



Resistencia Bacteriana en el Cultivo: Aprendizajes para Aumentar la Supervivencia de los Camarones en Ecuador

Acui. Sonnya Mendoza L. Ph.D.





INTRODUCCIÓN

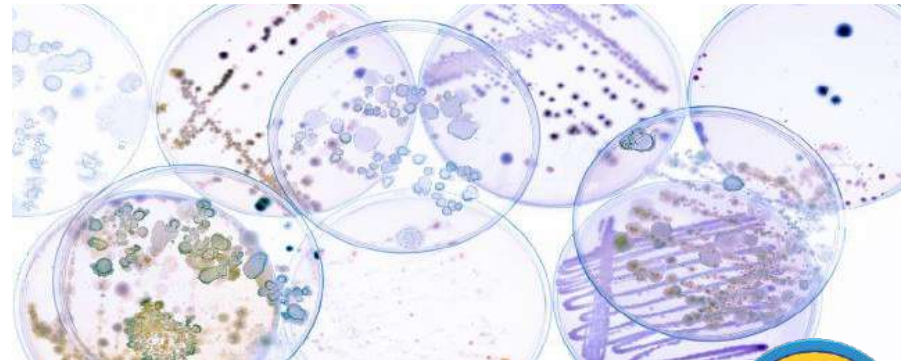
La creciente resistencia bacteriana a productos terapéuticos en la industria camaronera representa un gran desafío, dando lugar a cepas multirresistentes que amenazan la sostenibilidad de la producción

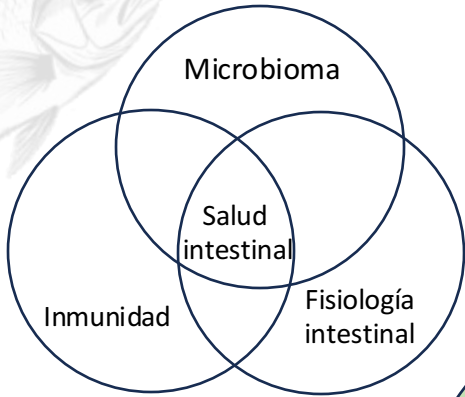


Emplear productos mas amigables en el manejo del control bacteriano para disminuir RAM.

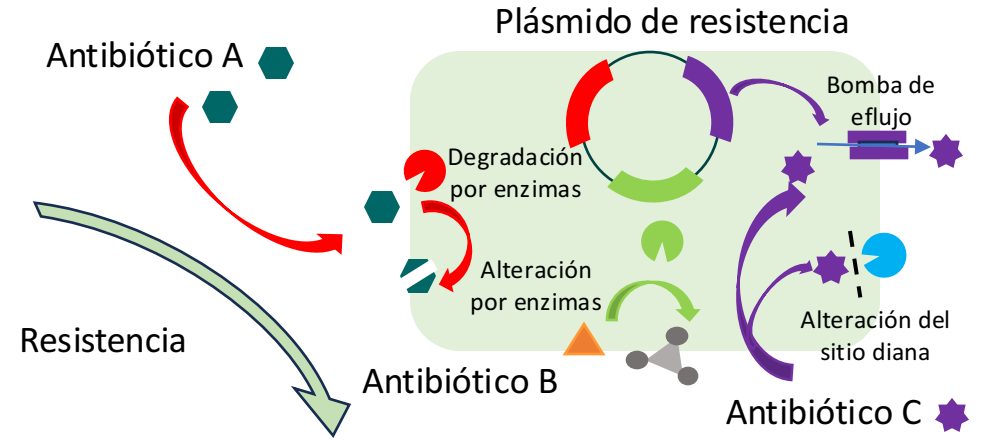


Se vuelve crucial implementar estrictas medidas de bioseguridad, buscando un equilibrio entre el control de enfermedades y la preservación de los sistemas naturales.





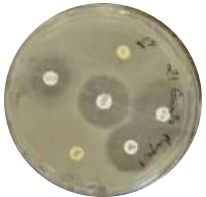
Uso de antibióticos C



USO DE
ANTIMICRO-
BIANOS

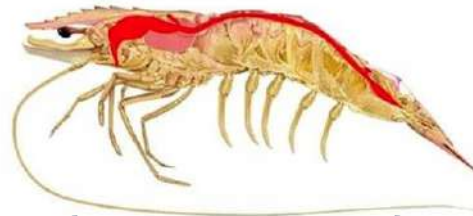


Animales enfermos



Fuentes de RAM

Aguas residuales (Animales/Humanos)



Alimentos



Interacción humana

RESISTENCIA
CRUZADA



PROBLEMÁTICA

APUA

ENF INFEC Y MICROBIOL 1999;19(2):83-96

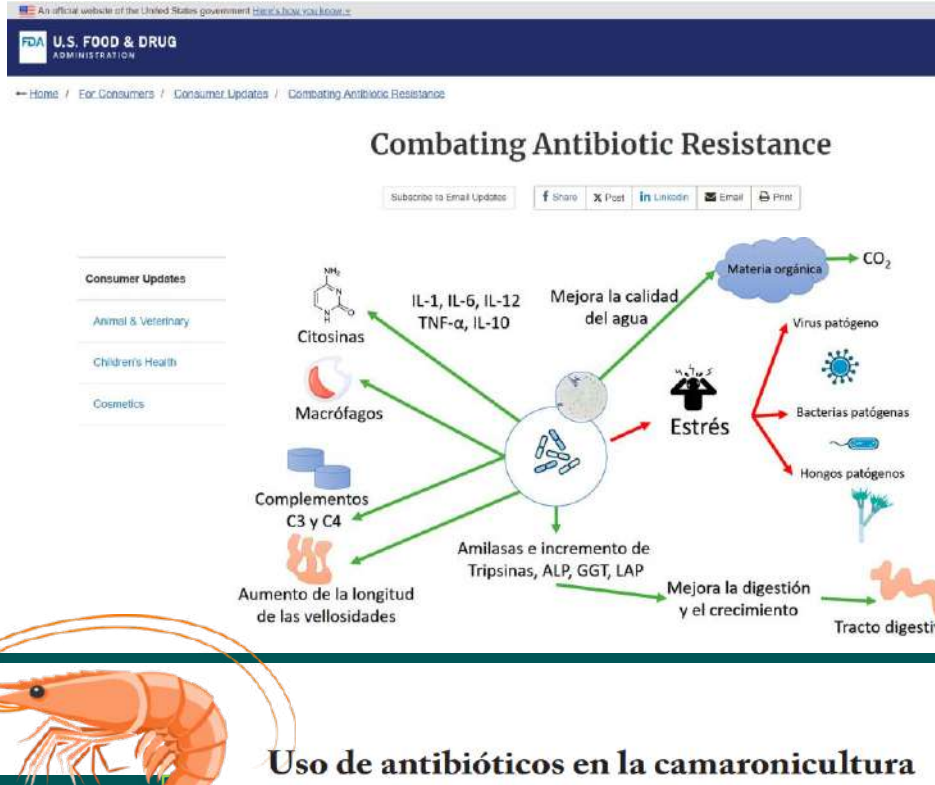
Uso de antibióticos en la producción animal y desarrollo de la resistencia en las infecciones humanas

WOLFGANG WITTE*

Dos factores importantes afectan la emergencia y la diseminación de la resistencia a los antibióticos: los genes transferibles de resistencia y la presión selectiva por el uso de antibióticos. Además de los hospitales, con una concentración de pacientes propensos a infecciones y al uso correspondiente de antibióticos, la producción animal constituye un segundo reservorio de uso intensivo de antibióticos y de resistencia transferible a los mismos. La producción industrial de ganado mantiene a un gran número de animales en espacios comparativamente pequeños y los brotes de infecciones pueden propagarse con facilidad. Por razones técnicas se practica con frecuencia la medicación en serie de todos los animales de un rebaño particular. En Europa los animales son sometidos, además, al estrés de transporte, cuando se embarcan desde las estaciones de cría a las granjas de engorda. La consecuencia es una profilaxis con antibióticos a gran escala.

de acción; la resistencia a uno puede conferir resistencia al otro. Las bases biológicas de los efectos de los promotores de crecimiento están lejos de ser entendidas. De acuerdo con datos provenientes de Suecia, este efecto puede demostrarse principalmente bajo condiciones subóptimas de manejo de los animales.²

Que el uso agropecuario de antibióticos resultará en la transferencia de bacterias resistentes a éstos y de los genes transferibles de resistencia a los humanos ya se discutía hace 30 años, especialmente en relación con los promotores de crecimiento. En 1969 el Comité Swann del Reino Unido concluyó que los antibióticos no deben usarse como promotores de crecimiento si también se utilizan para la quimioterapia en humanos y/o si seleccionan para resistencia cruzada contra antibióticos usados en humanos.³ Los criterios para la legislación en los países de la Comu-



Uso de antibióticos en la camaronicultura

Use of antibiotics in culture shrimp

María Luisa Santiago H.¹, Angélica Espinosa P.¹, María del Carmen Bermúdez A.^{1*}

¹Laboratorio de Análisis Biológicos. Coord. de Ciencia de los Alimentos. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C.

Resumen

El camarón constituye la especie más cultivada en granjas acuícolas de México. La camaronicultura se lleva a cabo principalmente en la zona Noroeste del Pacífico Mexicano, siendo el estado de Sonora el mayor productor. No obstante, los cuidados que se tienen durante el desarrollo de esta especie, la camaronicultura ha visto mermada su producción en diversas ocasiones, debido a la aparición de enfermedades de origen viral y bacteriano. De las enfermedades bacterianas que atacan al camarón, el género *Vibrio* es predominante en las infecciones. Ante esto se ha recurrido al empleo de diversos antibióticos como oxitetraciclina, enrofloxacin y florfenicol para combatir las enfermedades. Desafortunadamente, la capacidad de las bacterias para mutar y reproducirse rápidamente, aunado al mal uso que se hace de los compuestos antibacterianos, han generado el desarrollo de resistencia bacteriana. Siendo este problema, en la actualidad, el mayor reto al cual se deben enfrentar las unidades de producción de camarón.



Antimicrobial Resistance

SPRINGER LINK

Find a journal | Publish with us | Track your research | Search

Home > Antimicrobial Resistance > Chapter

Recent Updates on Bacterial Secondary Metabolites to Overcome Antibiotic Resistance in Gram-Negative Superbugs: Encouragement or Discontinuation?

Chapter | First Online: 03 January 2022

pp 385–418 | Cite this chapter

LECTURER LOGO

COPYRIGHT © (UBACAN). TODOS LOS DERECHOS RESERVADOS.

Licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-NoDerivadas



Incidencia de bacterias patógenas en muestras de camarón fresco extraído en la Laguna de Bluefields

Pathogenic bacteria Incidence in samples of fresh shrimp extracted from Bluefields Lagoon

Helton Roy Zamora Hodgson¹
Enoc Geremias Rivas Suazo²
Billy Francis Ebanks Mongalo³
Eduardo Alexander Siu Estrada⁴

Resumen

Este estudio se basó en un enfoque mixto, se evaluaron la incidencia de bacterias patógenas en el camarón que se extrae de la Laguna de Bluefields y que se consume por la población, lo cual evidencia los posibles riesgos para su salud. Se realizaron capturas directas de camarones en tres puntos de muestreo (Half Way Cay, Banco Rojo y Santa María). Posteriormente se analizaron en el centro de investigaciones acuática de BICU, las bacterias fueron aisladas y purificadas en agar específicos para las bacterias *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, *Clostridium perfringens* y *Enterococcus faecalis*. De las muestras obtenidas la que presentó mayor contaminación fue la de santa María, con presencia de *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* y *Enterococcus faecalis*, en Half Way Cay se presentó *E.coli*, pero estaba dentro de los valores aceptable de alimento que, no causa ningún riesgo para los consumidores, ya que presentaba 49 UFC/g. La muestra de Banco Rojo, presentó *E.coli* en valores aceptables, pero tenía la presencia de *Salmonella* sp, lo que indica que es un riesgo para los consumidores.

APUA

ENF INFEC Y MICRO 2000; 20(6): 217-219

Agentes antimicrobianos en acuicultura: impacto potencial en la salud pública

FREDERICK ANOUL*

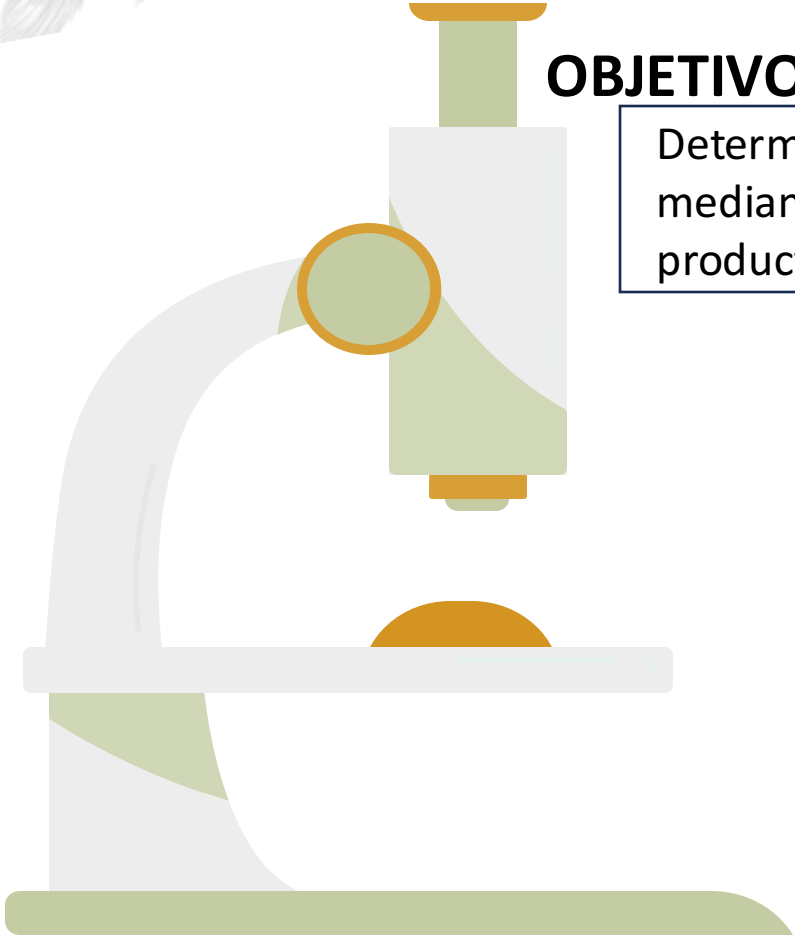
Los agentes antimicrobianos se han usado ampliamente en la acuicultura para tratar infecciones debidas a una variedad de patógenos bacterianos de peces, incluyendo *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Edwardsiella ictala*, *Pasteurella piscicida*, *Vibrio anguillarum* y *Yersinia ruckeri*. A medida que esta industria se expande surgen preguntas en relación con las consecuencias de esta práctica. Debido a que estos fármacos se administran mezclándolos con el alimento que se dispersa en el agua, dosifican directamente el ambiente, lo que resulta en presiones selectivas en el ecosistema expuesto.¹ El surgimiento de resistencia antimicrobiana después del uso de agentes antimicrobianos en acuicultura se ha identificado en bacterias que son patógenos de peces y en las que no lo son.¹ *A. salmonicida* es un ejemplo de un patógeno de

bianos usados en instalaciones específicas dedicadas a la acuicultura de sedimentos que estaban debajo de «nelpens» de mariscos en esas instalaciones.² En otro estudio, se aislaron bacterias resistentes de los contenidos intestinales de especies de peces naturales y comerciales capturados en instalaciones dedicadas a la acuicultura. Por el contrario, no se encontraron bacterias resistentes en los contenidos intestinales de peces de áreas no tratadas.³

TRANSFERENCIA DE RESISTENCIA

Las bacterias resistentes que surgen del uso antibiótico en acuicultura pueden transferir resistencia a otras bacterias. La resistencia en patógenos de peces





OBJETIVO

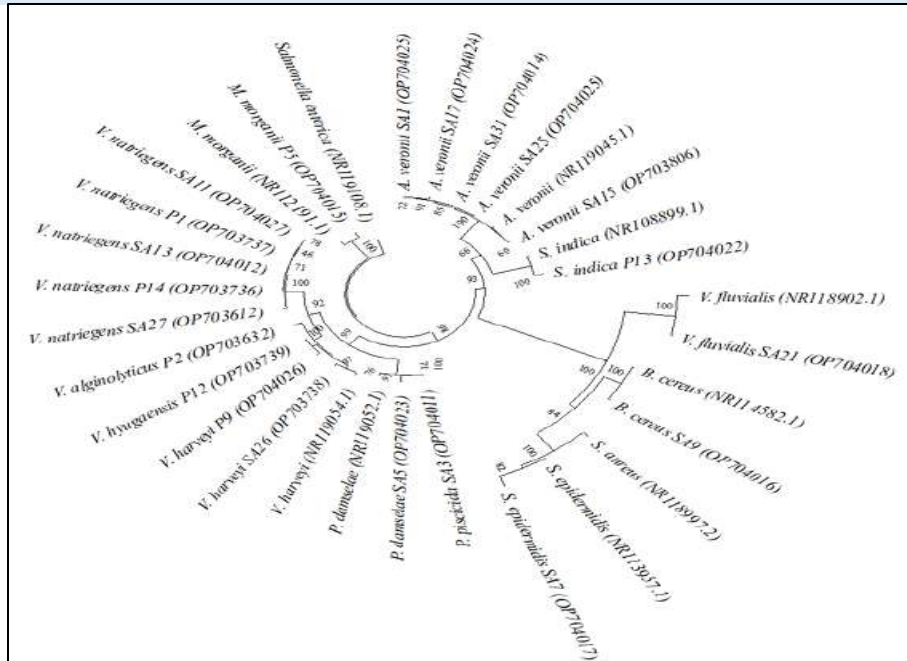
Determinar la sensibilidad de antibióticos de las bacterias aisladas de camarones mediante metodología de Kirby-Baue y la Concentración Mínima Inhibitoria con productos profilácticos.



Introducción

Antecedentes

Aislamiento de bacterias en agar TCBS e identificación molecular de *Sparus aurata* y *Penaeus indicus*.



El uso del agar TCBS, históricamente ha sido selectivo para vibrios, permitió el aislamiento de diferentes morfotipos bacterianos, pero la secuenciación de 16S rRNA reveló la presencia de otras bacterias que no pertenecen al género *Vibrio*, como *Aeromonas* y *Photobacterium*.

