

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



**“ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE CUATRO SECUENCIAS DE
GENOMA COMPLETO DE *Salmonella enterica* DE ORIGEN
AVÍCOLA”**

El estudio es parte del proyecto: “EVALUACIÓN DE LA DISEMINACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS POR MEDIO DEL ESTIÉRCOL DE GALLINA” aprobado por el Honorable Consejo Universitario y financiado por La Dirección de investigación y Desarrollo DIDE de la Universidad Técnica de Ambato. Resolución, 1568-CU-P-2017.

VILLACIS GRIJALVA JOYCE ELIZABETH

TUTOR: Dr. Calero Cáceres William Ricardo

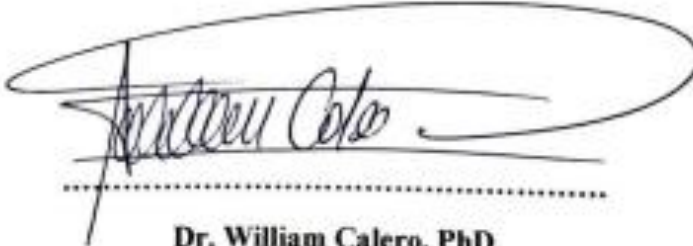
CEVALLOS – ECUADOR

2019

APROBACIÓN

**"ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE CUATRO SECUENCIAS DE GENOMA
COMPLETO DE *Salmonella enterica* DE ORIGEN AVÍCOLA"**

REVISADO POR:

A handwritten signature in black ink, enclosed within a large, hand-drawn oval. The signature is written in a cursive style and appears to read "William Calero". Below the signature is a horizontal dotted line.

Dr. William Calero, PhD

TUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “**ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE CUATRO SECUENCIAS DE GENOMA COMPLETO DE *Salmonella enterica* DE ORIGEN AVÍCOLA**” como uno de los requisitos previos para la obtención del Título de grado de Medica Veterinaria Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no ponga una ganancia económica potencial y se respete los derechos de propiedad intelectual del proyecto al cual está asociado, así como del director del mismo.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la Publicación de este Informe Final, o de parte de él”.

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE CUATRO SECUENCIAS DE GENOMA
COMPLETO DE *Salmonella enterica* DE ORIGEN AVÍCOLA”

APROBADO POR:

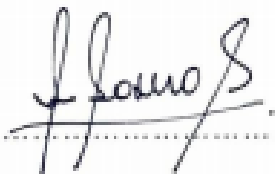
FECHA:



29-01-2020

Ing. Giovanni Velastegui Espin, Mg

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



29-01-2020

Dr. Marco Rosero, Mg

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN



29-01-2020

Dra. Sandra Cruz, PhD

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DEDICATORIA

A mi Dios que siempre ha guiado mi camino y me ha permitido alcanzar la meta de uno de los sueños más grandes que he tenido desde niña.

A la mejor familia del mundo, en especial a mis papás que me han apoyado en cada una de las decisiones que he tomado, y me han guiado con sus consejos. Ahora entiendo que todo lo que decían y hacían por mí era con amor, y sin ustedes no hubiese podido llegar a este punto en mi vida, los amo muchísimo.

A mis hermanos, gracias por alegrar mis días con sus ocurrencias y demostrar que más que hermanos somos mejores amigos.

Pero en especial quiero dedicar mi tesis y todo este esfuerzo a mis abuelitos, a mi abuelita que siempre ha estado junto a nosotros, guiándonos y brindándonos todo su cariño y a mi abuelito que nos cuida desde el cielo, gracias por seguir siendo nuestra luz, ustedes son mi guía y ejemplo de vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis papás por haberme animado a seguir adelante con este sueño. Todo el esfuerzo, dedicación y amor que me han brindado a lo largo de este proceso hoy da su fruto. Espero que se sientan orgullosos de este gran logro, porque todo fue gracias a ustedes, todo fue gracias a que tengo a los mejores papás del mundo.

Gracias a mis profesores por haber sido una guía a lo largo de mi carrera, en especial al Dr. Darwin Villamarín que me abrió las puertas de su clínica y me permitió formar parte de su equipo y familia.

A lo largo de estos años aprendí que no necesitas muchos amigos y que la mayoría son pasajeros, sin embargo, Bryan quiero agradecerte por seguir siendo esa persona que me ha apoyado y ha estado junto a mí a pesar de todo, eres mi mejor amigo, eres mi familia.

Gracias a la Universidad Técnica de Ambato por esta gran oportunidad de aprender y forjar mi futuro.

Finalmente quiero agradecer a mi tutor de tesis Dr. William Calero, quien con sus conocimientos supo guiarme de la mejor manera a lo largo de esta investigación, gracias a su dedicación, empeño y sobre todo paciencia, esto se hizo posible.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

1. CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	11
1.1. Antecedentes investigativos	11
1.2. Objetivos	21
1.2.1. Objetivo general	21
1.2.2. Objetivos específicos	21
2. CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA	22
2.1. Materiales	22
2.2. Métodos.....	22
3. CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
3.1. Análisis y discusión de resultados	26
3.1.1. Análisis de las secuencias por medio de plataformas bioinformáticas.....	26
3.1.2. Comparación de resultados.	27
3.1.1 Tipos de secuencia.....	27
3.1.2 Islas de Patogenicidad	28
3.1.3 Plásmidos.....	29
3.1.4 Genes de resistencia a antimicrobianos	29
3.1.5 Filogenia.....	30
3.1.6 Epidemiología	33
3.2. Verificación de la hipótesis	34
4. CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	35
4.1. Conclusiones	35
4.2. Recomendaciones.....	36
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	48

ÍNDICE DE TABLAS Y GRÁFICOS

Tabla 1 Aislados de <i>S. enterica</i> serovar Infantis y Kentucky	24
Tabla 2 Aislamientos de <i>S. enterica</i> serovar Infantis y Kentucky de diferentes ubicaciones geográficas tomados como referencia	26
Tabla Análisis de las secuencias de genoma completo de <i>S. enterica</i> serovar Infantis y Kentucky por medio de plataformas bioinformáticas del CGE.	32
Tabla 4 Análisis de las secuencias de genoma completo de <i>S. enterica</i> serovar Infantis y Kentucky por medio de la plataforma bioinformática BaseSpace de Illumina.....	34
Gráfico 1 Distancia filogenética entre las dos cepas de <i>S. Infantis</i> en estudio y secuencias de referencia obtenidas de diferentes estudios a nivel mundial	40
Gráfico 2 Distancia filogenética en las dos cepas de <i>S. Kentucky</i> en estudio y secuencias de referencia obtenidas de diferentes estudios a nivel mundial	41

RESUMEN

La investigación epidemiológica molecular aplicada a microbiología constituye una herramienta fundamental en la elucidación del origen de brotes clínicos y otorga información valiosa para la toma oportuna de medidas de control. En los últimos años, el surgimiento de nuevas tecnologías como la secuenciación de genoma completo y el desarrollo de herramientas bioinformáticas han revolucionado la microbiología, la misma que en la última década ha pasado de un ámbito totalmente laboratorial a uno computacional. La implementación de estas herramientas nos ha permitido estudiar en tiempo real y a un menor costo, potenciales patógenos presentes en nuestro medio. Una de ellas es *Salmonella enterica*, que representa una bacteria de interés en los sectores productivo y clínico a nivel mundial; es por este motivo que es importante realizar investigaciones epidemiológicas que nos permitan analizar su origen, diseminación, mecanismos de virulencia y resistencia. Es por esta razón que se realizó el análisis de cuatro secuencias de *Salmonella enterica* sub. *enterica* serovar Infantis y Kentucky aisladas dentro del sector avícola en la provincia de Tungurahua y Cotopaxi, determinando que pertenecen al tipo de secuencia ST32 y ST152 respectivamente. Ambas poseen un amplio perfil de multirresistencia a fármacos, destacando la presencia de los genes de resistencia a betalactámicos *bla*_{CTX-M-148} y *bla*_{CTX-M-65}, los cuales otorgan a la bacteria de resistencia a penicilinas y cefalosporinas. Con la ayuda de estas plataformas se detectaron la presencia de islas de patogenicidad y plásmidos, los cuales están relacionados a los factores de la virulencia y patogenicidad de los aislados en estudio. Finalmente, se compararon las secuencias de este estudio con aislamientos de *S. Infantis* y *S. Kentucky* de diversas fuentes y países alrededor del mundo, utilizando arboles filogenéticos, llegando a la conclusión que presentan un elevado grado de similitud con secuencias de muestras clínicas en Estados Unidos, lo que sugiere que podrían compartir un ancestro en común.

ABSTRACT

The application of molecular epidemiological tools applied to microbiology provides valuable evidence to elucidate the origin of clinical outbreaks. Additionally, provides information that supports the opportune intervention and takes of control measures. Nowadays, the raising of new omics technologies, as new generation sequencing (NGS) of complete genomes and the development of bioinformatics tools are improving the knowledge and the understanding of the microbiology. The implementation of these technological tools in microbiological studies is allowing to study in real-time and low cost the evolution and dissemination of new pathogens that are circulating across our geographical area. *Salmonella enterica* represents one of the most important pathogens that deserves special attention, considering its implications in clinical and productive sectors. Considering these reasons, it is important the realization of epidemiological studies using bioinformatic tools that allow analyze the origin, dissemination, virulence mechanisms and resistance genotypes. In this study, four *S. enterica* serovar Infantis and Kentucky from layer poultry origin obtained in Tungurahua and Cotopaxi were analyzed through WGS and the bioinformatic tools of Center of Genomic Epidemiology (University of Denmark) and BaseSpace (Illumina Inc). All the strains were categorized as human pathogens. According to their sequence-type, it belongs to the ST32 (Infantis) and ST152 (Kentucky). The strains harbor a plethora of antibiotic resistance genes. It is worth noting the presence of the beta-lactamases *bla*_{CTX-M-148} and *bla*_{CTX-M-65}, which show an emerging raising in clinical and animal origin isolates around the world. Finally, our sequences were compared with sequences of analogous bacteria from different origins and geographical locations through phylogenetic trees. Our sequences are related to clinical isolates from the United States, suggesting that their share a common ancestor.

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

Entre los microorganismos patógenos transmitidos por alimentos, el género *Salmonella* es uno de los agentes etiológicos bacterianos más relevantes, debido a su enorme impacto en salud pública y sanidad animal, tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo (**Antunes et al. 2016**). Este género bacteriano pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y está constituido por bacilos gramnegativos anaerobios facultativos (**Cosby et al. 2015**), por lo general de 2 a 5 micrones de largo por 0,5 micrones de ancho y cuyo genoma varía de tamaño entre serovares, con rangos que van desde 4'460.000 a 4'857.000 pb (**Andino y Hanning 2015**). Este género se encuentra dividido en dos grandes especies, *S. enterica* y *S. bongori*. Sin embargo, la mayor diversidad y patogenicidad se encuentra en *S. enterica*, especie que incluye a más de 2.600 serovares descritos hasta la fecha, los cuales tienen la capacidad de causar infección en una amplia gama de hospedadores (**Barreto et al. 2016**) y en muchos casos representa un habitante común de la microbiota intestinal de animales como: mamíferos, aves, reptiles, anfibios y peces (**Cosby et al. 2015**).

