Probiotics Microalgae

Nasrin Moazami
Professor, Biotechnology Department
Iranian Research Organization for Science and Technology , 2012

كاربرد انتي بيوتيك ها

- بيش از 50سال است كه از انتي بيو تيك ها براي درمان و كنترل ميكروارگانيسمهاي بيماريزاي انسان .دام و ابزيان استفاده شده است.نتيجه اين مصرف گسترده بروز مقاومت و كاهش كارايي استفاده از انتي بيوتيك ها است .هرچند كه بر اساس نظريه Levy 1989مقاومت به بسياري از انتي بيوتيك ها به ميليون ها سال قبل بر ميگردد كه ميكرو ارگانيسمهاي موجود در طبيعت براي از بين بردن رقباي محيطي انتي بيوتيك توليد ميكرده اند .مصرف گسترده و رها شدن ان در طبيعت مهمترين عامل گسترش مقاومت دارويي است
- طي دهه هاي گذشته انتي بيو تيك به مقدار وسيع در درمان بيماريهاي عفوني انسان و دام .بصورت فاكتور رشد در پرورش دام و در ابزي پروري براي كنترل ميكرو ارگانيسمهاي بيماريزا مصرف شده اند.

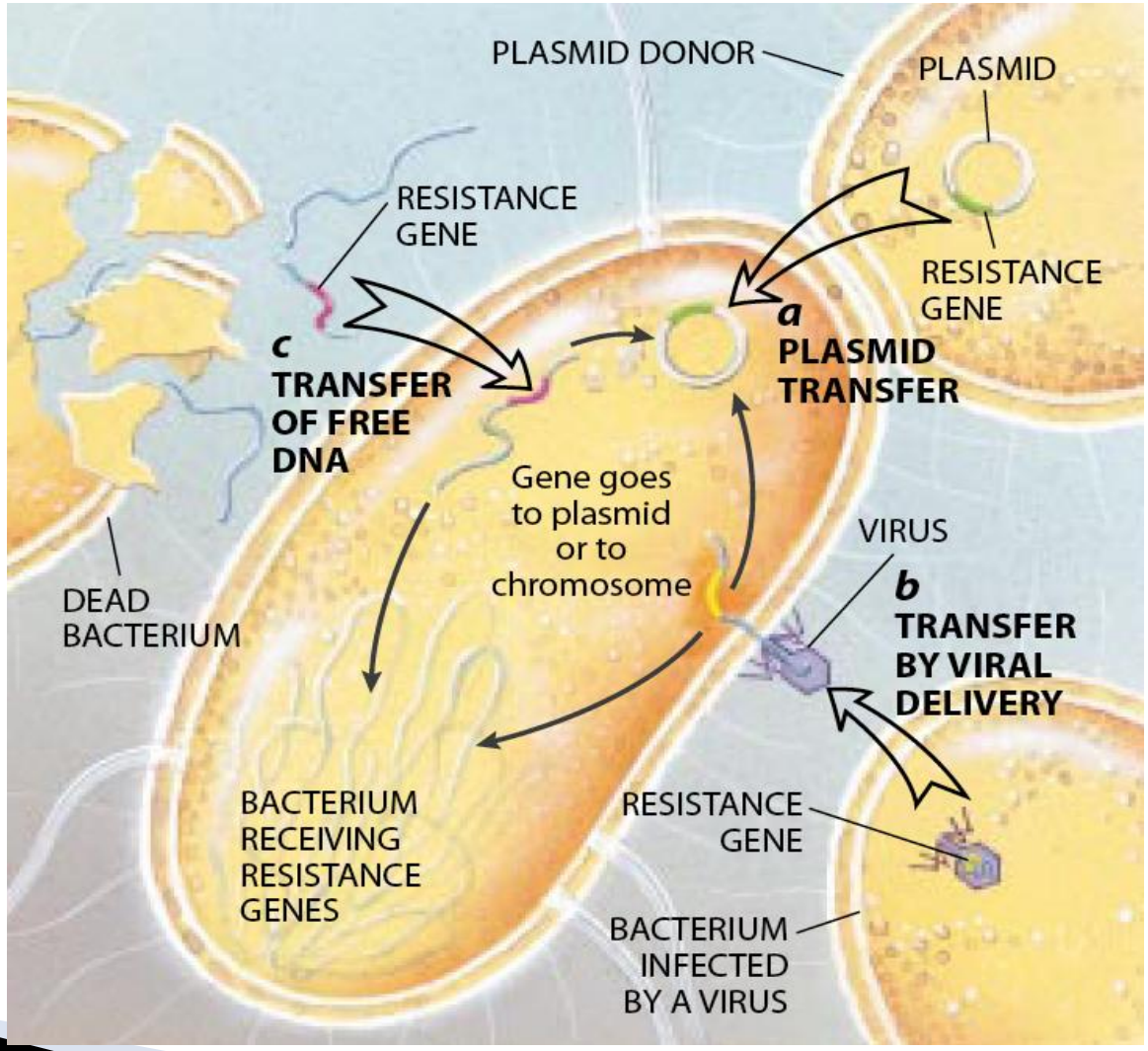
كاربرد انتي بيوتيك ها

بروز مقاومت به انتي بيوتيك طي بيست سال

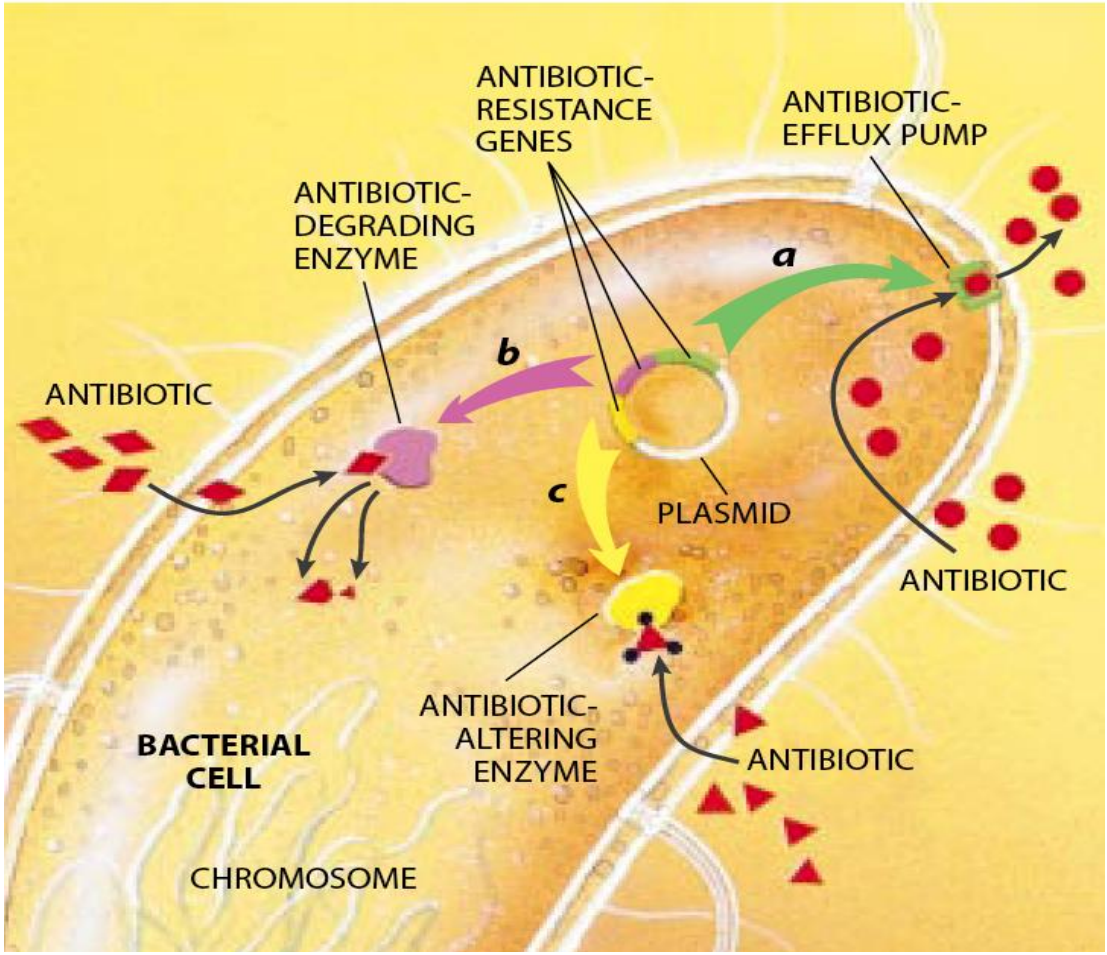
Antibiotic	Year Deployed	Resistance Observed
Sulfonamides	1930s	1940s
Penicillin	1943	1946
Streptomycin	1943	1959
Chloramphenicol	1947	1959
Tetracycline	1948	1953
Erythromycin	1952	1988
Vancomycin	1956	1988
Methicillin	1960	1961
Ampicillin	1961	1973
Cephalosporins	1960s	late 1960s

Table 20.2 Microbiology: A Clinical Approach (© Garland Science)

