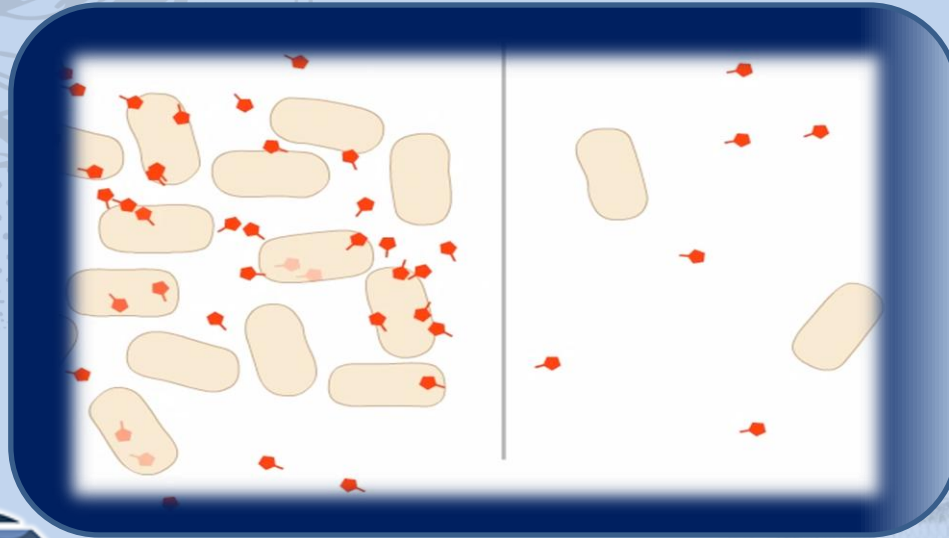
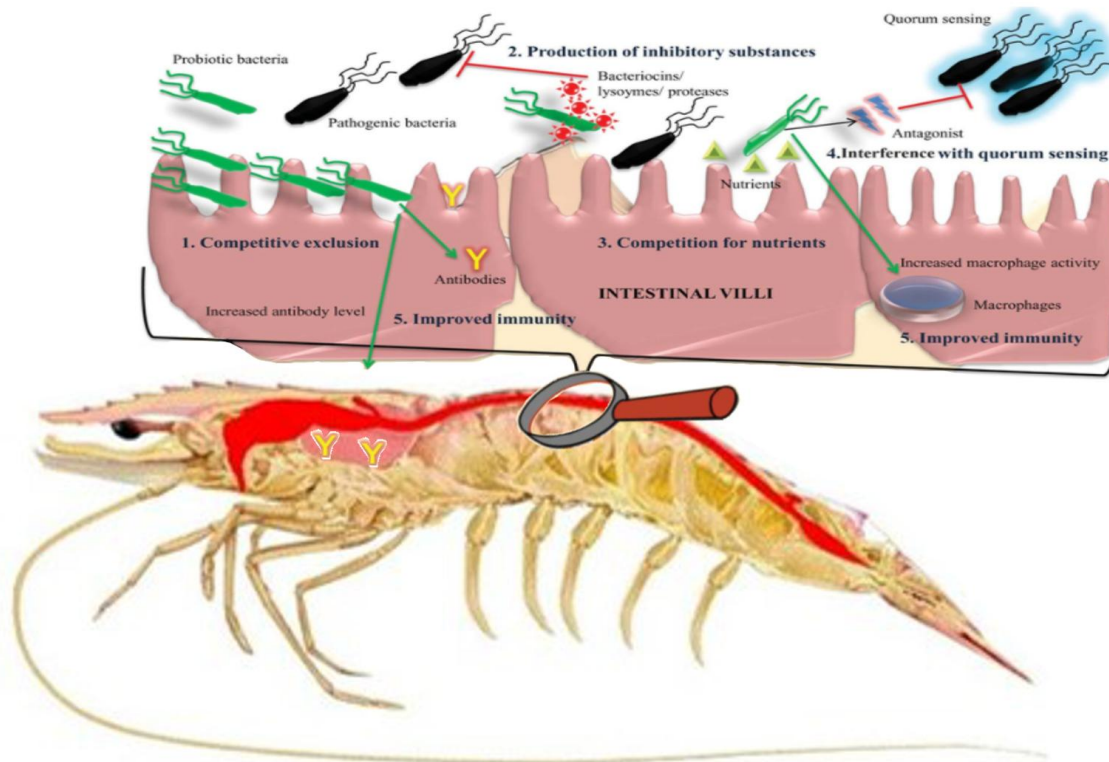


Patología Bacteriana en el Cultivo de Camarón y el Papel de los Probióticos en la Inhibición del *Quorum Sensing* Bacteriano