Se estima que en países industrializados como Estados Unidos, se presentan aproximadamente 1.2 millones de eventos por año relacionados con esta bacteria, y de los cuales alrededor de 450 terminan con la muerte del paciente (**Carroll et al. 2017**). El departamento de Salud y Servicios Humanos de este país informó un incremento de las infecciones por *S. enterica* de 13.6 a 16.4 casos por cada 100,000 habitantes, representando un aumento del 17.1% entre 1997 y 2011 (**Pornsukarom et al. 2018**). Lo que se refleja en pérdidas económicas que bordean los 3,3 mil millones de dólares anuales, debido a la eliminación de las fuentes de alimentos contaminados, disminución de la productividad y atención médica brindada a la población (**Yoshida et al. 2016**). En la Unión Europea, se ha reportado una tasa de casos confirmados de 25.4 casos por cada 100,000 habitantes en 2014, en comparación con los 21.4 casos por cada 100,000

habitantes reportados en 2013, lo que representa un aumento del 19% en la tasa de notificación y con una carga económica de alrededor de 3.000 millones de euros al año **(ECDPC 2016, Yoshida et al. 2016)**. En lo que respecta a América Latina, Asia y África, se estima que cada año se presentan alrededor de 200 a 500 casos relacionados a *Salmonella spp.* por cada 100.000 habitantes **(Quesada et al. 2016)**. En Ecuador, se producen anualmente un aproximado de 1.500 hospitalizaciones debido a salmonelosis tifoidea y 2.000 hospitalizaciones por *Salmonella*-no tifoidea, los cuales representan aproximadamente el 25% de las enfermedades gastrointestinales reportadas en los años recientes **(MSP 2018)**.

El indiscriminado uso de antibióticos en el mundo, y en especial en el sector pecuario, ha generado una aceleración en el ritmo evolutivo bacteriano **(Hawkey y Jones 2009, Jiang et al. 2017)**. Provocando en la actualidad una crisis sanitaria de consecuencias significativas en caso de mantenerse las tendencias actuales **(World Health Organization 2015, 2016)**. El consumo de antibióticos en el sector pecuario representa cerca del 80% de la producción mundial, en donde son utilizados como agentes terapéuticos, por su efecto promotor de crecimiento y como coadyuvantes de la eficiencia del pienso **(Economou y Gousia 2015)**. Sin embargo, dentro de los efectos negativos sobre la microbiota animal se observa un incremento notable en la presencia de mecanismos de virulencia y patogenicidad, como genes capaces de dotar a las bacterias de resistencia a los antimicrobianos de importancia médica, principalmente aquellos que forman parte de la familia de los β -lactámicos, al producir enzimas como betalactamasas de espectro extendido (BLEE) **(Tate et al. 2017)**. Esto sumado a la presencia de muchas más características relacionadas con la patogenicidad, encontradas en serotipos predominantes de *Salmonella spp.* aisladas en el sector avícola, como por ejemplo: genes que codifican adhesinas, sistemas para la adquisición de hierro, proteínas flagelares, sistemas de secreción tipo III, tolerancia a metales pesados como el mercurio y una mejor respuesta al estrés oxidativo **(Antunes et al. 2016)**. Lo que aumenta la gravedad, morbilidad y mortalidad de las infecciones producidas por estas bacterias y la necesidad

de emplear antimicrobianos de última línea como carbapenémicos en la terapia (**World Health Organization 2017**).

El ser humano se encuentra altamente expuesto a este tipo de patógenos por medio de la consumo de alimentos contaminados, principalmente productos derivados de aves de corral y pollos de engorde, por medio del contacto directo con animales y el medio ambiente, incluyendo el agua e inclusive por el contacto entre personas (**World Health Organization 2018, Ziech et al. 2016**). La presencia de bacterias multirresistentes a lo largo de la cadena alimentaria puede deberse a malas prácticas de bioseguridad en la producción pecuaria, al uso desmesurado y poco controlado de antimicrobianos tanto de uso humano como veterinario o a la contaminación cruzada durante el procesamiento y manejo de los alimentos (**Collineau et al. 2019**). Actualmente, en lugares como Estados Unidos y Europa, los serotipos que más han cobrado fuerza, y que predominan en infecciones humanas relacionadas con el consumo de derivados avícolas son *S. Infantis* y *S. Kentucky*; superando la presencia del serovar Enteritidis, el cual era el más descrito en años anteriores. La propagación y persistencia de estos serotipos en diferentes ubicaciones geográficas alrededor del mundo está estrechamente vinculado con la creciente globalización (**Antunes et al. 2016**).

La detección e investigación epidemiológica de *Salmonella* en la cadena alimentaria y en el sector de salud pública es de máxima importancia sanitaria, la cual ha derivado en el establecimiento de programas epidemiológicos en muchos países desarrollados (**EFSA & ECDC 2018**). Estas medidas de seguimiento proveen información acerca de la presencia de serovares de alta, mediana o baja virulencia, brotes, pandemias y el monitoreo de acciones de control (**National Salmonella Surveillance | National Surveillance | CDC s. f.**). Existen diferentes herramientas microbiológicas y moleculares para la identificación de estas características, cuya detección y análisis ha contribuido a la toma oportuna de medidas sanitarias alrededor del mundo. En Ecuador, existen pocas investigaciones sobre

esta bacteria en el sector de salud pública (**Cartelle Gestal et al. 2016**), aves de engorde (**Vinueza et al. 2016, 2019**) y aves de postura (**Salazar et al. 2019**).

Desde 1930, la identificación de los serovares de *Salmonella spp.* se realizó mediante serotipado, empleando el esquema White-Kauffmann-Le Minor (WKL) considerado tradicionalmente cómo el método estándar, el cual determina antígenos fenotípicos, dando como resultado una biblioteca masiva de información (**Yoshida et al. 2016**). Este esquema ha superado la prueba del tiempo porque es aplicable a todas las *Salmonellas spp.* y se apoya en la identificación de los antígenos somáticos (O) y flagelares (H), basados en la aglutinación de bacterias con antisueros específicos (**Nair et al. 2014**). A pesar de su uso generalizado la identificación serotípica tradicional presenta varios inconvenientes, como lo son la cantidad de días que demora, un costo elevado y requiere experiencia técnica para el mantenimiento y manejo de más de 250 tipos de antisueros policlonales de conejo y cepas de referencia. Sumado a la posibilidad de que ciertos aislamientos no expresen la totalidad de sus antígenos (**Bale et al. 2016**), además de no reflejar la relación genética entre los serovares, ni proporcionarnos una perspectiva evolutiva de los mismos (**Ashton et al. 2016**).

Es a partir de 1990 que se desarrolla un método de tipificación molecular conocido como Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE, del inglés *Pulsed field gel electrophoresis*) el cual se considera uno de los más relevantes actualmente, ya que posee una mayor discriminación de los datos y un mejor análisis de los mismos. A pesar de que el serotipado y el PFGE han ocupado un lugar muy importante durante décadas en los laboratorios de referencia a nivel mundial, cada método presenta sus inconvenientes (**Yoshida et al. 2016**). Limitando su uso total a un pequeño número de laboratorios en todo el mundo.

Toda la información que estos y otros métodos han ido recopilando a lo largo del tiempo es de vital importancia para que los nuevos métodos de alto rendimiento produzcan datos

que puedan ser comparables con los históricos (**Ashton et al. 2016**). Sin embargo, se necesita desesperadamente mejorar la eficacia de la vigilancia y epidemiología de la salud pública a nivel mundial. Para esto es necesario contar con métodos de serotipado genómico más rápidos, altamente precisos y discriminatorios, de esta manera podremos detectar brotes de *S. enterica* y vincularlos de manera más precisa a su fuente de origen (**Forbes et al. 2017**).

Es por esto que en la última década, la Secuenciación de genoma completo (WGS, del inglés *Whole genome sequencing*) se ha convertido una de las técnicas más prometedoras para la microbiología clínica (**Tagini y Greub 2017**). Gracias a los avances de la tecnología, la secuenciación de genoma completo ha demostrado ser una herramienta bioinformática capaz de reemplazar en su totalidad a los métodos fenotípicos convencionales ya existentes, empleados para realizar caracterizaciones que incluyen: serotipo, virulencia y perfiles de resistencia (**Rumore et al. 2018**), ya que estos fenotipos se pueden predecir *in silico* a partir de los datos de la secuencia con relativa facilidad, convirtiéndose en una herramienta invaluable para las investigaciones epidemiológicas y para la vigilancia de patógenos bacterianos en tiempo real (**World Health Organization 2018**)

La implementación de este tipo de tecnologías ha facilitado el trabajo de los microbiólogos al disminuir considerablemente el tiempo de respuesta y el análisis de datos a pocos días (**Meienberg et al. 2016**), en comparación con los procedimientos empleados en el diagnóstico microbiológico convencional, los mismos que impedían la recopilación y comparación de datos. Gracias a la secuenciación de genoma completo, todos los sectores tendrán la posibilidad de generar datos compatibles de múltiples fuentes, permitiendo que la colaboración sea una posibilidad real y de bajo costo (**World Health Organization 2018**).

Es por esto que el Centro de Epidemiología Genómica (CGE, del inglés *Center for Genomic Epidemiology*) (CGE, 2019) de la Universidad Técnica de Dinamarca y el BaseSpace Sequence Hub de Illumina Inc. (Illumina, 2019) están desarrollando continuamente herramientas web para el procesamiento y manejo de secuenciaciones de genoma completo de manera estandarizada, de fácil manejo y sobre todo intuitivas, de esta manera investigadores de todo el mundo e inclusive con experiencia limitada en bioinformática podrán generar su propia información (Zankari *et al.* 2012). Todas estas plataformas forman parte de una red de investigación multidisciplinaria y su objetivo es convertirse en el espacio propicio para el análisis, interpretación e intercambio en tiempo real de datos vinculados a la identificación de potenciales patógenos, tomando así un papel importante en la contención y mitigación inmediata de enfermedades infecciosas emergentes y brotes transmitidos por alimentos (Center for Genomic Epidemiology, 2019). Todo esto bajo el enfoque internacional de "One Health", la cual es una estrategia mundial que busca expandir los esfuerzos de colaboración de múltiples disciplinas que trabajan local, nacional y globalmente para lograr que personas, animales y nuestro medio ambiente gocen de una óptima salud, ayudando así a proteger y salvar millones de vidas en un futuro (One Health Initiative, 2019)

Estas herramientas bioinformáticas están disponibles públicamente a través de servidores web e incluyen plataformas destinadas a la identificación del serotipo (SeqSero), tipo de secuencia multilocus (MLST), tipo de patógeno (PatogenFinder), genes de resistencia a antibióticos (ResFinder, KmerResistance etc.), detección de plásmidos (PlasmidFinder), islas de patogenicidad (SPIFinder), ensamblaje de secuencias (SPAdes, Trimmomatic etc.) inferencia de filogenias (CSIPhylogeny, NDtree ect.), y elaboración de árboles filogenéticos (iTOL). Toda la información recopilada puede ser almacenada posteriormente en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, del inglés *National Center for Biotechnology Information*) (NCBI, 2019) y en el Archivo Europeo de Nucleótidos (ENA, del inglés *European Nucleotide Archive*) (ENA, 2019)

A continuación, se describen las funciones de las plataformas bioinformáticas del CGE y del BaseSpace Sequence Hub de Illumina Inc. que se emplearon para llevar a cabo la caracterización de cada uno de los aislamientos de origen avícola analizados en la presente investigación. También haremos mención de aquellas plataformas de soporte para ensamblar secuencias que fueron tomadas como referencia y que estuvieron disponibles en la base de datos del ENA y NCBI.

1.1.1 SeqSero (versión 1.2)

Es una herramienta bioinformática novedosa utilizada para determinar los serotipos de *Salmonella* empleando datos de secuenciación del genoma de alto rendimiento. SeqSero se fundamenta en bases de datos curadas de determinantes serotipos de *Salmonella* (grupo de genes *rfb*, alelos *fliC* y *fljB*) y que a futuro determinará el serotipo de forma rápida y precisa para casi todo el espectro de serotipos de *Salmonella*, tanto de lecturas de secuencias no procesadas, como de genomas ensamblados. Si esta herramienta se integra a una plataforma de subtipos y caracterización de patógenos basados en WGS incrementará la utilidad la serotipificación de *Salmonella* (Zhang et al. 2015).