Agar	Site of Isolation	Colony Color	Code	Bacteria Name	Accession
TCBS agar	<i>P. indicus</i> abdomen muscles	Yellow	P ₁₂	<i>Vibrio hyugaensis</i>	OP703739.1
	<i>P. indicus</i> abdomen muscles	Green yellow	P ₁₃	<i>Shewanella indica</i>	OP704022.1
	<i>P. indicus</i> abdomen muscles	Yellow	P ₁₄	<i>Vibrio natriegens</i>	OP703736.1
Vibrio ChromoSelect agar	<i>P. indicus</i> abdomen muscles	Blue	P ₁	<i>Vibrio natriegens</i>	OP703737.1
	<i>P. indicus</i> abdomen muscles	Turquoise	P ₂	<i>Vibrio alginolyticus</i>	OP703632.1
	<i>P. indicus</i> abdomen muscles	Colorless	P ₅	<i>Morganella morganii</i>	OP704015.1
	<i>P. indicus</i> abdomen muscles	Purple	P ₉	<i>Vibrio harveyi</i>	OP704026.1
	<i>S. aurata</i> intestines	Yellow	SA ₁	<i>Aeromonas veronii</i>	OP704025.1
TCBS agar	<i>S. aurata</i> intestines	Yellow	SA ₃	<i>Photobacterium. Piscicida</i>	OP704011.1
	<i>S. aurata</i> muscles	Yellow	SA ₁₇	<i>Aeromonas veronii</i>	OP704024.1
	<i>S. aurata</i> muscles	Blue green	SA ₂₁	<i>Vagococcus fluvialis</i>	OP704018.1
	<i>S. aurata</i> gills	Yellow	SA ₂₇	<i>Vibrio natriegens</i>	OP703612.1
	<i>S. aurata</i> intestines	Turquoise	SA ₅	<i>Photobacterium damsela</i>	OP704023.1
Vibrio ChromoSelect agar	<i>S. aurata</i> intestines	Light green with a green center	SA ₇	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	OP704017.1
	<i>S. aurata</i> intestines	Colorless	SA ₉	<i>Bacillus cereus</i>	OP704016.1
	<i>S. aurata</i> gills	Light green with a green center	SA ₁₁	<i>Vibrio natriegens</i>	OP704027.1
	<i>S. aurata</i> gills	Colorless	SA ₁₃	<i>Vibrio natriegens</i>	OP704012.1
	<i>S. aurata</i> gills	Pink	SA ₁₅	<i>Aeromonas veronii</i>	OP703806.1
	<i>S. aurata</i> intestines	Green	SA ₂₅	<i>Aeromonas veronii</i>	OP703806.1
	<i>S. aurata</i> muscles	Blue	SA ₂₆	<i>Vibrio harveyi</i>	OP703737.1
	<i>S. aurata</i> muscles	Colorless	SA ₃₁	<i>Aeromonas veronii</i>	OP703806.1
	<i>S. aurata</i> muscles	Colorless	SA ₃₁	<i>Aeromonas veronii</i>	OP703806.1
	<i>S. aurata</i> muscles	Colorless	SA ₃₁	<i>Aeromonas veronii</i>	OP703806.1

(Abdulhakeem, M et al., 2023)

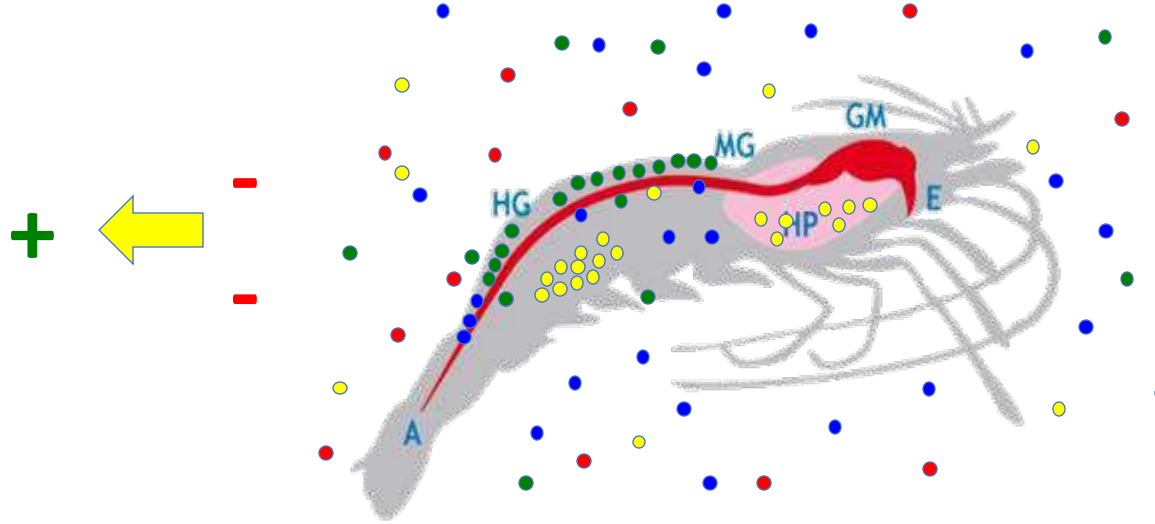


Introducción

Antecedentes

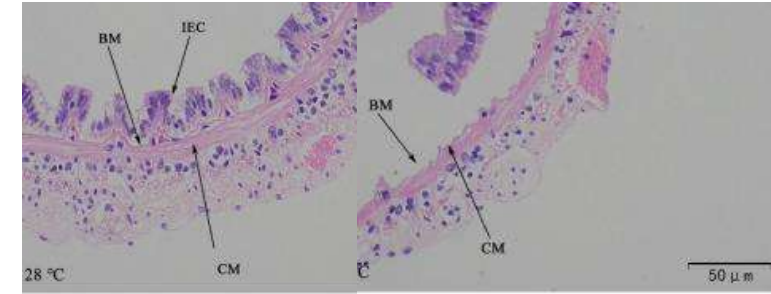
Interacciones Bacterianas

Consortios bacterianos
Bacterias intestinales
Bacterias de la piel
Bacterias tisulares
Bacterias del suelo
Bacterias del agua

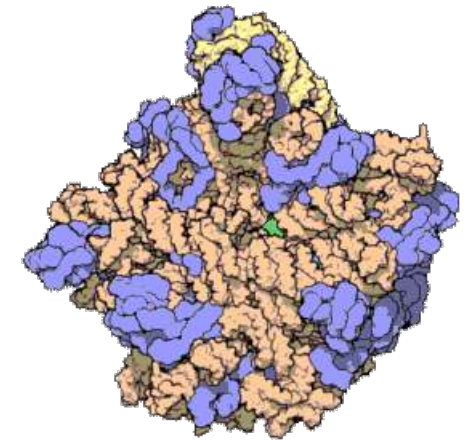


Fuente: CEFAS, Reino Unido.

La secuenciación genética del ARNr 16 S es clave para la salud del camarón, al permitir la identificación de diversas especies bacterianas en el sistema digestivo de los camarones, entre las cuales destacan *Vibrio* y *Pseudo alteromonas*, (Zhou et al., 2018).



Nota. Estructura histológica del hepatopáncreo de *L. vannamei* durante el estrés térmico



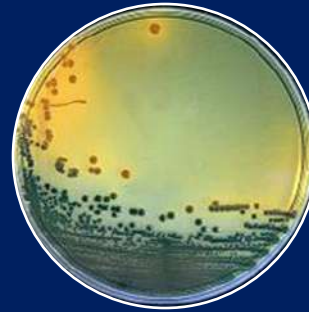
Nota. Polirribonucleótido de aproximadamente 1500 nucleótidos codificado por el gen *rrs*





Objetivo General

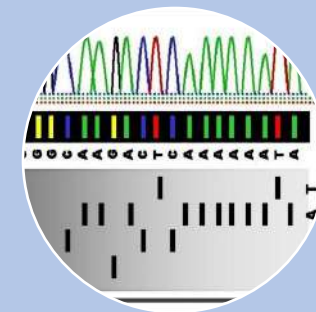
Identificar bacterias patógenas asociadas a zonas productivas en camarón *Litopenaeus vannamei* en las Provincias del Guayas y Santa Elena mediante la secuenciación de la región del gen que codifica el ARN ribosomal 16S.



Bacterias
viables



Identificación
bioquímica

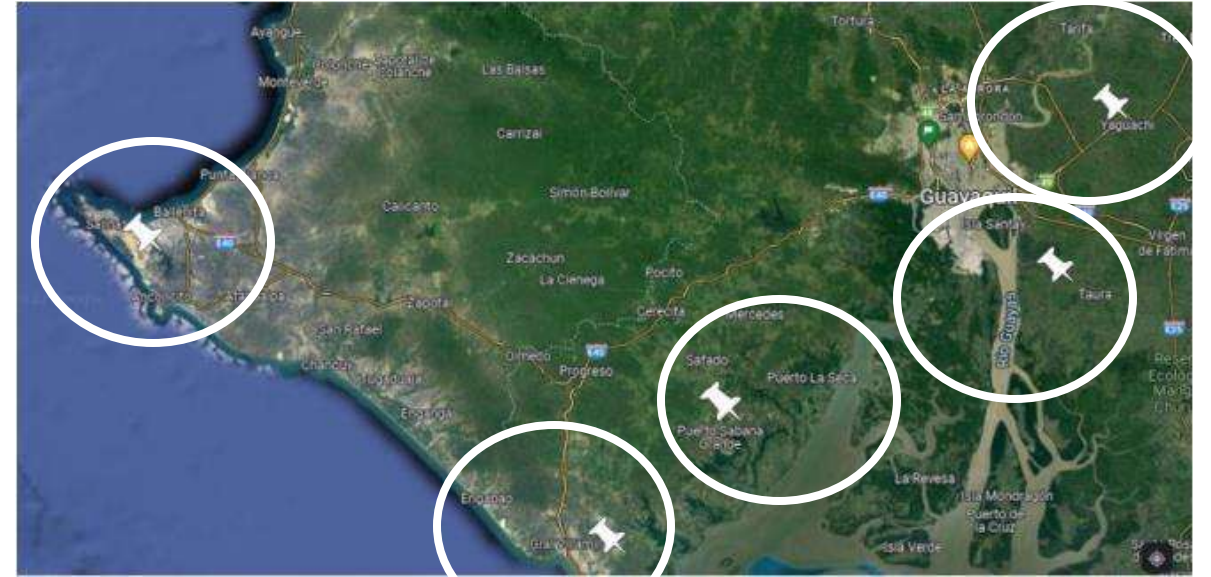


Extracción de
ADN y
Secuenciación
bacteriana



METODOLOGÍA

Área de estudio



UBICACIÓN DE SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE CAMARÓN. Fuente: Google Earth, 2017

Se recolectaron 118 muestras en diferentes zonas productoras de camarón y Ecuador en las coordenadas $2^{\circ}08'41''S$ $79^{\circ}53'12''W$.

- 80 piscinas
- 118 bacterias

Yaguachi ($2^{\circ}11'24''S$
 $79^{\circ}53'15''O$)



Santa Elena ($2^{\circ}13'0''S$
y $81^{\circ}0'0''W$)



El Morro ($2^{\circ}39'0''S$
y $80^{\circ}19'0''W$)



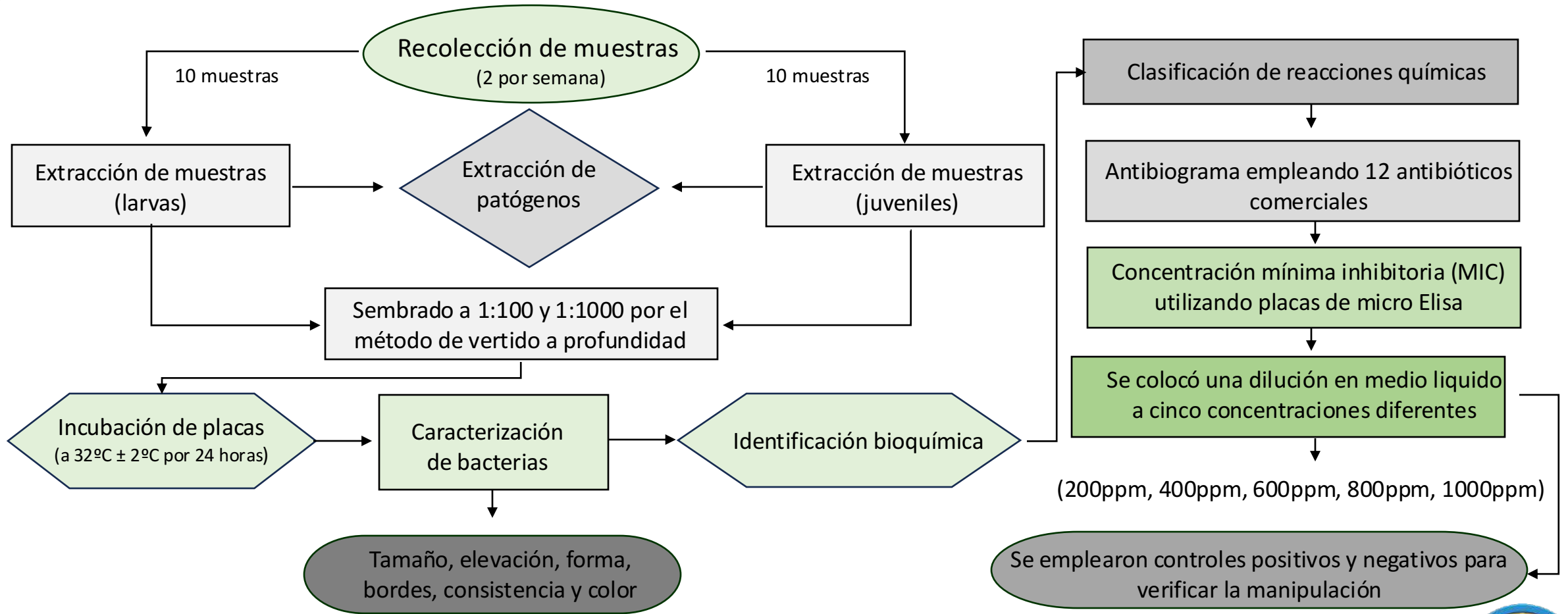
Taura ($-2^{\circ}18'41.04$
- $79^{\circ}43'54.93$)



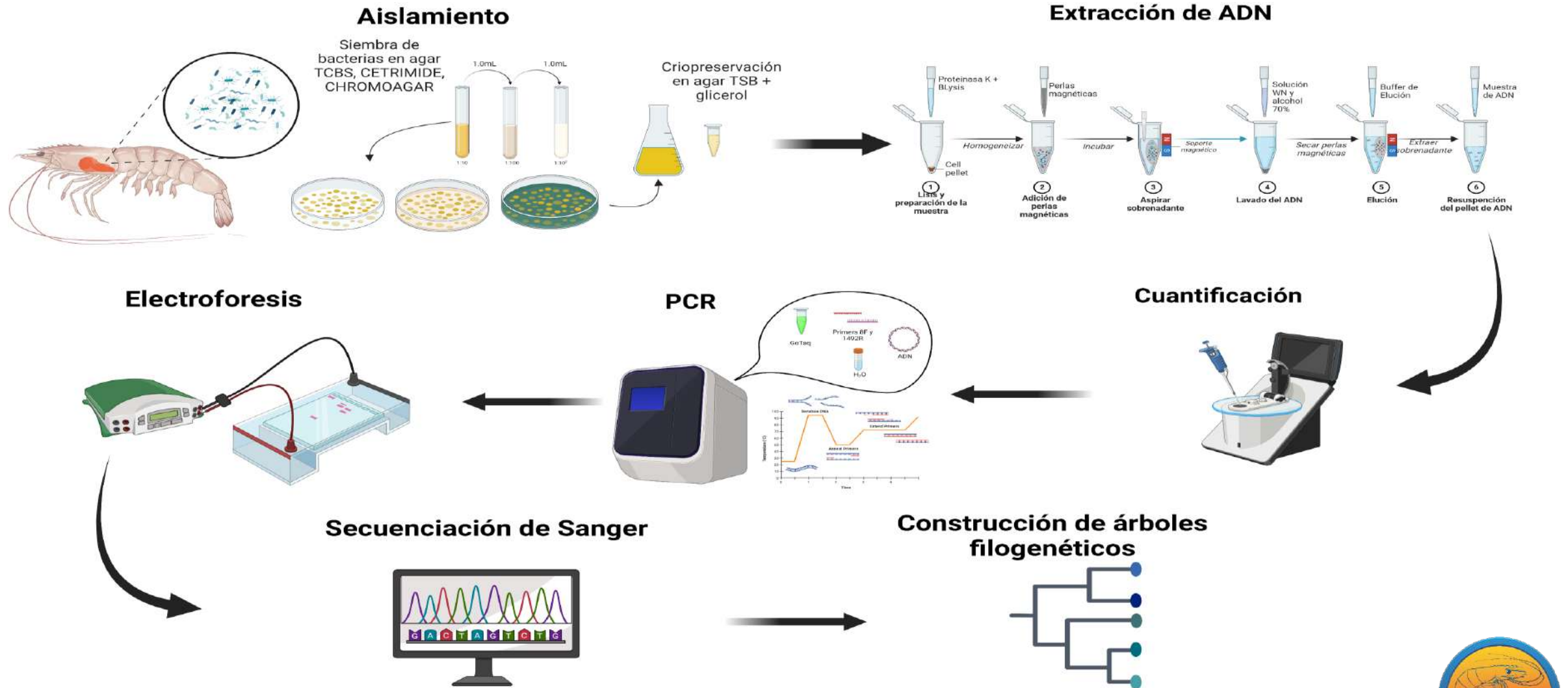
Sabana Grande ($-$
 80.2179869 , $-$
 2.4784419)