1- Introducción





2. Procesos Controlados por *QS*

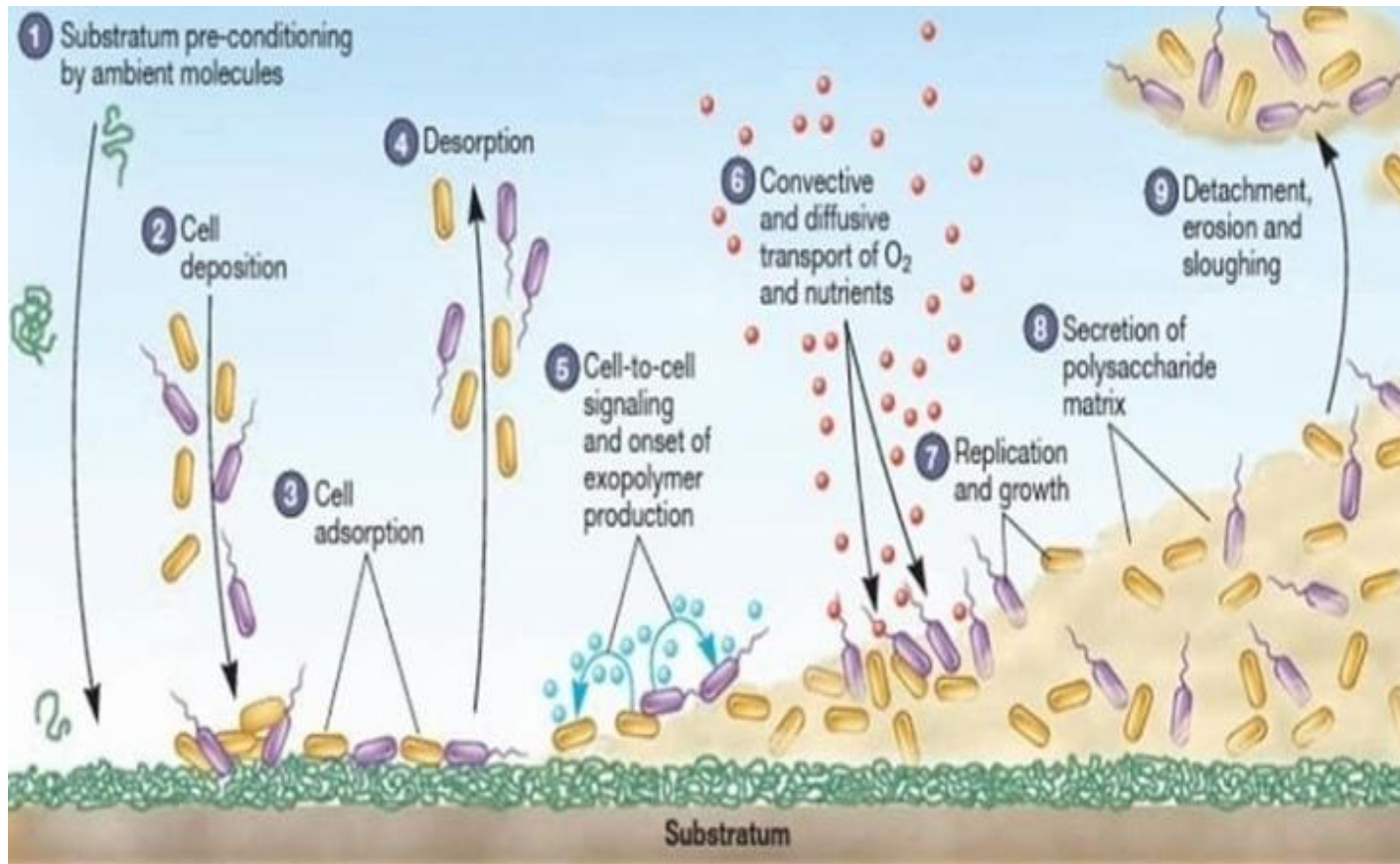
2.1. Formación de Biopelículas.

2.2. Bioluminescencia.

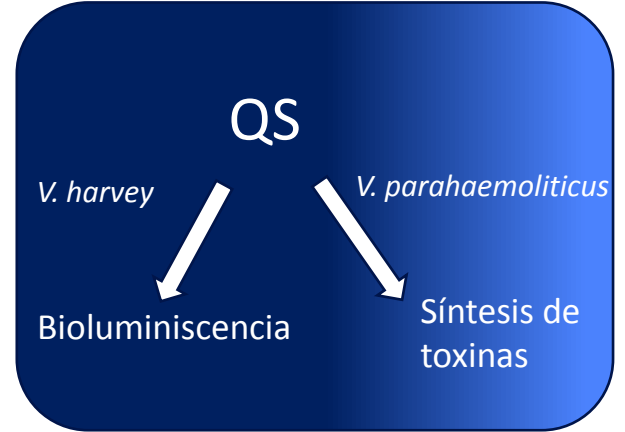
2.3. Virulencia.

2.4. Competencia.

2.1. Formación de biopelículas

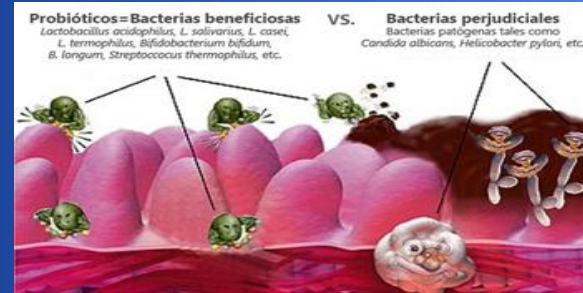


2.2. Bioluminiscencia



2.3. Virulencia

Grado de patogenicidad de un serotipo, de una cepa o de una colonia microbiana en un huésped susceptible. Sabemos que no todos los *V. parahaemolyticus* son virulentos y que aquellos portadores de los genes PirAB lo son, como también los relacionados con el gen Hemolisina Termolabil.