1.1.2 ResFinder (versión 3.1)

Se trata de un método basado en la web que identifica genes de resistencia a antimicrobianos adquiridos y/o mutaciones cromosómicas parciales o totales en datos de todo el genoma. ResFinder puede usar genomas preensamblados, completos o parciales. También nos da la opción de ejecutar la entrada contra una o varias clases de antimicrobianos simultáneamente, y usa el programa BLAST para identificar los genes de resistencia adquiridos. Es posible buscar genes con una similitud de 80% a 100% de identidad, y los genes de mejor coincidencia se dan como resultado. Consta de dos programas, ResFinder.pl que identifica los genes adquiridos y PointFinder.py el cual identifica las mutaciones cromosómicas (Zankari et al. 2012).

1.1.3 PathogenFinder (versión 1.1)

Es un servidor web empleado para predecir la patogenicidad bacteriana por medio del análisis del proteoma de entrada, el genoma o las lecturas no procesadas ingresadas por el usuario. Este método se basa en un determinado grupo de proteínas, sin tener en cuenta su función o participación en la patogenicidad. PathogenFinder fue diseñado para funcionar con todos los grupos taxonómicos bacterianos logrando una precisión del 88.6% en una prueba independiente, al clasificar correctamente 398 de 449 bacterias completamente secuenciadas. Además, podría ser empleada para aislar las características patógenas potenciales de cepas conocidas y desconocidas (**Cosentino *et al.* 2013**).

1.1.4 SpeciesFinder (versión 1.2)

Este servidor predice las principales especies bacterianas basadas en el gen 16s rRNA completo. El gen 16S rRNA formó la base del primer método para la taxonomía basada en secuencias, teniendo un gran impacto en el campo de la microbiología (**Larsen *et al.* 2014**).

1.1.5 MLST (versión 2.0)

Permite a los investigadores determinar los tipos de secuencia de sus aislamientos. Es un método basado en la Web para MLST de 66 especies bacterianas apoyadas en datos de WGS. Emplea lecturas de secuencia corta de cuatro plataformas de secuenciación o genomas pre montados. Mensualmente se descargan las actualizaciones de las bases de datos de MLST, y los alelos de MLST que mejor coinciden con el esquema MLST especificado utilizan un método de clasificación basado en BLAST. El tipo de secuencia se determina posterior a la combinación de alelos identificados (**Larsen *et al.* 2012**).

1.1.6 PlasmidFinder (versión 2.0)

Se trata de una herramienta bioinformática diseñada para la detección y caracterización in silico de la secuencia del plásmido completo de miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, basada en el borrador de genomas de especies resistentes a numerosos fármacos mediante la detección rápida de plásmidos conocidos. Recopilaron las secuencias de *replicon* de 559 plásmidos completamente secuenciados relacionados con esta familia en la base de datos del NCBI para crear una base de datos de consenso para la integración en una herramienta bioinformática denominada PlasmidFinder que se puede emplear para el análisis de secuencias de replicones de grupos crudos, de contigs o completamente ensamblados (Carattoli *et al.* 2014).

1.1.7 Bacterial Analysis Pipeline (BaseSpace Sequence Hub de Illumina Inc.)

La aplicación inicialmente predice las especies de genomas de entrada bacteriana utilizando un enfoque basado en Kmer. Además, los genes de resistencia antimicrobiana adquiridos se identifican empleando un enfoque basado en BLAST, donde la secuencia de nucleótidos del genoma de entrada se compara con los genes en la base de datos ResFinder. Dependiendo de la especie identificada, se realiza la tipificación de secuencia multilocus (MLST), también utilizando un enfoque basado en BLAST. Si se reconoce que el genoma de entrada pertenece a *Enterobacteriaceae* o a las bacterias gram positivas, se usa BLAST para buscar replicones de plásmidos utilizando la base de datos PlasmidFinder (Illumina, 2017).

1.1.8 Trimmomatic y SPAdes (versión 3.9) (BaseSpace Sequence Hub de Illumina.Inc)

Trimmomatic emplea innovaciones algorítmicas relacionadas con el procesamiento, recorte de lecturas y el filtrado de secuencias con una elevada calidad (Bolger *et al.* 2014).

SPAdes es un ensamblador que mejora las herramientas de secuenciación unicelulares ya existentes y también se desempeña bien en proyectos estándar (**Nurk *et al.* 2013**), hablamos de ensamblaje de *novο*, en el que se emplea únicamente la información obtenida de la secuenciación para reconstruir el genoma en estudio, sin conocimiento previo de su organización. No obstante, cierto tipo de información previa es útil, como la talla que se espera del genoma, su contenido de GC y el contenido de regiones repetitivas, puesto que nos ayudarían a elegir la mejor estrategia a seguir (**Aguilar y Falquet 2015**).

1.1.9 CSI Phylogeny (version 1.4) (Call SNPs & Infer Phylogeny)

Identifica las variaciones en las lecturas de WGS y realiza el análisis filogenético de los aislados. CSI Phylogeny es un servidor web que filtra los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés *single nucleotide polymorphisms*), realiza la validación del sitio e infiere una filogenia basada en la alineación concatenada de los SNP. Como valores de entrada, es necesario introducir una secuencia de un genoma de referencia en formato *fasta* y los archivos de las secuencias a evaluar pueden encontrarse tanto en formato ensamblado o sin ensamblar (*fasta o fastq*) (**Kaas *et al.* 2014**)

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Analizar por medio de herramientas bioinformáticas cuatro secuencias de genoma completo de *S. enterica* de origen avícola en la provincia de Tungurahua.

1.2.2. Objetivos específicos

Analizar las secuencias de genoma completo por medio de las plataformas bioinformáticas del Centro de Epidemiología Genómica de la Universidad Técnica de Dinamarca y del BaseSpace Sequence Hub de Illumina Inc.

Comparar con estudios relacionados los resultados de serovar, tipo de secuencia MLST, genes de resistencia a antibióticos, islas de patogenicidad y plásmidos.

Determinar la distancia filogenética que tienen las cuatro secuencias de genoma completo de *S. enterica* con microorganismos de referencia mediante herramientas de bioinformática.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1. Materiales

2.1.1. Computadora portátil con características mínimas 16 Gb RAM y procesador Intel Pentium 7.

2.1.2. Secuenciaciones de genoma completo de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky de tipo *paired end* obtenidas de aislamientos de origen avícola de la provincia de Tungurahua, año 2017.

2.1.3. Plataformas bioinformáticas del CGE (DTU) e Illumina Inc.

2.1.4. Bases de datos del NCBI y ENA.

2.2. Métodos

La presente investigación se trata de un estudio analítico, en el cual se tomó como referencia cuatro aislamientos de *S. enterica* reportados en el estudio de Salazar et al. 2019, dos de los cuales pertenecen al serovar Infantis y los otros dos corresponden al serovar Kentucky (Tabla 1). Tras ser secuenciados utilizando la plataforma MiSeq de Illumina Inc. por medio de una colaboración con el Departamento de Agricultura y Mercados del Estado de Nueva York (Estados Unidos) y la Universidad Central del Ecuador, estas secuencias crudas fueron depositadas como *raw reads* en formato *fastq* en la base de datos del NCBI y cuyos números de acceso se encuentran en la Tabla 1.

Tabla 1 Aislados de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky.

INFORMACIÓN SUJETA A DERECHOS DE AUTOR, COMÚNIQUESE MEDIANTE
EL SIGUIENTE CORREO ELECTRÓNICO: wr.calero@uta.edu.ec

Fuente: Autor.

Una vez obtenidos los archivos de las secuencias a modo de *raw reads* en formato *fastq*, empleamos las herramientas bioinformáticas de la plataforma KBase (Departamento de Energía de los Estados Unidos de América), para obtener las secuencias ensambladas de nuestros aislamientos. Primero se ingresó la información en la plataforma Trimmomatic la cual tiene como objetivo remover los adaptadores añadidos durante la fase de preparación de librería genómica y recorta las bases de baja calidad que se encuentran en

los extremos de los *reads* (Bolger et al. 2014), para luego ser ingresadas a SPAdes, esta es la encargada de realizar el ensamblaje final para así poder obtener las secuencias en formato *fasta* (Bankevich et al. 2012).

Tras contar con las secuencias ensambladas de los aislamientos en estudio, se llevó a cabo la caracterización de los mismos. Para esto tomamos en cuenta cada una de las especificaciones de los programas a emplearse, y se ingresaron las secuencias en formato *fasta* o *fastq* según fuera el caso en las siguientes plataformas bioinformáticas del CGE: SeqSero, MLST, PatogenFinder, ResFinder, KmerResistance, SPIFinder y PlasmidFinder, con las cuales pudimos obtener información acerca del serotipo, tipo de secuencia, tipo de patógeno, genes de resistencia a antimicrobianos, islas de patogenicidad y presencia de plásmidos. También utilizamos el BaseSpace Sequence Hub de Illumina Inc. para conocer el tamaño total del genoma, número de contigs, N50, genes de resistencia a antimicrobianos y detectar plásmidos.

Posteriormente, se realizaron árboles filogenéticos empleando las cepas tomadas en cuenta como referencia para nuestro estudio y numerosos aislamientos de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky de diferentes ubicaciones geográficas alrededor del mundo descritas en varios artículos. Las secuencias de las mismas fueron descargadas en formato *fasta* de la base de datos del NCBI y del ENA, la cual nos proporcionaba las secuencias en formato *fastq*. En estos casos empleamos las herramientas bioinformáticas de la plataforma KBase, para así poder obtener las secuencias ensambladas en formato *fasta*. Toda la información sobre ubicación geográfica, año de recolección, serotipo, fuente del aislado y números de acceso de las secuencias empleadas se encuentran descritas en la Tabla 2.

TABLA 2 Aislamientos de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky de diferentes ubicaciones geográficas tomados como referencia.

INFORMACIÓN SUJETA A DERECHOS DE AUTOR, COMÚNIQUESE MEDIANTE EL SIGUIENTE CORREO ELECTRÓNICO: wr.calero@uta.edu.ec

Fuente: ENA 2019; NCBI 2019.

Para realizar los arboles filogenéticos se tomó como referencia una de las secuencias de *S. Infantis* descritas por **(Franco *et al.* 2015)**, cuyo número de acceso es ASRF01000099 y para *S. Kentucky* se empleó la secuencia con número de acceso ABAK00000000 descrita por **(Fricke *et al.* 2011)**. Todas estas secuencias junto con las cuatro secuencias descritas anteriormente fueron insertadas según su serotipo a la plataforma CSI Phylogeny del CGE, obteniendo un archivo en formato *Newick*, el cual posteriormente fue analizado utilizando la plataforma iTOL (*Interactive Tree of Life*) del Laboratorio Europeo de Biología Molecular **(Letunic y Bork 2019)**.

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de resultados

3.1.1. Análisis de las secuencias por medio de plataformas bioinformáticas

Toda la información recopilada mediante las plataformas del CGE e Illumina para la caracterización de los aislados de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky se encuentra disponible en la Tabla 3 y Tabla 4, correspondientemente.

Tabla 3 Análisis de las secuencias de genoma completo de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky por medio de plataformas bioinformáticas del CGE.

INFORMACIÓN SUJETA A DERECHOS DE AUTOR, COMÚNIQUESE MEDIANTE EL SIGUIENTE CORREO ELECTRÓNICO: wr.calero@uta.edu.ec

Fuente: Autor.

TABLA 4 Análisis de las secuencias de genoma completo de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky por medio de la plataforma bioinformática BaseSpace de Illumina.

