



PERÚ

Ministerio
de la Producción



CITEacuícola pesquero
Ahuashiyacu

Análisis genómico de la resistencia antimicrobiana de la cepa CAPA006 de *Aeromonas caviae* resistente a múltiples fármacos aislado de *Arapaima gigas*

MSc. MV. Enrique García Candela

Responsable de Laboratorio de Investigación y Análisis

ITP/CITEacuícola pesquero Ahuashiyacu

Introducción



Acuicultura



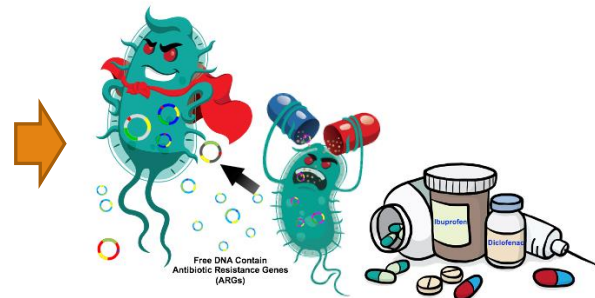
Cultivos intensivos



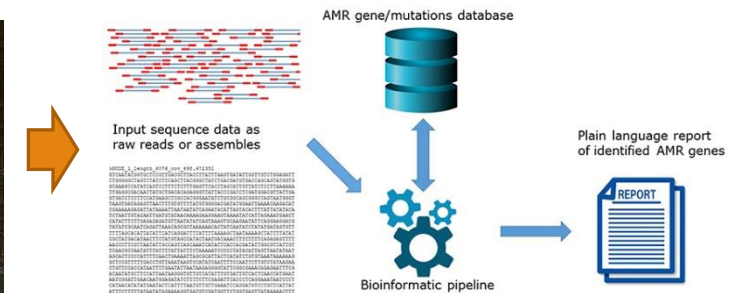
Enfermedades: *Aeromonas spp*



Antibioticoterapia

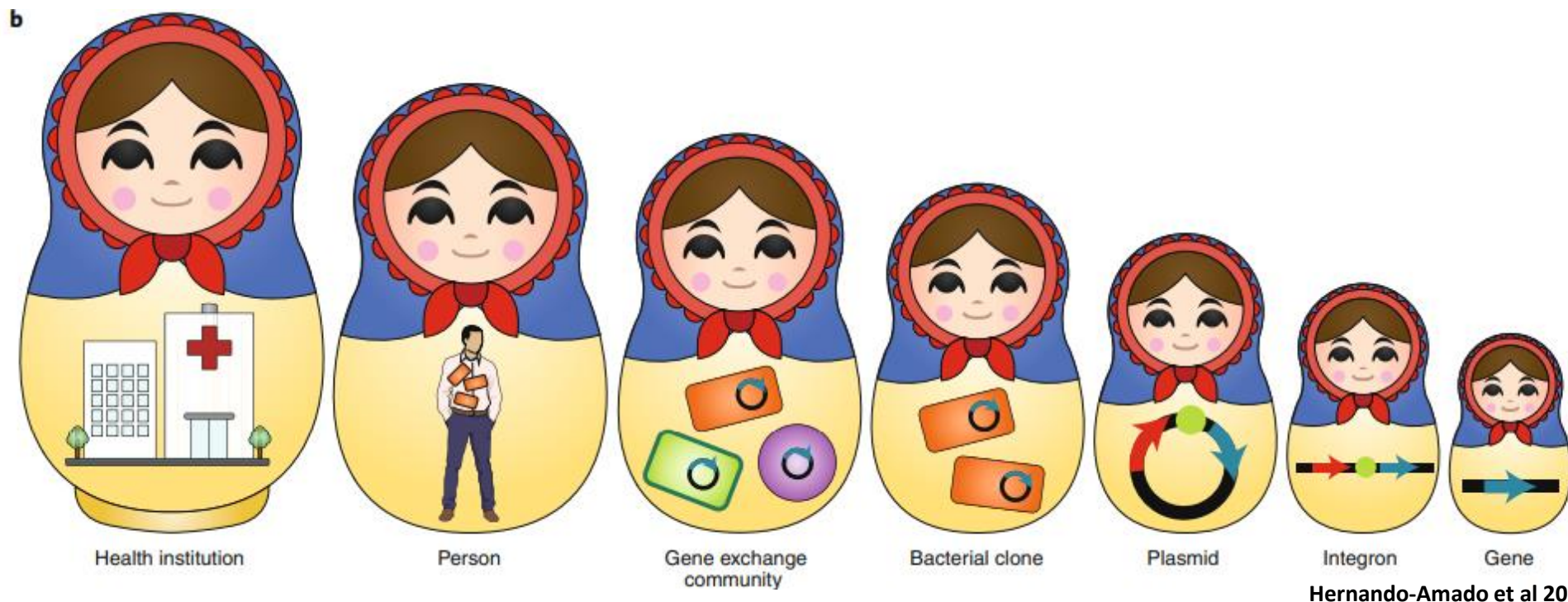


Resistencia a los Antimicrobianos (RAM)



Secuenciamiento de Genomas Bacterianos

Introducción



Jerarquía y Propagación de la Resistencia a Antibióticos

Objetivo