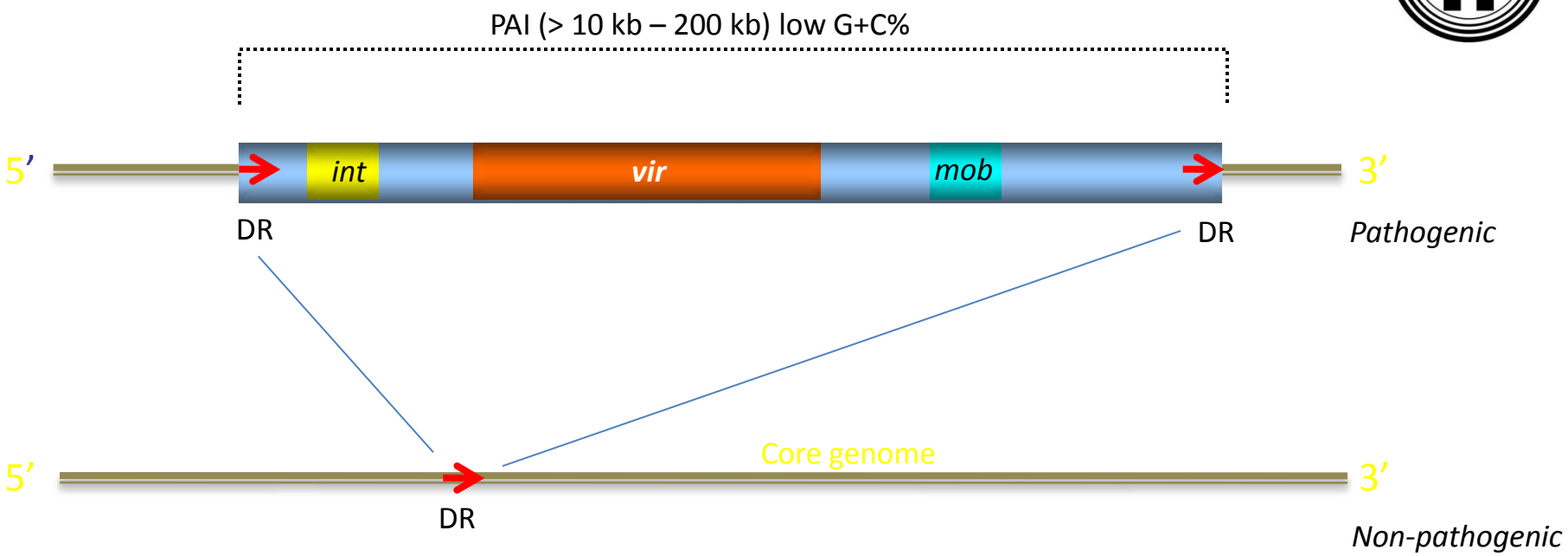
انتشار عوامل ژنتيكي مقاومت



…EVOLUTION OF RESISTANCE TO ANTIBIOTIC



Pathogenicity Islands

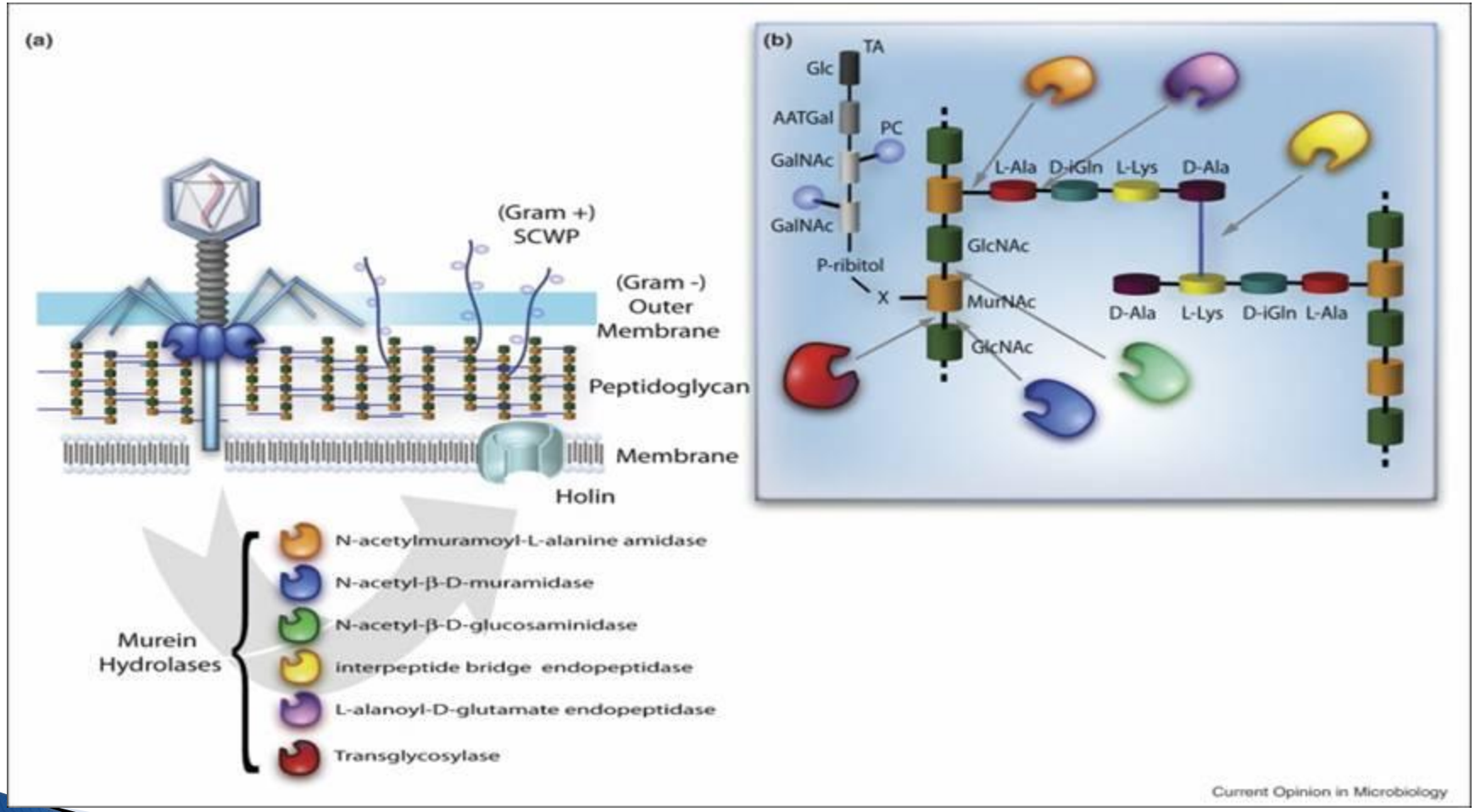


tRNA gene (DNA) or
tmRNA gene (*ssrA*)

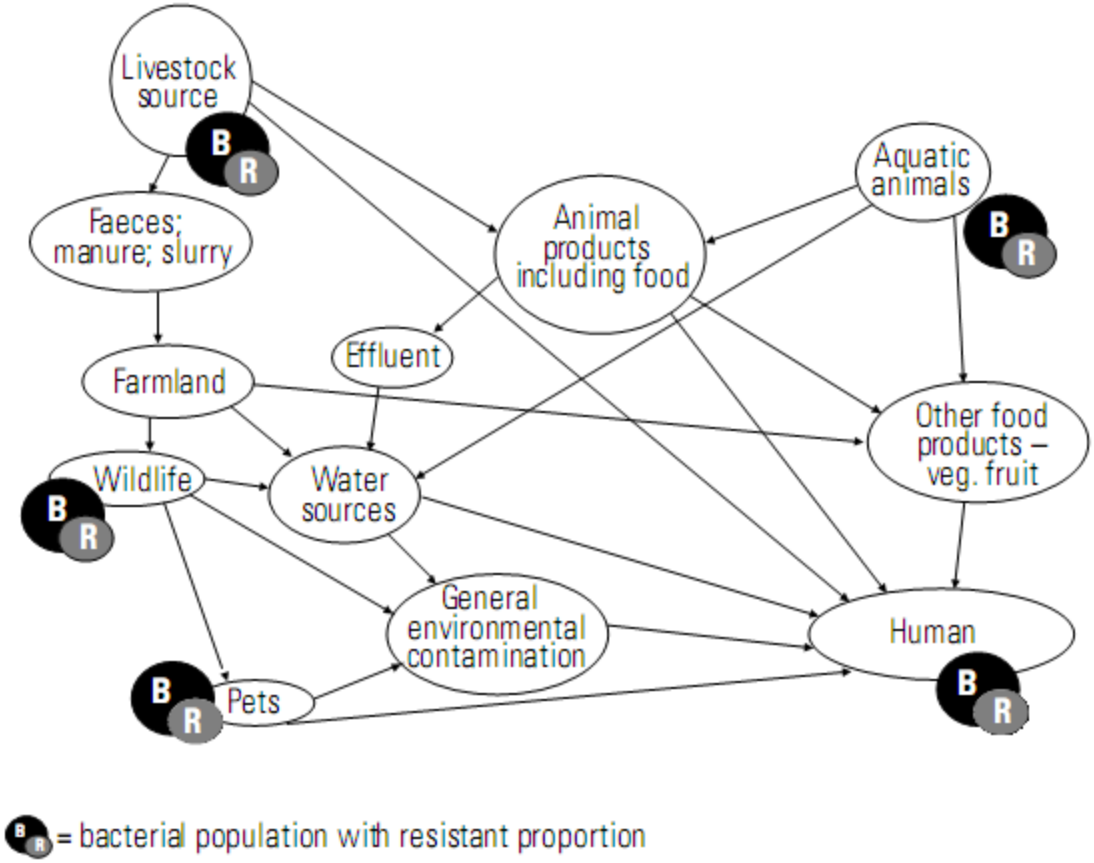
int = Integrase
vir = Virulence-associated genes
mob = Integrases, Transposases, Insertion Element, etc.

e.g., *V. cholerae* (VPI), *S. enterica* (SPI), *Sh. flexneri* (SHI), *S. aureus* (SaPI), EPEC (LEE)