VpPirAB

VpPirB

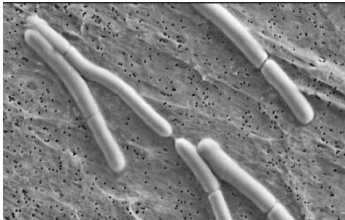
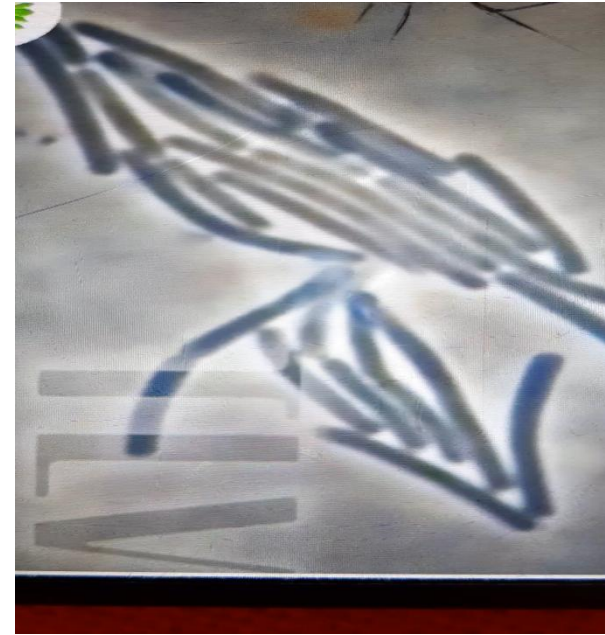
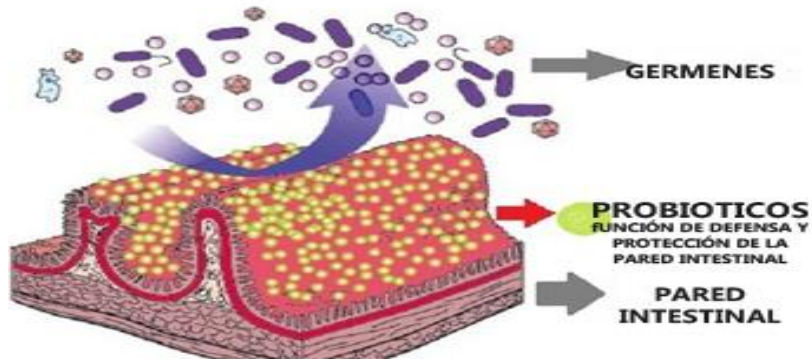
VpPirA

Pir: “*Photorhabdus* insect-related toxin-like genes”. Bacterias que se transmiten entre larvas de una amplia variedad de especies de insectos como hospedador final. Estas larvas finalmente mueren tras ser atacadas por las toxinas bacterianas. Control biológico.

VpHTL



2.4. Competencia



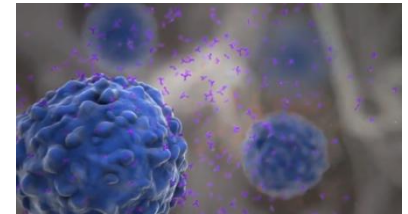
1- Inicio de colonización de sustrato o epitelio.



2- Inhibición competitiva en epitelio.

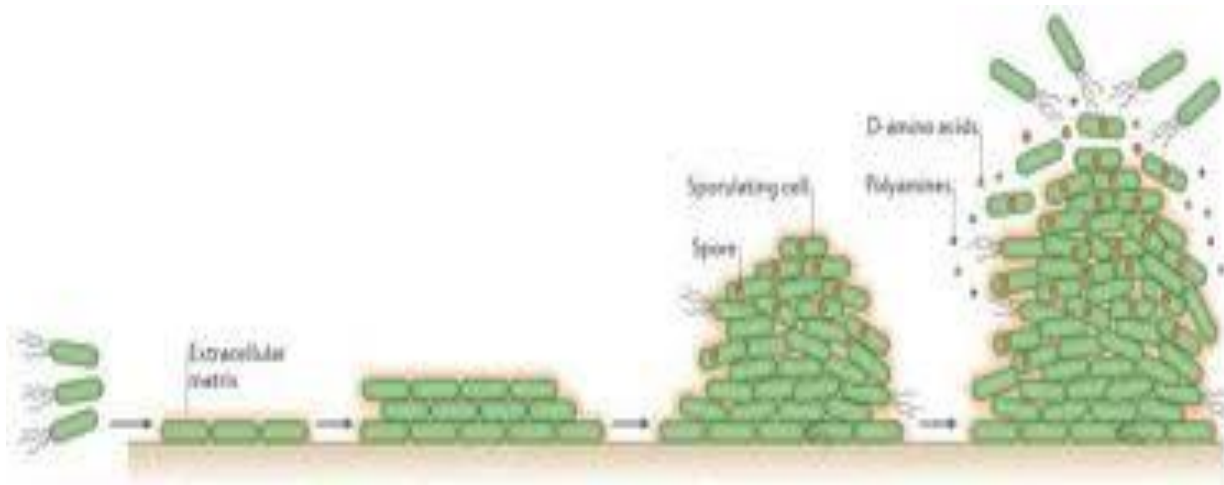


3- Reconocimiento de PAMPs y DAMPs.