INFORMACIÓN SUJETA A DERECHOS DE AUTOR, COMUNÍQUESE MEDIANTE EL SIGUIENTE CORREO ELECTRÓNICO: wr.calero@uta.edu.ec

Fuente: Autor.

3.1.2. Comparación de resultados.

3.1.1 Tipos de secuencia

Todas las cepas estudiadas fueron detectadas como potenciales patógenos humanos y sus serotipos fueron inferidos mediante uno de los programas que emplea la técnica de Tipificación de Secuencia de Multilocus (MLST del inglés, *Multilocus Sequence typing*) que detecta variaciones en las secuencias de ADN que se van acumulando en el genoma bacteriano con el pasar del tiempo (**García 2019**), determinando así que ambos aislados del serovar Infantis pertenecen al tipo de secuencia ST32, el cual ha sido descrito en varios estudios de Italia (**Franco et al. 2015**), Hungría (**Wilk et al. 2016**), Perú (**Iriarte et al. 2018**), Chile (Fuentes et al. 2019), Brasil (**Paixão et al. 2016**, **Monte et al. 2019**) y Estados Unidos (**Brown et al. 2018**), lo que nos indica que este serovar se encuentra ampliamente diseminado alrededor del mundo y posee una estructura de población altamente clonal (**Gymoese et al. 2019**). Posiblemente esto se deba a que *S. Infantis* ha desarrollado mecanismos que la protegen de transferencias genéticas horizontales y reordenamientos genéticos, o también a que tiene un antepasado reciente y aún no ha podido acumular cambios evolutivos importantes (**Hauser et al. 2012**). Lo mismo ocurre con el serovar Kentucky, el cual se determinó que pertenece al tipo de secuencia ST152 y que ha sido descrito con mayor frecuencia en estudios sobre carne de aves de corral,

bovinos y aislados humanos en países como Estados Unidos (**Fricke et al. 2011, Tasmin et al. 2017, Rauch et al. 2018, Haley et al. 2019**).

3.1.2 Islas de Patogenicidad

Las islas de patogenicidad de *Salmonella* (SPIs, del inglés *Salmonella pathogenicity islands*) son islas genómicas adquiridas mediante eventos horizontales de transferencia de genes y tienen la capacidad de codificar factores de virulencia y proteínas importantes para la patogenicidad, persistencia y especificidad del huésped (**Bakker et al. 2011**). Estas islas genéticas se pueden encontrar dentro del cromosoma bacteriano o en plásmidos (**Hurley et al. 2014**). Hasta el momento se han descrito y caracterizado 23 SPI, de los cuales cinco (SPI-1, SPI-2, SPI-3, SPI-4 y SPI-5) son los más comunes dentro de todos los serovares de *S. enterica*, mientras que las demás están distribuidas en diferentes serovares y/o cepas (**Espinoza et al. 2017**).

Los dos aislados de *S. Infantis* de nuestro estudio presentaron 3 islas de patogenicidad en común (SPI-5, SPI-13 y SPI-14), sin embargo, dos tipos de SPI se restringieron solo al asilado U845s (SPI-3 y C63PI), en cuanto a *S. Kentucky* esta presentó únicamente dos tipos de islas de patogenicidad en sus dos aislados (SPI-8 y C63PI). Se conoce que los genes SPI-3 están involucrados en la colonización intestinal y en la supervivencia intracelular de macrófagos, ya que provee a la bacteria de productos indispensables para su crecimiento, sobre todo en condiciones limitadas de magnesio (**Figuroa y Verdugo 2005, Rychlik et al. 2009**). Los genes SPI-5 en conjunto con los genes SPI-1 y SPI-2 codifican proteínas que forman el sistema de secreción tipo III, el cual permite el transporte de proteínas de *S. enterica* desde la célula huésped directamente hacia el citosol de la célula eucariota, similar función cumplen los centisomas 63 (C63PI) (**Rychlik et al. 2009**), mientras que ciertos genes SPI-13 contribuyen a la patogénesis de *Salmonella* en pollos y ratones (**Hardt et al. 1998, Espinoza et al. 2017**). Se conoce que la adquisición de los SPI-14 es crucial para que la invasión por parte de la bacteria se pueda dar en condiciones carentes de oxígeno, como el intestino del huésped (**Jiang et al. 2017**). Las

funciones dentro de la patogenicidad de los genes SPI-8 y a diferencia de las islas de patogenicidad descritas anteriormente no son muy conocidas hasta el momento (**Espinoza et al. 2017**).

3.1.3 Plásmidos

PlasmidFinder e Illumina no detectaron la presencia de plásmidos en el caso del serovar *Infantis*, sin embargo, los dos aislamientos del serovar *Kentucky* presentaron dos tipos de plásmidos en común *IncXI* y *ColRNAI*. Los plásmidos son moléculas circulares o lineales de ADN extracromosómico, de replicación autónoma y transferibles entre diferentes especies bacterianas y clones, sin embargo estos no transportan genes indispensables para el desarrollo de la célula huésped (**Carattoli 2011, Carattoli et al. 2014**), por lo que son considerados como “genes accesorio” (**Orlek et al. 2017**). Tras varios estudios a nivel mundial se conoce que los plásmidos *ColRNAI* se encuentran principalmente en la familia *Enterobacteriaceae* al igual que *IncXI*, el cual ha sido ampliamente descrito en estudios realizados en Italia, Hungría, Turquía y Estados Unidos (**Acar et al. 2019**). Sin embargo, estos son más representativos y albergan genes que confieren a la bacteria resistencia a carbapenémicos y quinolonas (**Zhang et al. 2018**).

3.1.4 Genes de resistencia a antimicrobianos

Los dos aislamientos de *S. Infantis* presentaron un perfil de resistencia a múltiples fármacos como aminoglucósidos (*aadA1*, *aph(4)-Ia*, *aac(6')-Iaa*, *aac(3)-IV*), fosfomicina (*fosA3*), fenicol (*floR*), sulfonamidas (*sul1*), tetraciclinas (*tetA*); por lo tanto, muestran un perfil de multirresistencia a antibióticos que la convierten en una bacteria altamente patógena (**Hindermann et al. 2017**). Se detectó la presencia de los genes *bla*_{CTX-M-148} en el caso del aislado U822s y el aislado U845s presentó el gen *bla*_{CTX-M-65}. De las enzimas BLEE, la familia CTX-M es la más ampliamente reportada alrededor del mundo y presenta una evolución y diseminación acelerada (**Cantón et al. 2012**). Un reporte hecho en Turquía, anunció la descripción de la nueva variante *bla*_{CTX-M-148} en aislamientos de *S.*

Infantis de este país (**Acar et al. 2019**). Hasta hace poco el gen *bla*_{CTX-M-65} había sido descrito únicamente en un aislamiento de *E. coli* de origen humano en Estados Unidos; no obstante, existe un incremento reciente de este gen en aislados de *S. Infantis* en animales destinados al consumo humano, especialmente aves de corral (**Tate et al. 2017**), lo que sugiere una aparición reciente de este gen en aislados de *Salmonella* de este país (**Brown et al. 2018**). Recientemente se ha observado que la variante *bla*_{CTX-M-65} presenta una elevada prevalencia en aislamientos clínicos, animales de producción y silvestres en países sudamericanos (**Granda et al. 2019, Paixão et al. 2016, Cartelle Gestal et al. 2016, Fuentes et al. 2019**). Es necesaria la realización de investigaciones complementarias enfocadas en determinar los orígenes, rutas de diseminación y vínculo entre aislamientos de origen ambiental, animal y humano de este mecanismo de resistencia emergente.

En el caso de los aislados de *S. Kentucky* se detectó la presencia de genes de resistencia a aminoglucósidos (*aac(6')-Iaa*) y quinolonas, presentándose los genes *QnrB19* en el caso de U827 y en cuanto al aislado U828s los genes de resistencia *QnrB19* y *QnrB*. Sin embargo, este último grupo de genes confieren una baja resistencia a este tipo de antimicrobianos (**Álvarez et al. 2015**). Desconocemos como estas cepas ingresaron a nuestro territorio, pero lo que se puede sospechar es que una cierta parte de la población adquirió *S. Infantis* o *S. Kentucky* positiva a estos genes de resistencia en diferentes ubicaciones geográficas, para posteriormente provocar una transferencia accidental dentro del sector avícola y sumado al crecimiento de la economía agrícola global, no podemos descartar el alimento o componentes del mismo que se importan desde otros países (**Tate et al. 2017**).

3.1.5 Filogenia

Con la finalidad de detectar si las secuenciaciones de genoma completo reportadas en varios puntos geográficos alrededor del mundo tienen algún tipo de relación con los aislamientos clínicos realizados en nuestro país, el laboratorio de microbiología UTA-RAM de la Universidad Técnica de Ambato en conjunto con el laboratorio de investigación Zurita & Zurita (**Zurita&Zurita laboratorios, 2019**) y la agencia de

Administración de alimentos y medicamentos (FDA, del inglés *Food and Drug Administration*) (FDA, 2019) , se encuentran en la actualidad secuenciando genomas completos de ciertos brotes de *S. Infantis* que se han presentado en el sector clínico humano, con la idea de rastrear el origen de aquellos patógenos causantes de infecciones humanas y comprobar si estos se encuentran a lo largo de la cadena alimenticia, empezando desde la producción.

El programa bioinformático CSIPhylogeny versión 1.4 y la herramienta iTOL empleadas para la elaboración de árboles filogenéticos nos mostraron la distancia genética basada en el número de Polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs, del inglés *Single Nucleotide Polymorphism*) de cada una de las cepas consideradas para este estudio y la relación de nuestros aislamientos con aquellos descritos en otros países, los resultados del análisis comparativo obtenido mediante estos servidores web se pueden apreciar en el Gráfico 1 y Gráfico 2.

Gráfico 1 Distancia filogenética entre las dos cepas de *S. Infantis* en estudio y secuencias de referencia obtenidas de diferentes estudios a nivel mundial.

INFORMACIÓN SUJETA A DERECHOS DE AUTOR, COMUNÍQUESE MEDIANTE EL SIGUIENTE CORREO ELECTRÓNICO: wr.calero@uta.edu.ec

Fuente: Autor.

Fuente del aislado: el color de cada proyección representa un origen diferente; pollos de engorde (rojo), casos clínicos humanos (azul), animales silvestres (verde), bovinos (celeste), alimentos (morado) y cerdos (naranja). La proximidad filogenética de un aislamiento con otro está mediada por la cantidad de SNPs que los separan.

Gráfico 2 Distancia filogenética entre las dos cepas de *S. Kentucky* en estudio y secuencias de referencia obtenidas de diferentes estudios a nivel mundial.

INFORMACIÓN SUJETA A DERECHOS DE AUTOR, COMÚNIQUESE MEDIANTE EL SIGUIENTE CORREO ELECTRÓNICO: wr.calero@uta.edu.ec

Fuente: Autor.

Fuente del aislado: el color de cada proyección representa un origen diferente; pollos de engorde (rojo), casos clínicos humanos (azul), bovinos (verde). La proximidad filogenética de un aislamiento con otro está mediada por la cantidad de SNPs que los separan.

Se detectó que el aislado de *S. Infantis* U822 y otros tres aislados descritos en la investigación de Salazar et al. 2019 (U824, U825 y U842), se encontraban dentro de un mismo *cluster*, esto debido a que comparten un ancestro común, con características similares y lo más notable es que no se encuentran relacionados con ninguna secuenciación de genoma completo descrita hasta la fecha alrededor del mundo. En contraste a esto se puede observar que el aislado U845 si se encuentra dentro del mismo *cluster* que una cepa de *S. Infantis* descrita en Estados Unidos, en donde se consideraron aislamientos de casos clínicos humanos. La pauta principal de este estudio era la gran afluencia de personas que viajaban al extranjero, en especial a países de Sudamérica como Perú y Ecuador (**Brown et al. 2018**). Sin embargo, el aislado con el que estuvo relacionado nuestro aislamiento proviene de un paciente que no reportó ningún viaje al extranjero, lo que sugiere que existieron otro tipo de rutas por las que este tipo de cepa llegó a nuestro país.