La cepa *Aeromonas caviae* CAPA006 fue aislada de alevines de *Arapaima gigas* clínicamente enfermos criados en un sistema de recirculación acuícola en el departamento de San Martín en el 2021.

Los objetivos de este estudio, fueron determinar la susceptibilidad fenotípica de la cepa CAPA006 mediante la técnica de difusión en disco, e identificar genes de resistencia antimicrobiana (GRA) mediante secuenciamiento del genoma bacteriano.



Fuente: ITP Red CITE

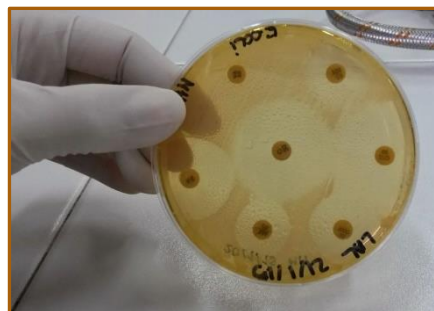


Fuente: ITP Red CITE

Metodología



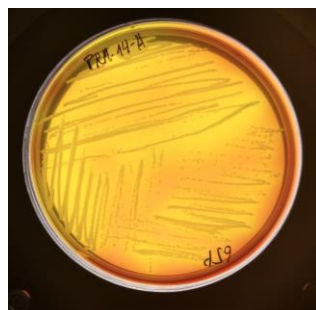
Reactivación de Cepa



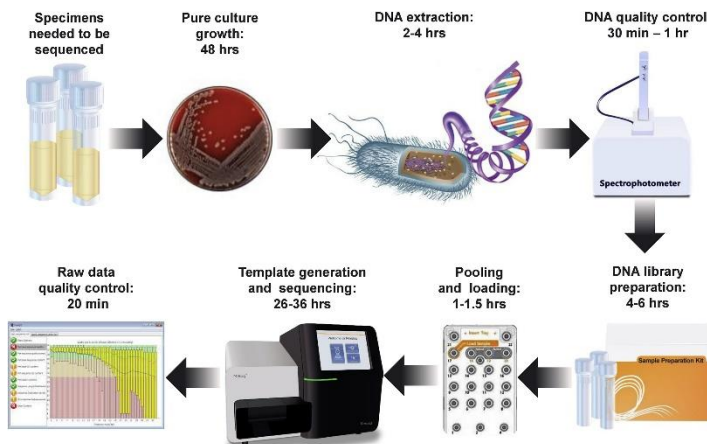
- Oxitetraciclina
- Florfenicol
- Sulfametoxazol/Trimetropima
- Enrofloxacina
- Acido oxalinico