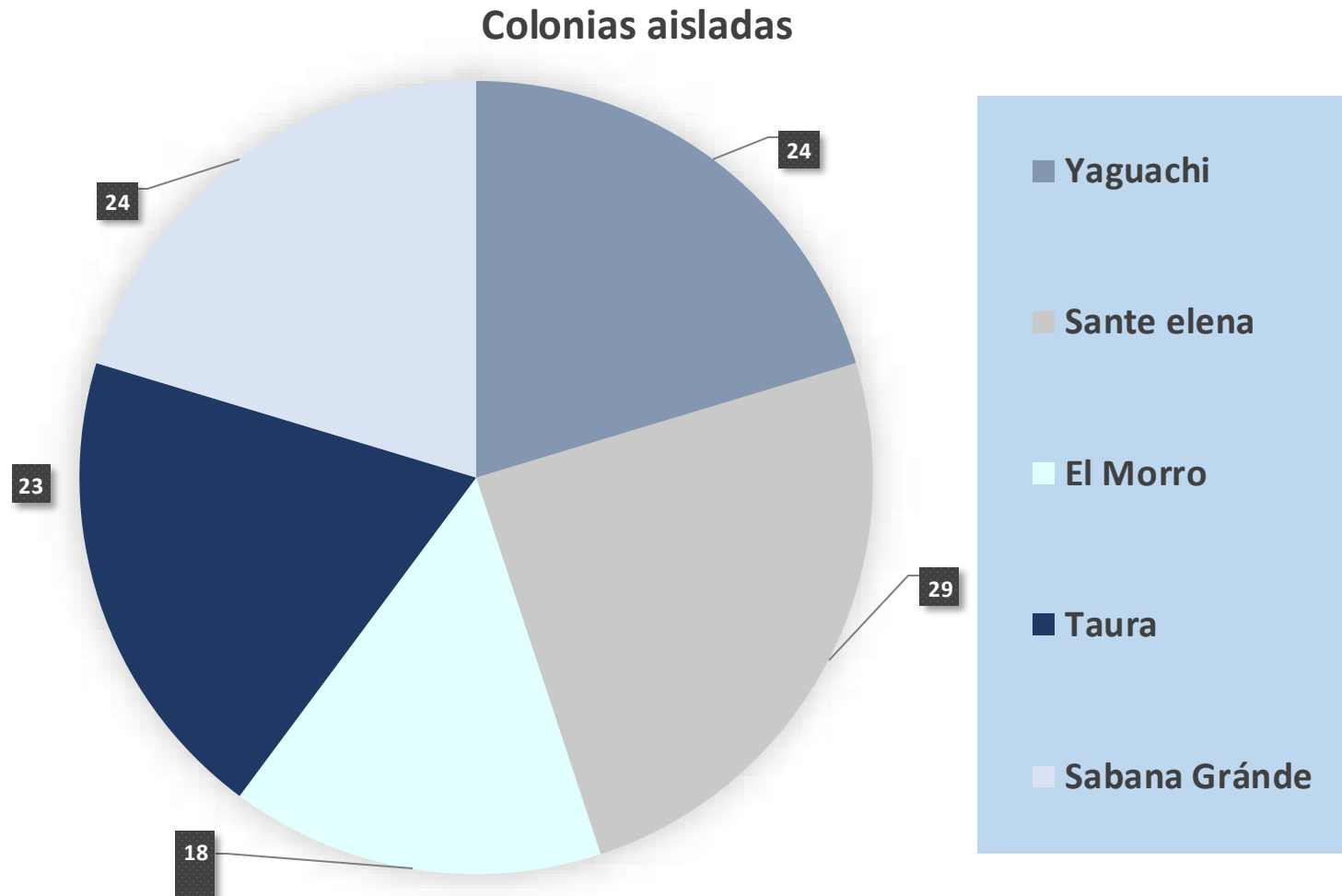
METODOLOGÍA



Metodología

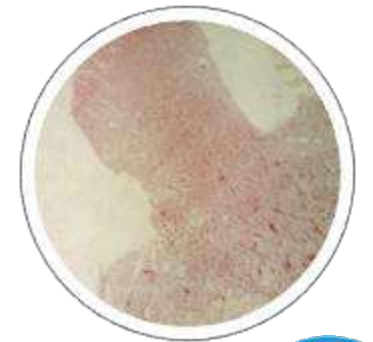
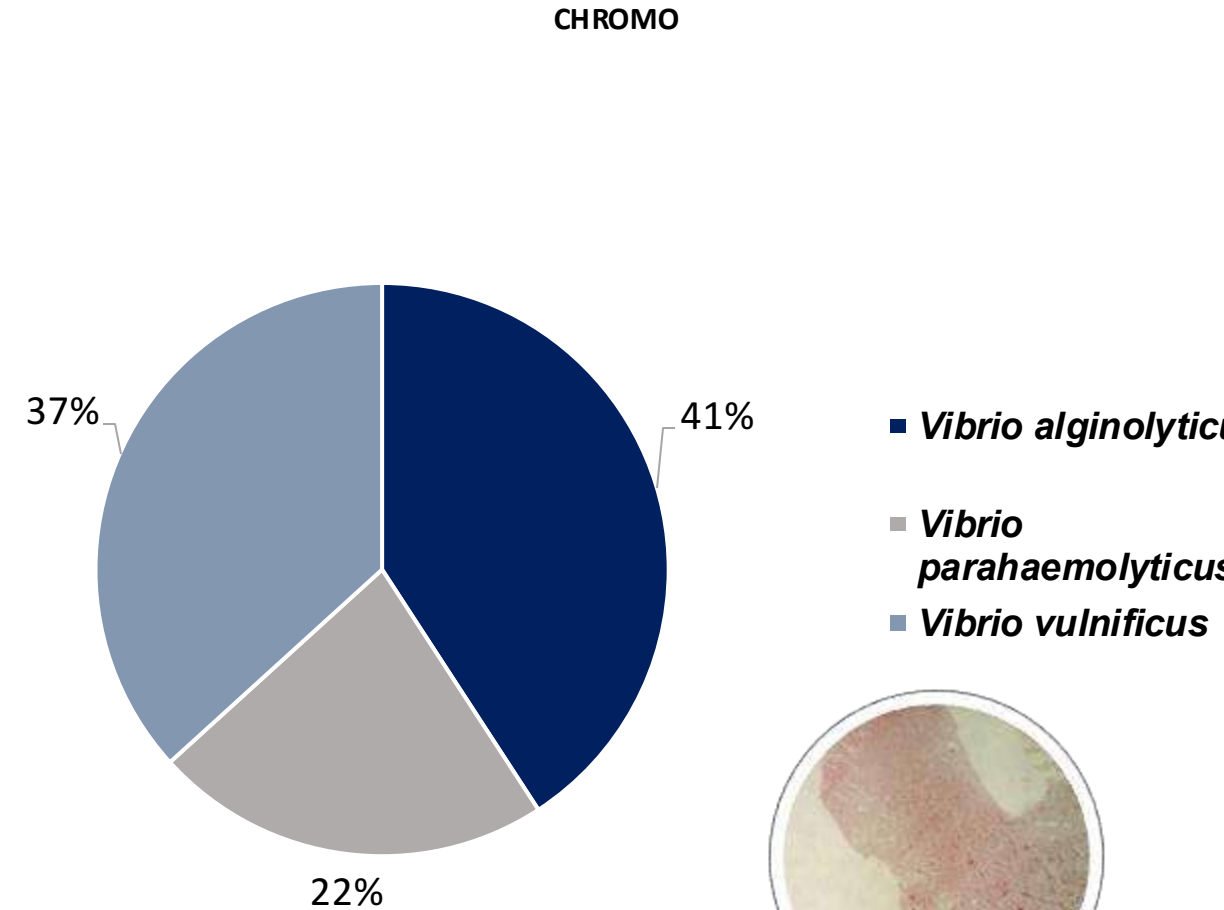
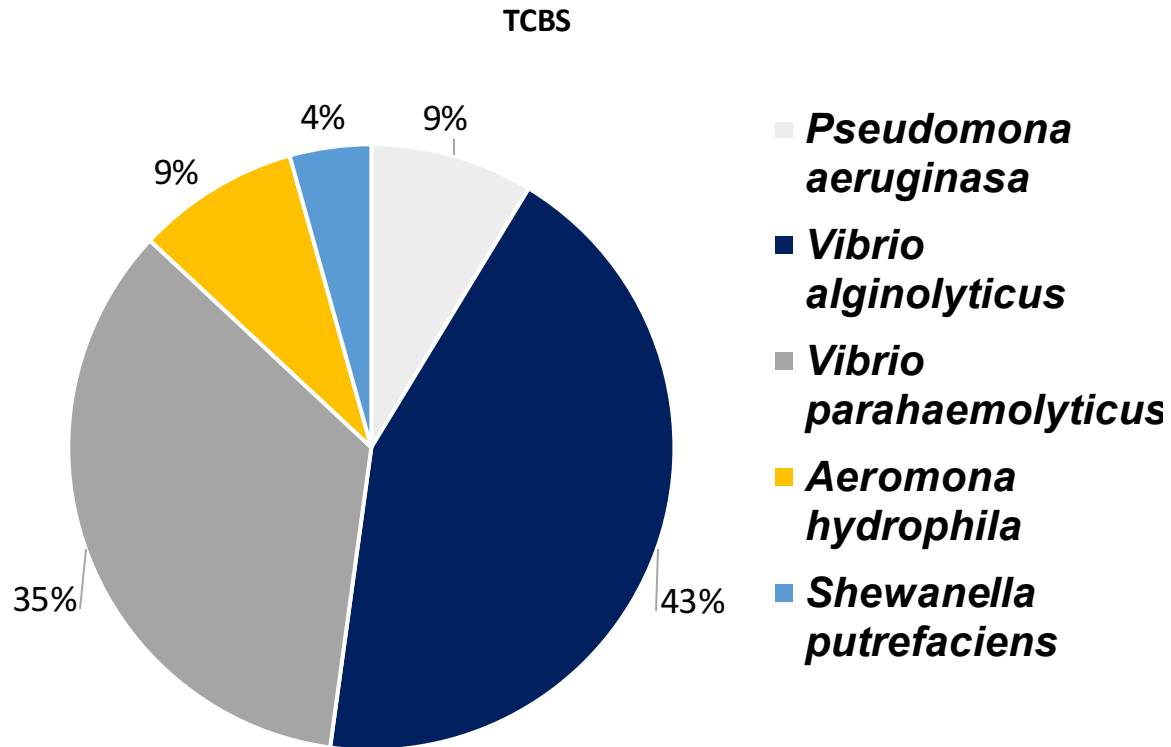


Resultados



- 80 piscinas
- 118 bacterias
- Yaguachi 24 aislados
- Santa Elena 29 aislados
- Morro 18 aislados
- Taura 23 aislados
- Sabana grande 24 aislados

Resultados

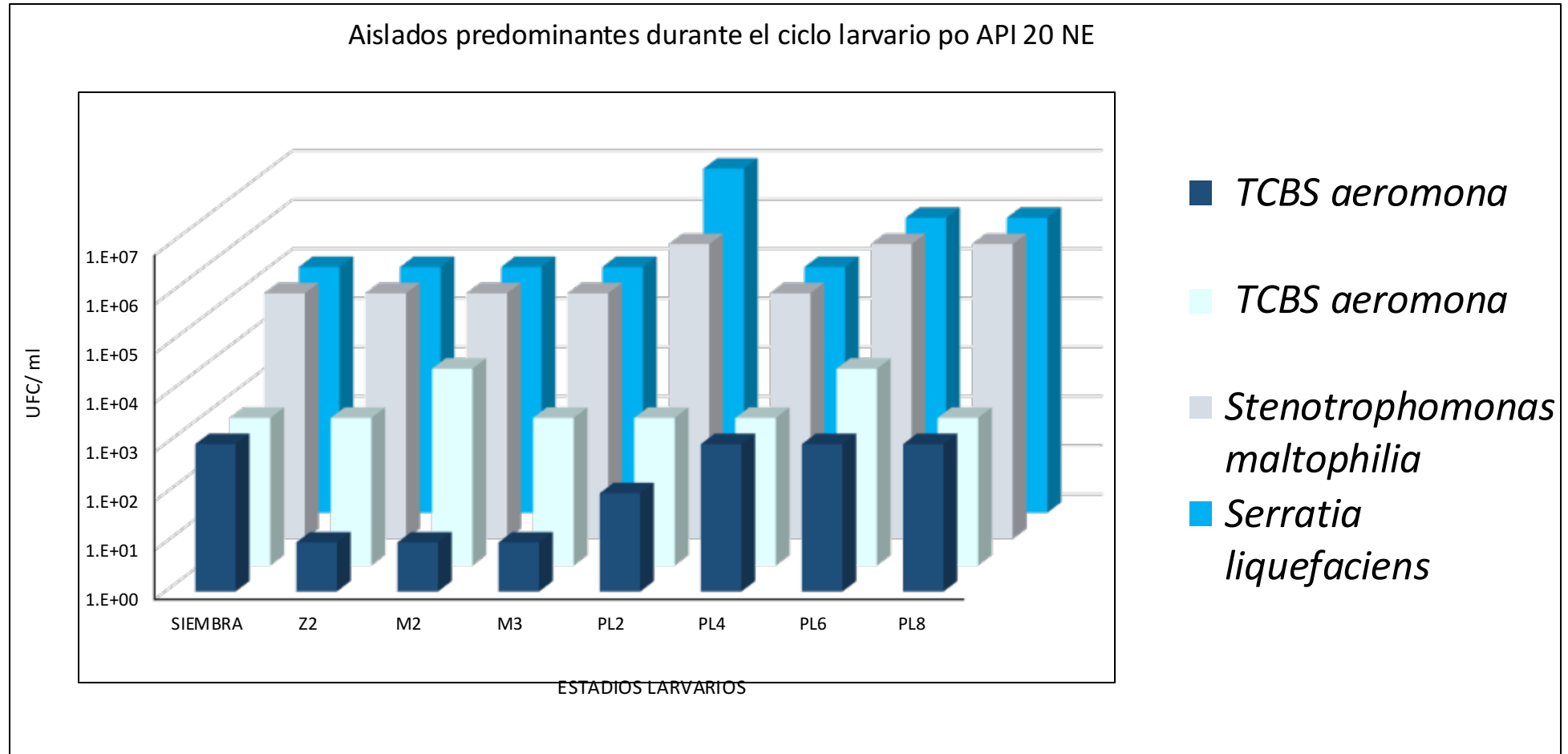


CET mostro que *Pseudomonas aeruginosa* tuvo mayor prevalencia y fue identificada en las cuatro piscinas en cada uno de las zonas.

Resultados

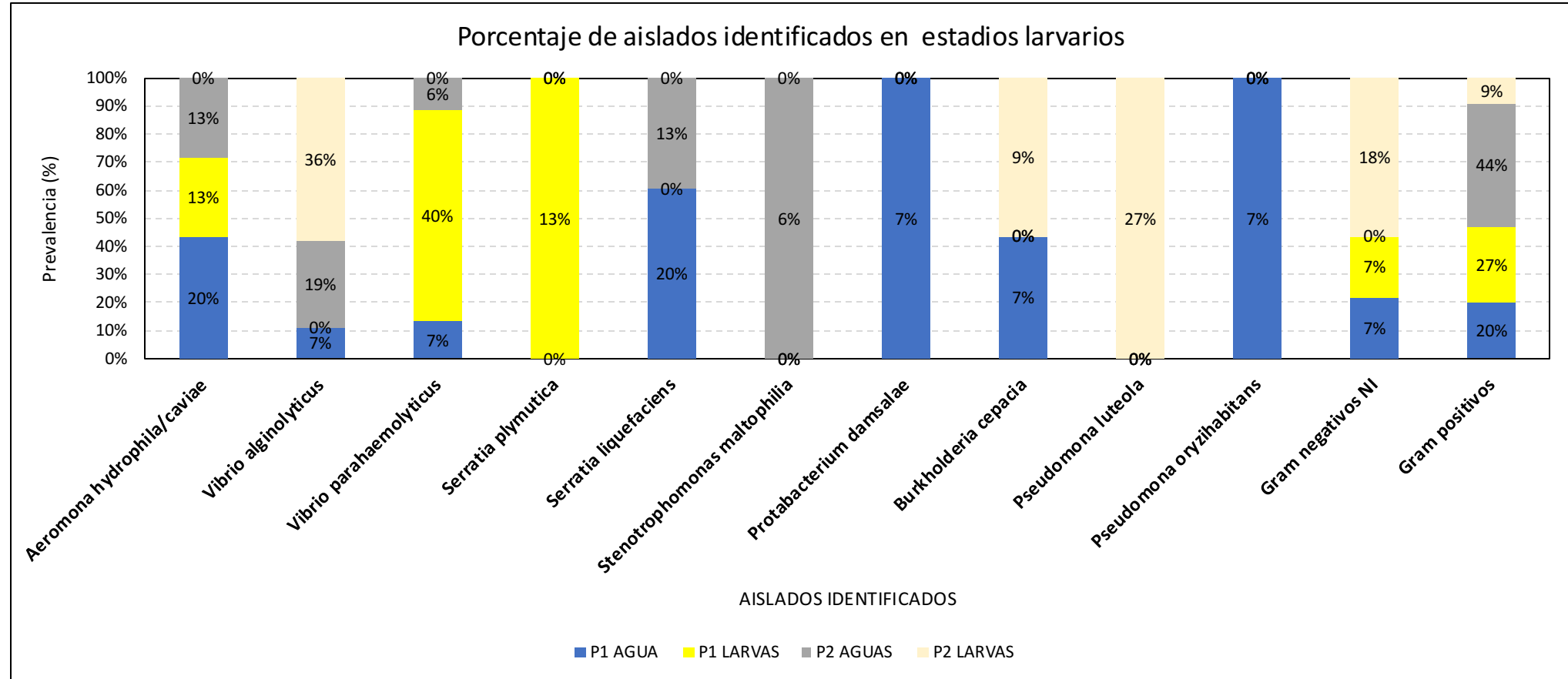
Bioquímica por API (2016)		Bioquímica por API (2017)				Bioquímica por API (2020)			Bioquímica por API (2021)		
Especie	% compatibilidad	Especie	Laboratorios		Camaroneras	Especie	Prevalencia		Especie	Prevalencia	
			E. Seca	E. Lluviosa			Laboratorios	Camaroneras		Laboratorios	Camaroneras
<i>V. alginolyticus</i>	7,0%	<i>V. alginolyticus</i>	23,45%	17,60%	15%	<i>Aeromonas sp.(hidrofila) Cavied 1</i>	-	10%	<i>V.parahaemolyticus</i>	20%	20%
<i>V. anguillarum</i>	7,5%	<i>Aeromonas sp.</i>	-	-	5%	<i>Aeromonas sp.(hidrofila)</i>	2%	5%	<i>Aeromonas sp.(hidrofila)</i>	26%	10%
<i>V. damsela</i>	6,9%	<i>Pseudomonas sp.</i>	-	-	10%	<i>Enterococcus sp.</i>	-	2%	<i>V. vulnificus</i>	-	5%
<i>V. harveyi</i>	7,0%	<i>V. anguillarum</i>	10,60%	11,80%	-	<i>otros</i>	3%	15%	<i>V. Mimicus</i>	1%	5%
<i>V. marinus</i>	69%	<i>V. harveyi</i>	34,10%	5,90%	20%	<i>Pseudomonas sp.</i>	10%	30%	<i>Pseudomonas sp.</i>	20%	20%
<i>V. nereis</i>	71%	<i>V. parahaemolyticus</i>	27,25%	17,60%	30%	<i>V. algynoliticus</i>	40%	10%	<i>V. algynoliticus</i>	20%	20%
<i>V. parahaemolyticus</i>	71%	<i>V. tubiashii</i>	2,25%	29,40%	-	<i>V. Fluvialis</i>	-	10%	<i>V. Fluvialis</i>	-	3%
<i>V. splendidus I.</i>	77%	<i>V. vulnificus</i>	2,25%	17,60%	15%	<i>V. Harveyi</i>	8%	2%	<i>V. Harveyi</i>	5%	2%
<i>V. splendidus II.</i>	71%	Otros	-	-	5%	<i>V. Marinus</i>	10%	10%	<i>V. Marinus</i>	1%	1%
<i>V. tubiashii</i>	75%					<i>V. tubiashi</i>	2%	-	<i>otros</i>	2%	4%
<i>V. vulnificus</i>	75%					<i>V. vulnificus</i>	10%	-			
						<i>V.Parahaemolitus</i>	15%	30%			

Resultados



- Las Aeromonas también pueden ser reconocidas en agares selectivos como el TCBS así como otras especies *Stenotrophomonas maltophilia* y *Serratia liquefaciens*