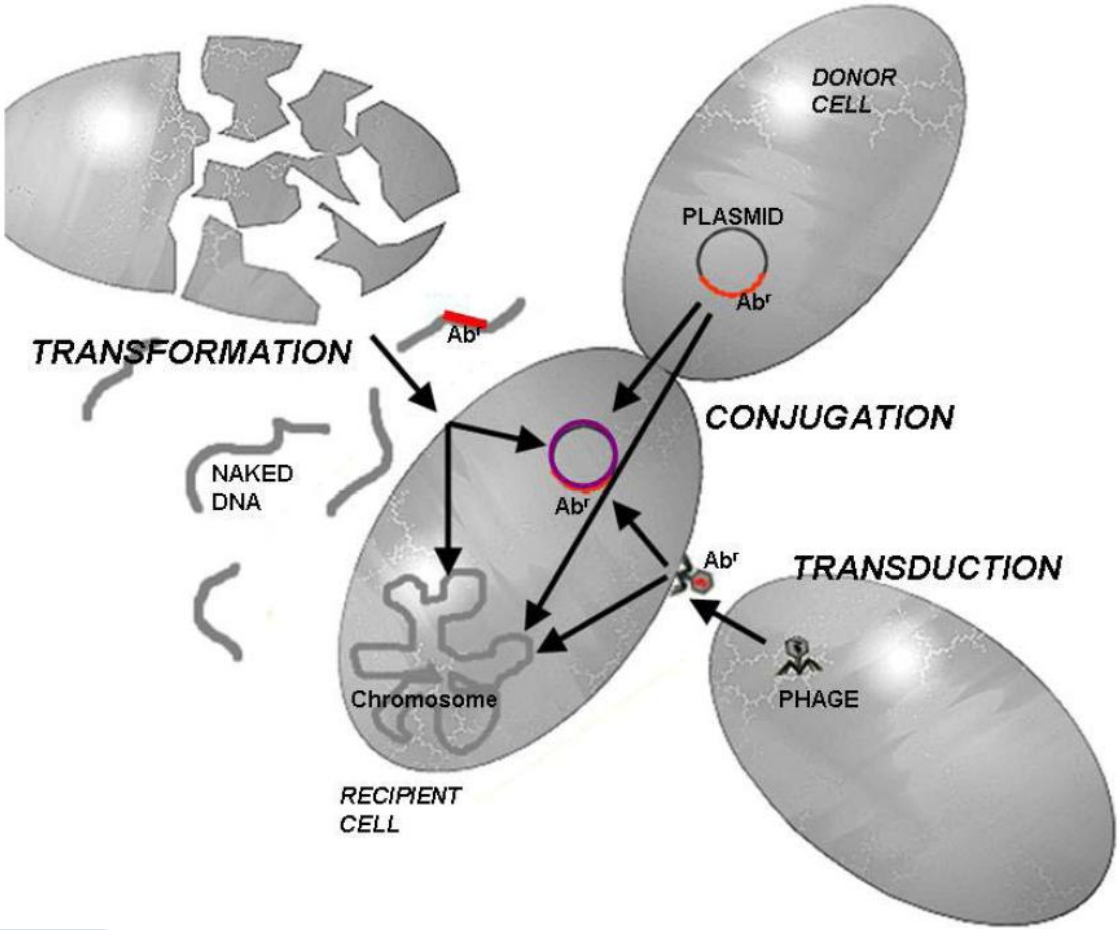
باکتریوفاژ


(a)
(Gram +)
SCWP
(Gram -)
Outer
Membrane
Peptidoglycan
Membrane
Holin
Murein
Hydrolases
N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase
N-acetyl-β-D-muramidase
N-acetyl-β-D-glucosaminidase
interpeptide bridge endopeptidase
L-alanoyl-D-glutamate endopeptidase
Transglycosylase
(b)
TA
Glc
AATGal
PC
GalNAc
GalNAc
P-ribitol
X
GlcNAc
MurNAc
GlcNAc
L-Ala
D-iGln
L-Lys
D-Ala
D-Ala
L-Lys
D-iGln
L-Ala
Current Opinion in Microbiology

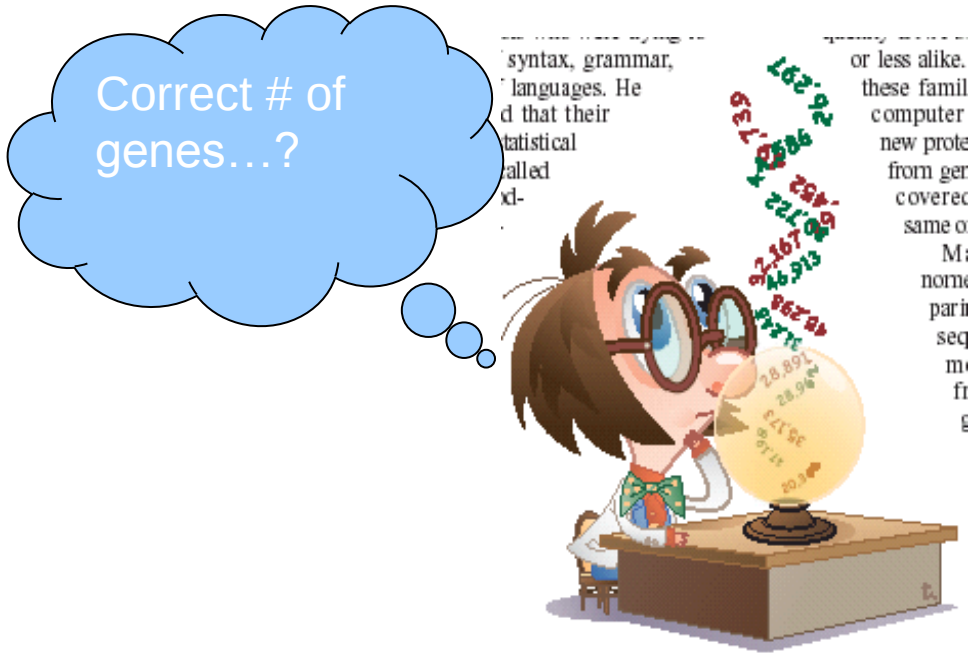
Resistant to Antibiotics



Acquisition of antibiotic resistance genes



Knowledge of Full Genome sequence: Solutions or new questions…?

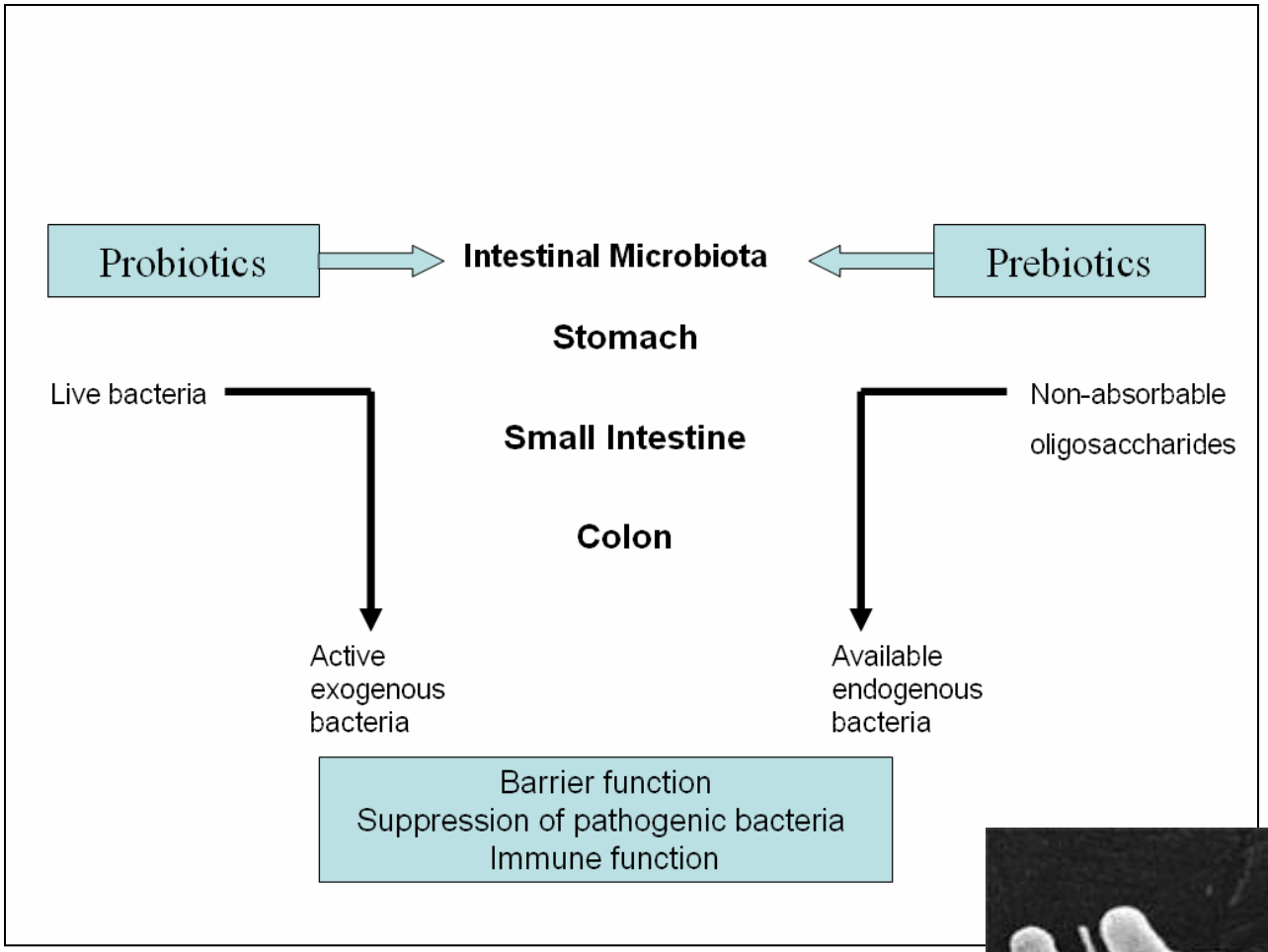


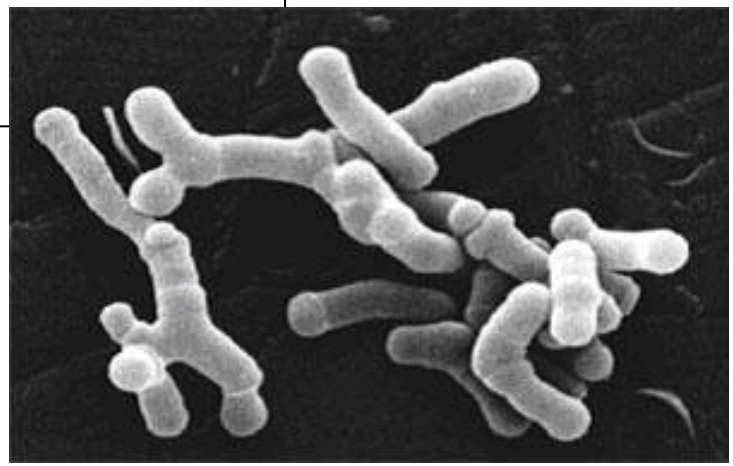
Still struggling with the gene counters…

پروبيوتيك ها

پروبيوتيک ها تنها ميکرو ارگانيسمهای زنده ای هستند که با خواص دارويي و براي تقويت سيستم دفاعي بدن مصرف می شوند

