por lo tanto, se recomienda el uso del producto frente al agente en las dosis y tiempo indicados.
- El producto demostró eficacia frente a *Vibrio sp.* en el rango de concentraciones de 1000 a 10.000 ppm desde los 15 minutos de exposición. En consecuencia, se sugiere utilizar SC1000 en las concentraciones y tiempos mencionados.