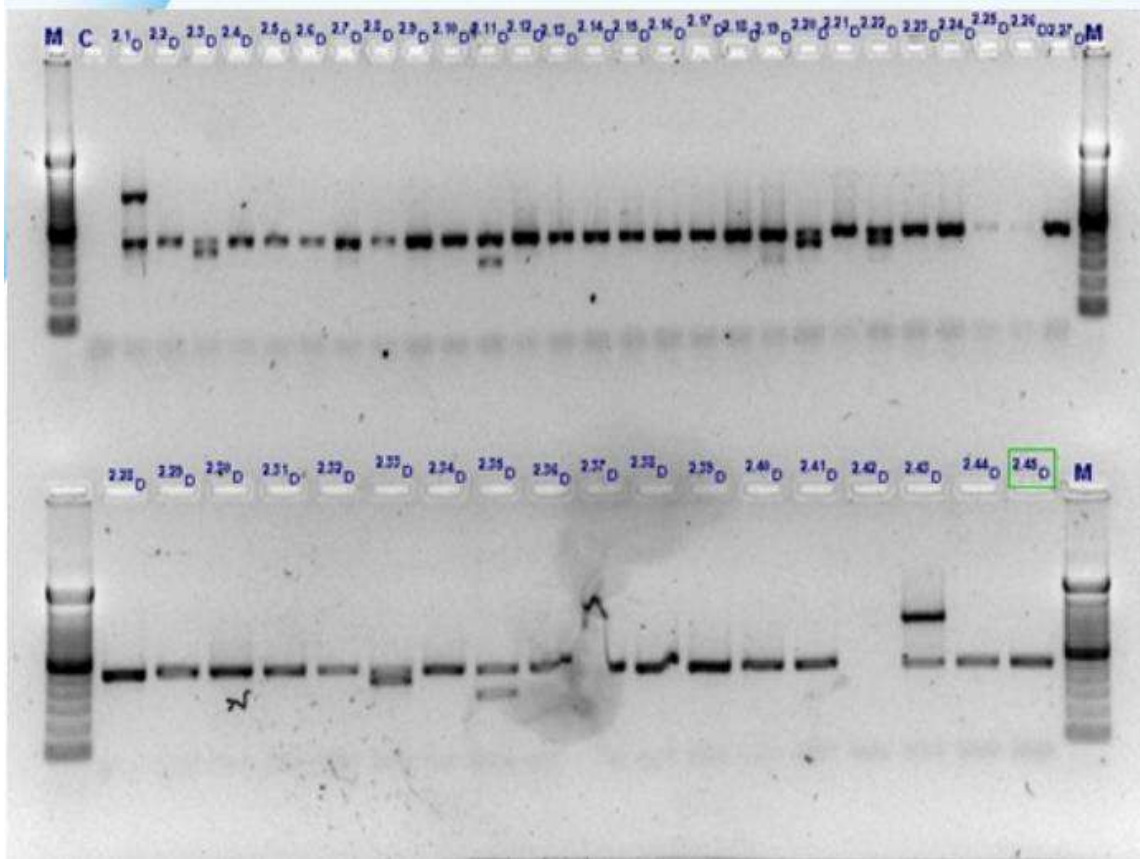
Resultados



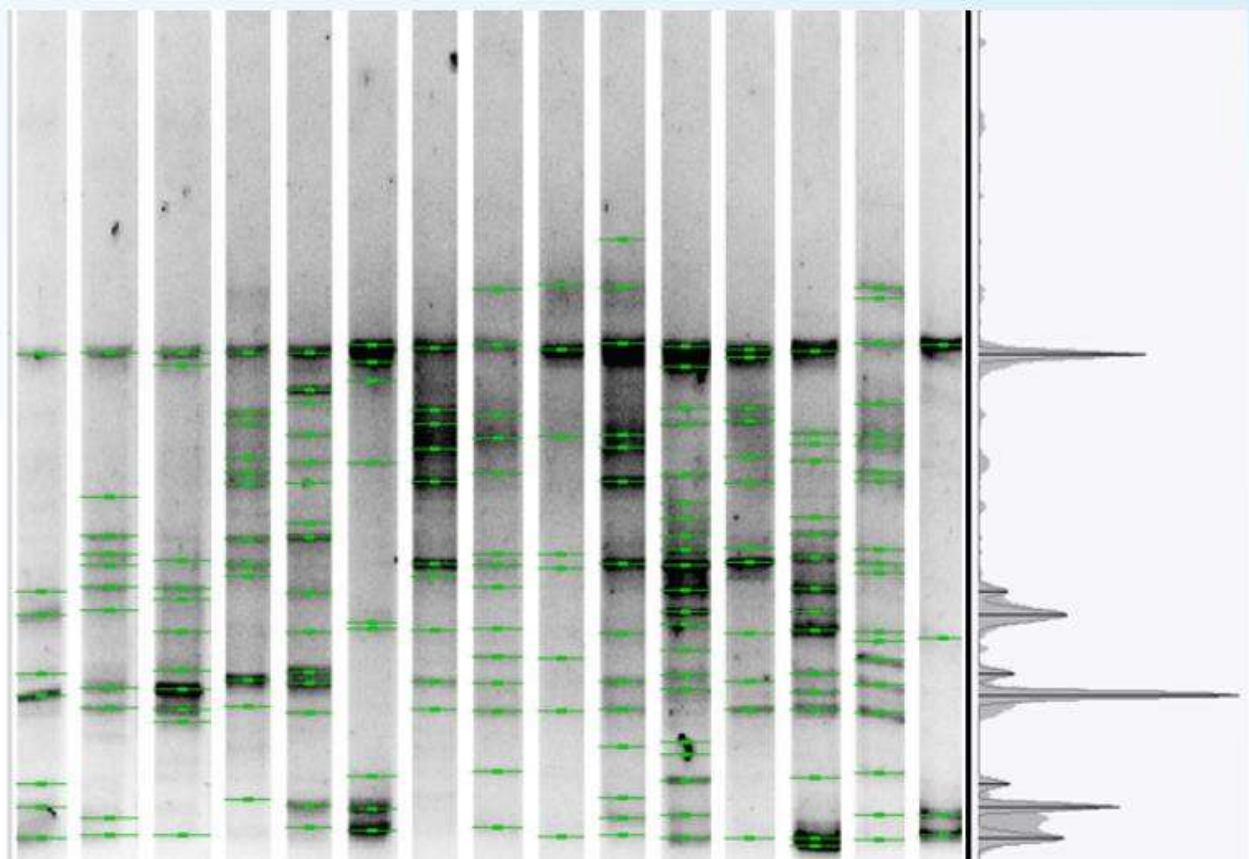
- Las *Aeromonas hidrófila*, *Pseudomonas luteola*, *Vibrios parahaemoliticus* juegan un papel importante en la producción larvaria, tanto en el agua como en los animales.
- La diversidad bacteriana en estos estadios hace que sean mas susceptibles a patologías.

Resultados

Perfil de bandas bacterianas



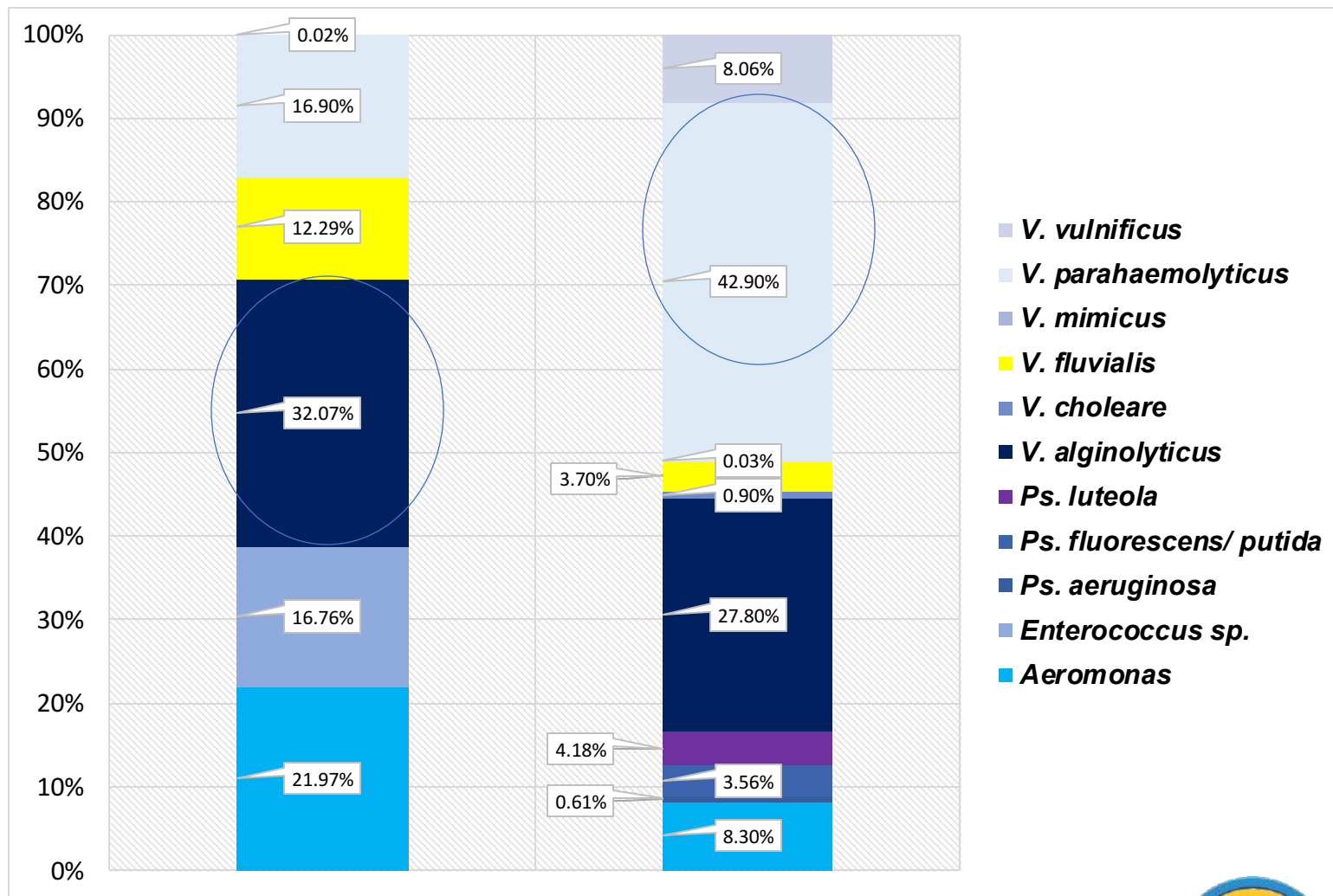
Primers 968FGC – 1378 Rx
Adobe foto shop 7.0



ADN DGGE, gradiente 40 – 60 acrilamida
GEL COMPARE II VERSIÓN 6.0 jaccard band

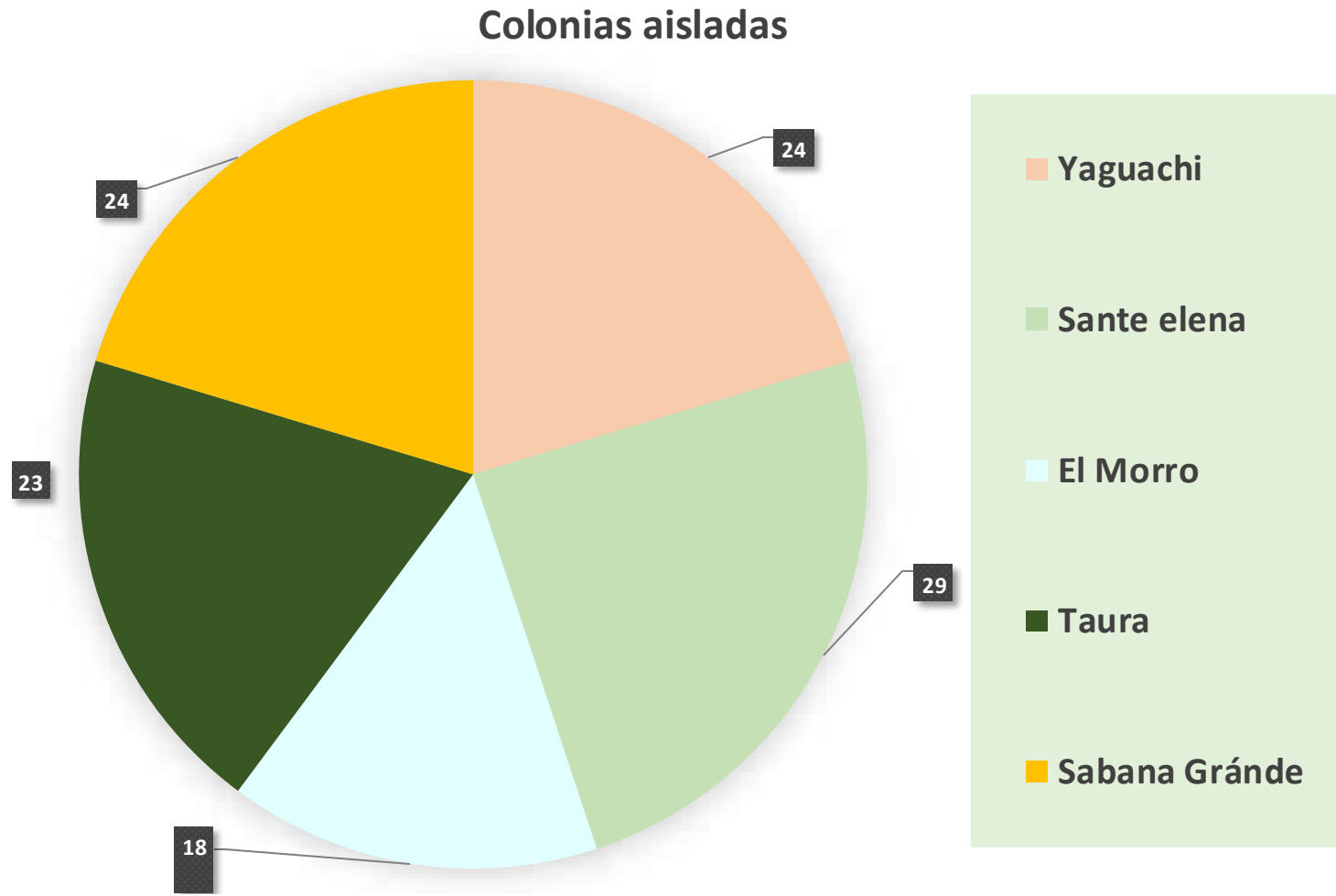
Resultados

- Las identificaciones por bandas de los geles de DGGE, fueron clonadas y secuenciadas para determinar mediante similitud de frecuencias los géneros bacterianos presentes en las muestras de bandas de mayor intensidad.





RESULTADOS

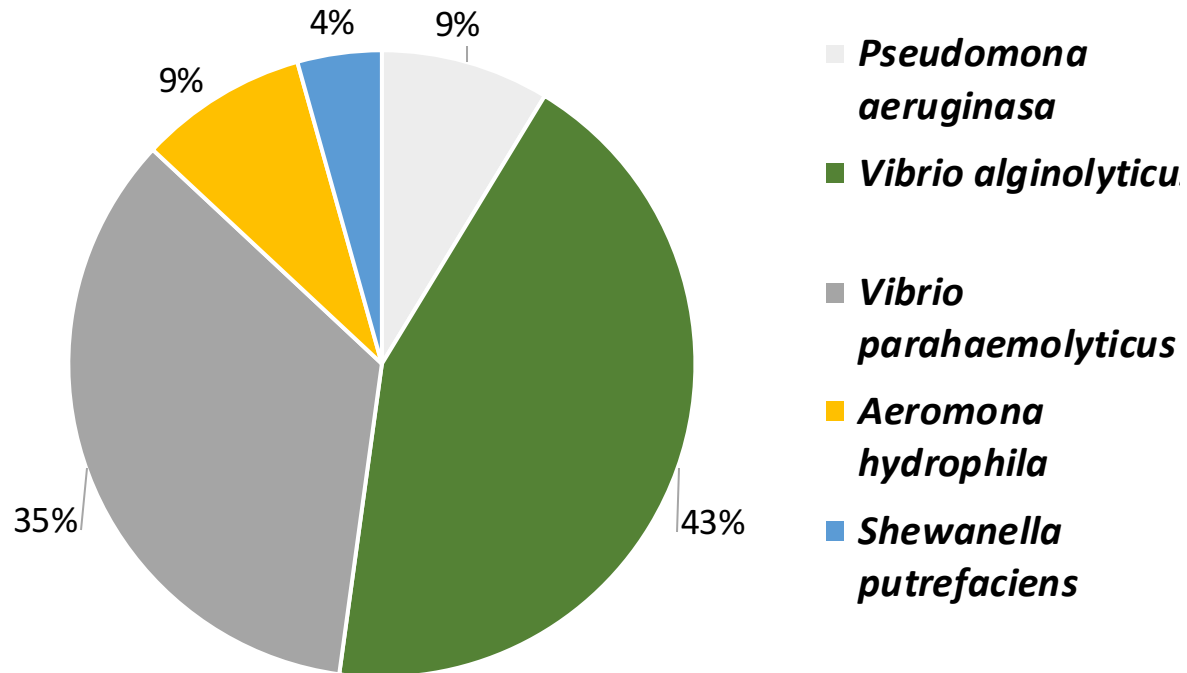


- 80 piscinas
- 118 bacterias
- Agares: TCBS, Cetrímide, Cromo agar vibrio
- Yaguachi 24 aislados
- Santa Elena 29 aislados
- Morro 18 aislados
- Taura 23 aislados
- Sabana grande 24 aislados

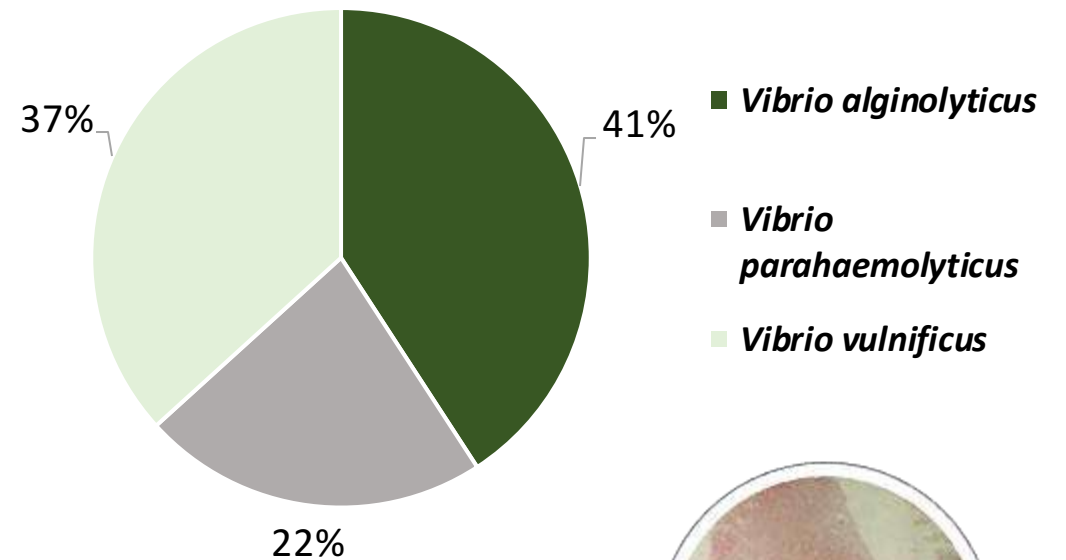


RESULTADOS

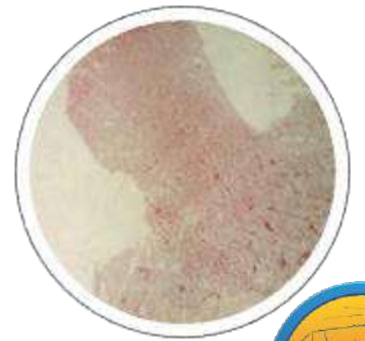
TCBS



CHROMOAGAR VIBRIO



Cetrimide mostró que *Pseudomonas aeruginosa* tuvo mayor prevalencia y fue identificada en todas las piscinas en cada una de las zonas, en distintas salinidades.





RESULTADOS

Análisis bioquímico	Recuento	Mediana	Desviación Estándar	Mínimo	Máximo
<i>A. hydrophila</i>	4	2,1	0,623832	1,5	3,0
<i>P. aeruginosa</i>	26	8,0	5,54479	1,1	18,0
<i>S. putrefaciens</i>	2	3,5	0,707107	3,0	4,0
<i>V. alginolyticus</i>	40	1,1	0,514782	0,9	3,0
<i>V. parahaemolyticus</i>	27	1,8	0,798235	1,0	5,0
<i>V. vulnificus</i>	19	2,0	0,452608	1,0	3,0

En años anteriores no hemos tenido mucha presencia de *Aeromonas sp.* y *Pseudomonas sp.* siempre hemos tendido mayor presencia de de vibrios.

patógeno identificado mediante pruebas bioquímicas API.