اثر فيزيولوژيک آن ها شامل تنظيم PH دستگاه گوارش ، توليد بعضی از آنزيمهای هضم کننده غذا ، توليد ويتامين ها ، اسيدهای آلی ، باکتريوسين ها ، هيدروژن پراکسيد ، مواد رقابت کننده باکتريال ، لاکتون ها ، دی استيل ، استالدئيد و بسياری مواد ديگر که سبب ايجاد تعادل طبيعی در دستگاه ايمنی و گوارش می شود ميباشد

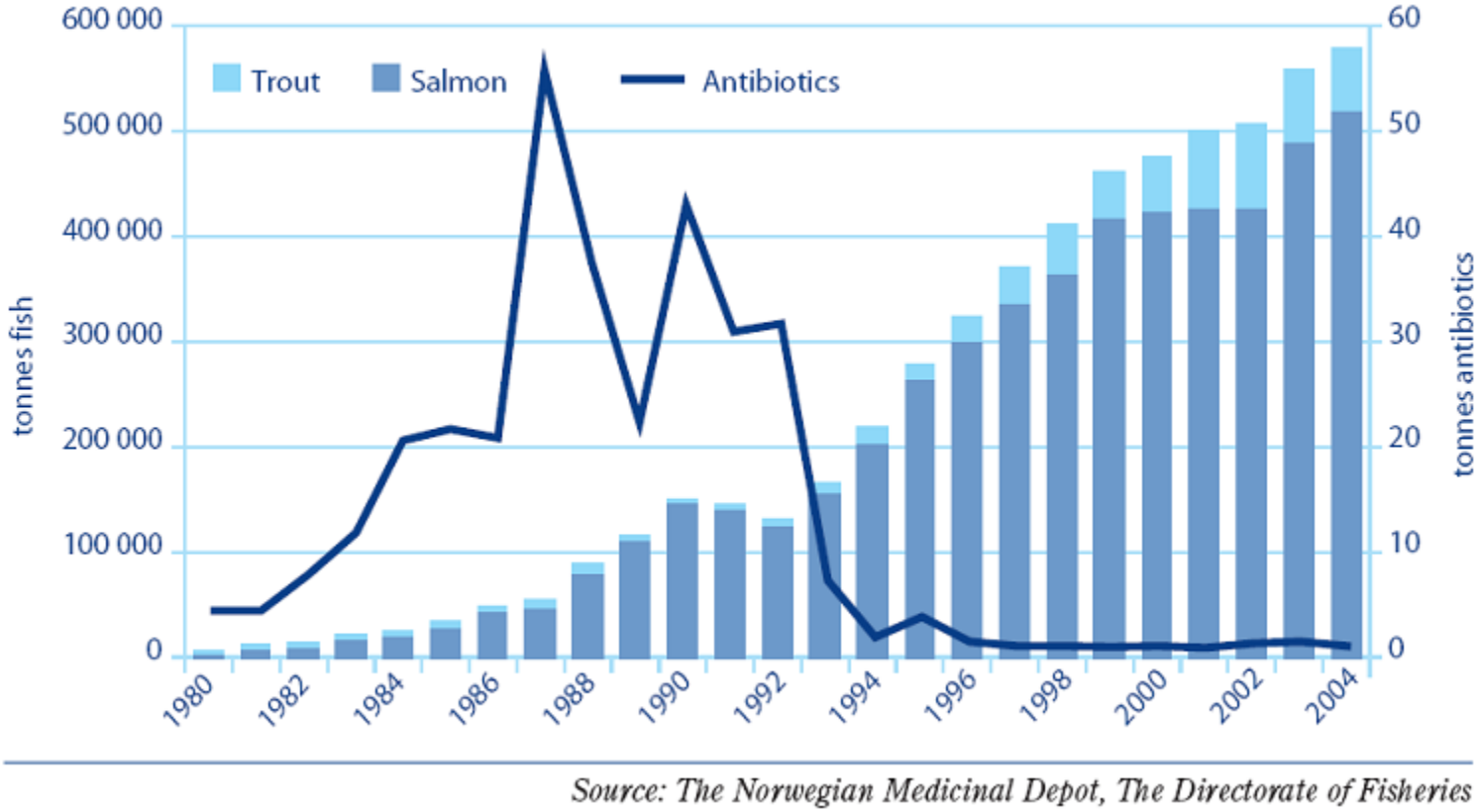

Probiotics
Intestinal Microbiota
Prebiotics
Stomach
Live bacteria
Small Intestine
Non-absorbable
oligosaccharides
Colon
Active
exogenous
bacteria
Available
endogenous
bacteria
Barrier function
Suppression of pathogenic bacteria
Immune function



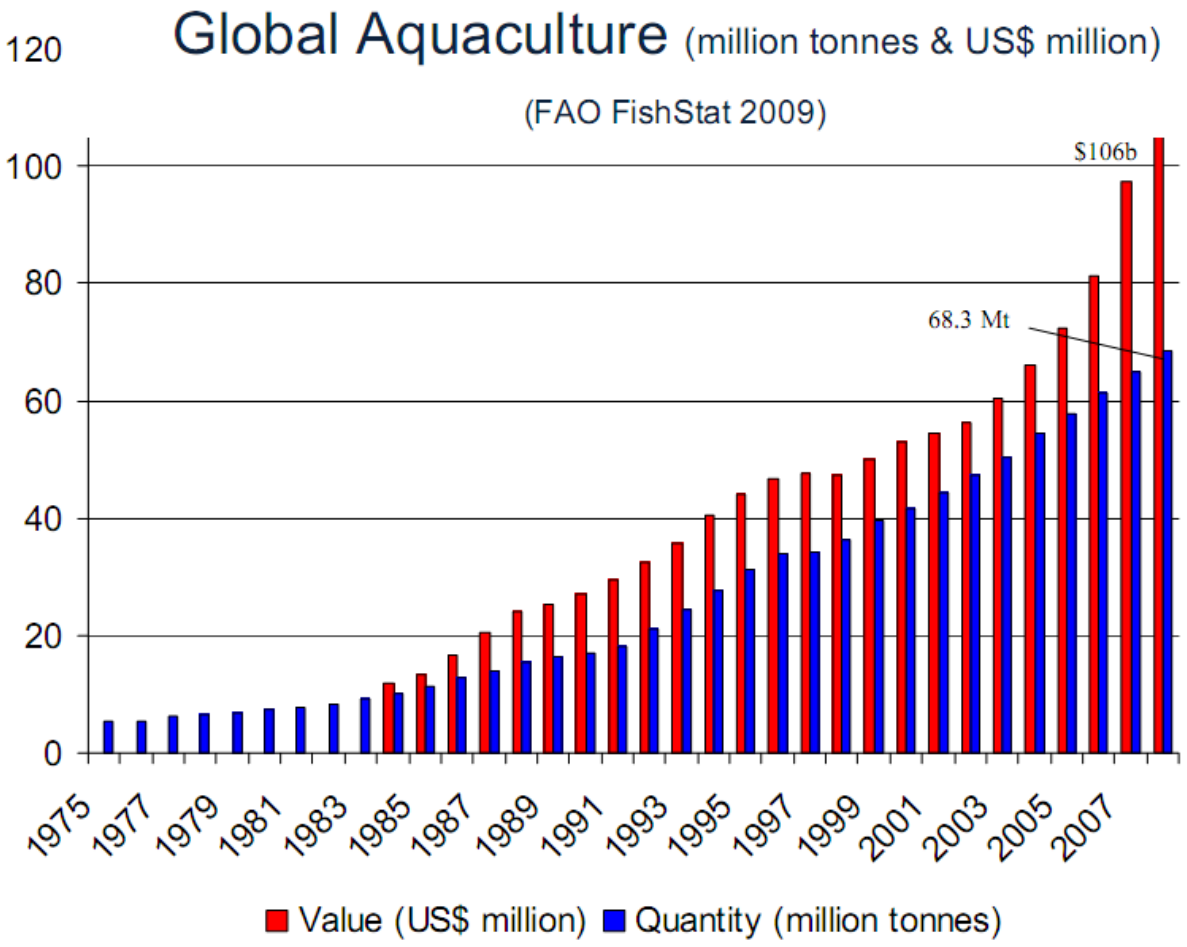
باكتريهاي پروبيوتيك

- امروزه پرو بيوتيك ها بصورت مكمل غذايي . دارو .محرك سيستم ايمني و پيشگيري كننده از ميكروارگانيسمهاي بيماريزا براي سلامت انسان .در ابزي پروري براي كنترل بيماريها و بعنوان فاكتور رشد در پرورش حيوانات استفاده ميشود .
- بطور عمومي اغلب باكتريهاي لاكتيك براي اين منظور توليد ميشوند .اين باكتريها بطور طبيعي در دستگاه گوارش انسان .حيوانات وابزيان سالم وجود دارند و از كلونيزيشن باكتريهاي پاتوژن ممانعت ميكنند .
- در محيط اب ابزيان در معرض تها جم باكتريهاي پاتوژن هستند كه از طريق تغذيه اب يا تنظيم اسمزي اب وارد بدنشان ميشوند .

