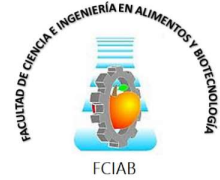




UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD EN CIENCIAS E INGENIERÍA
EN ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA



CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Caracterización *in silico* de una secuencia de genoma completo de *Escherichia coli*
mcr-1 positiva de origen animal de Ecuador

Trabajo de Titulación, Modalidad Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Kerly Tatiana Rodríguez Gando

Tutor: PhD. William Ricardo Calero Cáceres

Ambato – Ecuador

Septiembre - 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. William Ricardo Calero Cáceres

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este trabajo de titulación bajo la modalidad Proyecto de Investigación, mismo que corresponde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería e Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 01 de agosto de 2022

PhD. William Ricardo Calero Cáceres

CI:1714348859

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Kerly Tatiana Rodríguez Gando, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Proyecto de Investigación, previo a la obtención del Título de Ingeniera Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales, a excepción de las citas bibliográficas.



Kerly Tatiana Rodríguez Gando

CI: 2000068367

AUTOR

APROBACION DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Dr. Mario Daniel García Solís

CI:1103605471

Mg. Cristhian Fernando Galarza Galarza

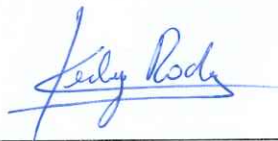
CI: 1803160272

Ambato, 31/08//2022

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Trabajo de Titulación o parte de él, como documento disponible para su lectura, consulta y proceso de investigación, según normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Kerly Tatiana Rodríguez Gando

CI: 2000068367

AUTOR

DEDICATORIA

A mis padres Marlene y Joselito, por haberme apoyado, confiado y alentado durante todos los días de mi vida. A mi hermano Jairo, por ser mi mejor amigo y compañero de infancia. A mis tres abuelitos que Dios lo tenga en su seno. A mi abuelita Clara por darme su bendición y consejos de vida.

A mis tíos, primos y amigos, que también son partícipes del apoyo incondicional que me brindaron para culminar esta formación académica. En especial a mis primos Genesis, Anthony y Edwin que son como mis hermanos mayores.

A mi segunda mamá, Bachita por cuidarme y brindarme su cariño desde Marzo 2016. Dios me la bendiga siempre por su lindo corazón.

Kerly Rodríguez

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente a Dios, por permitirme experimentar esta etapa de la vida, y siempre estar presente en cada paso, decisión de mi vida y trayectoria universitaria.

Gracias mamá, papá y hermano, mi familia que los amo tanto, gracias por darme la fuerza y apoyo de seguir adelante para poder alcanzar uno de mis sueños anhelados.

Agradezco también a todos mis Familiares: Rodríguez-Lucas y Gando-Sandoval, por desearme lo mejor y suerte en mi educación universitaria.

Sobre todo, estaré siempre agradecida con mi tutor PhD. William Calero-Cáceres, por ser quién me guío en mi proyecto final, brindándome sus conocimientos, experiencia con mucha paciencia. Es un ejemplo a seguir, como investigador y persona. Gracias por aceptarme como su Tesista y su tiempo dedicado.

Finalmente, doy gracias a la Universidad Técnica de Ambato, por haberme dado la oportunidad de ser estudiante de la carrera de Ingeniería Bioquímica, principalmente por los conocimientos impartidos de sus docentes y todos los servicios brindados por el personal e instalaciones que conforman la institución académica.

Kerly Rodríguez

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD	iii
APROBACION DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
RESUMEN.....	x
ABSTRACT	xii
LISTA DE SIGLAS	xiii
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. <i>Escherichia coli</i>	1
1.1.2. Resistencia a antibióticos	2
1.1.3. Resistencia a colistina	3
1.1.4. Investigaciones epidemiológicas de <i>Escherichia coli mcr-1</i> positivo en Ecuador.....	4
1.1.5. Secuenciación de genoma completo (WGS)	4
1.1.6. Enfoque del estudio	5
1.2 Objetivos	10
1.2.1 Objetivo General	10
1.2.2 Objetivos Específicos.....	10
CAPÍTULO II	12
MARCO METODOLÓGICO	12
2.1 Materiales	12
2.2 Metodología	12
CAPITULO III	15
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	15
3.1.1. Análisis de secuencia de genoma completo mediante plataformas bioinformáticas .	15
3.1.2. Análisis de secuencia de UTA069.....	15
3.1.3. Factores de virulencia (FV).....	17
3.1.4. Plásmidos	17
3.1.5. MGEs	18

3.1.6. Genes de resistencia a antibióticos.....	19
3.1.8. Filogenia bajo el esquema cgMLST de las 125 WGS a de <i>E.coli</i>	20
3.1.9. Comparación con secuencias de diverso origen geográfico y tipo de muestra	27
CAPITULO IV	30
4.1. CONCLUSIONES	30
4. 2 RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA.....	33
ANEXOS.....	52
ANEXO A	52
SECUENCIAS OBTENIDAS DE BASE DE DATOS	52
ANEXO B	55
HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS	55