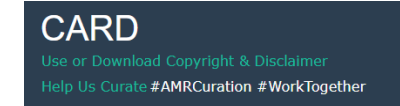
Antibiograma



Verificación en Agar Selectivo



Secuenciamiento Genoma - Illumina



Análisis Bioinformático

Resultados

Determinación de sensibilidad antimicrobiana por disco difusión

ID Código	Especie	Patrón de resistencia a antibióticos	Numero de antibióticos resistentes
CAPA-06	<i>A. caviae</i>	OT, OA, SXT, ENR, FFC	5

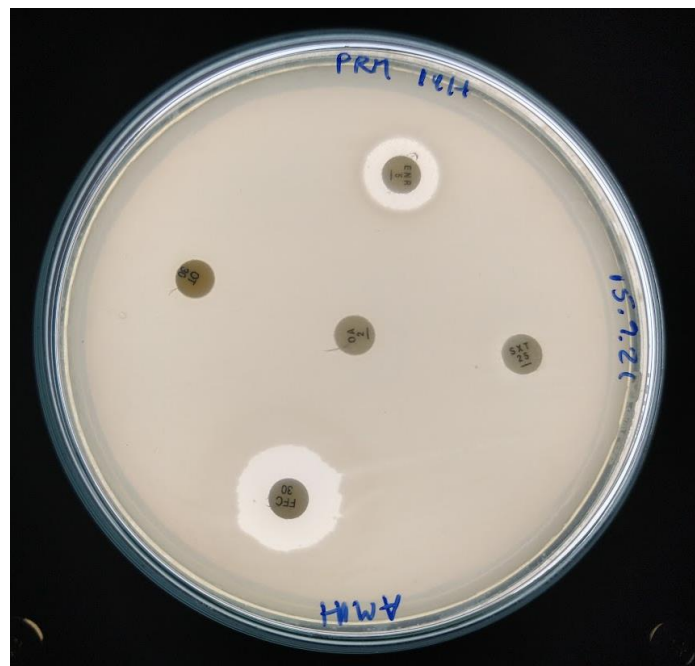


Figura 01. Antibiograma de cepa de *Aeromonas caviae* CAPA006 en agar Muller Hinton, la cual muestra resistencia a oxitetraciclina (30 ug), enrofloxacina (5 ug), ácido oxalínico (2 ug) sulfametoxazol/trimetropima (25 ug) y florfenicol (30 ug).

Resultados

Ensamblaje y anotación del genoma bacteriano

Ensamblaje	SPADES
# contigs (>= 0 bp)	210
# contigs (>= 1000 bp)	59
Total length (>= 0 bp)	4608418
Total length (>= 1000 bp)	4582078
# contigs	66
Largest contig	281515
Total length	4586599
GC (%)	61.3
N50	140302
N75	81893
L50	12
L75	22
# N's per 100 kbp	0

Tabla 01. Reporte de análisis calidad QUAST del ensamblado del genoma *Aeromonas caviae* mediante servidor Galaxy-Australia.