Antibiotics application in aqua feed

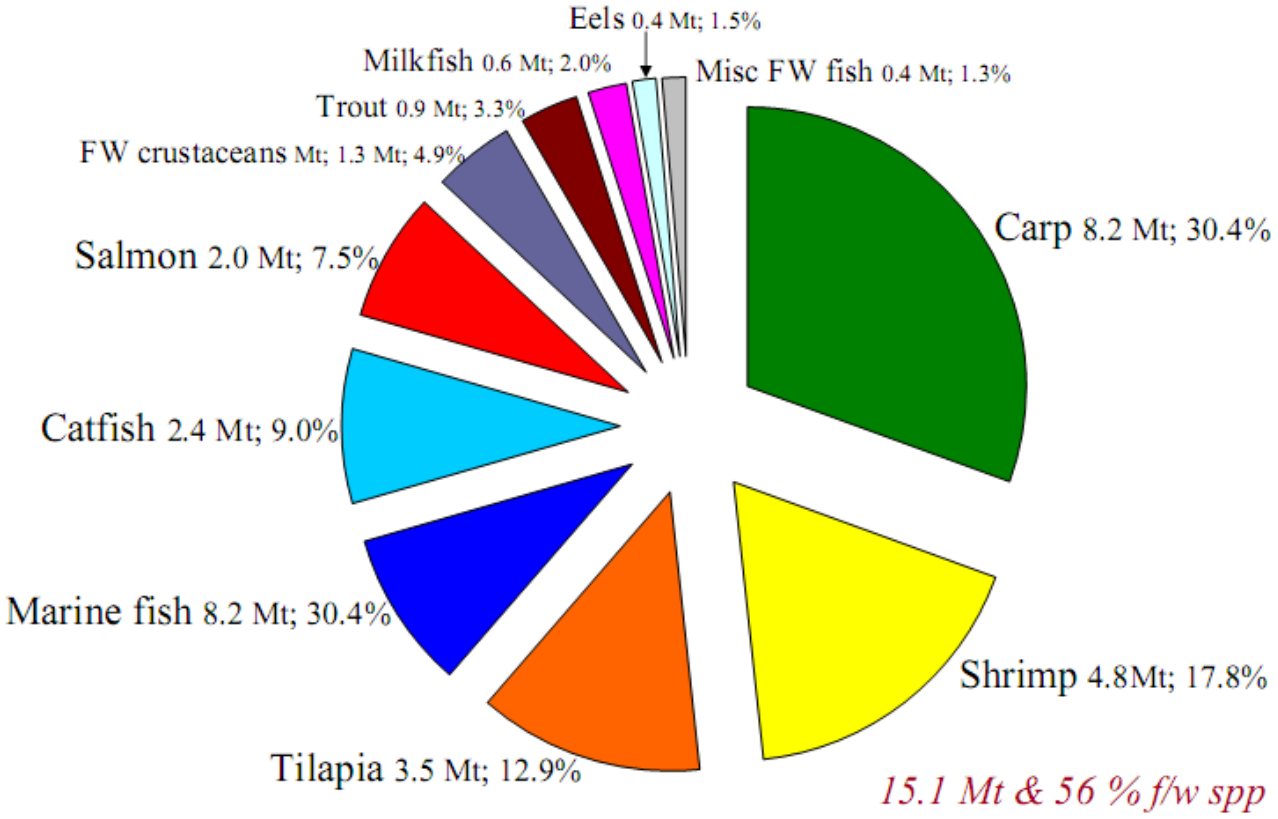


Source: The Norwegian Medicinal Depot, The Directorate of Fisheries


Global Aquaculture (million tonnes & US$ million)
(FAO FishStat 2009)
120
100
80
60
40
20
0
$106b
68.3 Mt
1975
1977
1979
1981
1983
1985
1987
1989
1991
1993
1995
1997
1999
2001
2003
2005
2007
Value (US$ million)
Quantity (million tonnes)

Global aquafeed production in 2007

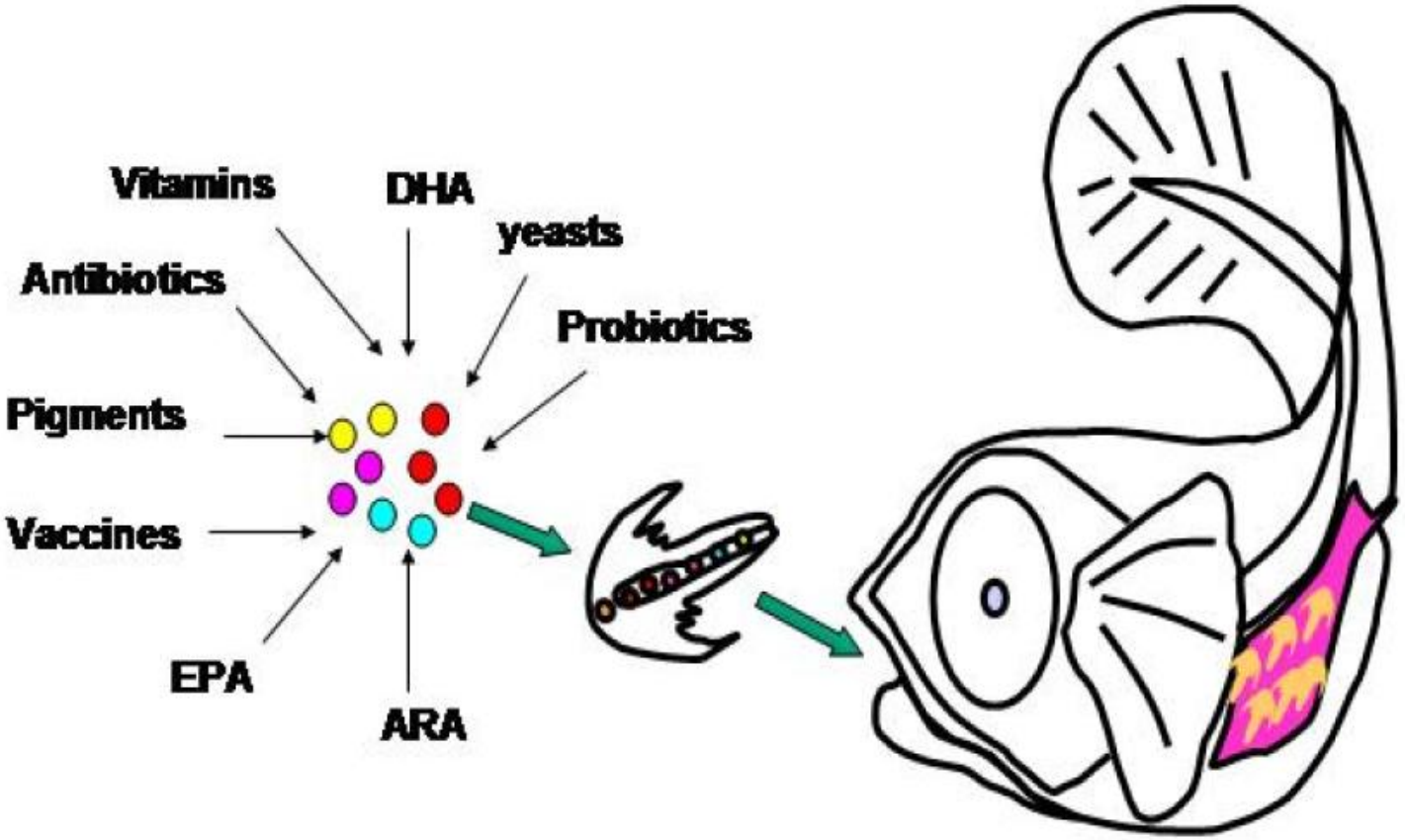
27.1 million tonnes (Tacon et al, 2010)



مصرف انتي بيوتيك ها

- سالیانه از يك تا ده ميليون تن انتي بيوتيك طي 60 سال گذشته در بيوسفر رها شده كه سبب گسترش مقاومت انتي بيو تيكي بخصوص در ميكرو ارگانيسمهاي بيماريزا شده است
- كه درمان انها را مشكل كرده وهزينه هاي درماني را نيز بشدت افزايش داده است.
- با توجه به حضور و تماس باكتريهاي پرو بيوتيك در دستگاه گوارش احتمال مقاومت دارويي در انها و اختلال در نقش محافظتي ان موجب نگراني شديد است. در صورت بروز اين مقاومت استفاده از انتي بيو تيك هاي درماني با پيچيدگي و مشكلات وسيعي رو برو خواهد شد .
- با توجه به نگراني فوق جامعه پزشكي و كمپاني هاي دارويي در صدد يافتن منابع جديدي با خصوصيات باكتريهاي پرو بيو تيك براي استفاده از ان با اثر رقابت با باكتريهاي بيماريزا و اطمينان از بي خطر بودن ان براي مصارف گسترده در محيط هاي طبيعي هستند .

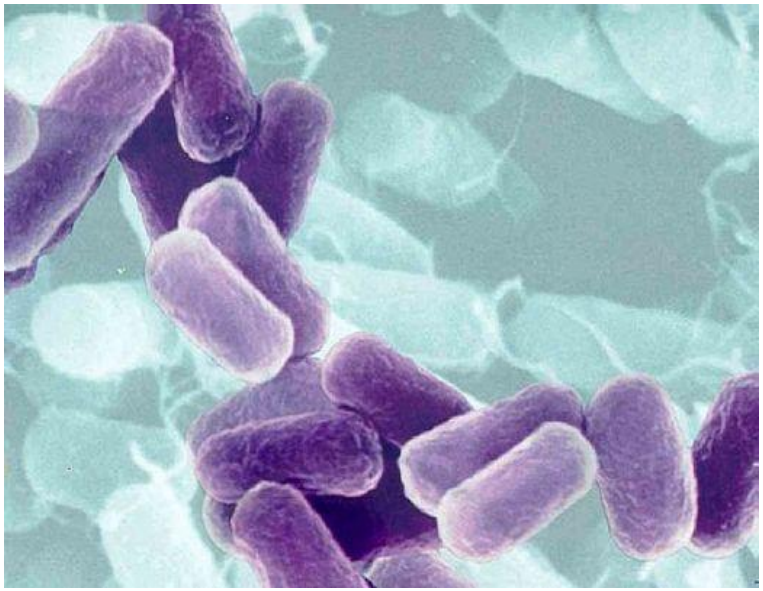
Aqua feed products

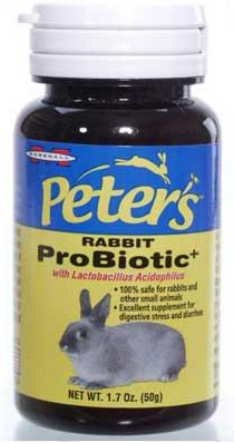


استفاده از باکتريهاي پروبيوتيك در ابزي پروري

- با توجه به گسترش ميكرو ارگانيسمهاي بيماريزا در ابزي پروري باكتريهاي پرو بيو تيك مصرف گسترده اي در ابزي پروري يافته اند و استفاده از روش هاي مطمئن بجاي استفاده از انتي بيوتيك هدف مراكز ابزي پروري است
- بسياري از اين انتي بيوتيك ها كه در محيط اب رقيق ميشوند ميتوانند با ايجاد موتاسيون و انتقال ان به ميكرو ارگانيسمهاي ابزي سبب بروز مقاومت شوند .انتقال ژن مقاومت از طريق Hrizontal Gene Transfer (HGT) و سه طريق ترانسفورميشن .كنژوگيشن يا ترانسدوكشن انتقال ميابد .اين مقاومت دارويي علاوه بر مرگ و مير ابزيان در بدن ابزي متمركز شده و ابزي ناقل باكتريهاي مشترك و مقاوم به انتي بيوتيكي محيطي شود