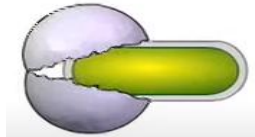


4- Producción de AMP.

3. Esporulación



http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442009000500005



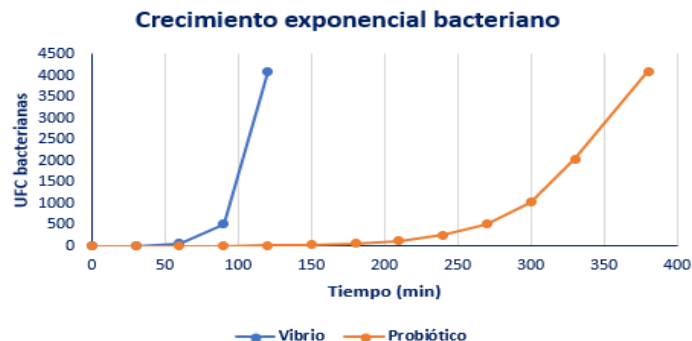
1. Formación de spora

2. Activación

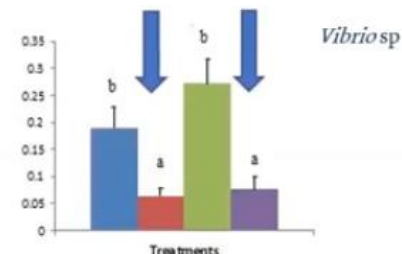
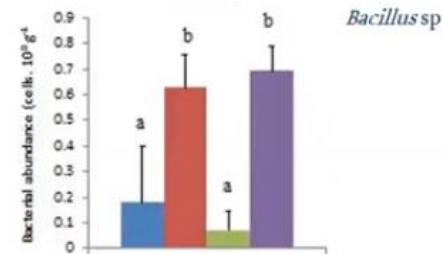
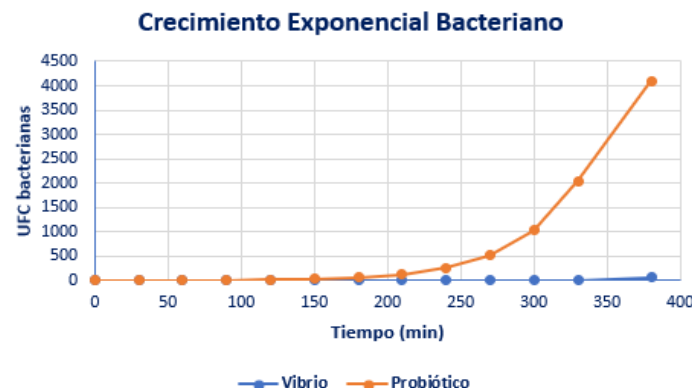
3. Reproducción

4. Crecimiento exponencial bacteriano

		Población Bacteriana	
	Tiempo (min)	Vibrio	Probiótico
	0	1	1
	30	8	2
1h	60	64	4
	90	512	8
2h	120	4096	16
	150		32
3h	180		64
	210		128
4h	240		256
	270		512
5h	300		1024
	330		2048
6h	380		4096



		Población Bacteriana	
	Tiempo (min)	Vibrio	Probiótico
	0	0	1
	30	0	2
1h	60	0	4
	90	0	8
2h	120	0	16
	150	0	32
3h	180	0	64
	210	0	128
4h	240	0	256
	270	0	512
5h	300	1	1024
	330	8	2048
6h	380	64	4096



Hostins et al., 2015.

Concentración:

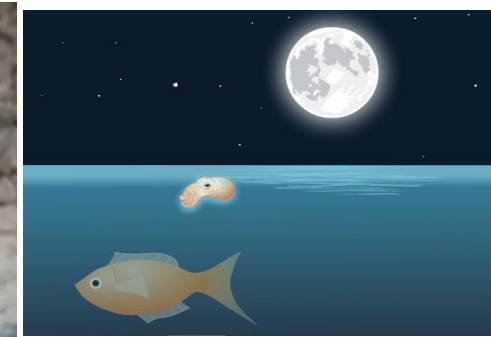
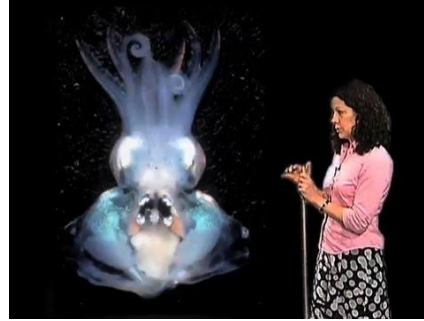
Se recomienda 2 log por arriba de la carga de vibrios.

Vibrios $\leq 1.0E+03$ ufc/ml o gr de agua y larva.