En cuanto a los aislados U827 y U828 de *S. Kentucky*, se puede observar que tienen una relación cercana con aislamientos de casos clínicos humanos y muestras de carcasa de pollo reportados en varios estudios llevado a cabo en Estados Unidos desde el año 2005 hasta el año 2014, sin embargo solo uno de estos aislados, el de origen humano mostró una mayor similitud (**Fricke et al. 2011, Tasmin et al. 2017, Haley et al. 2019**), también podemos observar que existe una lejanía notable con aislados obtenidos de ganado vacuno pertenecientes a estudios realizados en este mismo país (**Haley et al. 2019**) y aún más lo lejano que se encuentra un aislado de hígado de pollo reportado en una investigación realizada en Brasil en el año 2016 (**Monte et al. 2019**).

3.1.6 Epidemiología

A pesar de que en el 2013 se estableció un Programa Nacional de Vigilancia Avícola, el cual incluía un proyecto destinado a la vigilancia de *Salmonella*, en nuestro país es muy difícil obtener datos precisos sobre este tema en particular, sobre todo en el sector avícola, puesto que entre los productores no existe una cultura de notificación de las enfermedades que llegan a presentarse entre sus animales, sumado al desconocimiento del impacto dentro de la cadena alimentaria y el temor a represalias comerciales por parte de las autoridades competentes (**Ministerio de Agricultura Ganadería Acuicultura y Pesca (MAGAP) y AGROCALIDAD 2013**).

Sin embargo, un estudio realizado en el 2018 buscaba conocer la prevalencia de *Salmonella spp* en nuestro país, para lo cual se tomaron muestras de estiércol de 145 granjas avícolas de diferentes ubicaciones geográficas, de las cuales 16 resultaron ser positivas. Llegando a la conclusión de que existe un 11% de prevalencia de esta bacteria por finca. En comparación con estudios realizados en la Unión Europea en donde se habla de un 1% o menos y en países vecinos como Colombia y Argentina, donde se detectó un 33.3% y 60% de prevalencia respectivamente. No obstante, estos últimos estudios se basan en una metodología diferente para la toma de muestras, como por ejemplo muestras

tomadas directamente de las aves, lo cual aumenta la capacidad de detección de este patógeno (**Casart et al. 2018**).

A pesar de existir este tipo de investigaciones, aun es complicado conocer la realidad de cada una de las granjas avícolas de nuestro país y, sobre todo, no se sabe a ciencia cierta a que tipo de serovar nos estamos enfrentando, que genes de resistencia a antibióticos poseen, donde pudo haberse originado el brote, y lo más alarmante, como este tipo de patógeno se disemina dentro de la cadena de producción, llegando a causar infecciones en la población. Todo esto dificulta el desarrollo de investigaciones sobre esta bacteria dentro de nuestro país, sobre todo al momento de emplear la bioinformática, puesto que no existen datos que nos sirvan como referencia. Motivo por el cual, esta investigación representará un punto de partida en la investigación epidemiológica molecular de *Salmonella* de origen avícola en el país, para futuros estudios retrospectivos de evolución y diseminación.

3.2. Verificación de la hipótesis

Las nuevas tecnologías empleadas para la secuenciación de genoma completo y herramientas bioinformáticas desarrolladas en los últimos años, si son aplicables para la caracterización de los aislados *S. Infantis* y *S. Kentucky* de origen avícola recolectados en la provincia de Tungurahua en el año 2017.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- 4.1.1.** Se analizó las secuencias de genoma completo de los aislados de *S. enterica* serovar Infantis y Kentucky de origen avícola, obteniendo así información valiosa sobre el tamaño total del genoma, número de contigs, N50, serotipo, tipo de secuencia, tipo de patógeno, genes de resistencia a antimicrobianos, islas de patogenicidad y presencia de plásmidos.
- 4.1.2.** Comparamos nuestro estudio con innumerables investigaciones relacionadas al mismo, en donde también eran aplicadas técnicas de secuenciación de genoma completo, pudiendo constatar que tanto los serovares, tipo de secuencia y genes de resistencia que poseían nuestros aislamientos eran muy similares en cepas aisladas de países como Estados Unidos, Italia, Hungría, Chile, Brasil y Perú.
- 4.1.3.** Determinamos la distancia filogenética que poseen nuestros aislados de *S. enterica* serovar *S. Infantis* y Kentucky en contraste con aislamientos similares obtenidos por medio de investigaciones realizadas alrededor del mundo, llegando a la conclusión de que nuestros aislamientos poseen similitudes con aquellas cepas aisladas en países como Estados Unidos, esto podría deberse a que comparten un ancestro en común.

4.2. Recomendaciones

4.2.1. Consideramos que es importante generar un esquema de vigilancia continua de las infecciones provocadas por *Salmonella enterica*, tanto en humanos como en animales. Comprender los mecanismos que pueden conducir a la aparición de resistencia antimicrobiana en este tipo de patógenos, nos puede ayudar a desarrollar mejores estrategias de intervención, reduciendo así la propagación de *Salmonella* resistente entre humanos y sus reservorios, como lo es el caso del sector avícola. Mejorando así todo proceso a lo largo de la cadena alimentaria y velando por la salud de nuestra población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acar, S; Bulut, E; Stasiewicz, MJ; Soyer, Y. 2019. Genome analysis of antimicrobial resistance, virulence, and plasmid presence in Turkish Salmonella serovar Infantis isolates. *International Journal of Food Microbiology* 307(July). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108275>.
- Aguilar, L; Falquet, L. 2015. Secuenciación y ensamblaje de novo de genomas bacterianos: una alternativa para el estudio de nuevos patógenos (en línea). *Rev. Salud Anim* 37(2):125-132. Disponible en <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v37n2/rsa08215.pdf>.
- Álvarez, DA; Garza-Mayén, GS; Vázquez-López, R. 2015. [Quinolones. Nowadays perspectives and mechanisms of resistance]. (en línea). *Revista chilena de infectología : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectología* 32(5):499-504. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000600002>.
- Andino, A; Hanning, I. 2015. Salmonella enterica: Survival, colonization, and virulence differences among serovars. *Scientific World Journal* 2015(Table 3). DOI: <https://doi.org/10.1155/2015/520179>.
- Antunes, P; Mourão, J; Campos, J; Peixe, L. 2016. Salmonellosis: The role of poultry meat (en línea). *Clinical Microbiology and Infection* 22(2):110-121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004>.
- Ashton, PM; Nair, S; Peters, TM; Bale, JA; Powell, DG; Painset, A; Tewolde, R; Schaefer, U; Jenkins, C; Dallman, TJ; Pinna, EM De; Grant, KA; Whole, S; Sequencing, G. 2016. Identification of Salmonella for public health surveillance using whole genome sequencing. :1-18. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.1752>.
- Bakker, HC; Moreno Switt, AI; Govoni, G; Cummings, CA; Ranieri, ML; Degoricija, L; Hoelzer, K; Rodriguez-Rivera, LD; Brown, S; Bolchacova, E; Furtado, MR; Wiedmann, M. 2011. Genome sequencing reveals diversification of virulence factor content and possible host adaptation in distinct subpopulations of

- Salmonella enterica. BMC Genomics 12. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-245>.
- Bale, J; Meunier, D; Weill, FX; DePinna, E; Peters, T; Nair, S. 2016. Characterization of new Salmonella serovars by whole-genome sequencing and traditional typing techniques. Journal of Medical Microbiology 65(10):1074-1078. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000325>.
- Bankevich, A; Nurk, S; Antipov, D; Gurevich, AA; Dvorkin, M; Kulikov, AS; Lesin, VM; Nikolenko, SI; Pham, S; Prjibelski, AD; Pyshkin, A V.; Sirotkin, A V.; Vyahhi, N; Tesler, G; Alekseyev, MA; Pevzner, PA. 2012. SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. Journal of Computational Biology 19(5):455-477. DOI: <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>.
- Barreto, M; Castillo-Ruiz, M; Retamal Merino, P. 2016. Salmonella enterica: a review or the trilogy agent, host and environment and its importance in Chile. Salmonella enterica: Una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. :547-557.
- Bolger, AM; Lohse, M; Usadel, B. 2014. Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data. Bioinformatics 30(15):2114-2120. DOI: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
- Brown, AC; Chen, JC; Francois Watkins, LK; Campbell, D; Folster, JP; Tate, H; Wasilenko, J; Van Tubbergen, C; Friedman, CR. 2018. CTX-M-65 extended-spectrum β -lactamase-producing salmonella enterica serotype infantis, United States. Emerging Infectious Diseases 24(12):2284-2291. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2412.180500>.
- Cantón, R; González-Alba, JM; Galán, JC. 2012. CTX-M enzymes: Origin and diffusion. Frontiers in Microbiology 3(APR). DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>.
- Carattoli, A. 2011. Plasmids in Gram negatives: Molecular typing of resistance plasmids

- (en línea). *International Journal of Medical Microbiology* 301(8):654-658. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2011.09.003>.
- Carattoli, A; Zankari, E; Garcíá-Fernández, A; Larsen, MV; Lund, O; Villa, L; Aarestrup, FM; Hasman, H. 2014. In Silico detection and typing of plasmids using plasmidfinder and plasmid multilocus sequence typing. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 58(7):3895-3903. DOI: <https://doi.org/10.1128/AAC.02412-14>.
- Carroll, LM; Wiedmann, M; Bakker, H Den; Siler, J; Warchocki, S; Kent, D; Lyalina, S; Davis, M; Sisco, W; Besser, T; Warnick, LD; Pereira, V. 2017. crossm Resistant *Salmonella enterica* Isolates from Dairy Cattle and Humans in New Source and Geographic Associations. *83(12):1-18*. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.00140-17>.
- Cartelle Gestal, M; Zurita, J; Paz y Mino, A; Ortega-Paredes, D; Alcocer, I. 2016. Characterization of a small outbreak of *Salmonella enterica* serovar Infantis that harbour CTX-M-65 in Ecuador. *Brazilian Journal of Infectious Diseases* 20(4):406-407. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.03.007>.
- Casart, Y; Díaz Martínez, A; Falconí, M; Koch, A; Proaño-Perez, F; Santiana, I. 2018. Prevalencia de *Salmonella* en granjas avícolas de Ecuador y serotipificación basada en sistemas de PCR múltiple. XXVIII(3).
- CGE (Centro de epidemiología genómica). Consultado el sep 9 del 2019. Disponible en: <https://cge.cbs.dtu.dk/services/>
- Collineau, L; Boerlin, P; Carson, CA; Chapman, B; Fazil, A; Hetman, B; McEwen, SA; Jane Parmley, E; Reid-Smith, RJ; Taboada, EN; Smith, BA. 2019. Integrating whole-genome sequencing data into quantitative risk assessment of foodborne antimicrobial resistance: A review of opportunities and challenges. *Frontiers in Microbiology* 10(MAY):1-18. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01107>.
- Cosby, DE; Cox, NA; Harrison, MA; Wilson, JL; Jeff Buhr, R; Fedorka-Cray, PJ. 2015. *Salmonella* and antimicrobial resistance in broilers: A review. *Journal of Applied Poultry Research* 24(3):408-426. DOI: <https://doi.org/10.3382/japr/pfv038>.