استفاده از باکتریهاي پروبیوتیك





مقاومت به انتي بيو تيك ها در باكتريهاي پروبيوتيك

- استفاده از انتي بيوتيك در ابزي پروري سبب ايجاد عوامل ژنتيكي قابل جابجايي مقاومت دارويي و انتقال ان به ابزيان محيطي .انسان .حيوانات و ارگانيسمهاي محيط زيست شوند .بسياري از سازمان هاي بين المللي مصرف تعدادي از انتي بيوتيك ها را در پرورش موجوداتي كه بمصرف غذايي انسان ميرسند ممنوع كرده اند
- مقاومت به انتي بيو تيك ها نتيجه يك تبادل ژنتيكي رايج در جامعه ميكرو ارگانيسم هاست .بدليل انكه باكتريهاي لاكتيك نيز در طبيعت و بسياري از از مناطق محيطي مانند دستگاه گوارش موجودات زنده و مواد غذايي وجود دارند از اين شرايط مثتثني نيستند و مقاومت
- انتي بيو تيكي از طريق باكتريهاي بيماريزا ميتواند به باكتريهاي لاكتيك نيز انتقال يافته و از اين طريق توسط مواد غذايي يا مصرف پرو بيوتيك ها به انسان منتقل شود .

Overview of antibiotic resistances reported in the food-associated LAB

Foods	Species	Resistance	References
Raw meat products			
Poultry	*Lb. reuteri* G4	*cat*	Lin et al., 1996
Raw ground pork	*Lb. reuteri* 100-63	*erm*(T)	Tannock et al., 1994
	Lb. plantarum caTC2R	Cm	Ahn et al., 1992
Raw ground pork and beef	*Lb. sakei*, *Lb. curvatus*, *Lb. plantarum*, *Lb. brevis*, *Leuco. mesenteroides*	Tetracycline (69%); chloramphenicol (3%); methicillin (85%)	Vidal and Collins-Thompson, 1987
Fermented products			
Raw milk soft cheese	*Lc. lactis* strain K214	*Str–tet* (S)–*cat*	Perreten et al., 1997b
Greek cheese	*Lb. acidophilus* ACA-DC 243	Penicillin	Charteris et al., 1998
Yoghurt starter cultures	*S. thermophilus* and *Lb. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*	Neomycin, polymyxin B	Sozzi and Smiley, 1980
Nigerian fermented foods and beverages	*Lb. pentosus*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. brevis*, *Lb. plantarum*, *Lb. jensenii*	Tetracycline (42.5%) Erythromycin (17.5%) Ampicillin (47.5%) Cloxacillin (80%); penicillin (77.5%);	Olukoya et al., 1993
Fermented dry sausages	*Lactobacillus* species	Tetracycline Gentamicin (79%) Penicillin G (64%) Kanamycin (79%)	Gevers et al., 2003
Turkish yoghurts	S. thermophilus	Vancomycin (65%)	Aslim and Beyatli, 2004
European probiotic products	*Lb. acidophilus*, *Lb. rhamnosus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonnii*, *Lb. plantarum*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbreukii* spp. *bulgaricus*	Tetracycline (26%) Penicillin G (23%) Erythromycin (16%) Chloramphenicol (11%)	Temmerman et al., 2002
Others			
Maize silage	*Lb. plantarum* 5057	*tet* (M)	Danielsen, 2002

میکرو الگ ها

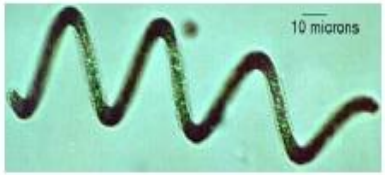
- میکرو الگ ها از 3.5میلیارد سال قبل ساکنان اقیانوس ها و آبهاي شیرین اند
- براساس خصوصیات مرفولوژیك .رنگدانه ها و قدرت جذب طیف هاي مختلف نور طبقه بندي مي شوند .ساختار متابولیکي آنها ویژه است و تقریباً کلیه خصوصیات حیوانات، گیاهان و باکتریها را در بر مي گیرد .
- در شرایط محیطي مختلف وجود دارند و مجموعه بزرگي از مواد صنعتي مهم مانند چربي، روغن، قند، پروتئین، ویتامین، فاکتورهاي رشد، آنزیمها و مواد داروئي راتولید مي کنند.
- میکرو الگ ها بصورت غذاي زنده براي پرورش صدف ها خرچنگ میگو و ماهي مصرف

Pivotal species for Biotechnology

microalgae

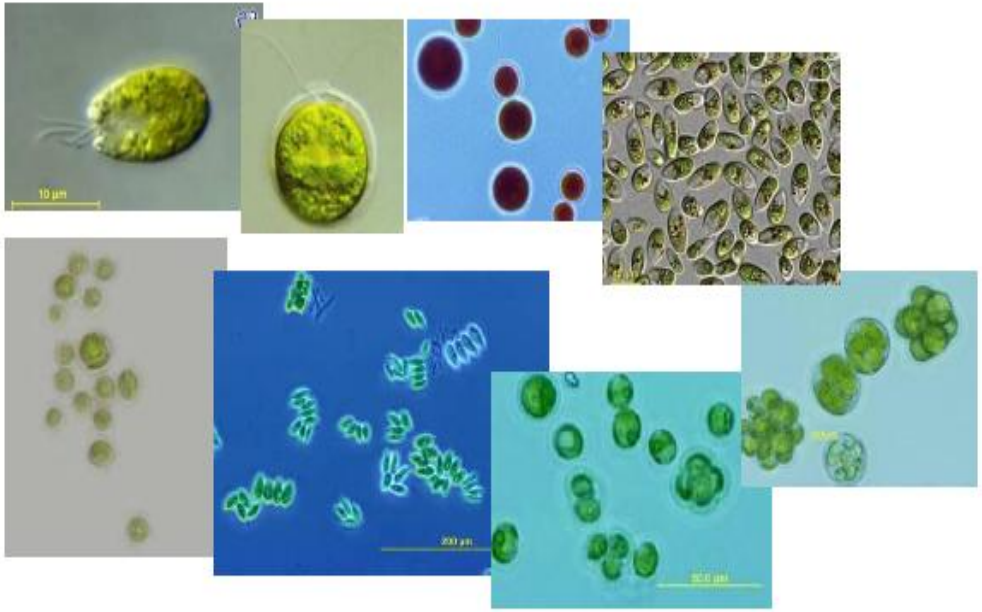
Cyanobacteria

Arthrospira sp. (common name spirulina)

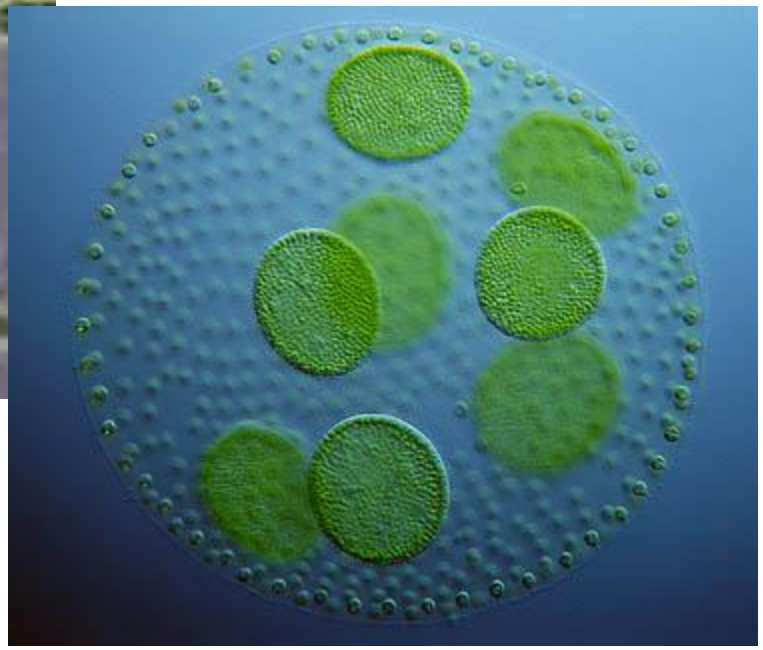


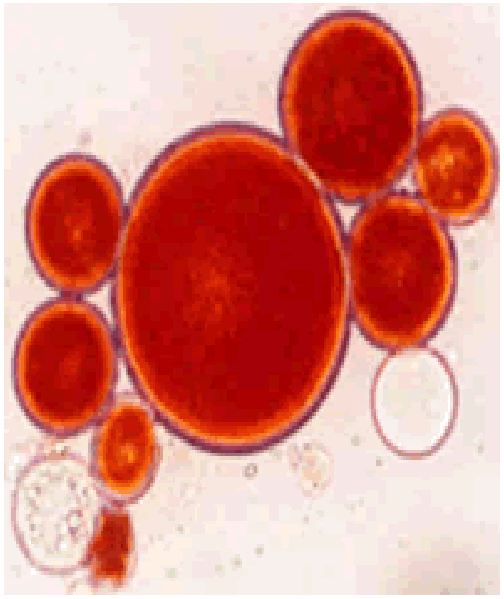
Chlorophyta

Tetraselmis sp.
Chlamydomonas reinhardtii
Haematococcus pluvialis
Dunaliella sp.
Neochloris oleoabundans
Scenedesmus sp.
Chlorella sp.
Parietochloris incisa