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Caracterización de <i>E. coli</i> UTA 069	16
Tabla 2. Aislamientos de <i>Escherichia coli mcr-1</i> positiva de diferente origen y ubicación geográfica reportadas en diversos estudios tomados como referencia.	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Filogenia bajo el esquema cgMLST de las 125 WGS de <i>E. coli mcr-1</i> positivo de 25 países a nivel mundial.....	21
Figura 2. Genes de virulencia y contenido de plásmidos de las secuencias de <i>E. coli</i> evaluadas (parte 1).	23
Figura 3. Genes de virulencia y contenido de plásmidos de las secuencias de <i>E. coli</i> evaluadas (parte 2).	24
Figura 4. Contenido de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) de los aislamientos de <i>E. coli</i> evaluados (parte 1).	25
Figura 5. Contenido de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) de los aislamientos de <i>E. coli</i> evaluados (parte 2).	26
Figura 6. Resultado del ensamblaje a través de la plataforma de Kbase del aislamiento de <i>Escherichia coli</i> UTA069.	55
Figura 7. Evaluación de calidad y características del aislamiento de <i>Escherichia coli</i> UTA069.....	56
Figura 8. Determinación de la resistencia a los antimicrobianos de UTA069 mediante la plataforma ResFinder 4.1	57
Figura 9. Evaluación de la patogenicidad de la cepa UTA069 empleando la herramienta PathogenFinder 1.1	57
Figura 10. Tipificación de UTA069 utilizando la herramienta MLST 2.0	58
Figura 11. Identificación de plásmidos de UTA069 utilizando la herramienta del CGE	58
Figura 12. Serotipificación in silico de la cepa UTA069.....	58
Figura 13. Subtipificación de plásmidos presentes en la secuencia UTA069.....	59
Figura 14. Subtipificación de la variante alélica del gen <i>fim</i> (<i>CH</i>) de cepa UTA 069	59
Figura 15. Identificación de elementos genéticos móviles presente en UTA069	60

RESUMEN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) ha sido una de las causas de mayor morbilidad en el ser humano, producido por bacterias resistentes que adquieren su patogenicidad por mecanismos de transmisión, como es la transmisión horizontal de elementos genéticos móviles. *mcr-1* es un gen que genera resistencia a la colistina, un antibiótico polimixina utilizada para el tratamiento de infecciones bacterianas multirresistentes, donde su diseminación a nivel global se ha convertido en una amenaza sanitaria. *Escherichia coli* es una especie con mayor presencia de *mcr-1* en varios reservorios como en alimentarios, animales, ambiente y humanos. Ecuador ha presentado pocos estudios sobre *Escherichia coli mcr-1* en diferentes hospederos; sin embargo, su diseminación en el país sigue siendo una incógnita. Por este motivo, se pretende caracterizar de manera *in silico* la cepa *Escherichia coli mcr-1* positiva (UTA069) de origen animal, utilizando su secuencia de genoma para evaluar la distancia filogenética al compararla con 124 cepas de *E. coli* portadores del gen *mcr-1* de 25 países empleando herramientas bioinformáticas.

UTA069 perteneció al tipo de secuencia ST1196, se detectaron genes de virulencia, plásmidos y los perfiles de genes de resistencia a los antibióticos. Las distancias filogenéticas mostraron una relación estrecha entre UTA069 y sus análogos de España, mientras que, las cepas ecuatorianas restantes están relacionadas principalmente con aislamientos de origen asiático y europeo. Finalmente, los aislados ecuatorianos mostraron co-resistencia a diferentes clases de antibióticos como aminoglucósidos, sulfonamidas, tetraciclinas, y en mayor proporción a betalactámicos, cuya presencia ha aumentado en los últimos años en microorganismos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*.

PALABRAS CLAVES: RAM, MDR, WGS, *mcr-1*, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Antimicrobial resistance (AMR) has been one of the causes of major morbidity in humans, produced by resistant bacteria that acquire their pathogenicity by transmission mechanisms, such as horizontal transmission of mobile genetic elements. *mcr-1* is a gene that generates resistance to colistin, a polymyxin antibiotic used for the treatment of multidrug-resistant bacterial infections, where its global dissemination has become a health threat. *Escherichia coli* is a species with a major presence of *mcr-1* in various reservoirs such as food, animals, environment and humans. Ecuador has presented few studies on *Escherichia coli mcr-1* in different hosts; however, its dissemination in the country remains unknown. For this reason, we intend to characterize *in silico* the *Escherichia coli mcr-1* positive strain (UTA069) of animal origin, using its genome sequence to evaluate the phylogenetic distance by comparing it with 124 strains of *E. coli* carrying the *mcr-1* gene from 25 countries using bioinformatics tools.

UTA069 belonged to sequence type ST1196, virulence genes, plasmids and antibiotic resistance gene profiles were detected. Phylogenetic distances showed a close relationship between UTA069 and its analogues from Spain, whereas, the remaining Ecuadorian strains are mainly related to isolates of Asian and European origin. Finally, Ecuadorian isolates showed co-resistance to different classes of antibiotics such as aminoglycosides, sulfonamides, tetracyclines, and in greater proportion to beta-lactams, whose presence has increased in recent years in microorganisms belonging to the *Enterobacteriaceae* family.

KEYWORDS: AMR, MDR, WGS, *mcr-1*, *Escherichia coli*

LISTA DE SIGLAS

MGE: Elemento genético móvil

HGT: Transferencia horizontal de genes

ARG: Genes de resistencia a antibióticos

ST: Tipos de secuencia

AMR: Resistencia antimicrobiana

MDR: Bacterias multirresistentes

BLEE: β -lactamasas de espectro extendido

mcr: gen de resistencia a colistina codificada en plásmidos.

WGS: secuenciación de genoma completo

WHO: Organización Mundial de la Salud (siglas en inglés)

PAHO: Organización Panamericana de la Salud (siglas en inglés)

PubMed: National Library of Medicine

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. *Escherichia coli*

Escherichia coli (*E. coli*) es una especie del género *Escherichia*, miembro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacterales*. Sus características generales son bacilos Gram negativos, no formadores de esporas, catalasa positivos y oxidasa negativos con un tamaño aproximadamente de 0,5 µm de diámetro y 1,0 a 3,0 µm de longitud; además, son anaerobios facultativos debido a que son una especie comensal presente en el tracto intestinal de los animales homeotermos, tal como los seres humanos a partir de su nacimiento, en animales de sangre caliente incluyendo mamíferos y aves (**Uddin et al., 2022**); de igual manera, *E. coli* habita en el suelo y el agua como consecuencia de la contaminación fecal (**Welch, 2006**). De acuerdo a la literatura científica, *E. coli* ha sido tipificado mediante serología de antígenos superficiales, tales como antígenos somáticos O descritos por primera vez por Kauffman en los años 40, antígenos flagelares H y capilares K implementados durante los años 70 por Ørskov, y antígenos fimbriales F. Por consiguiente, hasta el año 2016 están definidos 197 antígenos O y 53 antígenos H, y alrededor de 103 antígenos K y 12 antígenos F. La serotipificación basada en antígenos O y H se convirtió en el estándar de oro para la tipificación de *E. coli* porque han sido seleccionados como biomarcadores para diferenciar *E. coli* comensal de *E. coli* diarreogénica y la *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC) para la evaluación de riesgos, estudios epidemiológicos y ecológicos (**Fratamico et al., 2016; B. Liu et al., 2020; López Acuña & Guevara Duncan, 2002**).