- Cosentino, S; Voldby Larsen, M; Møller Aarestrup, F; Lund, O. 2013. PathogenFinder - Distinguishing Friend from Foe Using Bacterial Whole Genome Sequence Data. PLoS ONE 8(10). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077302>.
- ECDC. 2016. European Centre for Disease Prevention and Control Salmonellosis - Annual Epidemiological Report 2016 [2014 data] - Internet (en línea). :[cited 2018 August 22]. Disponible en <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/documents/Salmonellosis - Annual Epidemiological Report 2016 %5B2014 data%5D.pdf>.
- Economou, V; Gousia, P. 2015. Agriculture and food animals as a source of antimicrobial-resistant bacteria. *Infection and drug resistance* 8:49-61. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S55778>.
- EFSA & ECDC. 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal* 16(12). DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5500>.
- Espinoza, RA; Silva-Valenzuela, CA; Amaya, FA; Urrutia, Ítalo M; Contreras, I; Santiviago, CA. 2017. Differential roles for pathogenicity islands SPI-13 and SPI-8 in the interaction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhi with murine and human macrophages. *Biological Research* 50(1):1-7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40659-017-0109-8>.
- Figuroa, IM; Verdugo, A. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 47(1-2):25-42.
- Forbes, JD; Knox, NC; Ronholm, J; Pagotto, F; Reimer, A. 2017. Metagenomics: The next culture-independent game changer. *Frontiers in Microbiology* 8(JUL):1-21. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01069>.
- Franco, A; Leekitcharoenphon, P; Feltrin, F; Alba, P; Cordaro, G; Iurescia, M; Tolli, R; D’Incau, M; Staffolani, M; Di Giannatale, E; Hendriksen, RS; Battisti, A. 2015. Emergence of a Clonal Lineage of Multidrug-Resistant ESBL-Producing *Salmonella* Infantis Transmitted from Broilers and Broiler Meat to Humans in Italy

- between 2011 and 2014. PLoS ONE 10(12):1-15. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144802>.
- Fricke, WF; Mammel, MK; McDermott, PF; Tartera, C; White, DG; LeClerc, JE; Ravel, J; Cebula, TA. 2011. Comparative genomics of 28 *Salmonella enterica* isolates: Evidence for *crispr*-mediated adaptive sublineage evolution. *Journal of Bacteriology* 193(14):3556-3568. DOI: <https://doi.org/10.1128/JB.00297-11>.
- Fuentes, D; Farfán-López, M; Esposito, F; Moura, Q; Fernandes, MR; Lopes, R; Cardoso, B; Muñoz, ME; Cerdeira, L; Najle, I; Muñoz, PM; Catão-Dias, JL; González-Acuña, D; Lincopan, N. 2019. Wild owls colonized by international clones of extended-spectrum β -lactamase (CTX-M)-producing *Escherichia coli* and *Salmonella* *Infantis* in the Southern Cone of America (en línea). *Science of the Total Environment* 674:554-562. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.149>.
- García, A. 2019. *Mannheimia haemolytica* Y *Pasteurella multocida* asociadas a pasteurelosis neumónica ovina. .
- Granda, A; Riveros, M; Martínez-Puchol, S; Ocampo, K; Laureano-Adame, L; Corujo, A; Reyes, I; Ruiz, J; Ochoa, TJ. 2019. Presence of Extended-Spectrum β -lactamase, CTX-M-65 in *Salmonella enterica* serovar *Infantis* Isolated from Children with Diarrhea in Lima, Peru. *Journal of Pediatric Infectious Diseases* 14(04):194-200. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0039-1685502>.
- Gymoese, P; Kiil, K; Torpdahl, M; Østerlund, MT; Sørensen, G; Olsen, JE; Nielsen, EM; Litrup, E. 2019. WGS based study of the population structure of *Salmonella enterica* serovar *Infantis*. *BMC genomics* 20(1):870. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6260-6>.
- Haley, BJ; Kim, SW; Haendiges, J; Keller, E; Torpey, D; Kim, A; Crocker, K; Myers, RA; Van Kessel, JAS. 2019. *Salmonella enterica* serovar Kentucky recovered from human clinical cases in Maryland, USA (2011–2015). *Zoonoses and Public Health* 66(4):382-392. DOI: <https://doi.org/10.1111/zph.12571>.

- Hardt, WD; Urlaub, H; Galán, JE. 1998. A substrate of the centisome 63 type III protein secretion system of *Salmonella typhimurium* is encoded by a cryptic bacteriophage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 95(5):2574-2579. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.95.5.2574>.
- Hauser, E; Tietze, E; Helmuth, R; Junker, E; Prager, R; Schroeter, A; Rabsch, W; Fruth, A; Toboldt, A; Malorny, B. 2012. Clonal dissemination of *Salmonella enterica* serovar *Infantis* in Germany. *Foodborne Pathogens and Disease* 9(4):352-360. DOI: <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.1038>.
- Hawkey, PM; Jones, AM. 2009. The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 64(SUPPL.1). DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dkp256>.
- Hindermann, D; Gopinath, G; Chase, H; Negrete, F; Althaus, D; Zurfluh, K; Tall, BD; Stephan, R; Nüesch-Inderbinen, M. 2017. *Salmonella enterica* serovar *infantis* from food and human infections, Switzerland, 2010-2015: Poultry-related multidrug resistant clones and an emerging ESBL producing clonal lineage. *Frontiers in Microbiology* 8(JUL):1-9. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01322>.
- Hurley, D; McCusker, MP; Fanning, S; Martins, M. 2014. *Salmonella*-host interactions - modulation of the host innate immune system. *Frontiers in Immunology* 5(OCT):1-11. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00481>.
- Illumina, 2019. Consultado 22 nov. 2019. Disponible en: <https://basespace.illumina.com/dashboar>
- Iriarte, A; Lamia, J; Silva, C; Betancor, L. 2018. Draft Genome Sequence of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar *Infantis* Strain SPE101, Isolated from a Chronic Human Infection. *Genome Announcements* 6(25):e00556-18. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/genomeA.00504-17>.
- Jiang, L; Feng, L; Yang, B; Zhang, W; Wang, P; Jiang, X; Wang, L. 2017. Signal transduction pathway mediated by the novel regulator *LoiA* for low oxygen

- tension induced *Salmonella* Typhimurium invasion. *PLoS Pathogens* 13(6):1-26. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006429>.
- Jiang, X; Ellabaan, MMH; Charusanti, P; Munck, C; Blin, K; Tong, Y; Weber, T; Sommer, MOA; Lee, SY. 2017. Dissemination of antibiotic resistance genes from antibiotic producers to pathogens. *Nature Communications* 8:15784. DOI: <https://doi.org/10.1038/ncomms15784>.
- Kaas, RS; Leekitcharoenphon, P; Aarestrup, FM; Lund, O. 2014. Solving the problem of comparing whole bacterial genomes across different sequencing platforms. *PLoS ONE* 9(8):1-8. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0104984>.
- Larsen, M V.; Cosentino, S; Lukjancenko, O; Saputra, D; Rasmussen, S; Hasman, H; Sicheritz-Pontén, T; Aarestrup, FM; Ussery, DW; Lund, O. 2014. Benchmarking of methods for genomic taxonomy. *Journal of Clinical Microbiology* 52(5):1529-1539. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.02981-13>.
- Larsen, M V.; Cosentino, S; Rasmussen, S; Friis, C; Hasman, H; Marvig, RL; Jelsbak, L; Sicheritz-Pontén, T; Ussery, DW; Aarestrup, FM; Lund, O. 2012. Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *Journal of Clinical Microbiology* 50(4):1355-1361. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.06094-11>.
- Letunic, I; Bork, P. 2019. Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic acids research* 47(W1):W256-W259. DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkz239>.
- Meienberg, J; Bruggmann, R; Oexle, K; Matyas, G. 2016. Clinical sequencing: is WGS the better WES? *Human Genetics* 135(3):359-362. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00439-015-1631-9>.
- Ministerio de Agricultura Ganadería Acuicultura y Pesca (MAGAP); AGROCALIDAD. 2013. Programa Nacional Sanitario Avícola (en línea). Dirección de sanidad animal: programas específicos :48-50. Disponible en <http://www.agrocalidad.gob.ec/documentos/dcz/Resolucion-071.-Programa-Nacional-Sanitario-Avicola-PNSA.pdf>.

Monte, DF; Lincopan, N; Berman, H; Cerdeira, L; Keelara, S; Thakur, S; Fedorka-Cray, PJ; Landgraf, M. 2019. Genomic Features of High-Priority Salmonella enterica Serovars Circulating in the Food Production Chain, Brazil, 2000–2016. Scientific Reports 9(1):1-12. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45838-0>.

MSP. 2018. Gaceta Epidemiológica N° 52. :1-19.

Nair, S; Wain, J; Connell, S; de Pinna, E; Peters, T. 2014. Salmonella enterica subspecies II infections in England and Wales - The use of multilocus sequence typing to assist serovar identification. Journal of Medical Microbiology 63(PART 6):831-834. DOI: <https://doi.org/10.1099/jmm.0.072702-0>.

National Salmonella Surveillance | National Surveillance | CDC. .

NCBI (National Center for Biotechnology Information). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Nurk, S; Bankevich, A; Antipov, D; Gurevich, A; Korobeynikov, A; Lapidus, A; Pribelsky, A; Pyshkin, A; Sirotkin, A; Sirotkin, Y; Stepanauskas, R; McLean, J; Lasken, R; Clingenpeel, SR; Woyke, T; Tesler, G; Alekseyev, MA; Pevzner, PA. 2013. Assembling genomes and mini-metagenomes from highly chimeric reads. Lecture Notes in Computer Science (including subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics) 7821 LNBI:158-170. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-642-37195-0_13.

Orlek, A; Phan, H; Sheppard, AE; Doumith, M; Ellington, M; Peto, T; Crook, D; Walker, AS; Woodford, N; Anjum, MF; Stoesser, N. 2017. Ordering the mob: Insights into replicon and MOB typing schemes from analysis of a curated dataset of publicly available plasmids (en línea). Plasmid 91:42-52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2017.03.002>.

Paixão, TA; Coura, FM; Malta, MCC; Tinoco, HP; Pessanha, AT; Pereira, FL; Leal, CAG; Heinemann, MB; Figueiredo, HCP; Santos, RL. 2016. Draft genome sequences of two Salmonella enterica serotype Infantis strains isolated from a captive western lowland gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*) and a cohabitant black and white tegu

(*Tupinambis merianae*) in Brazil. *Genome Announcements* 4(1):1-2. DOI: <https://doi.org/10.1128/genomeA.01590-15>.

Pornsukarom, S; Van Vliet, AHM; Thakur, S. 2018. Whole genome sequencing analysis of multiple *Salmonella* serovars provides insights into phylogenetic relatedness, antimicrobial resistance, and virulence markers across humans, food animals and agriculture environmental sources. *BMC Genomics* 19(1):1-14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5137-4>.

Quesada, A; Reginatto, GA; Español, AR; Colantonio, LD; Burrone, MS. 2016. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp isolated animal food for human consumption. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 33(1):32-44. DOI: <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2016.331.1899>.

Rauch, HE; Vosik, D; Kariyawasam, S; M'ikanatha, N; Shariat, NW. 2018. Prevalence of Group I *Salmonella* Kentucky in domestic food animals from Pennsylvania and overlap with human clinical CRISPR sequence types. *Zoonoses and Public Health* 65(7):831-837. DOI: <https://doi.org/10.1111/zph.12506>.

Rumore, J; McCormick, R; Nadon, C; Tschetter, L; Peterson, C-L; Reimer, A; Kandar, R; Kearney, A; Walker, M. 2018. Evaluation of whole-genome sequencing for outbreak detection of Verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 from the Canadian perspective. *BMC Genomics* 19(1):1-13. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12864-018-5243-3>.