RESULTADOS

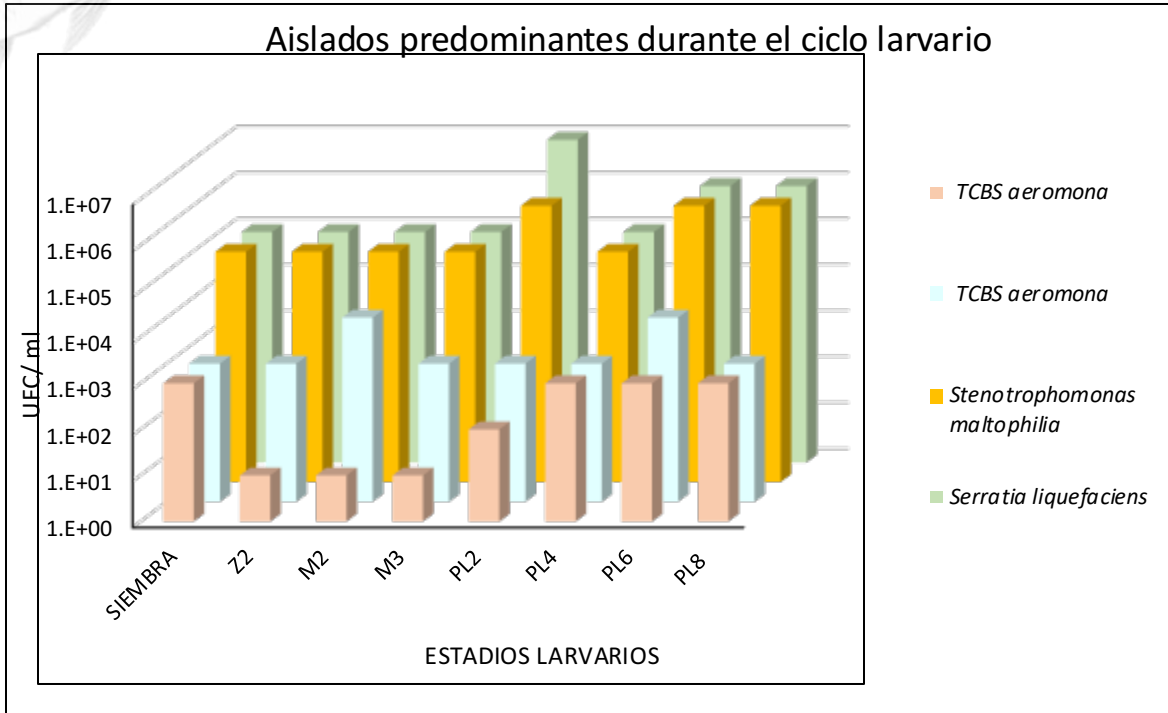
Bioquímica por API (2016)	
Especie	% compatibilidad
<i>V. alginolyticus</i>	7,0%
<i>V. anguillarum</i>	7,5%
<i>V. damsela</i>	6,9%
<i>V. harveyi</i>	7,0%
<i>V. marinus</i>	69%
<i>V. nereis</i>	71%
<i>V. parahaemolyticus</i>	71%
<i>V. splendidus I.</i>	77%
<i>V. splendidus II.</i>	71%
<i>V. tubiashii</i>	75%
<i>V. vulnificus</i>	75%

Bioquímica por API (2017)			
Especie	Laboratorios		Camaroneras
	E. Seca	E. Lluviosa	
<i>V. alginolyticus</i>	23,45%	17,60%	15%
<i>Aeromonas sp.</i>	-	-	5%
<i>Pseudomonas sp.</i>	-	-	10%
<i>V. anguillarum</i>	10,60%	11,80%	-
<i>V. harveyi</i>	34,10%	5,90%	20%
<i>V. parahaemolyticus</i>	27,25%	17,60%	30%
<i>V. tubiashii</i>	2,25%	29,40%	-
<i>V. vulnificus</i>	2,25%	17,60%	15%
Otros	-	-	5%

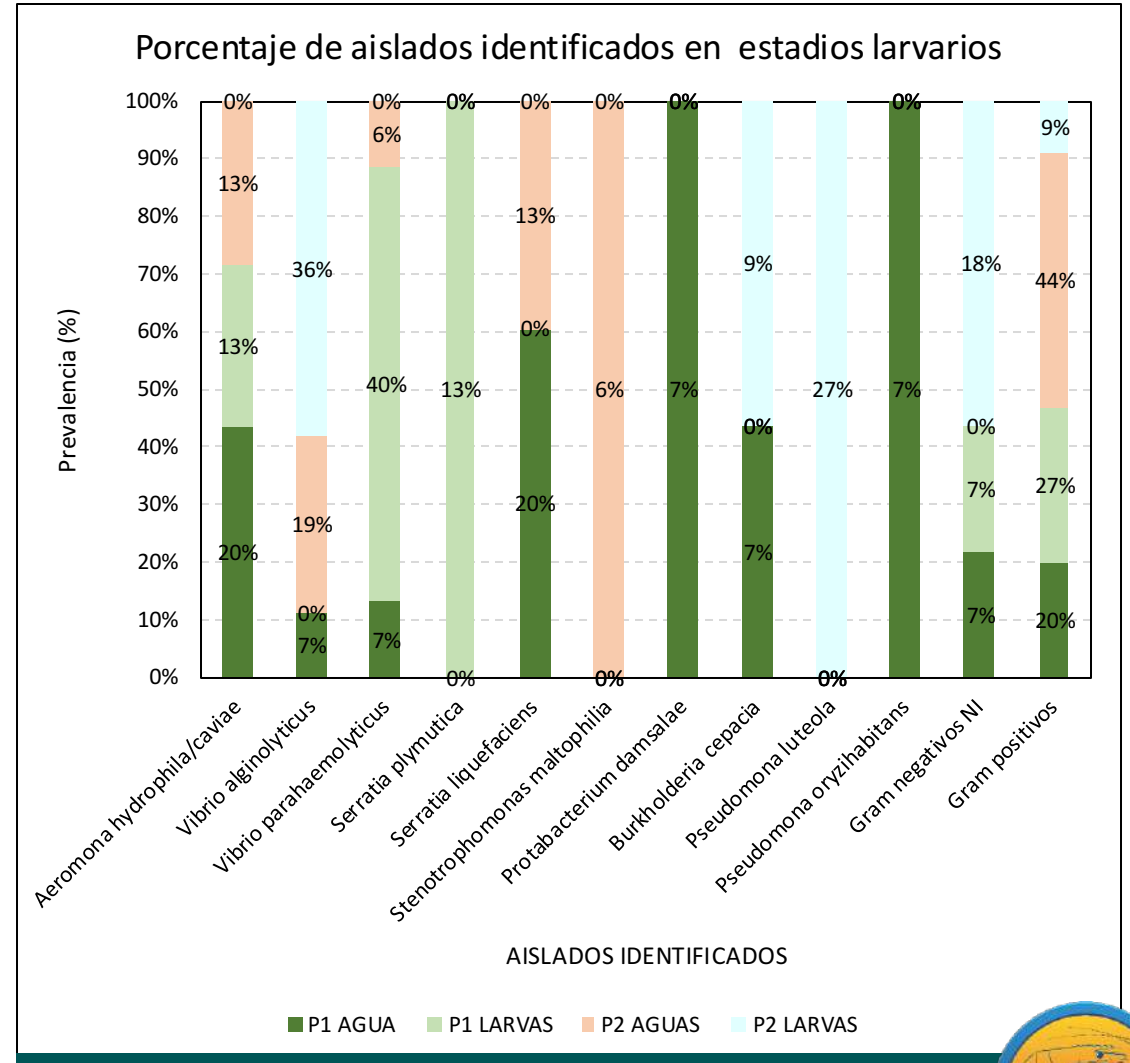
Bioquímica por API (2020)		
Especie	Prevalencia	
	Laboratorios	Camaroneras
<i>Aeromonas sp.(hidrofila) Cavied 1</i>	-	10%
<i>Aeromonas sp.(hidrofila)</i>	2%	5%
<i>Enterococcus sp.</i>	-	2%
otros	3%	15%
<i>Pseudomonas sp.</i>	10%	30%
<i>V. algynoliticus</i>	40%	10%
<i>V. Fluvialis</i>	-	10%
<i>V. Harveyi</i>	8%	2%
<i>V. Marinus</i>	10%	10%
<i>V. tubiashi</i>	2%	-
<i>V. vulnificus</i>	10%	-
<i>V.Parahaemoliticus</i>	15%	30%

Bioquímica por API (2021)		
Especie	Prevalencia	
	Laboratorios	Camaroneras
<i>V.parahaemolyticus</i>	20%	20%
<i>Aeromonas sp.(hidrofila)</i>	26%	10%
<i>V. vulnificus</i>	-	5%
<i>V. Mimicus</i>	1%	5%
<i>Pseudomonas sp.</i>	20%	20%
<i>V. algynoliticus</i>	20%	20%
<i>V. Fluvialis</i>	-	3%
<i>V. Harveyi</i>	5%	2%
<i>V. Marinus</i>	1%	1%
otros	2%	4%

RESULTADOS

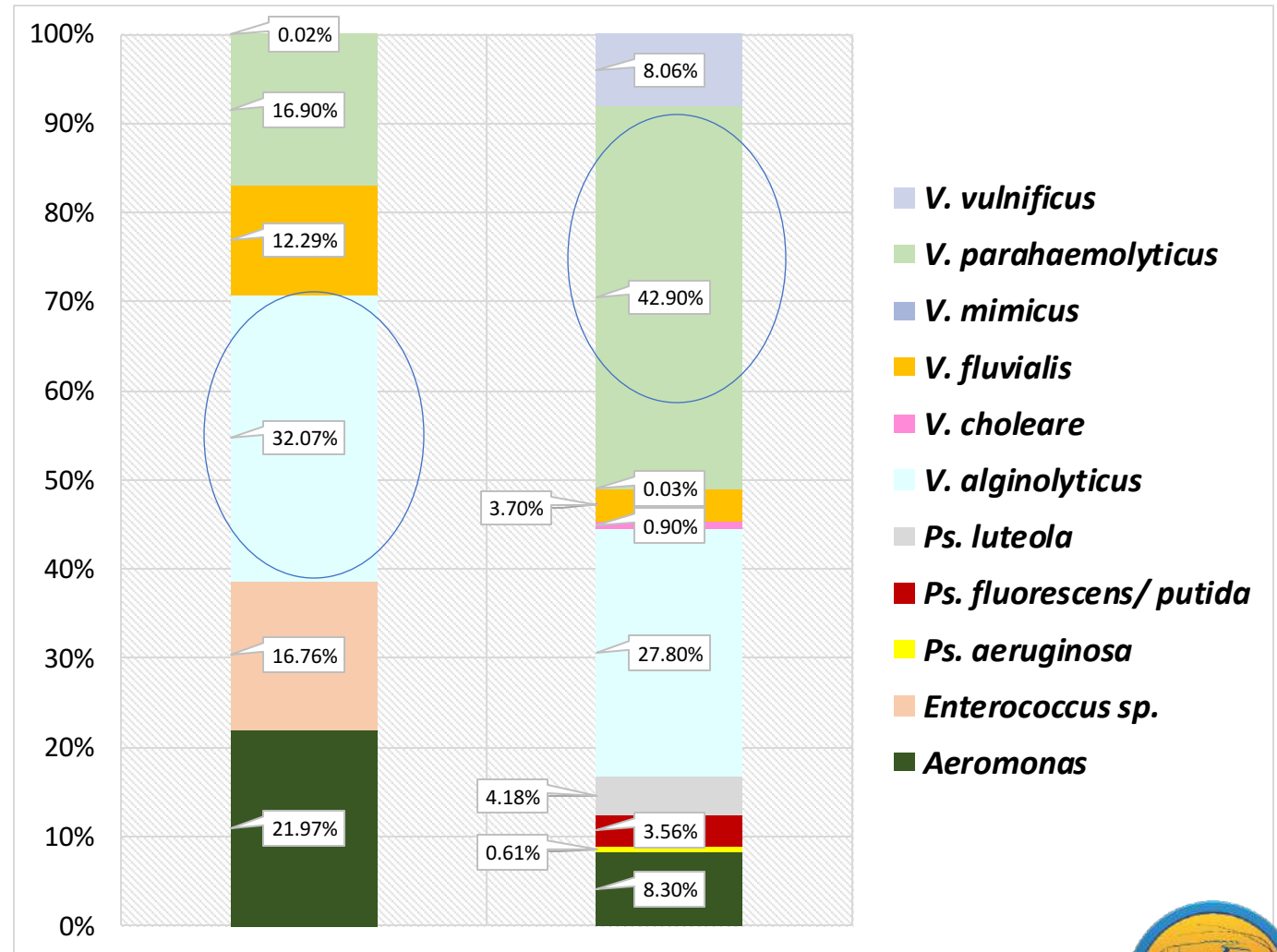


- Las *Aeromonas hidrófila*, *Pseudomonas luteola*, *Vibrios parahaemoliticus* juegan un papel importante en la producción larvaria, tanto en el agua como en los animales.
- La diversidad bacteriana en estos estadios hace que sean mas susceptibles a patologías. Zona de Santa Elena.



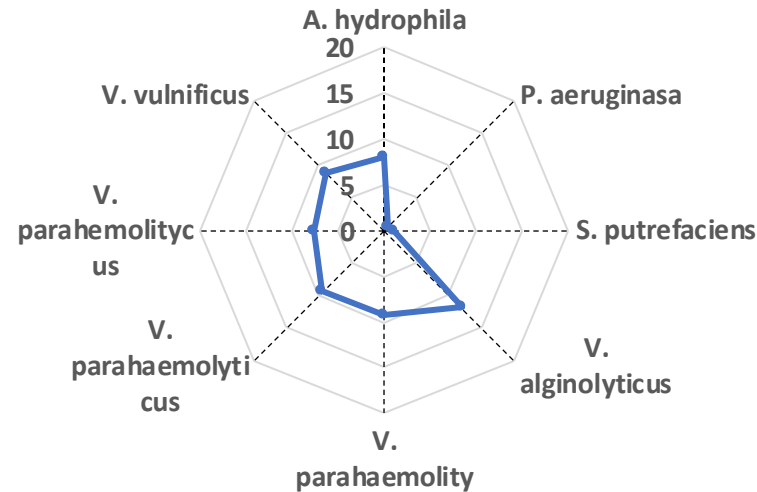
RESULTADOS

- Las identificaciones por bandas de los geles de DGGE, fueron secuenciadas para determinar mediante similitud de frecuencias los género bacterianos presentes en las muestras de bandas de mayor intensidad.



RESULTADOS

1. Amoxycillin
2. Chloramphenicol
3. Enrofloxacin
4. Gentamicin
5. Lincomycin
6. Nalidixic acid
7. Nitrofurantoin
8. Norfloxacin
9. Streptomycin
10. Sulphamethoxazole
11. Tetracycline
12. Vancomycin



Rango de Interpretación

< /= a 10 mm. resistente

12 a 14 mm Intermedio

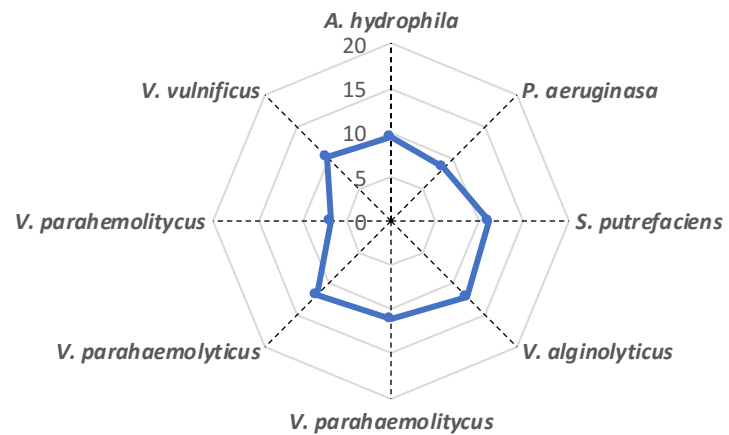
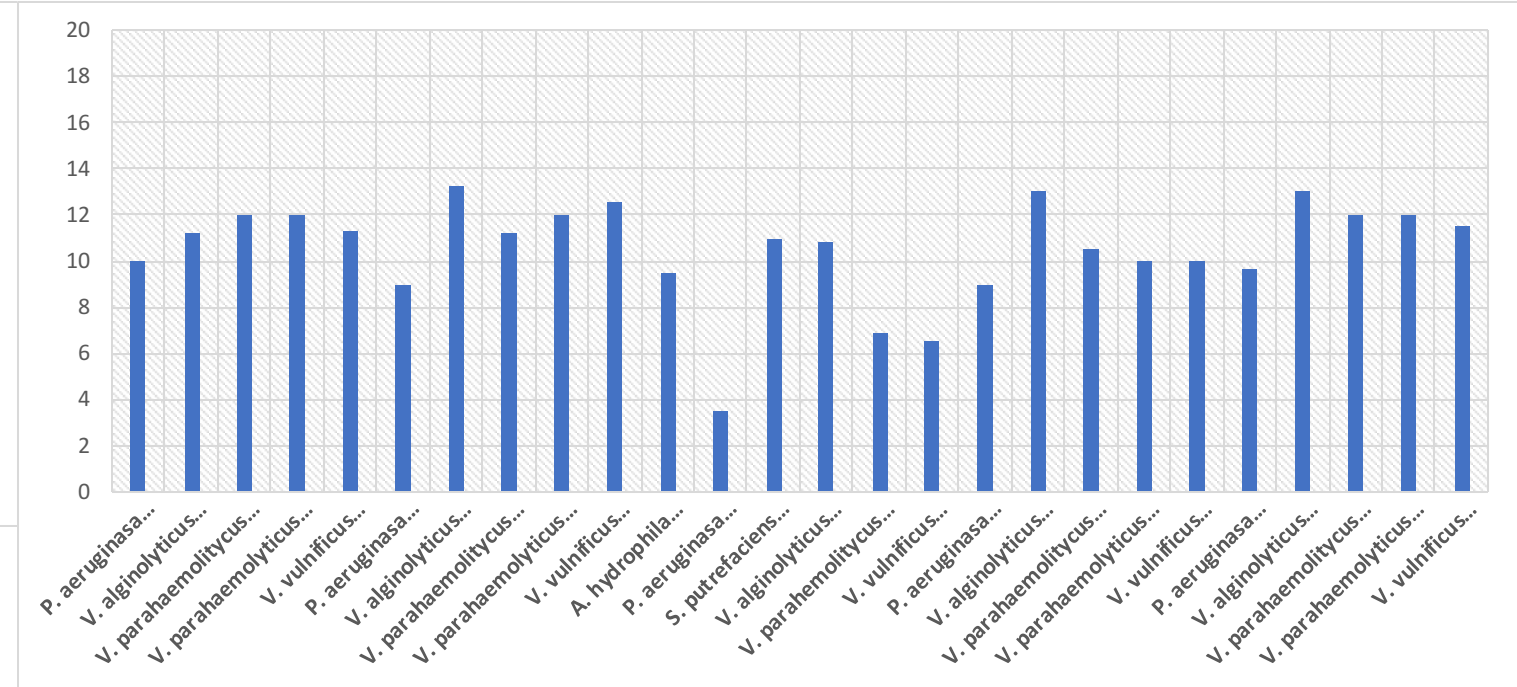
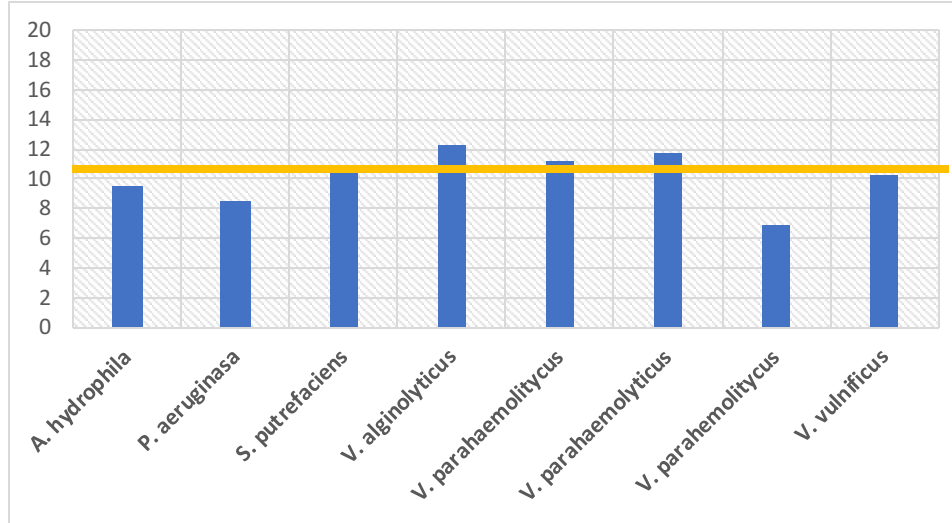
> 18 mm Sensible



La mayoría de bacterias presentaron Resistencia a los antibioticos ensayados, con valores de cero mm de inhibición en su mayoría.