Las serovariedades de *Escherichia coli* con características patogénicas-resistente son producto de la adquisición de los elementos genéticos móviles (MGE), éstos son genes virulentos, integración de bacteriófagos, transposones y los plásmidos (**Fiallos López et al., 2018; Woodford et al., 2011**). Las ExPEC se dividen en cuatro grupos filogenéticos (A, B1, B2, D) aunque la mayoría de las cepas comensales se clasifican en el grupo A, las cepas extraintestinales mayor virulentas en humanos están en el linaje B2 y en menor medida D (**Clermont et al., 2000; Welch, 2006**).

Una causa frecuente de diarrea tanto en animales y humanos es producido por *E. coli* enterotoxigénica (ETEC). La Organización Mundial de la Salud estima en 220 millones de casos de diarrea humana y 42.000 muertes en niños menores de 5 años de muchos países de bajos-medianos ingresos económico **(WHO, 2021)**. ETEC pertenece al grupo ExPEC como también *E. coli* enteropatógena (EPEC), *E. coli* enteroinvasiva (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* productora de toxina Shiga (STEC), *E. coli* difusamente adherente (DEAC) y *E. coli* invasiva adherente (AIEC) que se han asociado con la enfermedad de Crohn. Por lo tanto, ExPEC constituye un grupo heterogéneo en continua evolución. Algunos de los ejemplos de las enfermedades graves causadas por cepas patógenas de *E. coli* son infecciones del tracto urinario humano, infecciones gastrointestinales, meningitis, septicemia, como también infecciones nosocomiales y enfermedades zoonóticas que en ocasiones pueden ser mortales **(Puvača & Frutos, 2021)**.

1.1.2. Resistencia a antibióticos

La resistencia a los antibióticos es el efecto del sobreuso de antibióticos utilizados por humanos y para animales con fines médicos y en la agricultura en las últimas décadas. La diseminación global y propagación de los genes de resistencia a los antibióticos (ARG) es reconocido como un contaminante ambiental emergente que genera una potencial amenaza para la salud, donde según **Puvača & Frutos, (2021)** las *Enterobacteriaceae* especialmente *E. coli* representan la mayor amenaza hoy en día debido a que tiene la capacidad de transmitir o adquirir genes de resistencia de los microorganismos que comparten su entorno de vida, influyendo en la vida humana y animal.

En 2019 se estimó una mortalidad de 4,95 millones asociadas a enfermedades ocasionadas por bacterias resistentes, de los cuales en países de ingresos bajos y medianos fueron 1,27 millones de muertes **(C. J. Murray et al., 2022)**. Un ejemplo son los países con diferencias socioeconómicas como son países sudamericanos, estos presentan tasas altas de AMR por *Escherichia coli* para la familia de aminoglucósidos, fluoroquinolonas, aminopenicilinas, amoxicilina-clavulanato, cefalosporina, polimixinas, producto del acceso libre de antimicrobianos, sistema de salud ineficaces y problemas de saneamiento **(Rodríguez-Santiago et al., 2021)(The Center for Disease Dynamics Economics & Policy, 2018)**. Además, las actividades antropogénicas como la cría de animales de

producción que utilizan antibióticos como promotores de crecimiento se convierten en reservorios y/o mecanismos de transferencia de determinantes de resistencia a los antimicrobianos (**Van Boeckel et al., 2019**).

La AMR representa una amenaza latente para la humanidad, y los sectores de investigación y la industria farmacéutica no han logrado descubrir y comercializar nuevos antibióticos que puedan reducir y minimizar este peligro sustancial (**Tacconelli et al., 2017**). En este contexto, la dependencia de los antibióticos de último recurso para tratar los niveles crecientes de bacterias multirresistentes en la salud humana y animal es un desafío para la comunidad científica (**Mendelson et al., 2018**). En el intento de hacer frente a este problema global, la colistina (polimixina E) se considera uno de los antibióticos cruciales de último recurso y se considera una opción importante para su uso contra las infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes (**Kaye et al., 2016**). Desafortunadamente, la colistina se usa comúnmente en el mundo animal para tratar infecciones y como promotor del crecimiento en alimentos para animales, y estas prácticas han contribuido a la resistencia mundial rápida y a gran escala a este antibiótico (**Elbediwi et al., 2019**).

1.1.3. Resistencia a colistina

Tradicionalmente, los mecanismos de resistencia a la colistina se presentaban por mutaciones localizadas en el cromosoma (**Kim et al., 2019**). Sin embargo, el descubrimiento del mecanismo de resistencia a la colistina móvil transmitido por plásmidos en 2015, llamado *mcr* (del inglés mobile colistin resistance), plantea una amenaza significativa debido a la capacidad de estos plásmidos para moverse entre diferentes especies bacterianas a través de la transferencia horizontal de genes (**Y. Y. Liu et al., 2016**). Considerando estos resultados, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda que los países alrededor del mundo implementen estrategias de vigilancia para detectar la presencia de microorganismos resistentes a colistina mediados por plásmidos y tomar las medidas adecuadas para controlar y prevenir su diseminación (**PAHO/WHO, 2016**).