5. Moléculas de detección de QS

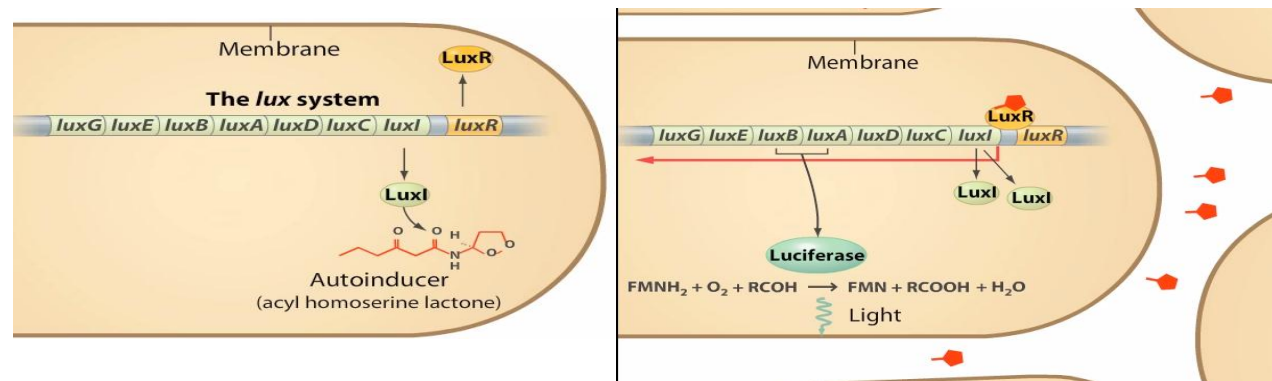
El mecanismo QS fue descrito por Nealson et al, 1970 en bacterias *Vibrio fischeri*, luego renombradas *Aliivibrio fischeri*.

La Dra. Bonnie Bassler describe este mecanismo en bacterias que colonizan de forma simbiótica una especie de Calamar bentónico. Estas bacterias *A. fischeri* liberan moléculas auto Inductoras que se acumulan en el micro medio externo durante la fase de mayor crecimiento bacteriano.

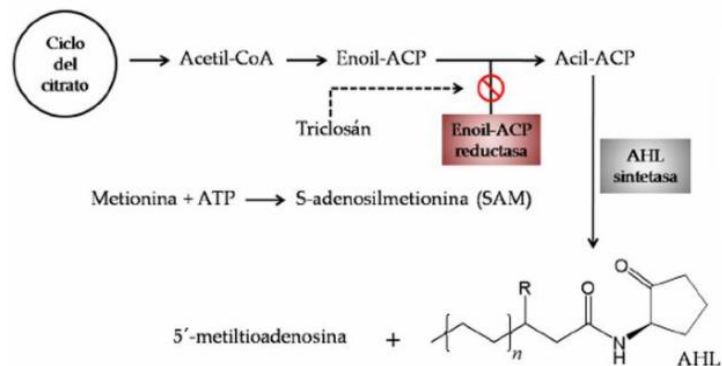


5.1. Acil Homoserina Lactona (AHL)

Acil homoserina lactona (**AHL**) y derivados, se conocen como **auto inductores** en bacterias Sacarosa Negativo como *Vibrio spp.* patógenos para el camarón.



Síntesis de Acil homoserina lactona (**AHL**) a partir de Acetil-CoA y S-adenosilmetionina (SAM), catalizada por la enzima AHL sintetasa.



[illegible]

5.3. Gen *ldh* (termolábil hemolisina)

V. parahaemolyticus (*Vp*-JS20200428004-2)

resultó ser el agente patógeno para “**Translucent Post-Larva Disease**” (TPD) en postlarvas de camarón. El gen *ldh* es un gen diagnóstico para el vibrio responsable de esta patología.

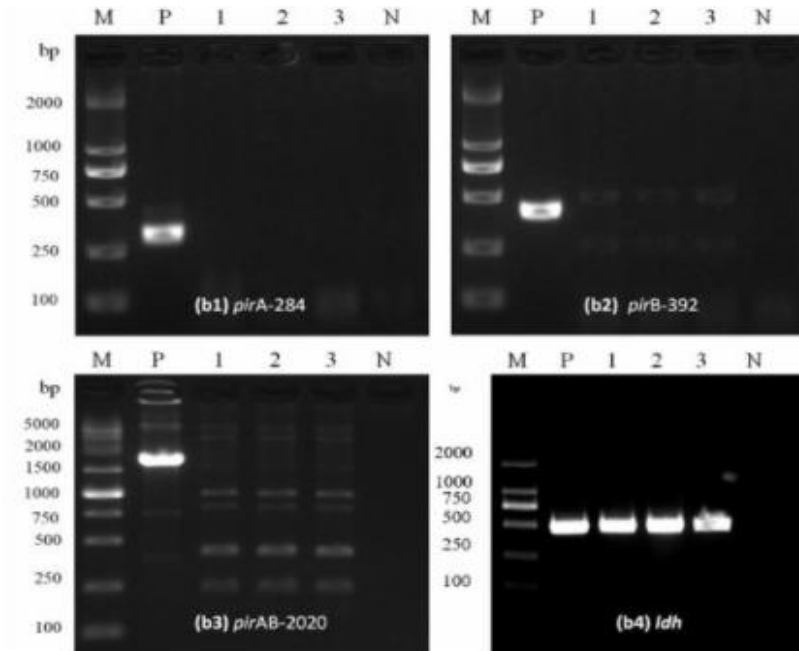


Figure 3. Bacterial identification and analysis of virulence genes. (a) The color of *Vp*-JS20200428004-2 cultured on trypticase soy (TSA) and Thiosulfate Citrate bile salts sucrose (TCBS) agar. (b) Electrophoretogram of molecular detection of toxin gene *pirA* (b1), *pirB* (b2), *pirAB*2020^{VP} (b3), and *ldh* (b4) of collected strain in this study: p: positive control; N: negative control; 1-3: JS20200428004-2. M: Molecular marker.