Rychlik, I; Karasova, D; Sebkova, A; Volf, J; Sisak, F; Havlickova, H; Kummer, V; Imre, A; Szmolka, A; Nagy, B. 2009. Virulence potential of five major pathogenicity islands (SPI-1 to SPI-5) of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis for chickens. *BMC Microbiology* 9:1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-268>.

Salazar, GA; Guerrero-López, R; Lalaleo, L; Avilés-Esquivel, D; Vinueza-Burgos, C; Calero-Cáceres, W. 2019. Prevalence and diversity of *Salmonella* isolated from layer farms in central Ecuador. *F1000Research* 8:235. DOI: <https://doi.org/10.12688/f1000research.18233.1>.


- Tagini, F; Greub, G. 2017. Bacterial genome sequencing in clinical microbiology: a pathogen-oriented review. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 36(11):2007-2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3024-6>.
- Tasmin, R; Hasan, NA; Grim, CJ; Grant, A; Choi, SY; Alam, MS; Bell, R; Cavanaugh, C; Balan, K V.; Babu, US; Parveen, S. 2017. Genotypic and phenotypic characterization of multidrug resistant *Salmonella* Typhimurium and *Salmonella* Kentucky strains recovered from chicken carcasses. *PLoS ONE* 12(5):1-21. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176938>.
- Tate, H; Li, C; Morales, C; Tyson, GH; Mukherjee, S; Joseph, L; Haro, J; Ayers, S; Mcdermott, PF. 2017. Comparative Analysis of ExtendedSpectrum_B Lactamase CTX-M-65Producing *Salmonella enterica* Serovar Infantis Isolates from Humans, Food Animals, and Retail Chickens in the United States. 61(7):1-11.
- Vinueza, C; Baquero, M; Medina, J; De Zutter, L. 2019. Occurrence, genotypes and antimicrobial susceptibility of *Salmonella* collected from the broiler production chain within an integrated poultry company. *International Journal of Food Microbiology* 299(March):1-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.03.014>.
- Vinueza, C; Cevallos, M; Ron-Garrido, L; Bertrand, S; De Zutter, L. 2016. Prevalence and diversity of *Salmonella* serotypes in ecuadorian broilers at slaughter age. *PLoS ONE* 11(7):e0159567. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0159567>.
- Wilk, T; Szabó, M; Szmolka, A; Kiss, J; Barta, E; Nagy, T; Olasz, F; Nagy, B. 2016. Genome sequences of multidrug-resistant *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar infantis strains from broiler chicks in Hungary. *Genome Announcements* 4(6):2015-2016. DOI: <https://doi.org/10.1128/genomeA.01400-16>.
- World Health Organization. 2015. Antimicrobial resistance.
- World Health Organization. (2016). Antimicrobial resistance. A nual for developing national action plans. s.l., World Health Organization.

- World Health Organization. 2017. Critically Important Antimicrobials for Human Medicine (en línea). s.l., s.e. 1-38 p. DOI: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>.
- World Health Organization. 2018. Whole genome sequencing for foodborne disease surveillance;landscape paper. Geneva, s.e. 54 p.
- Yoshida, C; Simone Gurnik; Ahmad, A; Blimkie, T; Murphy, SA; Kropinski, AM; Nash, JHE. 2016. Evaluation of Molecular Methods for Identification of. *Journal of Clinical Microbiology* 54(8):1992-1998. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00262-16>.Editor.
- Zankari, E; Hasman, H; Cosentino, S; Vestergaard, M; Rasmussen, S; Lund, O; Aarestrup, FM; Larsen, MV. 2012. Identification of acquired antimicrobial resistance genes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67(11):2640-2644. DOI: <https://doi.org/10.1093/jac/dks261>.
- Zhang, S; Yin, Y; Jones, MB; Zhang, Z; Kaiser, BLD; Dinsmore, BA; Fitzgerald, C; Fields, PI; Deng, X. 2015. Salmonella serotype determination utilizing high-throughput genome sequencing data. *Journal of Clinical Microbiology* 53(5):1685-1692. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00323-15>.
- Zhang, XZ; Lei, CW; Zeng, JX; Chen, YP; Kang, ZZ; Wang, YL; Ye, XL; Zhai, XW; Wang, HN. 2018. An IncX1 plasmid isolated from *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Pullorum carrying blaTEM-1B, sul2, arsenic resistant operons (en línea). *Plasmid* 100:14-21. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.plasmid.2018.09.007>.
- Ziech, RE; Lampugnani, C; Perin, AP; Sereno, MJ; Sfaciotte, RAP; Viana, C; Soares, VM; de Almeida Nogueira Pinto, JP; dos Santos Bersot, L. 2016. Multidrug resistance and ESBL-producing *Salmonella* spp. isolated from broiler processing plants. *Brazilian Journal of Microbiology* 47(1):191-195. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.021>.

ANEXOS

Anexo 1: Visualización general de la página web del Centro de Epidemiología genómica creada por la Universidad Técnica de Dinamarca, en donde podemos encontrar todas las herramientas bioinformáticas empleadas para el presente estudio.

Center for Genomic Epidemiology



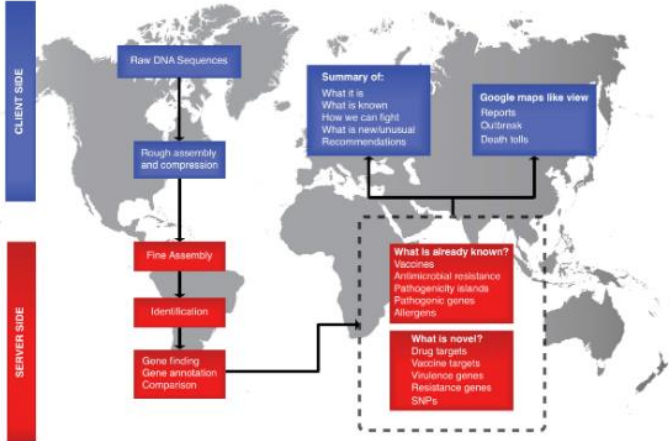
Home
Organization
Project
Services
Contact

Fenotipado:

- Identificación de genes de resistencia a antibióticos adquiridos. [ResFinder](#)
- Identificación de determinantes metagenómicos funcionales de resistencia a antibióticos. [ResFinderFG](#)
- Identificación de genes y mutaciones que conducen a la resistencia a linezolid. [LRE-finder](#)
- Identificación de genes de resistencia a antibióticos adquiridos utilizando Kmers. [KmerResistance](#)
- Predicción de la patogenicidad de una bacteria hacia huéspedes humanos. [PathogenFinder](#)
- Identificación de genes de virulencia adquiridos. [VirulenceFinder](#)
- Determinación de sitios de modificación de restricción (basado en [REBASE](#)). [Restriction-ModificationFinder](#)

Filogenia:

- CSI Phylogeny llama a SNP, filtra los SNP, valida el sitio e infiere una filogenia basada en la alineación concatenada de los SNP de alta calidad *. [CSIPIlogenia](#)
- NDtree construye árboles filogenéticos a partir de archivos FASTQ de extremo único o par. [NDtree](#)
- Evergreen genera un bosque de árboles filogenéticos constantemente actualizados con datos de secuenciación del genoma completo disponibles públicamente a partir de aislados bacterianos transmitidos por alimentos que se depositaron en los archivos de lectura de secuenciación corta (NCBI SRA / ENA). [Hojas perennes](#)



Mecanografía:

- Multi Locus Sequence Typing (MLST) de un genoma ensamblado o de un conjunto de lecturas [MLST](#)
- PlasmidFinder identifica plásmidos en aislamientos secuenciales totales o parciales de bacterias. [PlasmidFinder](#)
- Multi Locus Sequence Typing (MLST) de un plásmido ensamblado o de un conjunto de lecturas [pMLST](#)
- Tipificación de secuencia de locus múltiples del genoma central (cgMLST) de un conjunto de lecturas [cgMLSTFinder](#)
- Predicción de especies bacterianas utilizando un algoritmo rápido K-mer. [KmerFinder](#)
- Predicción de especies bacterianas utilizando la secuencia de ADN ribosomal S16. [Buscador de especies](#)
- Predicción de serotipos en aislados secuenciales totales o parciales de *E. coli*. [SeroTypeFinder](#)
- SeqSero predice el serotipo de Salmonella de los datos de secuencia de lectura preensamblados o en bruto proporcionados al servicio. [SeqSero](#)
- spaTyper predice el tipo de spa de *S. aureus*. [spaTyper](#)
- FimTyper predice el tipo de *E. coli* Fim. [FimTyper](#)
- CHTyper predice el tipo *E. coli* FimH y el tipo FimC. [CHTyper](#)

Bienvenido al Centro de Epidemiología Genómica.

El costo de secuenciar un genoma bacteriano es de \$ 50 y se espera que disminuya aún más en el futuro cercano y el equipo necesario costará menos de \$ 150 000. Por lo tanto, dentro de unos años todos los laboratorios de microbiología clínica tendrán un secuenciador en uso a diario. El precio de la secuenciación del genoma ya es tan bajo que la secuenciación del genoma completo también tendrá aplicación mundial en las prácticas humanas y veterinarias, así como en muchos otros lugares donde se manejan las bacterias. Solo en Dinamarca, esto equivale a más de 1 millón de aislamientos anuales en 15-20 laboratorios y en todo el mundo hasta 1-2 mil millones de aislamientos por año. El factor limitante, por lo tanto, en el futuro no será el costo de la secuenciación, sino cómo reunir, procesar y manejar la gran cantidad de datos de una manera estandarizada que hará que la información sea útil.

El objetivo de este centro es proporcionar la base científica para futuras soluciones basadas en Internet donde una base de datos central permitirá la simplificación de la información de la secuencia del genoma total y la comparación con todas las demás secuencias, incluido el análisis espacio-temporal. Desarrollaremos algoritmos para análisis rápidos de secuencias de ADN del genoma completo, herramientas para análisis y extracción de información de la secuencia de datos e interfaces de Internet / web para usar las herramientas en la comunidad científica y médica global. La actividad se está expandiendo para incluir también otros microorganismos, como vira y parásitos, así como muestras metagenómicas.