Desde 2015, el gen *mcr* ha sido reportado en el contenido cromosómico o plasmídico en algunas especies bacterianas, principalmente en las pertenecientes al orden

Enterobacteriales (Zhang et al., 2021). En la actualidad, el gen *mcr* es detectado con mayor frecuencia en aislamientos de *E. coli* (Forde et al., 2018). Además, se han detectado diez variantes diferentes del gen *mcr* (*mcr-1* a *mcr-10*) en todo el mundo en bacterias aisladas de humanos, animales, alimentos, medio ambiente y granjas (Hussein et al., 2021).

1.1.4. Investigaciones epidemiológicas de *Escherichia coli mcr-1* positivo en Ecuador

En el Ecuador, la primera evidencia de la presencia del gen *mcr-1* fue detectada en aislamientos de *E. coli* de origen humano en el año 2016 (Ortega-Paredes et al., 2016). Desde esta fecha, los reportes de detección de este gen de resistencia han continuado en aumento, siendo manifestado en el medio ambiente (Calero-Cáceres et al., 2022), animales de compañía (Albán M et al., 2020; Ortega-Paredes et al., 2019) y animales de granja (Yamamoto et al., 2019). Debido al número limitado de aislamientos, actualmente no es posible encontrar una conexión epidemiológica entre los aislamientos, considerando la compleja diversidad de linajes, la escasez de aislamientos clínicos y el sesgo sobre el origen de las muestras (limitado a las provincias de Pichincha, Cotopaxi y Tungurahua).

1.1.5. Secuenciación de genoma completo (WGS)

Los costos asociados con WGS (del inglés whole-genome sequencing) están disminuyendo rápidamente, lo que permite un acceso más amplio y asequible a esta nueva tecnología (Quainoo et al., 2017). WGS se está convirtiendo en un estándar de oro para la caracterización de patógenos a nivel de investigación. Según una búsqueda en PubMed con los términos " Whole-genome sequencing of bacterial pathogens", los artículos publicados aumentaron sustancialmente, de 93 en 2012 a 767 en 2021. El número de secuencias bacterianas depositadas en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI, del inglés National Center for Biotechnology Information) fue de 2.042.430 muestras biológicas en mayo de 2022 (National Library of Medicine, 2022). Aunque el WGS no sustituye a los métodos fenotípicos para detectar AMR con fines de salud pública, las considerables ventajas de esta tecnología son cruciales para comprender la evolución y diseminación de nuevos determinantes de AMR. Entre los muchos beneficios de WGS, esta tecnología caracteriza las bacterias al

identificar la especie, el serotipo, información genotípica, contenido de profagos, genes de resistencia y virulencia, la anotación del genoma y la filogenia dentro de flujos de trabajo de laboratorio *in silico* (Kekre et al., 2021).

1.1.6. Enfoque del estudio

En base a una colaboración con Food and Drug Association (FDA) de los Estados Unidos, se secuenció el genoma completo de un aislamiento de *E. coli* portadora del gen *mcr-1* en un perro con distemper canino aislado en la ciudad de Ambato, el cual fue caracterizado preliminarmente en el estudio de Albán M et al., (2020). Por lo tanto, la presente investigación plantea la caracterización *in silico* de la secuencia de este aislamiento.

1.1.6.1. Herramientas bioinformáticas y base de datos

A continuación, se detallan las bases de datos de donde se obtuvieron los 125 WGS de *E. coli mcr-1* positiva proveniente de 25 países de diferentes continentes como Asia, América, África y Europa. De igual manera, se detalla a continuación las herramientas bioinformáticas de la plataforma CGE, la base de conocimientos del Departamento de Biología de Sistemas de Energía (KBase) de EE.UU, Galaxy e iTOL.

1.1.6.2. European Nucleotide Archive (ENA)

Es una plataforma abierta y compatible para la gestión, intercambio, integración y difusión de datos de secuencias de nucleótidos a nivel mundial. Esta base de datos pertenece a The European Molecular Biology Laboratory's European Bioinformatics Institute (EMBL-EBI) y contiene proveedores de servicios secundarios como UniProt, Array Express, RNACentral sobre la cual se puede ensamblar la compresión científica de los sistemas biológicos en áreas de salud, ciencias ambientales, vigilancia de patógenos. Además, incluye una amplia cartera de herramientas que permite subir y extraer secuencias en formato FASTQ o FASTA (ENA, 2022)(Harrison et al., 2021).

1.1.6.3. National Center for Biotechnology Information (NCBI)

Esta página web de acceso libre produce una variedad de recursos de información biomédica y genómica, esto incluye la base de datos de secuencias de ácidos nucleicos GenBank® y la base de datos PubMed® de citas y resúmenes publicados en revistas de ciencias. Además, NCBI implementa el programa BLAST proporcionando a sus usuarios

búsqueda y recuperación inmediata de secuencias, artículos científicos, expresión de genes, proteínas, bioproyectos entre otros recursos puesto que comprende 35 bases de datos distintos que periódicamente reciben actualizaciones (NCBI, 2022; Sayers et al., 2022).

1.1.6.4. Enterobase

Es un software en línea de fácil uso, permite analizar y visualizar la variación genómica de bacterias entéricas como *Salmonella*, *Escherichia/Shigella*, *Clostridioides*, *Vibrión*, *Yersinia*, *Helicobacter* y *Moraxella*. Enterobase se basa en cepas, cada cepa está asociada con metadatos genómicos de ensamblajes, donde tiene la posibilidad de comparar el genoma ejemplar con más de 120000 genomas existentes de todo el mundo, por consiguiente, el tiempo de análisis depende del número de cepas aproximadamente 100 cepas en 3 horas. Por otro lado, esta herramienta bioinformática mantiene las cepas en estado privado durante 12 meses, sin embargo, muchos usuarios publican sus resultados de inmediato para facilitar la colaboración e identificar de manera temprana brotes. Por último, el esquema Enterobase de *E. coli/Shigella* contiene alrededor de 100.000s de números cgST (Z. Zhou et al., 2020).