RESULTADOS

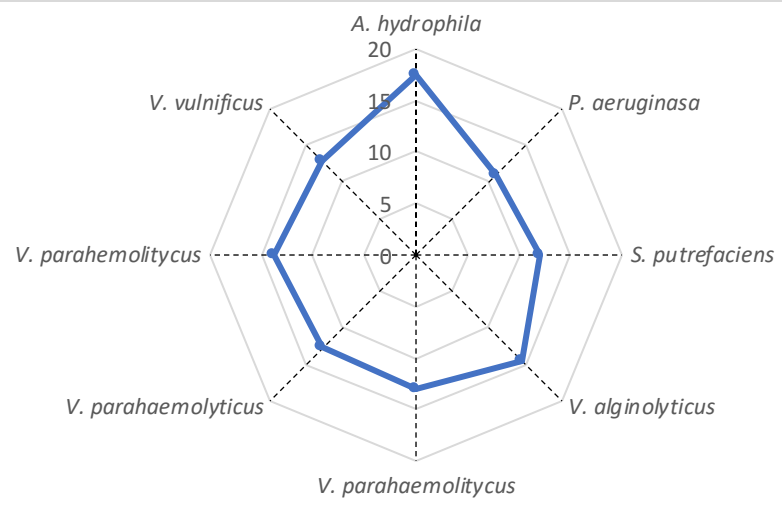
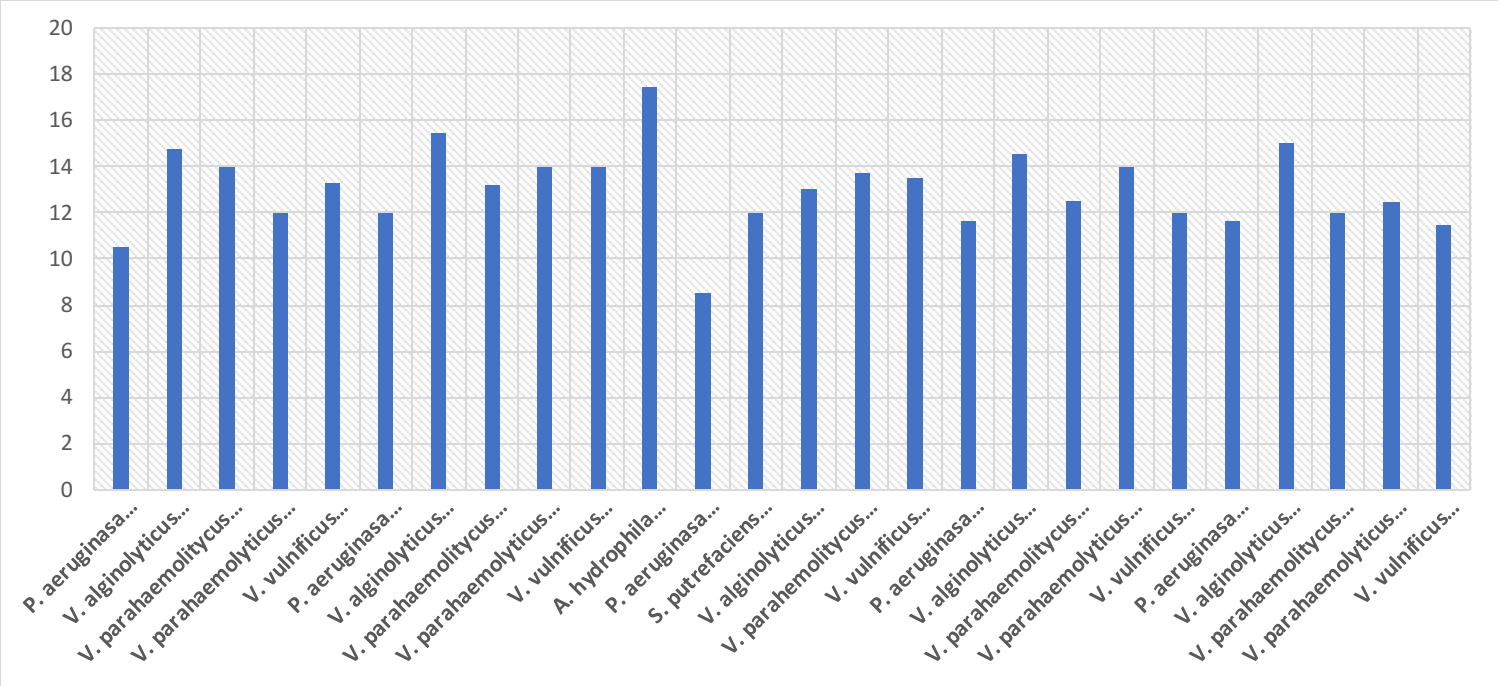
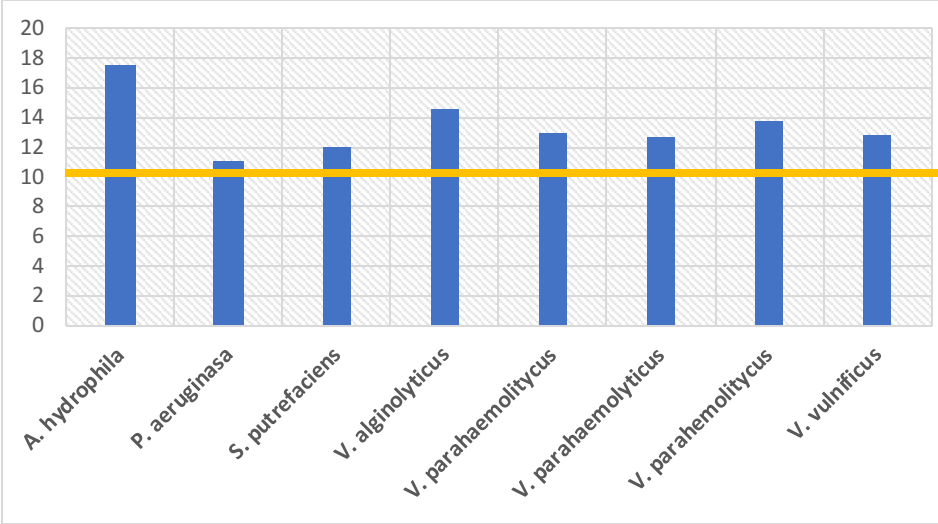
Antibióticos - Chloramphenicol





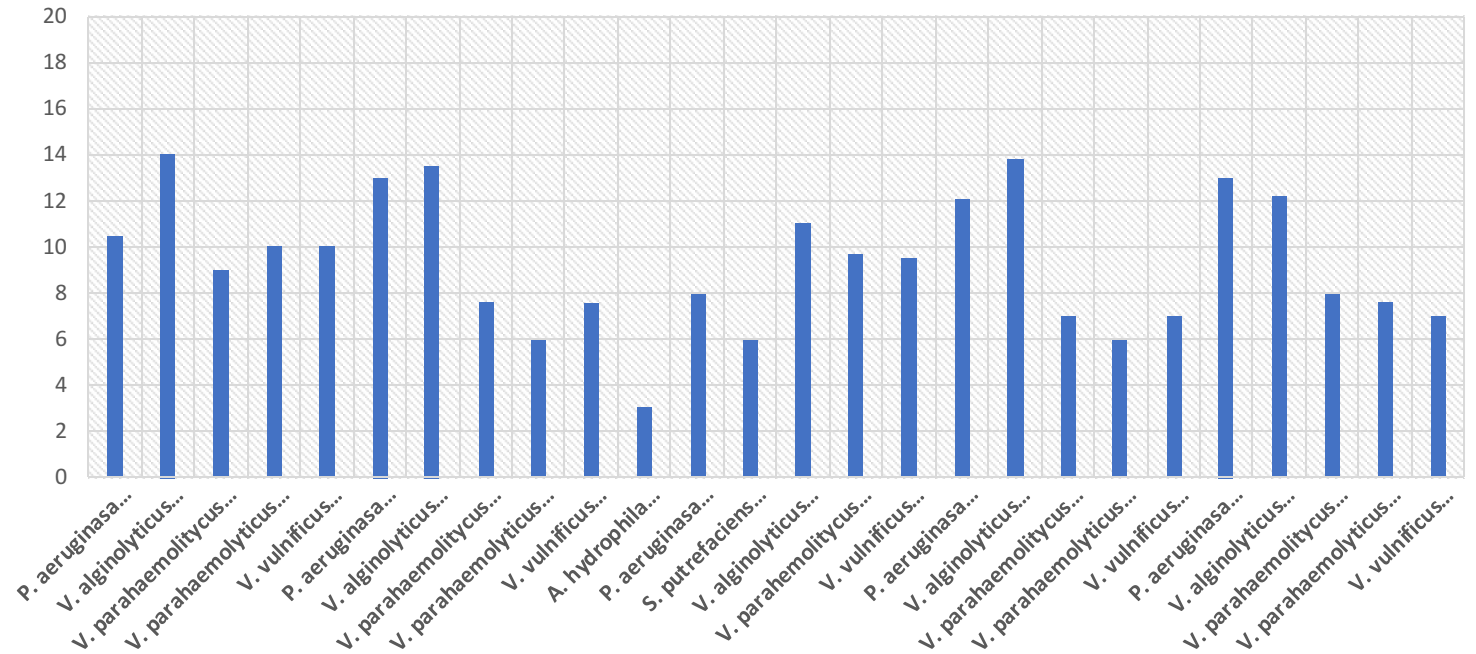
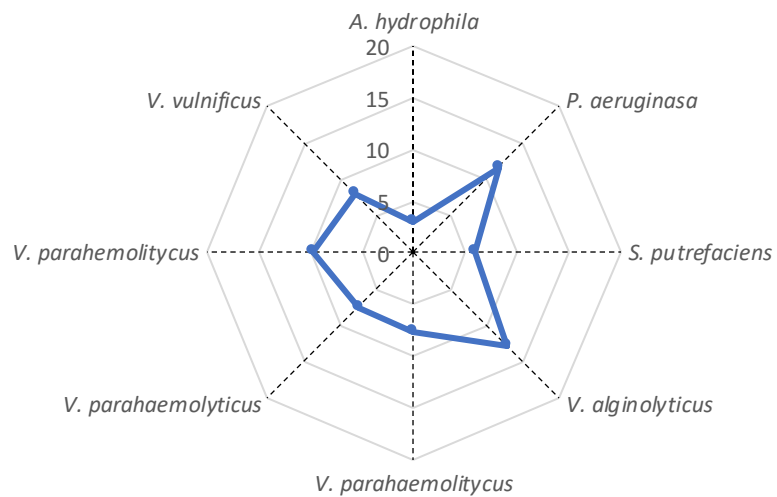
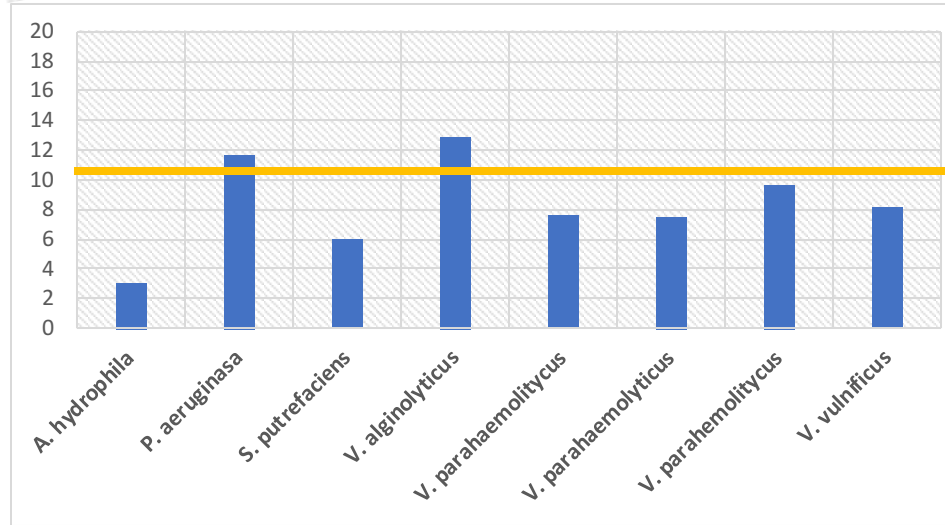
RESULTADOS

Antibióticos - Enrofloxacin



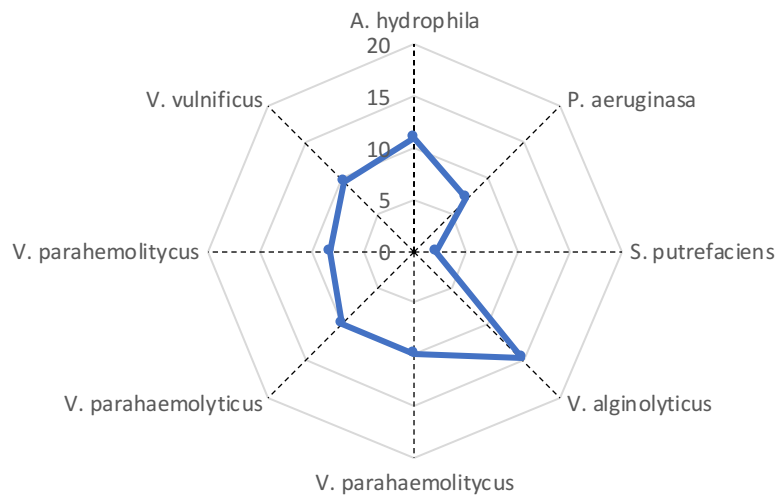
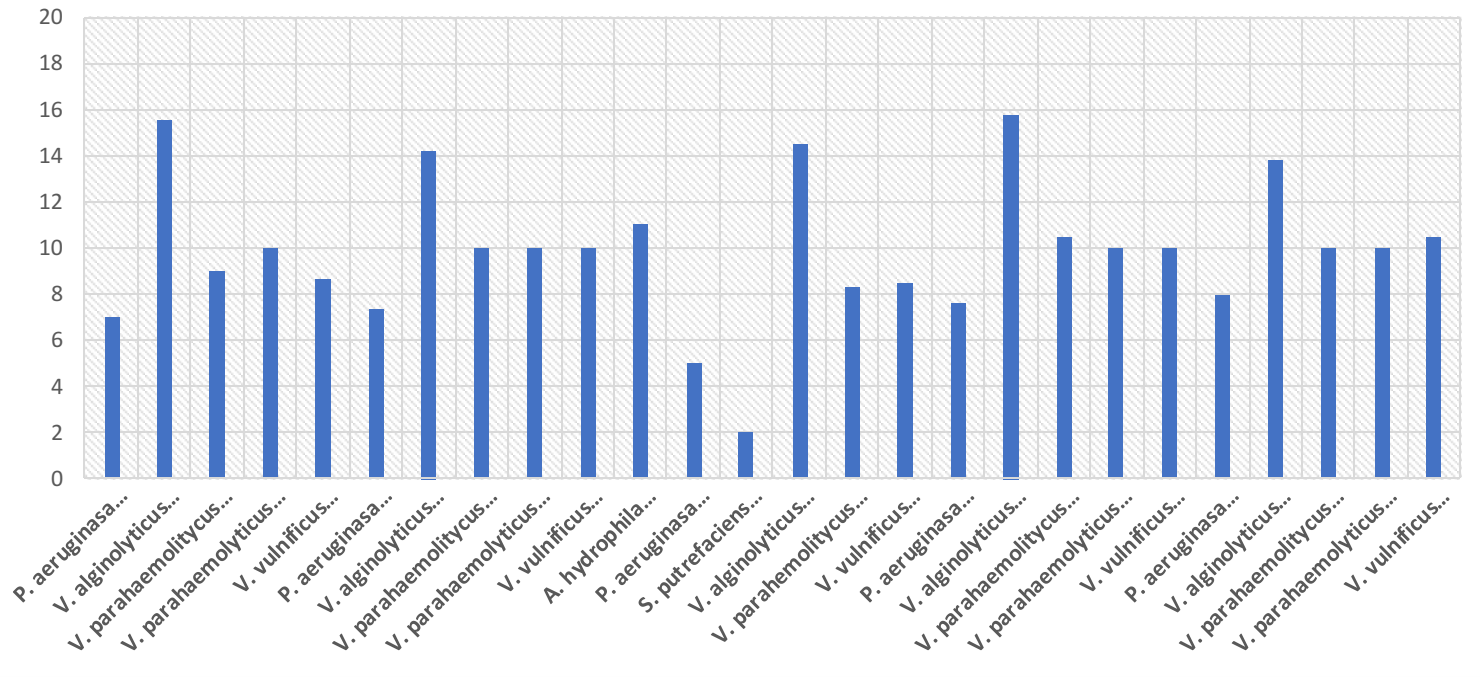
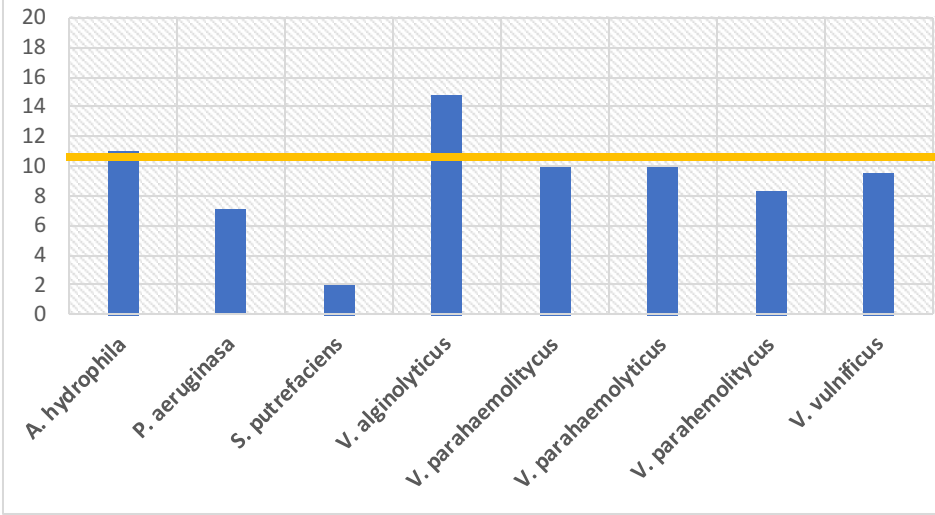
RESULTADOS