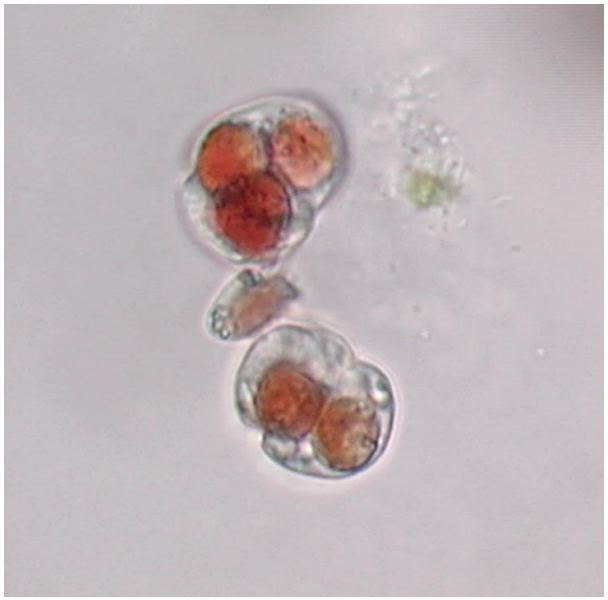
Microalgae

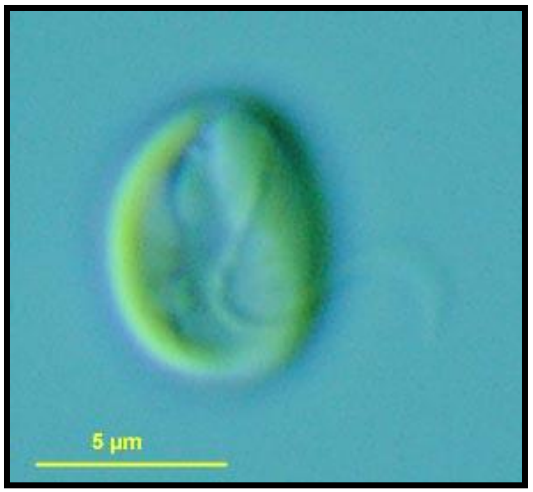


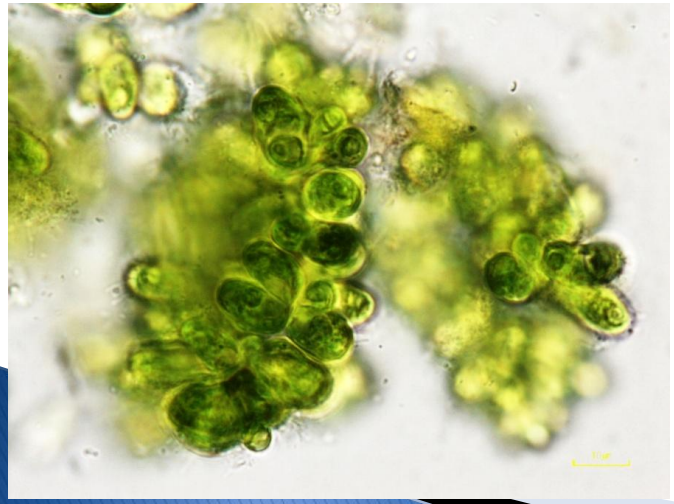


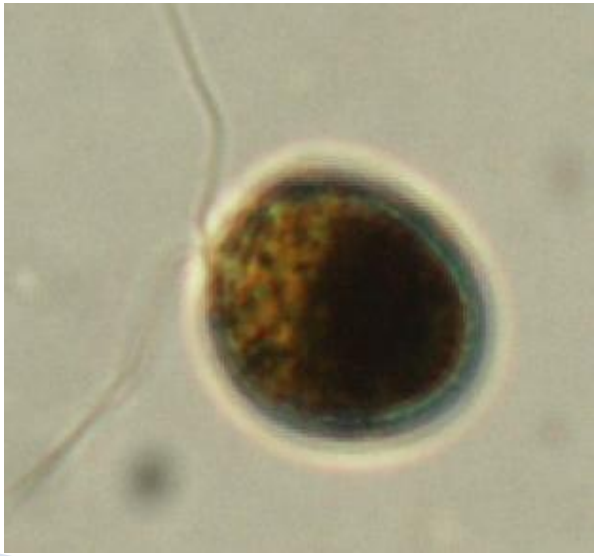
Cyanobacteria have been found from 3.5 billion years ago they created the atmopsphere