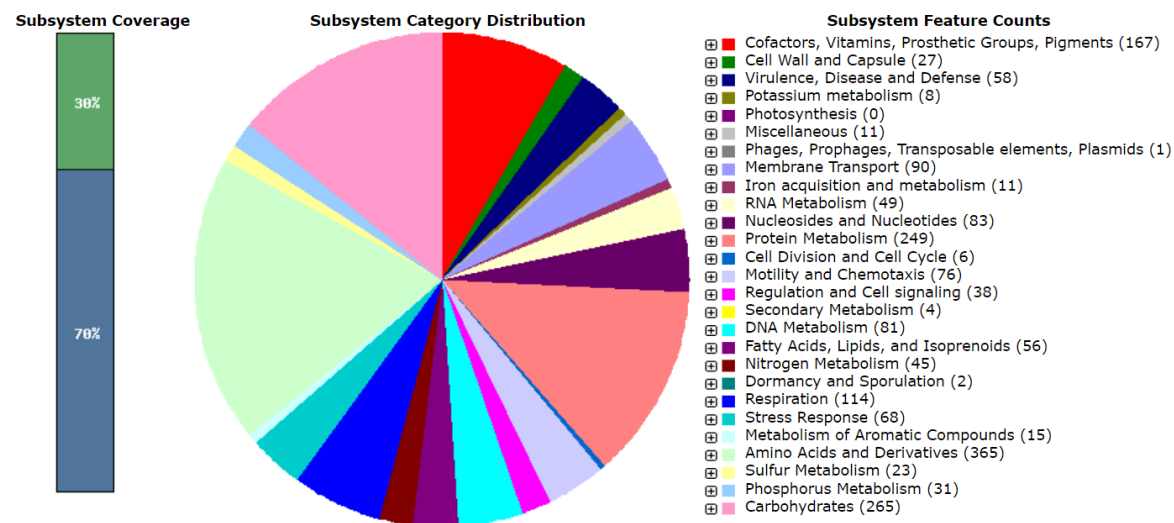


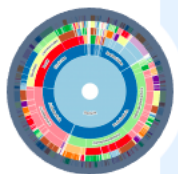
Figura 02. Diagrama de pastel del número de genes anotados del genoma de *Aeromonas caviae* mediante servidor RAST.

Resultados

Tipificación de secuencias multilocus (MLST)

PubMLST

Public databases for molecular typing and microbial genome diversity



Species ID

Use ribosomal MLST to accurately identify bacterial species from a genome assembly.

Predicted taxa

Rank	Taxon	Support	Taxonomy
SPECIES	<i>Aeromonas caviae</i>	100%	Proteobacteria > Gammaproteobacteria > Aeromonadales > Aeromonadaceae > Aeromonas > Aeromonas caviae

Uploaded file: PRM14H_assembly_spades_Galaxy.fasta

51 exact matches found.

Locus	Allele	Length	Contig	Start position	End position	Linked data values	Flags
BACT000002 (rpsB)	1605	729	NODE_11_length_144964_cov_128.625474	49896	50624	rMLST genome database species: <i>Aeromonas caviae</i> [n=92]; <i>Aeromonas sp.</i> [n=45]	
BACT000003 (rpsC)	7445	714	NODE_32_length_46519_cov_184.027690	9660	10373	rMLST genome database species: <i>Aeromonas caviae</i> [n=1]	
BACT000004 (rpsD)	1498	621	NODE_32_length_46519_cov_184.027690	1578	2198	rMLST genome database species: <i>Aeromonas caviae</i> [n=152]; <i>Aeromonas sp.</i> [n=89]	
BACT000005 (rpsE)	6961	501	NODE_32_length_46519_cov_184.027690	5242	5742	rMLST genome database species: <i>Aeromonas sp.</i> [n=1]	
BACT000007 (rpsG)	1399	471	NODE_47_length_18238_cov_169.728704	2361	2831	rMLST genome database species: <i>Aeromonas caviae</i> [n=119]; <i>Aeromonas sp.</i> [n=36]	

Figura 03. Reporte de análisis MLST Pubmed identificando a la cepa CAPA006 como *Aeromonas caviae*.

Resultados

Identificación de genes de resistencia antimicrobiana

Resistance gene	Identity	Contig	Phenotype	Accession no.
sul1	100	NODE_1_length_281515_cov_118.798560	Sulphonamide resistance	AY963803
floR	98.27	NODE_1_length_281515_cov_118.798560	Phenicol resistance	AF118107
aph(3'')-Ib	99.88	NODE_1_length_281515_cov_118.798560	Aminoglycoside resistance Alternate name; aph(3'')-Ib	AF321550
aph(3'')-Ib	99.88	NODE_1_length_281515_cov_118.798560	Aminoglycoside resistance Alternate name; aph(3'')-Ib	AF313472
aph(3'')-Ib	100	NODE_1_length_281515_cov_118.798560	Aminoglycoside resistance Alternate name; aph(3'')-Ib	AF024602
aph(6)-Id	100	NODE_1_length_281515_cov_118.798560	Aminoglycoside resistance Alternate name; aph(6)-Id	M28829
aph(3'')-Ib	99.88	NODE_1_length_281515_cov_118.798560	Aminoglycoside resistance Alternate name; aph(3'')-Ib	AF321551
blaMOX-3	99.56	NODE_30_length_51486_cov_128.899201	Beta-lactam resistance AmpC-type	EU515248
tet(A)	100	NODE_49_length_13350_cov_446.600015	Tetracycline resistance	AJ517790