Antibióticos - Nitrofurantoin



RESULTADOS

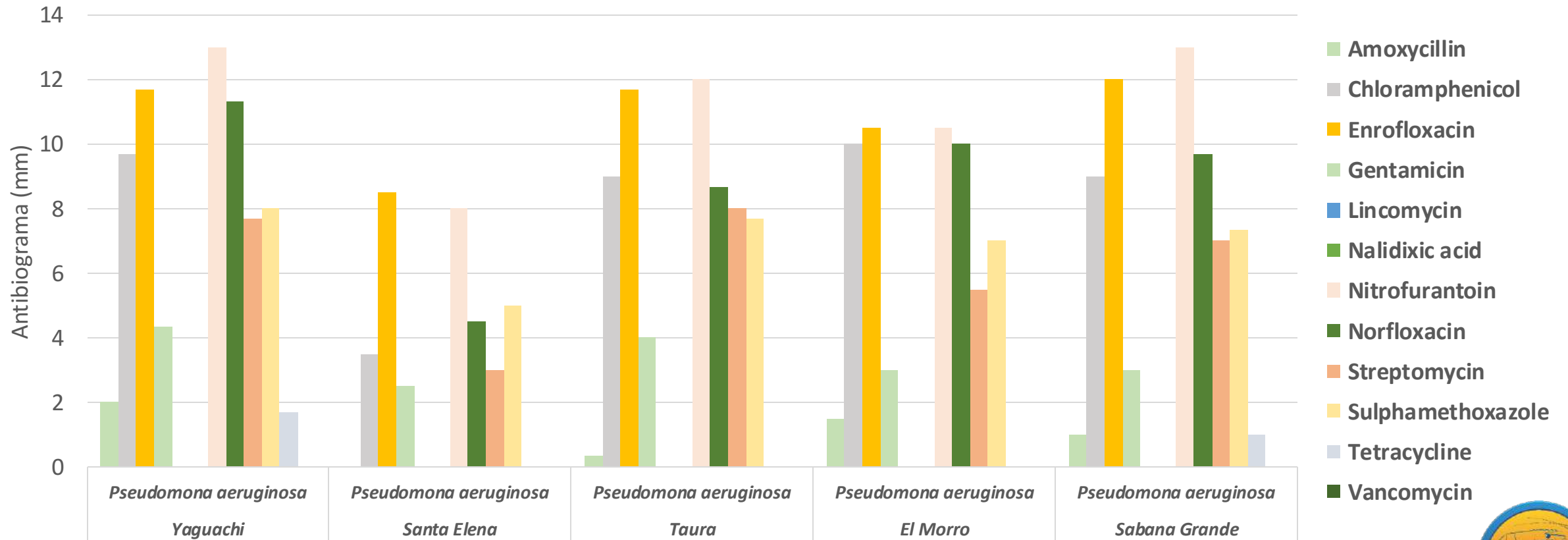
Antibióticos - Sulphamethoxazole





RESULTADOS

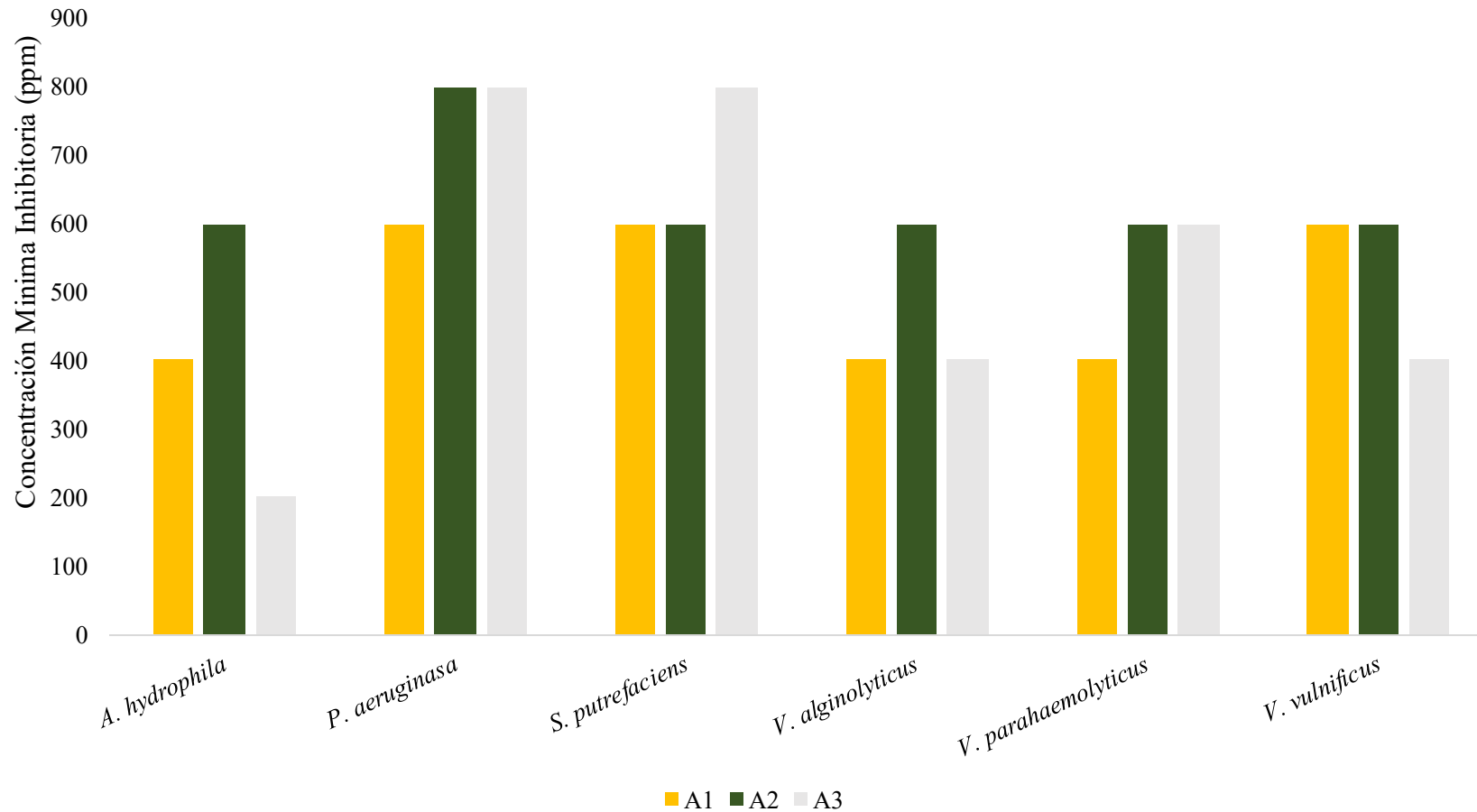
Pseudomona aeruginosa





RESULTADOS

Concentración Mínima Inhibitoria (MIC).



Ac. Lático (A1)
concentraciones
entre
400ppm y 600ppm

Ac. Fórmico (A2)
Concentraciones
entre
400ppm y 800ppm

Ac. Acético (A3)
concentraciones
entre
200ppm y 800ppm

RESULTADOS



Código Cliente: Tea Tree				Código NG: SSA-5548-2018						
Cepas Bacteriana	Concentraciones en ppm/Resultados en mm									
	500 ppm	250 ppm	200 ppm	150 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm	20 ppm	10 ppm	5 ppm
<i>Aeromonas Hydrofila</i>	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P



Código Cliente: Ajo				Código NG: SSA-5548-2018						
Cepas Bacteriana	Concentraciones en ppm/Resultados en mm									
	500 ppm	250 ppm	200 ppm	150 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm	20 ppm	10 ppm	5 ppm
<i>Aeromonas Hydrofila</i>	N	N	N	P	P	P	P	P	P	P
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	N	N	N	N	P	P	P	P	P	P

Observación: Los resultados del ensayo son obtenidos en base a las concentraciones sugeridas por el cliente.

48 HRS MEDIO SÓLIDO
24 HRS MEDIO LÍQUIDO



RESULTADOS



Código Cliente: Canela				Código NG: SSA-5548-2018						
Cepas Bacteriana	Concentraciones en ppm/Resultados en mm									
	500 ppm	250 ppm	200 ppm	150 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm	20 ppm	10 ppm	5 ppm
<i>Aeromonas Hydrofila</i>	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	N	N	N	N	N	N	P	N	N	N
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	N	N	N	N	N	P	N	P	N	N
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N



Código Cliente: Peppermintc				Código NG: SSA-5548-2018						
Cepas Bacteriana	Concentraciones en ppm/Resultados en mm									
	500 ppm	250 ppm	200 ppm	150 ppm	100 ppm	50 ppm	25 ppm	20 ppm	10 ppm	5 ppm
Aeromonas Hydrofila	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N
Pseudomona aeruginosa	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N
Vibrio parahaemolyticus	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N
Pseudomonas putrefaciens	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N

Observación: Los resultados del ensayo son obtenidos en base a las concentraciones sugeridas por el cliente.

48 HRS MEDIO SÓLIDO

24 HRS MEDIO LÍQUIDO



RESULTADOS

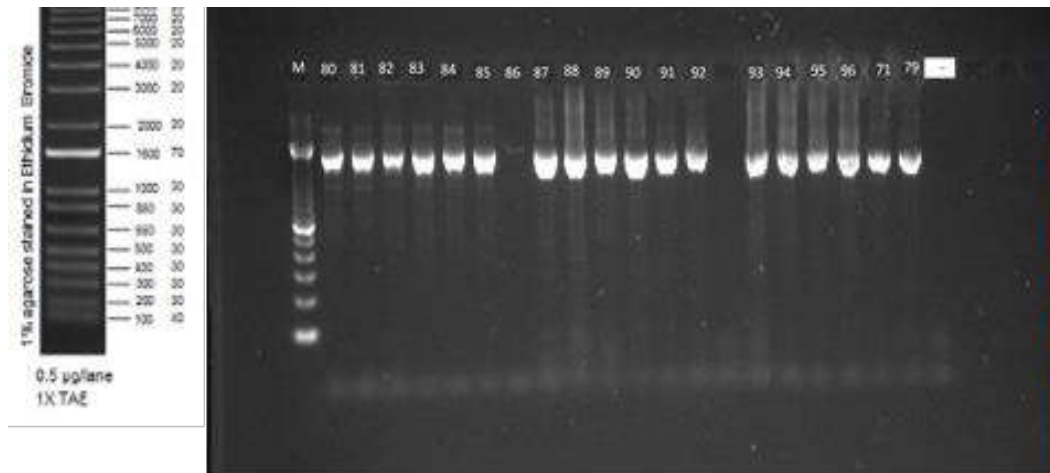
Código Cliente: ÁCIDO ORGÁNICO+AC. ESENCIAL 1				Código NG: SSA-5548-2018						
Cepas Bacteriana	Concentraciones en ppm/Resultados en mm									
	1500+50 ppm	1000+50 ppm	750+50 ppm	500+50 ppm	250+50 ppm	200+50 ppm	150+50 ppm	100+50 ppm	50+50 ppm	25 +50 ppm
<i>Aeromonas Hydrofila</i>	N	N	N	P	N	N	N	N	N	N
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	N	N	P	N	N	N	N	N	N	N
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N

Código Cliente: ÁCIDO ORGÁNICO+AC. ESENCIAL 2				Código NG: SSA-5548-2018						
Cepas Bacteriana	Concentraciones en ppm/Resultados en mm									
	1500+50 ppm	1000+50ppm	750+50 ppm	500+50 ppm	250+50 ppm	200+50 ppm	150+50 ppm	100+50 ppm	50+50 ppm	25 +50 ppm
<i>Aeromonas Hydrofila</i>	N	N	N	N	N	N	N	P	N	N
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	N	N	N	N	N	N	N	N	P	N
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	N	N	N	N	N	P	N	N	N	N
<i>Pseudomonas putrefaciens</i>	N	N	N	N	P	N	N	N	N	N

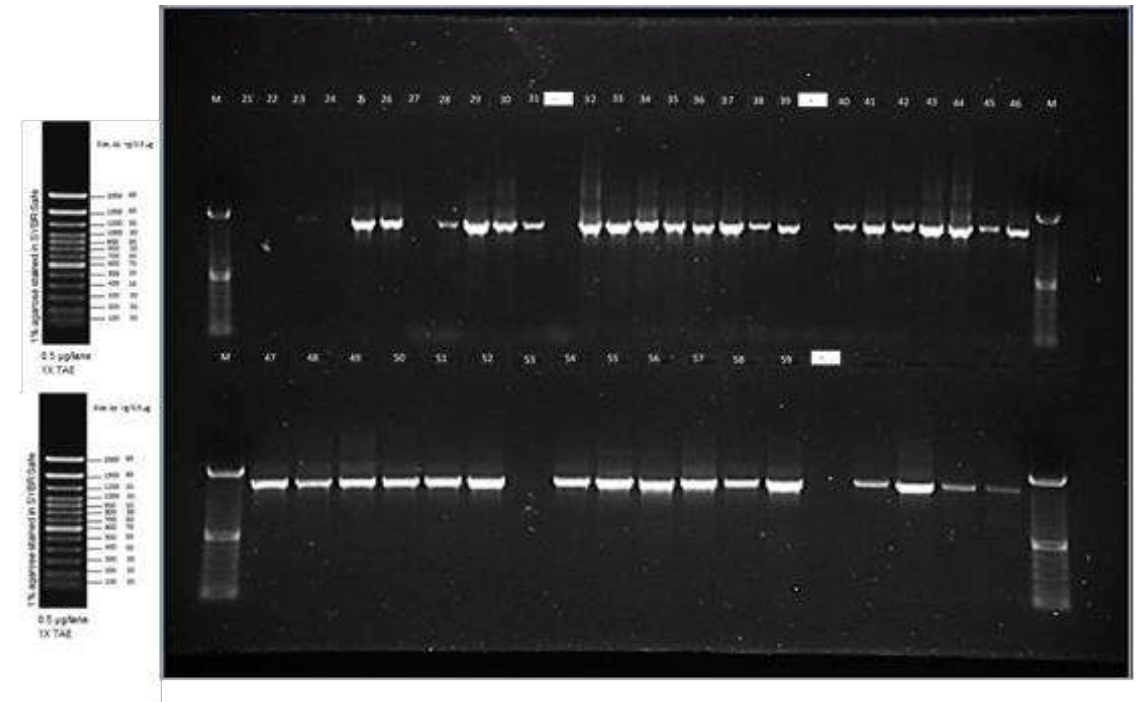
Resultados

Amplificación del *ARNr 16S*

Se llevo la amplificación del gen 16S a partir del ADN extraído de las cepas patógenas, utilizando primers universales 8F y 1492R



Nota. Electroforesis del gen *ARNr 16S* purificado. Carriles: M; marcador de peso molecular de 1500 pb; 80-96, repeticiones de 71 y 79 y Control (-).

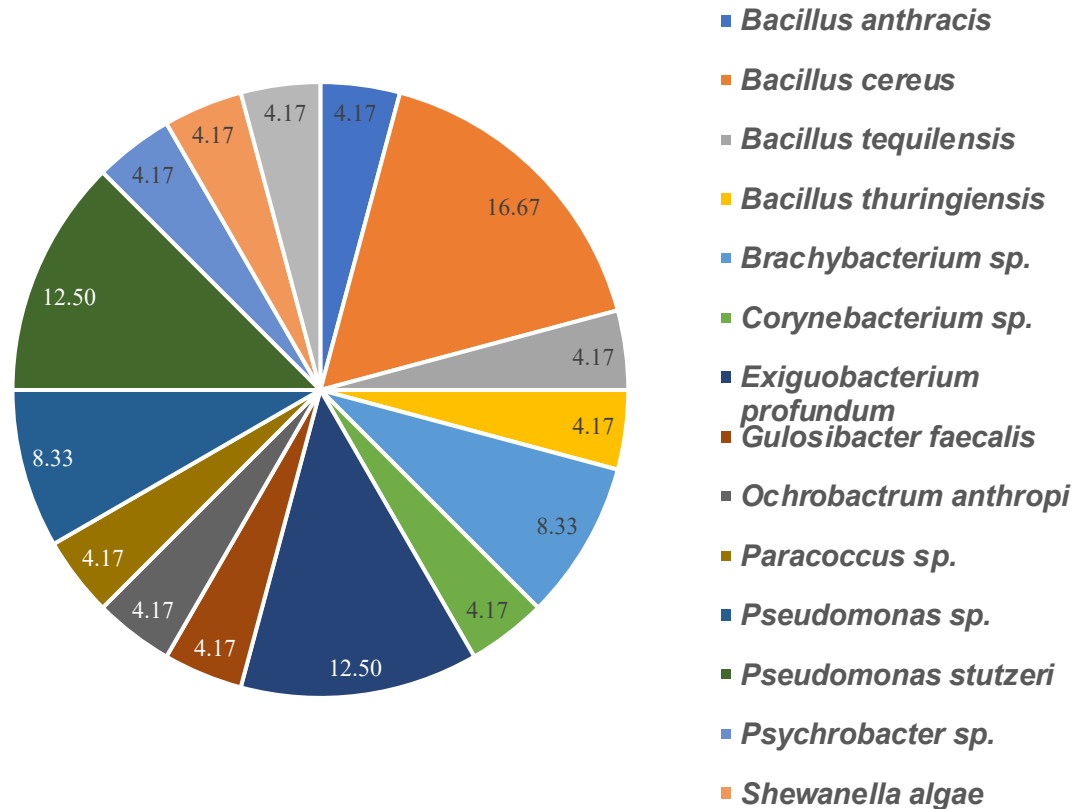


Nota. Electroforesis del gen *ARNr 16S* purificado. Carriles: M; marcador de peso molecular de 1500 pb; 21-31 y Control (-); 32-39 y Control (-); 40-59 y Control (-).

Resultados

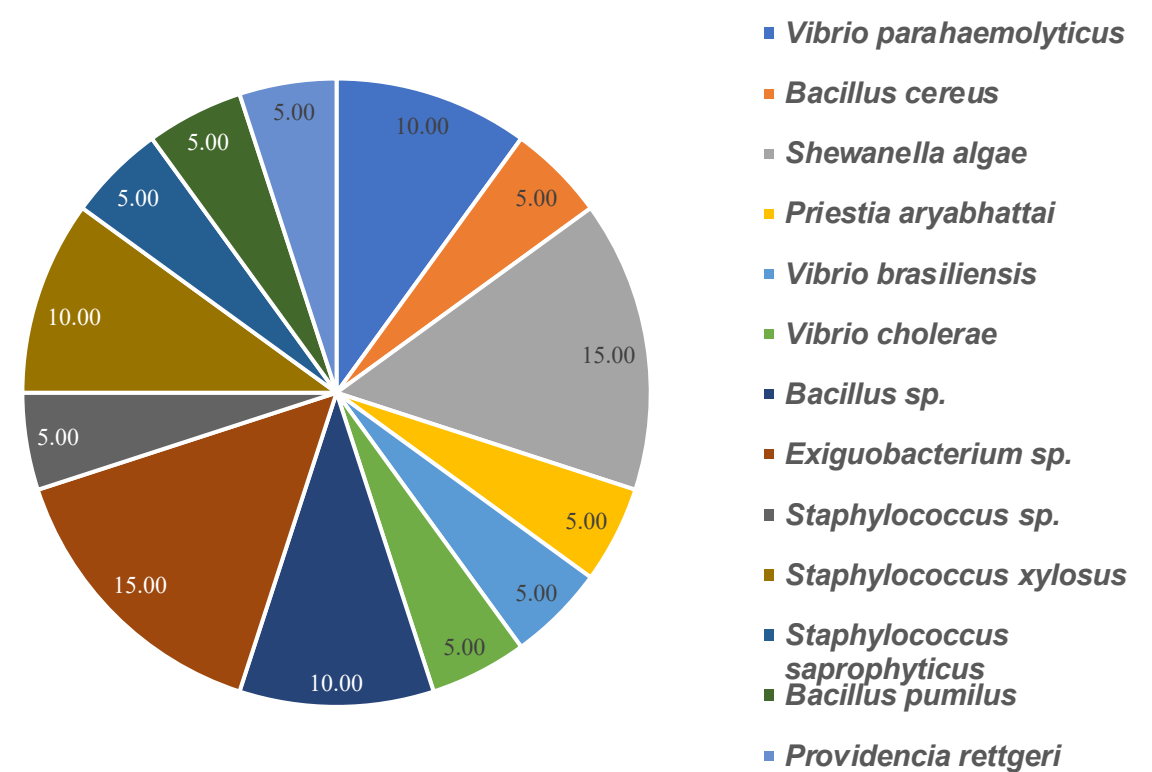
Abundancia por zona muestreada

Bacterias secuenciadas en la zona de Yaguachi.



B. cereus, *B. tequilensis*, *B. thuringiensis*, de 16,67%, *B. anthracis*, abundancia y 4,17%. Para la especie *Pseudomonas stutzeri*, *Exiguobacterium profundum* se halló una abundancia de 12,50% y de 8,33% 4,17% cada una de ellas

Bacterias secuenciadas en la zona de Taura.