6. Inhibición de la detección de *QS* o *QQ*

Quorum-quenching (QQ) o inhibición del QS es un mecanismo que no mata a las bacterias patógenas, pero evita que éstas se organicen para iniciar su ataque a la célula hospedera y propagar la enfermedad mediada por la producción de auto inductores.

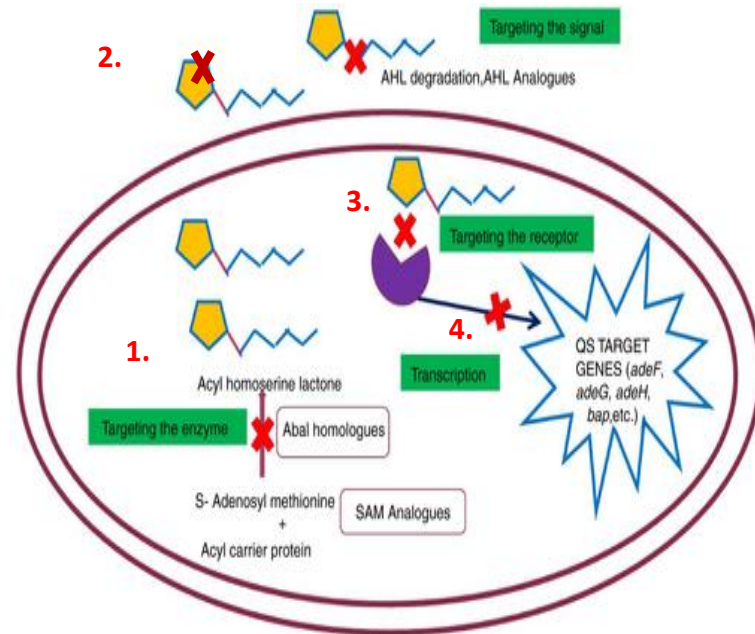
Entre estos mecanismos de inhibición están:

- 1- Inhibición de síntesis de AHL (**Auto Inductor**)
- 2- Hidrólisis del AHL (actividad lactonasas y acilasas).
- 3- Interferencia del AHL con su receptor—Inhibe la transcripción.

orgánico

- 4- Inhibición de la activación de genes involucrados.

(**nivel celular**) – ácido



7. Suplementos probióticos



Concentración: 1,0E+09

UFC/g

Aplicación:

4 a 6 ppm en agua

5 ppm en alimento.



Concentración: 4,0E+09

UFC/g

Aplicación:

2 a 4 ppm en agua

5 ppm en alimento.



Concentración:

5,0E+09 UFC/g

Aplicación:

1 a 3 ppm en agua

5 ppm en alimento.

8. UFC en productos probióticos

	Epizym HOD				
	Epizym PST				
	Epicin 3W	Epicin Ponds	Epicin Normal	Epicin G2	Epicin Pills
Apli/Conc.	1,00E+09	2,00E+09	3,00E+09	4,00E+09	5,00E+09
1 ppm	1,00E+03	2,00E+03	3,00E+03	4,00E+03	5,00E+03
2 ppm	2,00E+03	4,00E+03	6,00E+03	8,00E+03	1,00E+04
3 ppm	3,00E+03	6,00E+03	9,00E+03	1,20E+04	1,50E+04
4 ppm	4,00E+03	8,00E+03	1,20E+04	1,60E+04	2,00E+04
5 ppm	5,00E+03	1,00E+04	1,50E+04	2,00E+04	2,50E+04
6 ppm	6,00E+03	1,20E+04	1,80E+04	2,40E+04	3,00E+04
7 ppm	7,00E+03	1,40E+04	2,10E+04	2,80E+04	3,50E+04
8 ppm	8,00E+03	1,60E+04	2,40E+04	3,20E+04	4,00E+04
9 ppm	9,00E+03	1,80E+04	2,70E+04	3,60E+04	4,50E+04
10 ppm	1,00E+04	2,00E+04	3,00E+04	4,00E+04	5,00E+04
20 ppm	2,00E+04	4,00E+04	6,00E+04	8,00E+04	1,00E+05

	Cantidad	Volumen (L)	ppm	gr	Volumen preparación	
Funda Artemia	10	1	20 ppm	0,25	1	Agregar 100 ml por funda
Funda Nauplio	100	15	20 ppm	30	10	Agregar 100 ml por funda
Transporte PL	10	1000	20 ppm	200	10	Agregar 1000 ml (1L) por funda

8.1. Promedio de UFC de *Vibrio spp.* en agua (ml) y sedimento (g) en piscinas de reproductores *L. vannamei* en el sur del Lago de Maracaibo

Entrada		Centro		Salida	
Agua	Sedimento	Agua	Sedimento	Agua	Sedimento
10^2	10^5	10^2	10^6	10^2	10^7

https://www.redalyc.org/pdf/959/Resumenes/Resumen_95941173003_1.pdf

Bacteriological and histopathological analysis of *Penaeus vannamei* experimentally infected with *Vibrio parahaemolyticus*-AHPND strains