Tabla 02. Identificación de genes adquiridos y/o mutaciones cromosómicas que median la resistencia antimicrobiana usando el servidor ResFinder 4.1 en la cepa *Aeromonas caviae* CAPA006.

Resultados

Identificación de genes de resistencia antimicrobiana

Diagram	Functional Roles	Subsystem Spreadsheet	Additional Notes			
all						
Group Alias	Abbrev.	Functional Role	Reactions	Scenario Reactions	GO	Literature
	parC	Topoisomerase IV subunit A (EC 5.99.1.-)	-	-	GO:0003677 , GO:0003916 , GO:0005524 , GO:0005694 , GO:0006259 , GO:0006265 , GO:0006268	none
	parE	Topoisomerase IV subunit B (EC 5.99.1.-)	-	-	GO:0003676 , GO:0003677 , GO:0005524 , GO:0005694 , GO:0006259 , GO:0006265 , GO:0006268 , GO:0006304	none
	gyrA	DNA gyrase subunit A (EC 5.99.1.3)	-	-	GO:0003918	none
	gyrB	DNA gyrase subunit B (EC 5.99.1.3)	-	-	GO:0003918	none
Listeria	Lde	Efflux pump Lde	-	-	-	none

Tabla 02. Identificación de genes adquiridos y/o mutaciones cromosómicas que median la resistencia antimicrobiana usando el servidor RAST en la cepa *Aeromonas caviae* CAPA006.

Conclusiones

- La cepa CAPA006 fue identificada por tipificación de secuencias multilocus (MLST) con un 100% de identidad como *Aeromonas caviae*, y no presentó ninguna identidad de tipificación en la base de datos.
- La cepa CAPA006 es una bacteria fenotípicamente multirresistente (MDR), debido a que presentó resistencia a la familia de Anfenicoles (Florfenicol), Tetraciclinas (Oxitetraciclina), Sulfonamidas (Sulfametoxazol/Trimetropima) y Quinolonas (Enrofloxacina/Acido oxalinico).
- La cepa CAPA006 presentó genes de resistencia (GRA) a Anfenicoles (floR), Tetraciclinas (tetA), Sulfonamidas (sul1) y Quinolonas (parA/parB/gyrA/gyrB/Lde), los cuales se relacionan con el antibiograma.
- La cepa CAPA006 presentó genes de resistencia (GRA) a las familias de Aminoglucósidos (aph3''/aph6) y Betalactámicos (blaMOX-3), pero no se pudo comprobar si habría relación con el antibiograma.
- La información de los genes de resistencia intrínsecos y adquiridos es beneficiosa para la salud pública al revelar los posibles determinantes de AMR transferibles en cepas bacterianas y aumentar la conciencia de la posible distribución de rasgos de AMR en el futuro.

Colaboradores



Enrique Garcia-Candela, Fernando Mesías-Valle,
Gustavo Ascencios-Chuquihuara, Milagros
Cabrera-Soregui, María Benito-Garcia, Verónica
Valverde-Vera, Miriam Verástegui-Tello

Financiamiento:



CITEacuícola pesquero
Ahuashiyacu



PERÚ

Ministerio
de la Producción



CITEacuícola pesquero
Ahuashiyacu



¡Gracias!

Contacto:

MSc. MV. Enrique Garcia Candela

Email: jgarciac@itp.gob.pe

Teléfono: +51 941427413