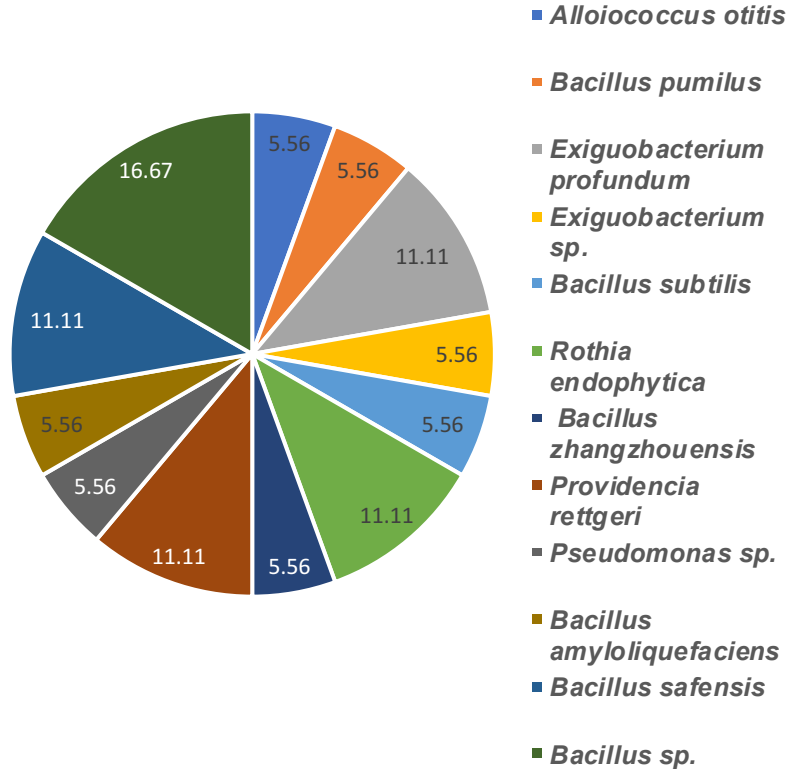
15% *Shewanella algae* y *Exiguobacterium sp*, *Bacillus sp.* y *Staphylococcus xylosus* 11,11% y las especies otras especies representaron el 5% de abundancia

Resultados

Abundancia por zona muestreada

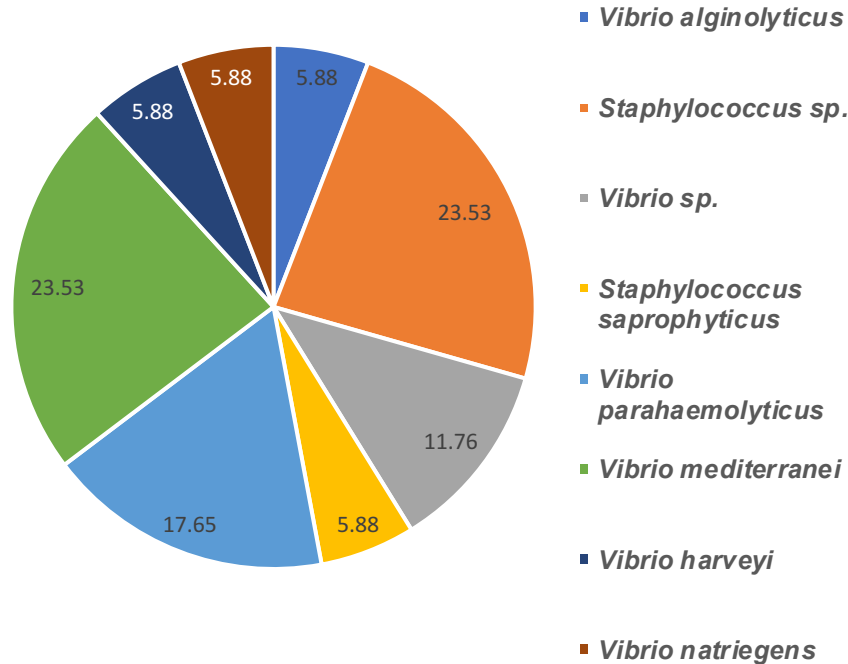


Bacterias secuenciadas en la zona de Santa Elena.



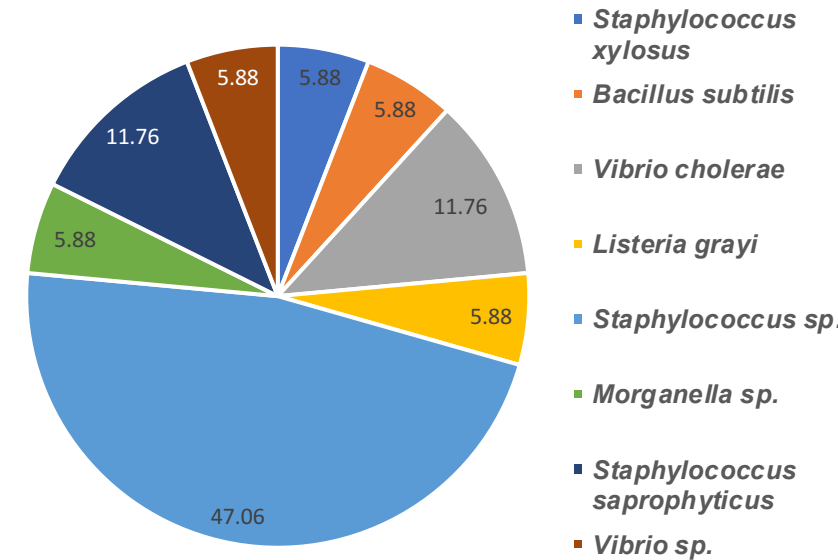
B. sp. 16,67%, *B. safensis*, *Exiguobacterium profundum*, *Rothia endophytica* razón de 11,11% y 5,56% en *A. otitis*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. zhangzhouensis*, *B. amyloliquefaciens*, *Exiguobacterium sp.* y *Pseudomonas sp.*

Bacterias secuenciadas en la zona de Morro.



V. mediterranei, *Staphylococcus sp.* 23,53%, la especie, *V. parahaemolyticus* 17,65%, *V. sp.* 11,76%, *Staphylococcus saprophyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio harveyi* y *Vibrio natriegens* de 5,88%

Bacterias secuenciadas en la zona de Sabana Grande



Staphylococcus sp. 47,06%, *Staphylococcus saprophyticus*, *V. cholerae* 11,76%, *Morganella sp.*, *Vibrio sp.*, *S. xylosum*, *B. subtilis*, *Listeria grayi* 5,88% cada una de ellas .

Resultados

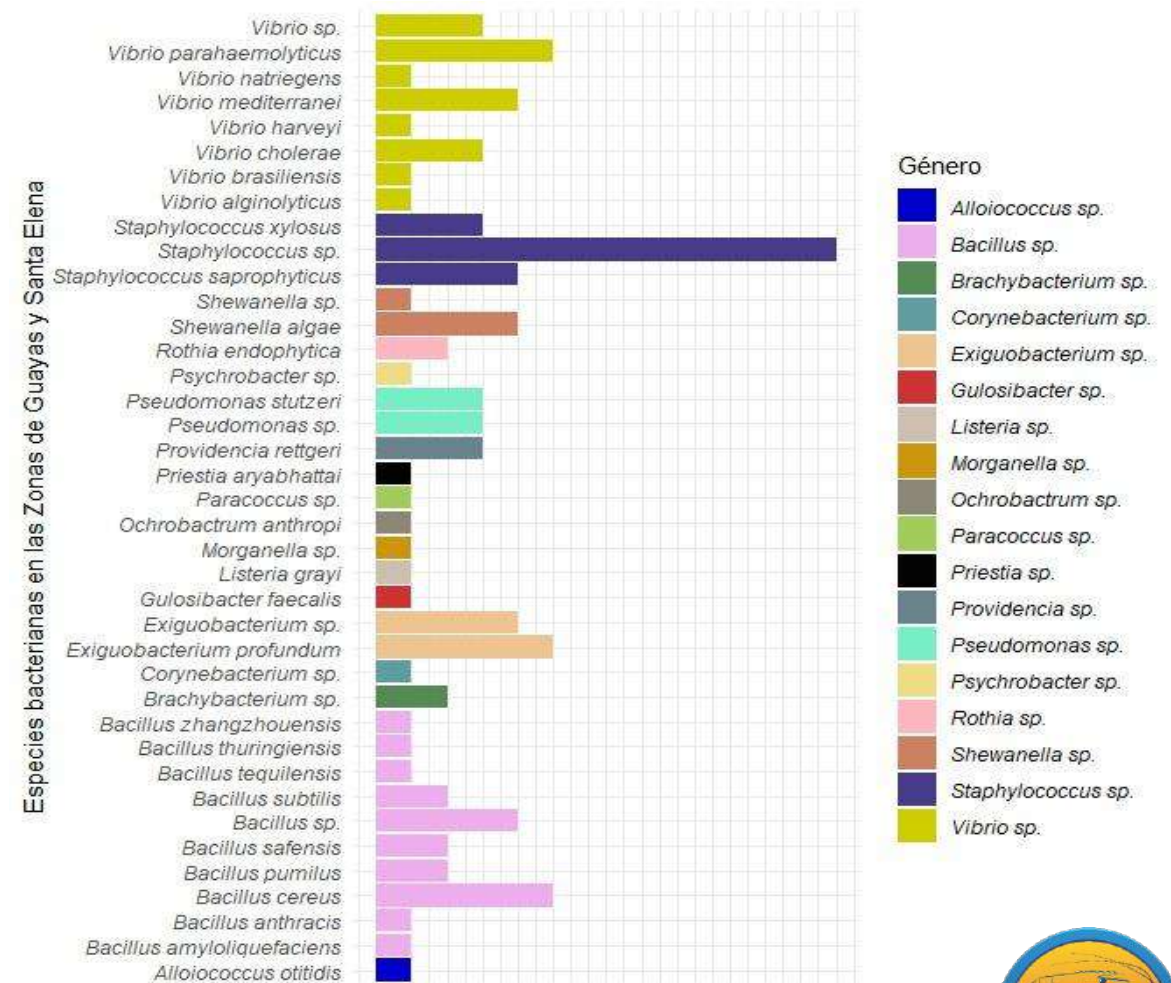
Identificación de aislados bacterianos

Se detectaron 18 géneros en las zonas muestreadas de Guayas y Santa Elena.

Staphylococcus sp. 21,88%
Bacillus sp, 20,83%
Vibrio sp. 19,79%.
Exiguobacterium sp. 9,38%
Pseudomonas sp. 6,25%
Shewanella sp. 5,21%
Providencia sp. 3,13%
Brachybacterium sp. 2,08%
Rothia sp. 2,08%

Paracoccus sp.
Listeria sp.
Priestia sp.
Ochrobactrum sp.
Psychrobacter sp.
Gulosibacter sp.
Corynebacterium sp.
Morganella sp.
 Representaron 1,04% de
 abundancia cada uno de
 ellos.

Número de bacterias identificadas en las zonas productivas de Guayas y Santa Elena.

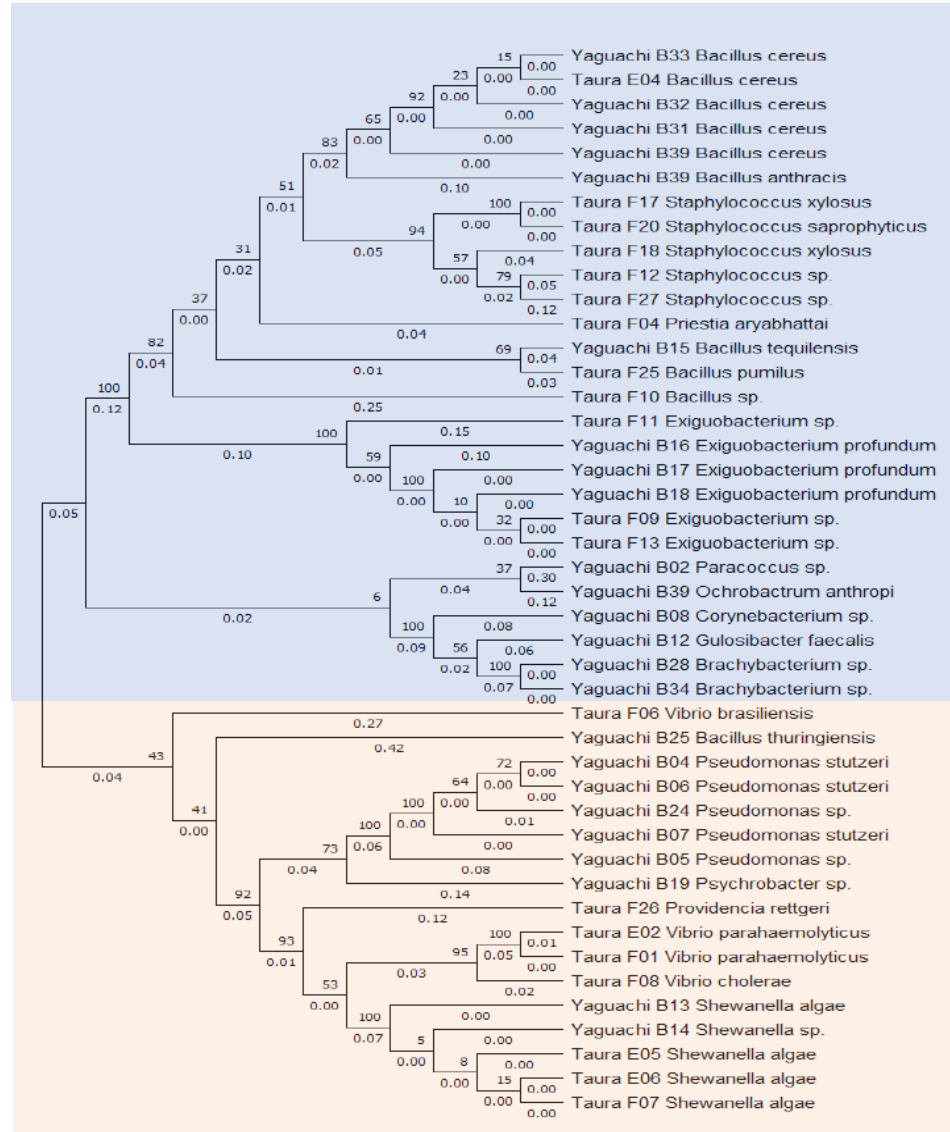


Nota. Géneros y Especies bacterianas identificadas por la Herramienta de Alineación Local Básica BLAST.

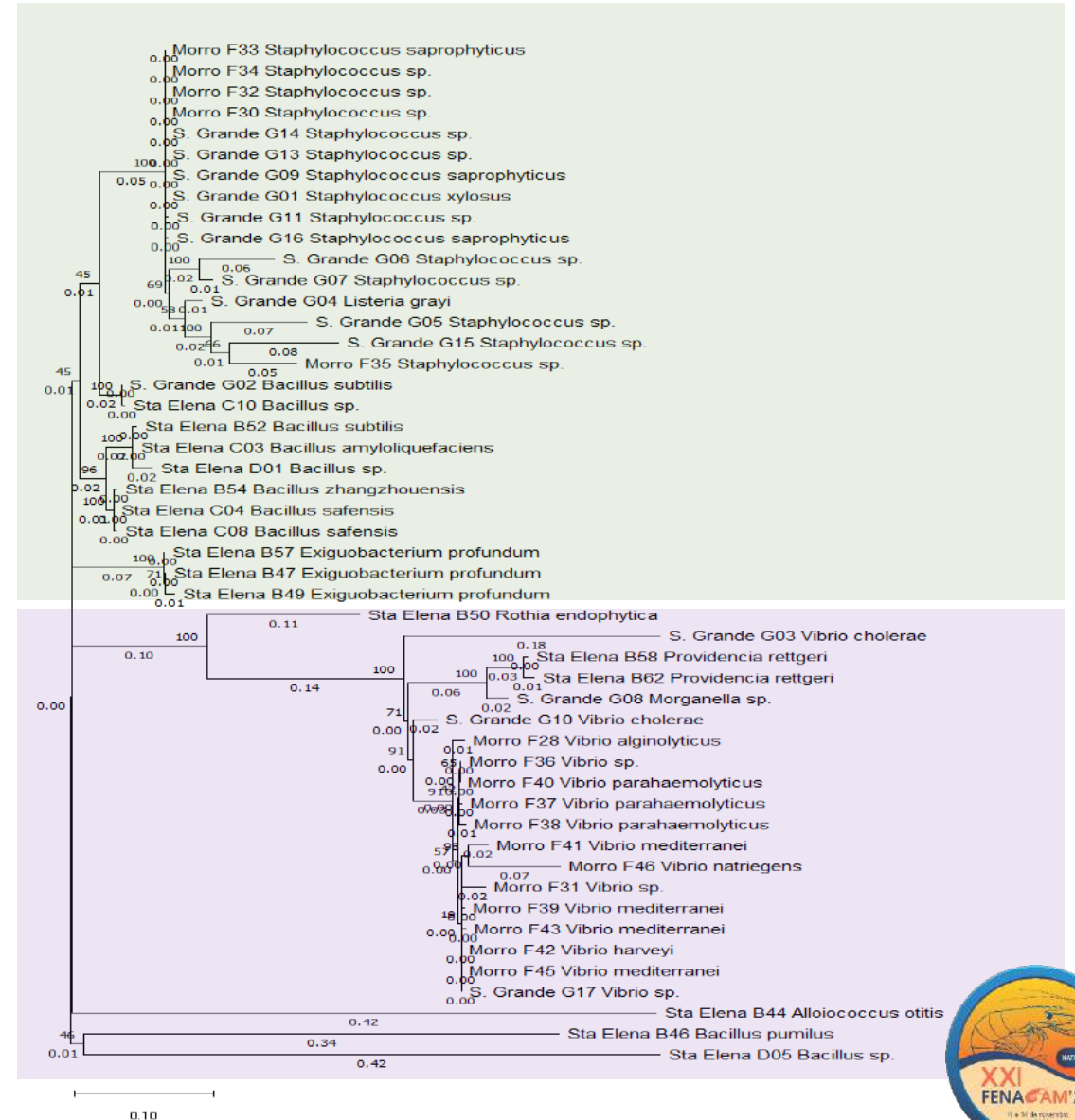


Resultados

Árbol filogenético en zonas de Yaguachi y Taura



Árbol filogenético en zonas de Sabana Grande, Santa Elena y el Morro



1/

Los agares selectivos como el TCBS, CHROMOAGAR, CETRIMIDE **no presentaron especificidad**, pudiendo inducir sesgos al permitir el crecimiento de bacterias tolerantes a la sucrosa. (Sirvas et al., 2021, Gao et al., 2019).

2/

Kit Api20 identificó principalmente *Aeromona hydrophila* 3,39%, *P. aeruginosa* 22,03%, *Shewanella putrefaciens* 1,69%, *V. alginolyticus* 33,90%, *V. parahaemolyticus* 22,88%, *V. vulnificus* 16,10%

3/

Enfoques **moleculares** identificaron **otros géneros y especies**, en comparación con el método tradicional API20 NE (Khodzori et al., 2021; Khouadja et al., 2022).

4/

18 géneros identificados en las 5 zonas asociadas a patogenicidad: ***Vibrios sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Shewanella algae*, *Staphylococcus sp.*, *Providencia rettgeri*, *Gulosibacter faecalis*, *Listeria grayi*, *Morganella sp.***

5/

Las cepas *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*, *S. putrefaciens*, *V. parahemoliticus*, *V. vulnificus*; *V. alginolyticus* algunos de los serotipos analizados, fueron los mas **resistentes a la gran mayoría de antibióticos** analizados, independiente de la zona y la salinidad de donde fueron aisladas.

6/

La Enrofloxacin presentó una alta sensibilidad en el control de *A. hydrophila* y *V. alginolyticus* con $18 \pm 0,43$ mm.

Ante la enfermedades AHPND causada por *Vibrio parahaemolyticus*, (toxinas Pir A y Pir B), **puede ser una alternativa, sin embargo fue prohibido.**

7/

Los ácidos orgánicos presentaron valores de **800 a 1000 ppm con efecto bactericida** sobre las bacterias resistentes. Los **aceites esenciales con resultados 100 a 50 ppm.**

La mezcla de ácidos orgánicos y Ac. Esenciales potencializa su **acción bactericida**, siendo una excelente alternativa de uso.

8/

Se hallaron bacterias relacionadas a **contaminación antropogénica** como ***Staphylococcus xylosus*, *S. saprophyticus*, *Gulosibacter faecalis*, *Listeria grayi* y *Morganella***

9/

Se encontraron cepas probióticas como ***Bacillus sp.*, *Exiguibacterium sp.*, *Paracoccus sp.*** esta última utilizada en probióticos para peces.

Bacillus thuringiensis estuvo asociado evolutivamente a **cepas de *Pseudomonas sp.***, debido a la versatilidad metabólica que tienen las bacterias.

10/

Povidencia rettgeri fue detectada en Santa Elena, siendo una especie **capaz de compartir genes de resistencia a antibióticos**, debido a su cercanía filogenética con los vibrios.



GRACIAS

Sonnya Mendoza Lombana Ph.D.

smendoza@upse.edu.ec

