

Análisis metagenómico bacteriano en muestras de agua y materia fecal en sistemas de producción de animales para consumo.

Tema: Metagenómica

Autores: Ángela Sofía García¹, Stefany Alejandra Arévalo¹, Maria Fernanda Valencia¹, Marjorie Santamaria¹, Felipe Delgadillo¹, Johan F Bernal¹, Gabriel Beltrán¹, Xavier Fargetton¹ y Pilar Donado-Godoy¹.

¹*Colombian Integrated Program of Antimicrobial Resistance Surveillance (COIPARS). AGROSAVIA. Sede Tibaitatá. Colombia.*

Introducción: La resistencia antimicrobiana (RAM) es catalogada como una amenaza para la salud pública global. Desde el enfoque “One Health”, es pertinente caracterizar las poblaciones microbianas de interés en RAM en tres dimensiones: ambiental, animal y humana. La metagenómica permite caracterizar las poblaciones bacterianas, incluyendo organismos no cultivables, así como obtener genomas bacterianos y la presencia específica de genes circundantes que confieren resistencia a antibióticos de interés en salud pública.

Objetivo: Estudiar las poblaciones bacterianas y la presencia de genes marcadores de RAM en muestras de agua y muestras fecales provenientes de sistemas de producción de animales para el consumo, con y sin uso de antibióticos.

Materiales y métodos: Se colectaron 31 muestras de agua (n=14) y materia fecal (n=17) en 6 sistemas productivos (avícola, porcícola y bovinos de leche y doble propósito), con y sin uso de antibióticos. Las muestras de agua (entrada y salida del proceso de producción) se concentraron por filtración y las membranas junto con la materia fecal sin pre-tratamiento se conservaron a -80°C, hasta la extracción de ADN empleando kits comerciales. La preparación de librerías de 16S y metagenómica para secuenciación en minION-MK1C se realizó siguiendo el protocolo de Oxford Nanopore Technologies (ONT). Los análisis bioinformáticos se realizaron siguiendo los protocolos recomendados por Nanopore-Tech en la plataforma Epi2Me, versión METRICHOR (2021.09.09) para la determinación de la composición de las poblaciones bacterianas por 16S (contra la base de datos de 16S de BLAST) y para RAM desde metagenómica (minimap2 contra CARD db).

Resultados: Diecinueve muestras (5 de agua y 14 de materia fecal) calificaron para el proceso de secuenciación de 16S y 14 para metagenoma completo (solo fecales). A partir de las secuencias de 16S se identificó una alta cantidad de géneros bacterianos (n=662, Shannon promedio = 2.9) al 0,001% de abundancia del total de las lecturas, siendo *Acinetobacter*(4%), *Streptococcus*(1%) y *Pseudomonas*(0,9%), los géneros de interés en RAM más abundantes. En las muestras de agua hay una diversidad promedio inferior a las muestras fecales (Shannon promedio 2,6 y 3,0 respectivamente). No se observan diferencias claras en las muestras con y sin antibiótico (Shannon 2,7 y 3.0 respectivamente). En cuanto al análisis de los genes de interés en RAM los datos metagenómicos describen 208 genes o mutaciones en diferentes especies, incluyendo *Campylobacter*, *Escherichia* y *Bifidobacterium*. Se destacan los genes de la familia Tet que

confieren resistencia a tetraciclinas, antibiótico ampliamente utilizado en producción animal como profiláctico o terapéutico (6%); también, se destacan las mutaciones en el gen 16S rRNA con gran variedad de antibióticos blanco (17%).

Este piloto muestra que las herramientas metagenómicas permiten caracterizar la composición bacteriana de las muestras de agua y fecales, identificar genes de resistencia de interés en RAM como los Tet para el uso apropiado de los antibióticos en los sistemas de producción. Se espera profundizar en los análisis para establecer una posible asociación entre las abundancias por género y los genes de resistencia.