K. G. Aguilar-Rendón¹, R. Lozano-Olvera¹, B. Yáñez-Rivera², S. A. Soto-Rodriguez^{1,*}

¹CIAD, AC Mazatlan Unit for Aquaculture and Environmental Management, Av. Sabalo-Cerritos, 82112 Mazatlan, Mexico

²CONACYT- CIAD, AC Mazatlan Unit for Aquaculture and Environmental Management, Av. Sabalo-Cerritos, 82112 Mazatlan, Mexico

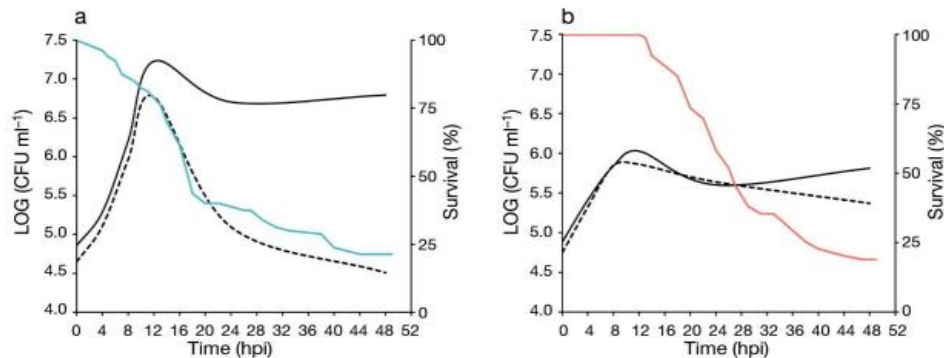


Fig. 2. Bacterial growth (black lines) and shrimp survival (colored lines) over time following experimental infection with *Vp* AHPND+ strains (a) M0904 at 1.23×10^5 CFU ml⁻¹ and (b) M0607 at 1.73×10^5 CFU ml⁻¹. Black continuous lines: bacterial growth on the bottom of the experimental units; dotted lines: bacterial growth in the water column

8.2. Mecanismos QQ mediante la aplicación de probióticos

Bacillus subtilis
Bacillus licheniformis
Bacillus coagulans

Antibióticos polipeptídicos,
bacterisinas,
lipopéptidos, antifúngicos y
antivirales.

lactonasas

N-hexanoil-L-homoserina

Lactobacillus
acidophilus

Glicoproteínas adherentes

Biopelículas

Ácido láctico.

Ácido acético

Peróxido de hidrógeno.

Saccharomyces cerevisiae

Betaglucanos

Instagram / siense.mm



En los cultivos se producen desechos orgánicos a través de las heces, algas y alimento no consumidos, generando tóxicos que pueden estresar las larvas cultivadas.

Los consorcios probióticos más enzimas añadidas a estos productos comerciales se desarrollan como biorremediadores para controlar, además de bacterias patógenas, contaminantes orgánicos como amonio, nitritos y compuestos sulfurosos que se generan en los cultivos. Además, estos consorcios bacterianos participan activamente en el proceso digestivo de los alimentos consumidos por los camarones.



9. Ensayo en tanques de producción Perú

1era inoculación de probiótico CA2:

Tanque de eclosión y baldes de nauplius



Inoculaciones siguientes:

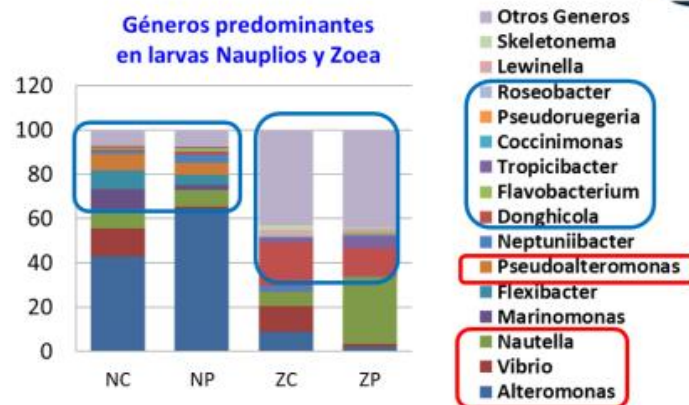
- Zoea 3 a Mysis 1
- Mysis 3 a Pl1
- Dos días antes de la cosecha



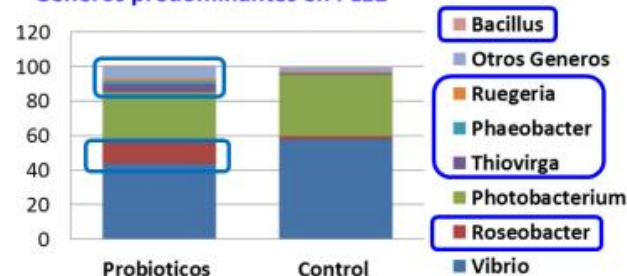
Tanque	Población Inicial	Población Final	Supervivencia
Probióticos	4200000	336000	80%
Control	4200000	252000	60%