1.1.6.5. ResFinder 4.1.

Es una herramienta bioinformática de la plataforma CGE, utiliza la secuencia de la muestra en formato FASTA es decir, con genoma ensamblado o contigs, o en formato FASTQ (reads sin procesar). Contiene cuatro bases de datos destinadas a analizar los genes de resistencia a antibióticos adquiridos, mutaciones cromosómicas, traducción del genotipo al fenotipo y los paneles específicos de la especie para los antimicrobianos reemplazando a las pruebas fenotípicas y PCR convencional utilizadas de manera tradicional para determinar la susceptibilidad a los antimicrobianos (Bortolaia et al., 2020).

1.1.6.6. PathogenFinder 1.1.

Herramienta bioinformática gratuita de la plataforma CGE utilizado para la predicción de la patogenicidad bacteriana mediante el análisis de datos de reads sin procesar o genoma ensamblado. Esta herramienta permite detectar secuencias de genes con función o participación relacionada en la patogenicidad (Cosentino et al., 2013).

1.1.6.7. MLST 2.0 (Multi-Locus Sequence Typing)

Representa uno de los métodos más utilizados para la tipificación de microorganismos patógenos. Consiste en el análisis de las secuencias de fragmentos de aproximadamente 450 pb de por lo menos 7 genes housekeeping, cuyas variaciones permiten diferenciar las distintas cepas de la misma especie. Es un método rápido y permite la obtención de resultados concretos, reproducibles que necesitan los investigadores para determinar los tipos de secuencia de sus aislamientos (Díaz et al., 2018). El programa MLST versión 2.0 es una herramienta bioinformática que analiza los perfiles de MLST para 66 especies bacterianas utilizando como datos de entrada el WGS que puede ser ingresado en formato FASTA y FASTQ. Mensualmente, MLST 2.0 actualiza su base de datos MLST y sus alelos de MLST, los mismos que permitirán identificar el tipo de secuencia que mejor coinciden con el esquema MLST de estudio gracias al método de clasificación basado en BLAST (Larsen et al., 2012).

1.1.6.8. Plasmid Finder

Según Carattoli et al., (2014) es una herramienta web que contiene una base de datos de consenso que integra replicones de 559 plásmidos completamente secuenciados. Se construyó a partir de 126 secuencias diseñadas en plásmidos completamente secuenciados disponibles en la base de datos de nucleótidos del NCBI en 2014 y se ha actualizado continuamente para incluir nuevos replicones detectados en plásmidos secuenciados más recientemente asociados con la familia *Enterobacteriaceae*. Plasmid Finder se puede utilizar para el análisis de secuencias de replicones de datos de secuenciación en bruto (fastq) y ensamblados (fasta).

1.1.6.9. pMLST (plasmid multilocus sequence typing)

Herramienta web gratuita de la plataforma CGE, permite subtipificar datos de secuenciación genómica completo de miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, revelando tipos de secuencias de plásmidos (ST) conocidos, nuevos alelos y variantes ST. Esta herramienta web admite genomas WGS en formato FASTA y FASTQ, además la actualización de su base de datos es semanal desde www.pubmlst.org facilitando la tipificación y detección rápida de tipos de plásmidos que generan resistencia a múltiples fármacos (Carattoli et al., 2014).

1.1.6.10. MGE (Mobile Element Finder)

Herramienta bioinformática gratuita de la plataforma CGE, Mobile Element Finder identifica elementos genéticos móviles y su relación con genes de resistencia a los antimicrobianos y factores de virulencia. La detección rápida de MGE se basa en la similitud de secuencia con una base de datos de 4.452 elementos conocidos como genes de resistencia, factores de virulencia y detección de plásmidos. Este servicio web requiere como dato de entrada la secuencia ensamblada en formato FASTA (**Johansson et al., 2021**).

1.1.6.11. SerotypeFinder-2.0

Pertenece a la plataforma CGE e identifica el serotipo de manera *in silico* a partir de datos WGS de aislamientos secuenciados totales o parciales de *Escherichia coli*, el formato de archivo que admite es *fasta* o *fastq*. La herramienta basa su metodología en los genes *wzx*, *wzy*, *wzm* y *wzt* del sistema de procesamiento del antígeno O para la tipificación *in silico* O y los genes de flagelina *fliC*, *flkA*, *flmA* y *flnA* para la tipificación *in silico* H. Todos los genes mencionados anteriormente provienen de la base de datos del NCBI, los cuales son frecuentemente actualizados por el software (**Joensen et al., 2015**).

1.1.6.12. cgMLST

Este método de subtipificación permite a muchos investigadores definir los genes centrales o comunes entre diferentes cepas de la misma especie; es utilizado principalmente en estudios epidemiológicos debido a que tiene la ventaja de ser un método estandarizado, preciso y altamente discriminatorio puesto que el número de *loci* objetivo puede llegar a varios miles y no solo limitarse (**Z. Zhou et al., 2020**). Se construyó un árbol filogenético utilizando este esquema de tipificación de secuencias multilocus del genoma central cgMLST para la diferenciación entre aislados *E.coli mcr-1* positivos de disinto origen para analizar las estructuras poblacionales y así comparar, compartir los resultados de tipificación entre los 125 WGS localizados en varios puntos geográficos.

1.1.6.13. CHTyper 1.0

Es una herramienta bioinformática de la plataforma CGE utilizada para tipificar aislamientos secuenciados de genoma completo o parcial de *E. coli* como resultado de la

identificación de los variantes alélicos del *fim H fim C* presentes en la especie. La tipificación *fim (CH)* que utiliza esta herramienta bioinformática está integrada por *fim C*, uno de los genes utilizados en el esquema MLST basado en siete locus y un fragmento interno del alelo *fim H* que codifica la adhesina fimbrial de tipo 1 con una precisión del 95% para determinar de manera rápida los tipos de secuencias (ST) y subST de grupos clonales de cepas de *E. coli* patógenas extraintestinales. CHTyper admite secuencias generadas por secuenciación Sanger, archivos FASTQ y WGS (Roer et al., 2018).