Anexo 2: Resultados emitidos por la plataforma bioinformática SeqSero (versión 1.2) para los aislamientos U822s, U845s, U827s y U828s



[Home](#)

[Services](#)

[Instructions](#)

[Output](#)

SeqSero-1.2 Server - Results

Serotype:

Infantis

Antigenic profile	7:r:1,5
O antigen	O-7
H1 antigen	r
H2 antigen	1,5

Input Files: *U822s_S14_L001_R1_001.fastq U822s_S14_L001_R2_001.fastq*

SeqSero-1.2 Server - Results

Serotype:

Infantis

Antigenic profile	7:r:1,5
O antigen	O-7
H1 antigen	r
H2 antigen	1,5

Input Files: *U845s_S6_L001_R1_001.fastq U845s_S6_L001_R2_001.fastq*

SeqSero-1.2 Server - Results

Serotype:

Kentucky

Antigenic profile	8:l:z6
O antigen	O-8
H1 antigen	i
H2 antigen	z6

Input Files: *U827s_S4_L001_R1_001.fastq U827s_S4_L001_R2_001.fastq*

SeqSero-1.2 Server - Results

Serotype:


Kentucky

Antigenic profile	8:l:z6
O antigen	O-8
H1 antigen	i
H2 antigen	z6

Input Files: *U828s_S5_L001_R1_001.fastq U828s_S5_L001_R2_001.fastq*

Anexo 3: Resultados emitidos por la plataforma bioinformática MLST (versión 2.0) para los aislamientos U822s, U845s, U827s y U828s

Center for Genomic Epidemiology



Home
Services
Instructions
Output

MLST-2.0 Server - Results

mlst Profile: *senterica*

Organism: *Salmonella enterica*

Sequence Type: 32

Locus	Identity	Coverage	Alignment Length	Allele Length	Gaps	Allele
aroC	100	100	501	501	0	aroC_17
dnaN	100	100	501	501	0	dnaN_18
hemD	100	100	432	432	0	hemD_22
hisD	100	100	501	501	0	hisD_17
purE	100	100	399	399	0	purE_5
sucA	100	100	501	501	0	sucA_21
thrA	100	100	501	501	0	thrA_19

[extended output](#)

Input Files: *822.fasta*

MLST-2.0 Server - Results

mlst Profile: *senterica*

Organism: *Salmonella enterica*

Sequence Type: 32

Locus	Identity	Coverage	Alignment Length	Allele Length	Gaps	Allele
aroC	100	100	501	501	0	aroC_17
dnaN	100	100	501	501	0	dnaN_18
hemD	100	100	432	432	0	hemD_22
hisD	100	100	501	501	0	hisD_17
purE	100	100	399	399	0	purE_5
sucA	100	100	501	501	0	sucA_21
thrA	100	100	501	501	0	thrA_19

[extended output](#)

Input Files: *U845s.fasta*

MLST-2.0 Server - Results

mlst Profile: *senterica*

Organism: *Salmonella enterica*

Sequence Type: 152

Locus	Identity	Coverage	Alignment Length	Allele Length	Gaps	Allele
aroC	100	100	501	501	0	aroC_62
dnaN	100	100	501	501	0	dnaN_53
hemD	100	100	432	432	0	hemD_54
hisD	100	100	501	501	0	hisD_60
purE	100	100	399	399	0	purE_5
sucA	100	100	501	501	0	sucA_53
thrA	100	100	501	501	0	thrA_54

[extended output](#)

Input Files: *U827s.fasta*

MLST-2.0 Server - Results

mlst Profile: *senterica*

Organism: *Salmonella enterica*


Sequence Type: 152

Locus	Identity	Coverage	Alignment Length	Allele Length	Gaps	Allele
aroC	100	100	501	501	0	aroC_62
dnaN	100	100	501	501	0	dnaN_53
hemD	100	100	432	432	0	hemD_54
hisD	100	100	501	501	0	hisD_60
purE	100	100	399	399	0	purE_5
sucA	100	100	501	501	0	sucA_53
thrA	100	100	501	501	0	thrA_54

[extended output](#)

Input Files: *U828s.fasta*

Anexo 4: Resultados emitidos por la plataforma bioinformática PathogenFinder (versión 2.0) para los aislamientos U822s, U845s, U827s y U828s.

Center for Genomic Epidemiology 

[Home](#) [Services](#) [Instructions](#) [Output](#)

The input organism was predicted as human pathogen

Probability of being a human pathogen	0.937
Input proteome coverage (%)	16.06
Matched Pathogenic Families	711
Matched Not Pathogenic Families	5

Input Files: *U822s_S14_L001_R1_001.fastq U822s_S14_L001_R2_001.fastq*

The input organism was predicted as human pathogen

Probability of being a human pathogen	0.938
Input proteome coverage (%)	16.07
Matched Pathogenic Families	711
Matched Not Pathogenic Families	4

Input Files: *U845s_S6_L001_R1_001.fastq U845s_S6_L001_R2_001.fastq*

The input organism was predicted as human pathogen

Probability of being a human pathogen	0.946
Input proteome coverage (%)	13.96
Matched Pathogenic Families	579
Matched Not Pathogenic Families	2

Input Files: *U827s_S4_L001_R1_001.fastq U827s_S4_L001_R2_001.fastq*

The input organism was predicted as human pathogen

Probability of being a human pathogen	0.946
Input proteome coverage (%)	14.36
Matched Pathogenic Families	603
Matched Not Pathogenic Families	3

Input Files: *U828s_S5_L001_R1_001.fastq U828s_S5_L001_R2_001.fastq*

Anexo 5: Resultados emitidos por la plataforma bioinformática ResFinder (versión 3.1) para los aislamientos U822s, U845s, U827s y U828s.

ResFinder-3.1 Server - Results

Input Files: *U822s_S14_L001_R1_001.fastq U822s_S14_L001_R2_001.fastq*

Acquired antimicrobial resistance gene - Results

Aminoglycoside						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
aadA1	99.75	792/792	NODE_37_length_20419_cov_40.222389	1304..2095	Aminoglycoside resistance	JQ414041
aph(4)-Ia	100.00	1026/1026	NODE_102_length_4957_cov_42.735928	2879..3904	Aminoglycoside resistance	V01499
aac(6)-Iaa	97.49	438/438	NODE_140_length_21619_cov_34.165550	409..846	Aminoglycoside resistance	NC_003197
aac(3)-IV	100.00	777/777	NODE_102_length_4957_cov_42.735928	4133..4909	Aminoglycoside resistance	DQ241380

Beta-lactam						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
blaCTX-M-148	100.00	876/619	NODE_255_length_3320_cov_37.562950	1..619	Beta-lactam resistance	KJ020574

Colistin

No resistance genes found.

Fluoroquinolone

No resistance genes found.

Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
fosA3	100.00	417/417	NODE_333_length_2581_cov_26.295235	1845..2261	Fosfomycin resistance	AB522970

Fusidic Acid

No resistance genes found.

Glycopeptide

No resistance genes found.

MLS - Macrolide, Lincosamide and Streptogramin B

No resistance genes found.

Nitroimidazole

No resistance genes found.

Oxazolidinone

No resistance genes found.

Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
floR	98.19	1215/1214	NODE_193_length_4610_cov_31.862040	2169..3382	Phenicol resistance	AF118107

Rifampicin

No resistance genes found.

Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
sul1	99.77	867/867	NODE_37_length_20419_cov_40.222389	2573..3439	Sulphonamide resistance	EU780013

Tetracycline

Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
tet(A)	100.00	1200/1200	NODE_37_length_20419_cov_40.222389	15956..17155	Tetracycline resistance	AJ517790

Trimethoprim

No resistance genes found.

ResFinder-3.1 Server - Results

Input Files: *U845s_S6_L001_R1_001.fastq U845s_S6_L001_R2_001.fastq*

[Download contig](#)

[Show Acquired antimicrobial resistance results](#)

Acquired antimicrobial resistance gene - Results

Aminoglycoside						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
<i>aac(6)-Iaa</i>	97.49	435/435	NODE_101_length_25812_cov_32.966335	14089..14536	Aminoglycoside resistance	NC_003197
<i>aadA1</i>	99.75	792/792	NODE_335_length_20364_cov_26.327047	10465..19256	Aminoglycoside resistance	JQ414041
<i>aph(4)-Ia</i>	100.00	1026/1026	NODE_175_length_5435_cov_30.204304	3360..4365	Aminoglycoside resistance	JQ1499
<i>aac(3)-IV</i>	100.00	777/777	NODE_175_length_5435_cov_30.204304	4614..5390		CQ241390
Beta-lactam						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
<i>blaCTX-M-65</i>	100.00	676/648	NODE_361_length_3549_cov_27.825402	2762..3629	Beta-lactam resistance	EF418836
Colistin						
No resistance genes found.						
Fluoroquinolone						
No resistance genes found.						
Fosfomycin						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
<i>fosA3</i>	100.00	417/417	NODE_19_length_2575_cov_26.213203	1839..2255	Fosfomycin resistance	AR522970
Fusidic Acid						
No resistance genes found.						
Glycopeptide						
No resistance genes found.						
MLS - Macrolide, Lincosamide and Streptogramin B						
No resistance genes found.						
Nitroimidazole						
No resistance genes found.						
Oxazolidinone						
No resistance genes found.						
Phenicol						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
<i>floR</i>	98.19	1215/1214	NODE_170_length_4606_cov_29.451801	1675..2691	Phenicol resistance	AF118107
Rifampicin						
No resistance genes found.						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
<i>sul1</i>	100.00	840/840	NODE_335_length_20364_cov_26.327047	17121..17960	Sulphonamide resistance	U12338
Tetracycline						
Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
<i>tet(A)</i>	100.00	1200/1200	NODE_335_length_20364_cov_26.327047	3413..4612	Tetracycline resistance	AJ517759
Trimethoprim						
No resistance genes found.						

ResFinder-3.1 Server - Results

Input Files: *U827s_S4_L001_R1_001.fastq U827s_S4_L001_R2_001.fastq*

[Download contig](#)

[Show Acquired antimicrobial resistance results](#)

Acquired antimicrobial resistance gene - Results

Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
aac(6)-Iaa	97.95	438/438	NODE_56_length_8047_cov_58.463154	257..694	Aminoglycoside resistance	NC_003197

Aminoglycoside

No resistance genes found.

Beta-lactam

No resistance genes found.

Colistin

No resistance genes found.

Fluoroquinolone

No resistance genes found.

Fosfomycin

No resistance genes found.

Fusidic Acid

No resistance genes found.

Glycopeptide

No resistance genes found.

MLS - Macrolide, Lincosamide and Streptogramin B

No resistance genes found.

Nitroimidazole

No resistance genes found.

Oxazolidinone

No resistance genes found.

Phenicol

No resistance genes found.

Rifampicin

No resistance genes found.

Sulphonamide

No resistance genes found.

Tetracycline

No resistance genes found.

Trimethoprim

No resistance genes found.

ResFinder-3.1 Server - Results

Input Files: *U828s_S5_L001_R1_001.fastq* *U828s_S5_L001_R2_001.fastq*

[Download contig](#)

[Show Acquired antimicrobial resistance results](#)

Acquired antimicrobial resistance gene - Results

Resistance gene	Identity	Query/HSP	Contig	Position in contig	Phenotype	Accession no.
aac(6)-Iaa	97.95	438/438	NODE_62_length_26611_cov_42.459023	14865..15302	Aminoglycoside resistance	NC_003197

Beta-lactam

No resistance genes found.

Colistin

No resistance genes found.

Fluoroquinolone

No resistance genes found.

Fosfomycin

No resistance genes found.

Fusidic Acid

No resistance genes found.

Glycopeptide

No resistance genes found.

MLS - Macrolide, Lincosamide and Streptogramin B

No resistance genes found.

Nitroimidazole

No resistance genes found.

Oxazolidinone

No resistance genes found.

Phenicol

No resistance genes found.

Rifampicin

No resistance genes found.

Sulphonamide

No resistance genes found.

Tetracycline

No resistance genes found.

Trimethoprim

No resistance genes found.

Anexo 7: Resultados emitidos por la plataforma bioinformática PlasmidFinder (versión 2.0) para los aislamientos U822s, U845s, U827s y U828s.



[Home](#)

[Services](#)

[Instructions](#)

[Output](#)

PlasmidFinder-2.0 Server - Results

Organism(s): *Gram Positive,Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
No hit found						

Gram Positive						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
No hit found						

[extended output](#)

Input Files: *822.fasta*

PlasmidFinder-2.0 Server - Results

Organism(s): *Gram Positive,Enterobacteriaceae*

Gram Positive						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
No hit found						

Enterobacteriaceae						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
No hit found						

[extended output](#)

Input Files: *U845s.fasta*

PlasmidFinder-2.0 Server - Results

Organism(s): *Enterobacteriaceae, Gram Positive*

Enterobacteriaceae						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
IncX1	100	341 / 373	NODE_133_length_2748_cov_45.2198	128..468		CP001123

Gram Positive						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
No hit found						

[extended output](#)

Input Files: *U827s.fasta*

PlasmidFinder-2.0 Server - Results

Organism(s): *Gram Positive, Enterobacteriaceae*

Gram Positive						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
No hit found						

Enterobacteriaceae						
Plasmid	Identity	Query / Template length	Contig	Position in contig	Note	Accession number
IncX1	100	341 / 373	NODE_84_length_5713_cov_70.5671	128..468		CP001123

[extended output](#)

Input Files: *U828s.fasta*