Thiovirga sp. = chemolithoautotrophic sulfur-oxidizing bacterium in biofilm

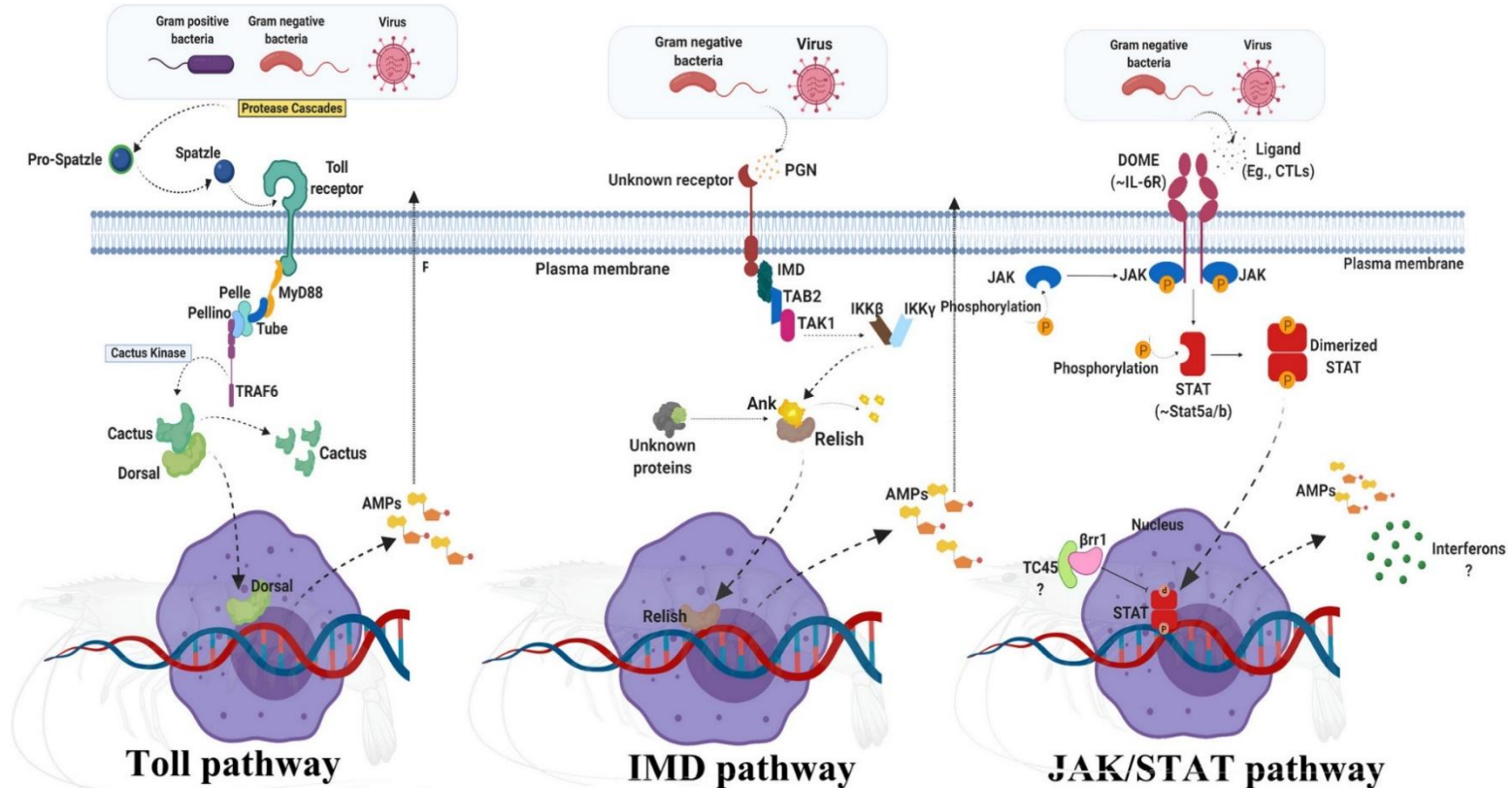
Géneros predominantes en larvas Nauplios y Zoea



Géneros predominantes en PL12

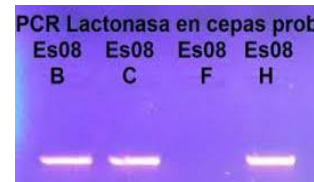


10. Vías metabólicas del sistema inmune innato en organismos acuáticos



10. Conclusiones

1. Los probióticos como inhibidores del *QS* constituyen una excelente estrategia antimicrobiana profiláctica y terapéutica, en menor grado, diferente al uso y aplicación de antibióticos.
2. Las moléculas inhibidoras del *QS*, producidas por bacterias probióticas, no inducen resistencias en bacterias patógenas como lo hacen los antibióticos.
3. La estrategia de suplementar los alimentos balanceados con probióticos son una excelente alternativa profiláctica contra cepas bacterianas patógenas, además de participar activamente en la digestión de los alimentos y neutralización de metabolitos en el agua de cultivo.
4. Dada la repercusión clínica de infecciones recurrentes en el cultivo de camarones se continúa investigando e identificando bacterias probióticas con amplia gama de funciones antibacterianas, nutritivas y digestivas para ponerlas a la disposición del acuicultor.



Motte Emmerik, Quimi J., Lopez J., Intriago J., Macias P., Bermudez ME, Jerusik R, Benzoni G, Weissman D, Jegou F, Cedeño V, Mialhe E.



EL FUTURO DE LA ACUICULTURA ESTA EN LA BIOTECNOLOGÍA

The Science of Survival

Obrigado



Raúl Ramírez

Sales Manager LATAM

Raul.Ramirez@adm.com