1.1.6.14. iTOL (Tree Of Life) v5

Herramienta en línea y gratuita financiada por el Ministerio Federal de Educación e Investigación de Alemania. Es empleada para la visualización, diseño y anotación de árboles filogenéticos. Emplea Java Script para implementar el motor de visualización del árbol y utiliza el elemento Canvas de HTML5 para su visualización. Actualmente, maneja más de 1 millón de árboles de más de 70.000 usuarios individuales debido a que crea figuras de alta calidad y admite formatos de entrada de uso común como formato FASTA, para árboles filogenéticos Newick, Nexus y PhyloXML, también se admiten archivos de ubicación filogenética creados por EPPA, pplacer y árboles QIIME. Finalmente, los formatos de visualización de árboles varían desde filogramas o cladogramas, arraigados o no arraigados, rectangulares o radiales los cuales son manipulados de acuerdo al diseño del usuario (Letunic & Bork, 2021).

1.1.6.15. SPAdes

Ensamblador *de novo* gratuito basado el algoritmo de Bruijin Graph, mide la relación que se produce entre las subcadenas de nucleótidos de 10 pb (kmer) creadas para construir el Bruijin Graph inicial donde los nodos son los kmers y posteriormente solo se basa en operaciones gráficas teóricas como topología del gráfico, cobertura y longitudes de secuencias (González de la Fuente, 2018). Es así como genera ensamblajes unicelulares en formato FASTA formado por contigs que cubren del 95 a 99% del genoma que está siendo objeto de estudio. Para evaluar la eficacia del ensamblado, proporciona la longitud media y mínima de contigs, el N50 que es la longitud de contigs más pequeño de aquellos que representa el 50% de genoma y la profundidad de cobertura que es el número de veces que una determinada posición de nucleótido fue secuenciada (Bankevich et al., 2012).

1.1.6.16. KBase

Es un software gratuito que permite el intercambio de datos, integración y análisis de microorganismos. Incluye una gran cantidad de herramientas para el ensamblaje de genomas, anotación de genomas, análisis de secuencias, genómica comparativa, análisis de comunidades microbianas, entre otras (Arkin et al., 2018).

1.1.6.17. Galaxy Platform Directory

Es una plataforma gratuita basada en la web, que puede ser utilizada para analizar y manipular gran cantidad de conjunto de datos en un amplio espectro de dominios de ciencia de la vida tales como genómica, metagenómica, proteómica, metabolómica. Galaxy implementa un conjunto de herramientas de manera que puedan ser reproducibles, accesibles, de fácil ejecución e interpretación de resultados (Afgan et al., 2018).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Caracterizar una secuencia de genoma completo de *Escherichia coli mcr-1* positiva de origen animal de Ecuador

1.2.2 Objetivos Específicos

1. Analizar una secuencia de genoma completo de *E. coli* portadora del gen *mcr-1* de origen canino aislada en Ecuador a través del uso de plataformas bioinformáticas.
2. Evaluar la distancia filogenética entre las secuencias de genoma completo de *E. coli* portadoras del gen *mcr-1* de origen ecuatoriano (humanos, animales y ambientales), con secuencias representativas de diferente origen geográfico.

3. Realizar una comparación entre los resultados de secuencias similares de origen ecuatoriano (genes de resistencia a antibióticos, genes de virulencia, plásmidos, tipo de secuencia MLST y mecanismos de patogenicidad) con estudios afines.

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO

2.1 Materiales

-Base de datos:

1. Enterobase
2. National Center for Biotechnology Information (NCBI)
3. European Nucleotide Archive (ENA)

-Herramientas bioinformática de la plataforma:

1. Centro de Epidemiología Genómica (CGE)
2. Departamento de Biología de Sistemas de Energía de EE.UU (KBase)
3. Tree of Life v5 (iTOL)
4. Galaxy Platform Directory

-Computadora portátil

2.2 Metodología

En la presente investigación se plantea la caracterización *in silico* de una secuencia de genoma completo de *E. coli* portador del gen *mcr-1* proveniente de un perro con distemper canino de la ciudad de Ambato, dicha secuenciación fue realizada a través de la plataforma Illumina MiSeq por el laboratorio UTA RAM One Health con colaboración con Food and Drug Association (FDA), proveniente de estudios preliminares que no incluyeron el análisis de genoma completo (Albán M et al., 2020; Núñez Arcos, 2018)

El primer paso fue realizar el ensamblaje final de UTA069, se utilizó la plataforma de KBase para lo cual se registró un nuevo usuario en su página web. Se trabajó con las herramientas *SPAdes* complementado con *Annotate Assembly and Re-annotate Genomes with Prokka - v1.14.5*, para cada una y de manera independiente se creó una nueva narrativa para subir la secuencia WGS en formato *fastq*. Luego, se cargó a la plataforma

el documento que contenía la secuencia desde nuestro computador seleccionando previamente el formato. Como resultado, se obtuvieron un archivo *fasta*, valores con respecto al número de contigs, % GC, longitud total (pb) y número de genes. La secuencia cargada en el software como los resultados generados se guarda en un historial. Utilizando la plataforma Kbase, se evaluó la calidad del genoma, por medio de la aplicación *CheckM-1.0.18* y *Assess Read Quality with FastQC- v0.11.9*. Otra plataforma utilizada fue *QUAST-v4.4*, el cual evaluó la calidad del genoma en base a el N50 (**Arkin et al., 2018**).