Microalgae

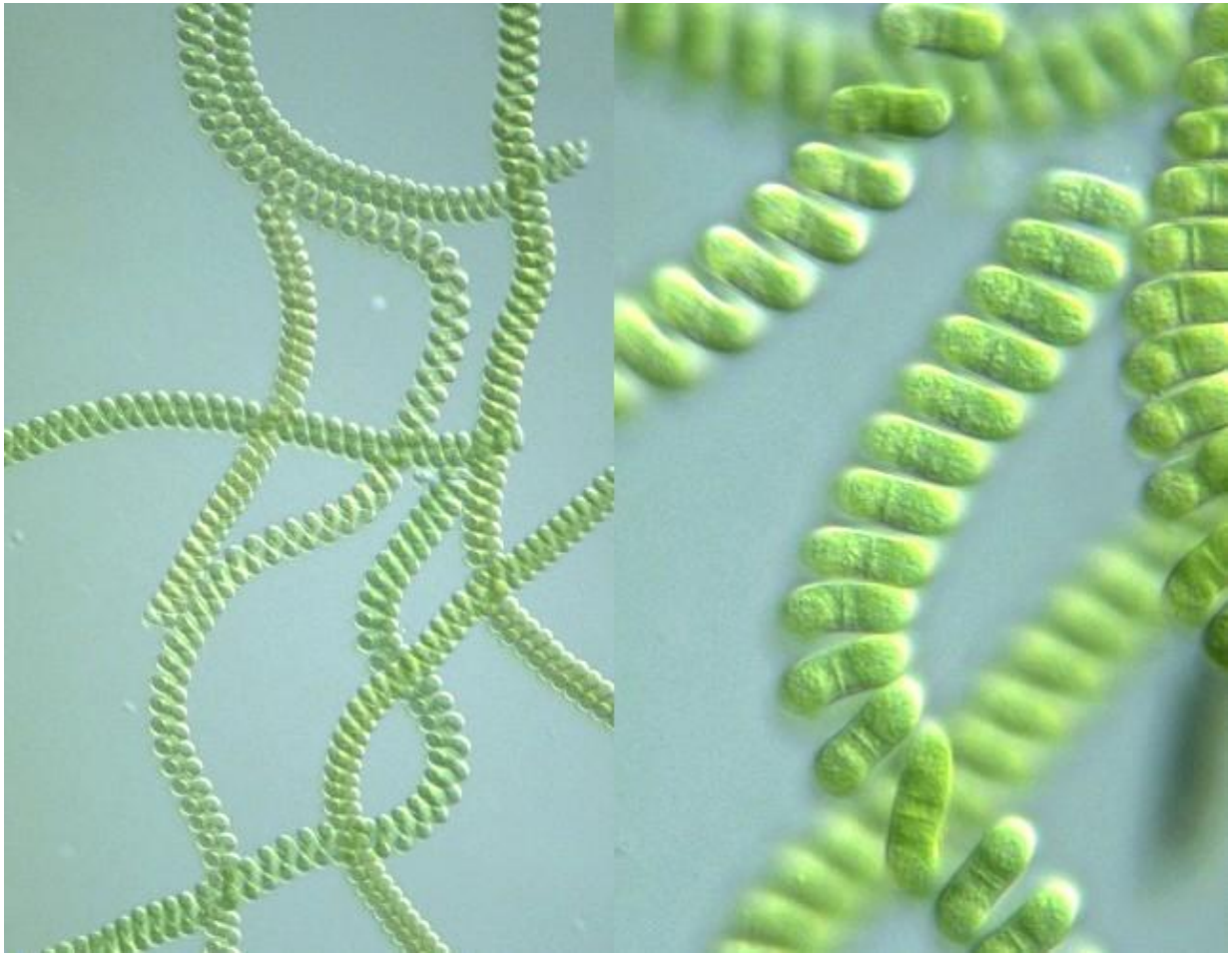




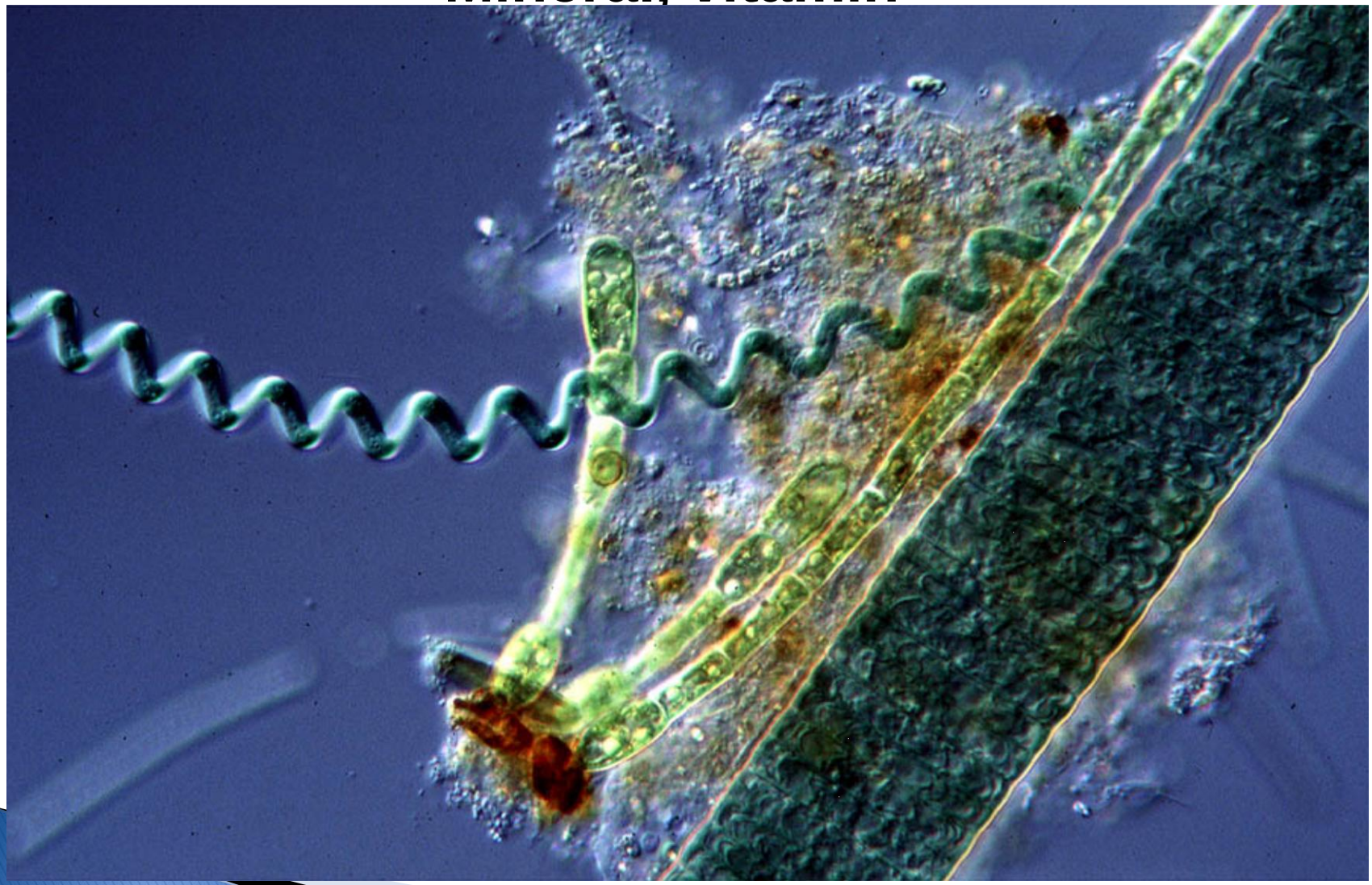




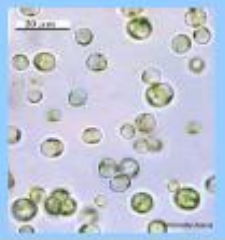
Arthrospira platensis

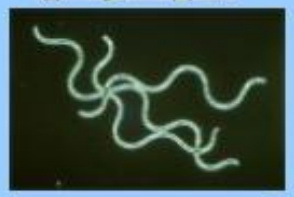


Production of Micro-algae for Health food, Mineral, vitamin

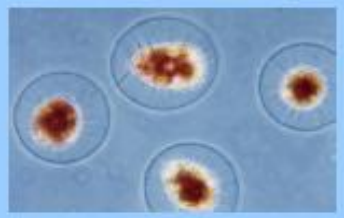


Commercial Species

Late 1950's  *Chlorella* – Japan, Taiwan (Indonesia, Czech Republic)

1960's  *Spirulina* – Mexico, USA, Thailand (China, India, Taiwan)

1970's *Dunaliella salina* – Australia, Israel, USA (India, China)

1990's  *Haematococcus* – USA (India, Israel)

+ Microalgae for aquaculture

Valuable compounds from microalgae

Pigments / Carotenoids
ß-Carotene
Astaxanthin
Lutein
Zeaxanthin
Canthaxanthin
Chlorophyll
Phycocyanin
Phycoerythrin
Fucoxanthin

Antioxidants
Catalases
Polyphenols
Superoxid Dismutase
Tocopherols

Fatty acids (PUFAs)
DHA (C22:6)
EPA (C20:5)
ARA (C20:4)
GAL (C18:3)

Vitamins
A, B1, B6, B12, C, E
Biotine
Riboflavin
Nicotinic acid
Pantothenate
Folic acid

Other / Pharmaceuticals
Antifungal
Antimicrobial
Antiviral
Toxins
Amino acids, Proteins
Sterols
MAAs as light protectant

تولید فراورده های میکروالگ

Microalgae cultivation

Commercial Products

Microalgae application in Aqua feed

Strain	Cell size µm	Cell density (inoculated) cells mL^{-1} 10^6	Cell density (harvested) cells mL^{-1} 10^6	µ divisions day^{-1}	G	Dry weight mg mL^{-1}	CFU CFU x 10^3 mL^{-1}
Synechococcus elongatus	1 x 2	0.06	24.3	0.7	1.4	1.1	n.d.
Synechocystis sp.	1.3 x 2	0.06	28.6	0.7	1.4	0.7	n.d.
Amphiprora paludosa	5.9 x 2.7	0.02	4.6	0.6	1.6	0.4	0.6
Dunaliella tertiolecta	8-11 x 14-16	0.02	1.8	0.5	2.0	0.5	3.0
Chaetoceros muelleri	8-12 x 7-10	0.02	2.6	0.5	2.0	0.9	2.6
Porphyridium cruentum	5 x 8	0.02	9.7	0.7	1.4	1.3	0.5

n.d. not detected

Astaxanthin – Market Opportunities

Market sectors	Current market size	Potential market size (by 2020)	Growth rate
Animal feed coloring agent salmon, trout, shrimp, chicken feed additive, etc.	$300M	$800M	~ 10%
Antioxidant Nutraceutical dietary supplement, food colorant, macula pigment enhancer, anti-AMD agent, etc.	$30M	$300M	~ 30%
Pharmaceutical super antioxidant, anti-tumor/cancer agent, aging preventing agent, etc.	Emerging	$500M	> 50%
Cosmetics sun-block, face cream, body lotion	Emerging	$30M	> 50%

ميكرو الگ ها با خواص باكتريهاي پروبيوتيك

- ميكرو الگ هاي
- Dunaliella tertiolecta و Chaetoceros muelleri, , Porphyridium cruentum
- داراي فعاليت انتي باكتريال بر عليه باكتري باسيلوس سوبتيليس .ويبريو و سودوموناس .و استافيلوكوكوس ارئوس ميباشند
- اثر انتي باكتريال ديا تومه هاي Chaetoceros , Skeletonema وابسته به چربي هاي با ده اتم كربن است كه سبب ليز پروتوپلاست باكتريها ميشود .در ابزي پروري بطور خاص از ميكرو الگ هاي Synechococcus elonatus, Synechosystis sp. Amphiprora paludosa, Porphiridium cruentum , Choetoceros muelleriبراي كنترل باكتريهاي پاتوژن گرم مثبت و گرم منفي استفاده ميشود

Microalgae probiotic

Aquatic animal	Probiotic strain	Challenge test with	Results	References
Salmon	*Tetraselmis suecica*	*A. salmonicida* *A. hydrophila* *Lactobacillus* spp. *S. liquefaciens* *V. anguillarum* *V. salmonicida* *Yersinia ruckeri* type I	-good control of diseases by Prophylaxis	Austin et al. (1992)
Oyster (larval culture)	CA2	N.D.	-better yield	Douillet and Langdon (1994)

ميكرو الگ ها جايگزين مناسب استفاده از انتي بيوتيك

- تعدادي از ميكرو الگ ها بصورت غذاي زنده حاوي پروتئين و چربي و منابع ويتامين و عناصر حياتي در پرورش ابزيان مورد استفاده قرار ميگيرند .بسياريار ميكرو الگ ها توليد مواد انتي باكتريال ميكنند .اثر اختصاصي ميكرو الگ Tetraselmis suesica بر عليه باكتريهاي گرم منفي گزارش شده است
- الگ هاي پلانكتونيك دريايي از مهمترين منابع انتي باكتريال اختصاصي هستند.
- در بين انها دياتومه ها توليد كننده بيشترين مولكولهاي الي انتي باكتريال هستند .سيانو باكتريها بدليل دارا بودن متابوليت هاي ثانويه و بيولوژيك فعال كه حاصل تنوع اكولوژيكي انهاست توليد كننده گستره وسيعي از مواد انتي باكتريال و انتي فونگال و مواد سايتو توكسيك اند

مقاومت به انتي بيو تيك ها در باكتريهاي پروبيوتيك

- مقاومت دارويي به تتراسيكلين و انتي بيوتيك هاي امينو گليكوزيد در لاكتيك باكتريها گزارش شده است .
- ميكرو الگ ها با توليد متابوليت هاي فعال بيولوژيك و مهار ميكرو ارگانيسمها يك تعادل شرايط بيولوژيك را فراهم مياورند كه سبب كاهش يا مرگ ميكرو ارگانيسمهاي پاتوژن در محيط ميشوند .
- سيانو باكتري اسپيرولينا كه بصورت مكمل غذايي .منبع پروتئين .ويتامين و مينرال توليد صنعتي ميشود با سنتز يك انتي بيوتيك توانايي رشد سريع در شرايط نامنا سب محيطي و رقابت با ساير ارگانيسمها را كسب ميكند
- با توليد اين انتي بيوتيك اسپيرولينا ميتواند بعنوان پرو بيو تيك در مزارع پرورش ميگو براي كنترل باكتريهاي بيماريزا مورد استفاده قرار گيرد.
- در مكزيك ديا تومه Amphiphra paludosa با توان توليد انتي بيوتيك در مراكز پرورش صدف ابالون در جايگاه پروبيو تيك و براي كنترل باكتريهاي پاتوژن مورد استفاده است

مزاياي استفاده از ميكروالگ ها

- ميكرو الگ ها توليد كننده پروتئين هاي اوكاريو تيك با ساختمان تغير يافته پس از بيان است و تشابهي با مولكولهاي توليدي باكتري ها ندارد.
- –بي خطر بودن ميكرو الگ ها براي انسان با پشتوانه 60 سال توليدو مصرف ثابت شده است و اكنون مهمترين جايگاه را در توليد پروتئين هاي نوتركيب و توليد فرمولاسيون خوراكي دارو را بخود اختصاص داده اند
- ميكرو الگ ها توليد اندو توكسين نمي كنند و براي انسان بيماريزا نيستند
- بسياري از مواد داروئي جديد بخصوص آنتي كانسرها، آنتي ويرال ها و داروهاي مؤثر در سيستم اعصاب مركزي از ميكرو آلگ ها بدست آمده اند .همچنين بسياري از ميكروالگ ها بعنوان منابع جديد تأمين ويتامين هاي خاص مانند ويتامين Cو B12، β - αلاكتوفرول براي افزودن به مواد غذائي، آرايشي و بهداشتي كشت انبوه مي شوند
- با توجه به تنوع توليد فراورده هاي ميكرو الگ ها و نقش مهار كنندگي باكتريهاي بيماريزا و نگراني از انتقال مقاومت هاي دارويي در باكتريهاي پرو بيو تيك ميكرو الگ ها ميتوانند نقشي نوين در كاربرد بصورت پرو بيو تيك داشته باشند.

THANK

YOU FOR

YOUR

ATTENTION