Con la finalidad de analizar y comparar el aislamiento de estudio con varias secuencias de genoma completo de *E. coli* portadora del gen *mcr-1*, se buscaron dichas secuencias en publicaciones, revistas como en las plataformas de Enterobase, NCBI y ENA de diferente origen e ubicación geográfica. El criterio de selección de los aislamientos fue basado parcialmente en lo indicado por el estudio de **Nagy et al., (2020)**. Los hallazgos fueron descargados en el ordenador en formato *fasta* y guardado con el número_de_acceso_localización_año. Es recomendable registrarse en cada plataforma para que las búsquedas se almacenen y tenga la posibilidad de crear carpetas y organizar los WGS encontrados.

Luego, se prosiguió a caracterizar tanto la cepa de interés UTA069 como el resto de las 124 cepas *E. coli* *mcr-1* positivas seleccionadas a nivel global, mediante el uso de las herramientas de CGE. Para esto, también se registró en la página web, se subió desde el ordenador a la plataforma uno por uno cada documento que contenía las secuencias en formato *fasta* para correr de forma independiente en las aplicaciones de *Resfinder 4.1*, *Plasmid Finder*, *MLST 2.0*, *pMLS*, *SerotypeFinder-2.0*, *CHTyper 1.0r*, *MGE* y *PathogenFinder 1.1* las cuales analizaron respectivamente los genes de resistencia antibióticos, los plásmidos, los perfiles de MLST, la subtipificación de la cepas, los elementos genéticos móviles e islas de patogenicidad.

Por último, se elaboró un árbol filogenético basado en el método de subtipado, es decir, *cgMLST*, mediante la complementación entre las herramientas bioinformáticas de Galaxy e iTOL utilizando las 125 WGS, como resultado se obtuvo un árbol circular como se evidencia en la figura 1, de ahí se dividió en figura 4 y 5 para observar la presencia (cuadrados negros) o ausencia (cuadrados transparentes) de los genes de resistencia a

antibióticos determinados por *Resfinder*. De igual manera, se hizo una ampliación obteniendo así figura 2 y 3 que demuestra los marcadores de plásmidos y factores de virulencia obtenidos por *Plasmid Finder*, *MGE*.

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.1. Análisis de secuencia de genoma completo mediante plataformas bioinformáticas

La información global obtenida del estudio por las plataformas CGE, Enterobase, KBase, Galaxy Sciensano e iTOL empleadas en la caracterización del aislado *E. coli* se detallan a continuación.

3.1.2. Análisis de secuencia de UTA069

La secuencia de genoma completo fue tipificado mediante la técnica Tipificación de Secuencias Multilocus (MLST) de la plataforma CGE para así determinar su serotipo. De modo que, la secuencia perteneciente al laboratorio UTA RAM One Health corresponde al tipo de secuencia ST1196, el cual ha sido identificado tanto en humanos, animales destinado a la producción de alimentos y de compañía en todo el mundo, como se evidencia en los estudios recientes en países del sur de Asia en criaderos de pollos de Pakistán (**Bilal et al., 2021**), en cóndores de América del Sur (**Fuentes-Castillo et al., 2020**), en Europa en aguas residuales de España (**Delgado-Blas et al., 2021**) e humanos (**Lalaoui et al., 2019**) y Alemania en animales de compañía y aves de corral (**Pulss et al., 2018**) (**Delgado-Blas et al., 2021**). Por último, (**Delgado-Blas et al., 2021**) estima que el ST1196 surgió aproximadamente en el año 1996 en Alemania, desde entonces la cepa se propagó en poco tiempo a nivel global siendo mayor su presencia en las secuencias de origen animal.

La secuencia reveló 106 números de contigs, una longitud total de 5,164,337 pb con un valor N50 de 224,016 pb. El ensamblaje de la secuencia demostró 99,96% de integridad presentando 0,26% de contaminación. Por otra parte, UTA069 contiene 50,61% de GC y 4,963 genes. Además, este clon ST1196 contiene cuatro plásmidos en su genoma como son IncX1, IncFIB, IncFII, IncI2, tal como se detalla en la tabla 1.

Los resultados proporcionan información necesaria para realizar estudios epidemiológicos de clones circundantes de *E. coli mcr-1* positivas en Ecuador como en otras localizaciones y de distinto origen.

Tabla 1. Caracterización de *E. coli* UTA 069

No. de contigs	106	
Longitud total (pb)	5,164,337	
N 50 (pb)	224,016	
Contenido de GC (%)	50.61	
Número de genes	4,963	
Calidad del genoma % total [% de contaminación]	99.96% [0,26]	
Cobertura del genoma (×)	66.38x	
Secuencias codificadoras de proteínas (CDS)	5,205	
Genes tRNA	83	
Genes rRNA	9	
Serotipo	O103:H28	
MLST	1196	
Contenido de plásmidos	IncX1, IncFIB, IncFII, IncI2	
Factores de virulencia	<i>cma, cvaC, hlyF, iroN, iss, lpfA, sitA, traT, ompT, terC, traT, gad</i>	
Elementos genéticos móviles (MGEs)	IS SEn6, MITEEc1, ISEc37, ISKpn26, IS100, ISEc38, IS SEn1, ISKpn8, ISEc1	
Genes de resistencia a antibióticos	Betalactámicos	<i>bla_{TEM}-206, bla_{TEM}-1B, bla_{TEM}-141, bla_{CTX-M}-55</i>
	Antagonistas de la vía del folato	<i>sul3, dfrA12</i>
	Macrólidos	<i>mdf(A)</i>
	Fosfomicina	<i>fosA3</i>
	Aminoglucósidos	<i>aadA1</i>
	Colistina (polimixina)	<i>mcr-1.1</i>
	Fenicoles	<i>cmlA1</i>
	Tetraciclinas	<i>tetA</i>
Bioproject number NCBI	PRJNA751928	
Biosample accession no.	SAMN24594990	

Fuente: Autor

3.1.3. Factores de virulencia (FV)

Los FV se agrupan en productos secretados y estructuras de la superficie celular producidos por microorganismos patógenos para colonizar e invadir al huésped, evadiendo la acción inmunitaria con la finalidad de causarle enfermedades (**Leitão, 2020**). La constitución de FV en ExPEC pueden ser desde adhesinas, toxinas, factores de adquisición de hierro, polisacáridos, cápsulas de polisacáridos o invasivas, estos FV normalmente son codificadas por genes en el ADN cromosómico (**Sarowska et al., 2019**).

La secuencia UTA069 reveló la presencia de genes relacionados con colicinas (*cvaC*), resistencia sérica (*iss, ompT, traT*), hemolisina (*hlyF*), glutamato descarboxilasa (*gad*), resistencia al telurio (*terC*), fimbrias polares largas (*lpfA*) y por último la captación de hierro (*iroN, sitA*). Algunos de los genotipos de virulencia están alojados en MGE y plásmidos, y predominan en orina de humanos, animales domésticos como gatos y perros de diversos lugares en períodos de tiempo (**Moore et al., 2021**). Otro ejemplo, **Ali et al., (2021)** sugiere que el gen *iss* codifica una proteína relacionada con una mayor supervivencia en suero en aislados de *E. coli* humana, mientras que, al gen *iroN* lo identifica como la proteína receptora de sideróforo de enterobactina en ExPEC. Las FV son muy diversas y se mantienen a través de la transferencia horizontal de genes (**Moore et al., 2021**).

3.1.4. Plásmidos

Los plásmidos son un tipo de MGE, tienen la facultad de autorreplicarse y actuar como vectores de genes de resistencia a los antibióticos como es *mcr-1*. **Zhang et al., (2021)** alude que el plásmido *mcr-1* codifica la enzima pEtN transferasa modificando químicamente la unión de fosfoetanolamina (PEA/pEtN transferasa) al grupo del lípido A de la estructura de los lipopolisacáridos (LPS), esto produce el aumento de las cargas catiónicas del LPS bacteriano disminuyendo así la afinidad de unión de la colistina hacia LPS. Por lo tanto, esta modificación enzimática del objetivo del antibiótico resulta en el mecanismo de resistencia al antibiótico.

Mediante la herramienta Plasmid Finder de la plataforma de CGE se reveló cuatro tipos de incompatibilidad (Inc) de replicones de plásmidos en la secuencia UTA069 IncX1, IncFIB, IncFII e IncI2, siendo el último, IncI2 el plásmido que alberga *mcr-1*. **Gutiérrez**

et al., (2019) sugiere los plásmidos IncI2 se asocian con frecuencia con *bla_{CTX-M-55}* como se detectó en la cepa UTA069 y destacó que la prevalencia del *mcr-1* requiere atención urgente y debe ser examinado tanto en MDR y en aislados susceptibles. Por otro lado, según bibliografía **Daza-Cardona et al., (2022)** menciona que los plásmidos que hospedan con mayor frecuencia *mcr-1* en cepas *E. coli* de origen animal, humano, alimentario y ambiental son IncFIB, IncFII, IncI2, IncI1, IncFIC, IncFIA, IncX1 e IncX4, en comparación con los resultados obtenidos de los 125 WGS a nivel mundial los plásmidos IncX1 e IncI2 predominan en cepas de origen animal para los continentes América y Asia de manera proporcional (9% y 15% para cada continente); en efecto **Sun et al., (2020)** encontró *mcr-1* en aislados de heces de cerdos en China. De igual forma, **Rumi et al., (2019)** detectó IncI2 en animales en heces de gatos y perros en Argentina, mientras que, **Mikhayel et al., (2021)** detectó en pollos de engorde en Líbano. Finalmente, los plásmidos IncFIB e IncFII presentaron mayor proporción en el continente asiático en origen animal (30% y 22% respectivamente de 125 WGS), estos plásmidos epidémicos están ligados a la resistencia antimicrobiana de estrecho rango hospedero (**Cortés, 2016**). Por ende, **Alcock et al., (2020)** sugirió que la secuencia *mcr-1* está presente en los resistomas de *Escherichia fergusonii*, *E. coli*, *Citrobacter youngae*, *Escherichia albertii*, *Klebsiella aerogenes*, *Morganella morganii* por presentar coincidencias en sus secuencias.

3.1.5. MGEs

Los elementos IS o secuencias de inserción (IS) son un tipo de elemento genético móvil, (**B. Liu et al., 2020**) consideran que desempeñan un papel en la diversificación de las formas del antígeno O mediante la inactivación de genes al transferir el gen del antígeno O intraespecies e interespecies.

El análisis WGS de la cepa UTA069 identificó una serie IS provenientes de varias especies: de *Salmonella enterica* se identificó IS SEN1 y SEN6, pero SEN6 es el único presente en replicón IncI2. **McClelland et al., (2004)** demostró que se aisló por primera vez en humanos de EE.UU debido a que codifica una enzima transposasa (TnpA) que tiene la facultad de escindir el ADN eucariótico y pueden adoptarse como herramientas para la edición del genoma; en cambio, los IS provenientes de aislamientos de *E. coli* fueron ISEc1, ISEc38, MITEEc1 y ISEc37, todos codifican a enzima transposasa pero ISEc37 está albergado en el replicón IncFII y es proveniente de un aislado clínico humano

de O108:H categorizado como EPEC; por otro lado, se determinó para la especie *Klebsiella pneumoniae* ISKpn8 y ISKpn26, donde ISKpn26 tiene origen en una cepa multirresistentes aislada de humanos (P. Liu et al., 2012); Finalmente, IS100 es originario de *Yersinia pestis* el cual contiene genes reprimibles por hierro como *fyuA* e *irp2* (enterobactina sintetasa F) implicados en el complejo sideróforo-hierro (Podladchikova et al., 1994) (Siguier et al., 2006).

3.1.6. Genes de resistencia a antibióticos.

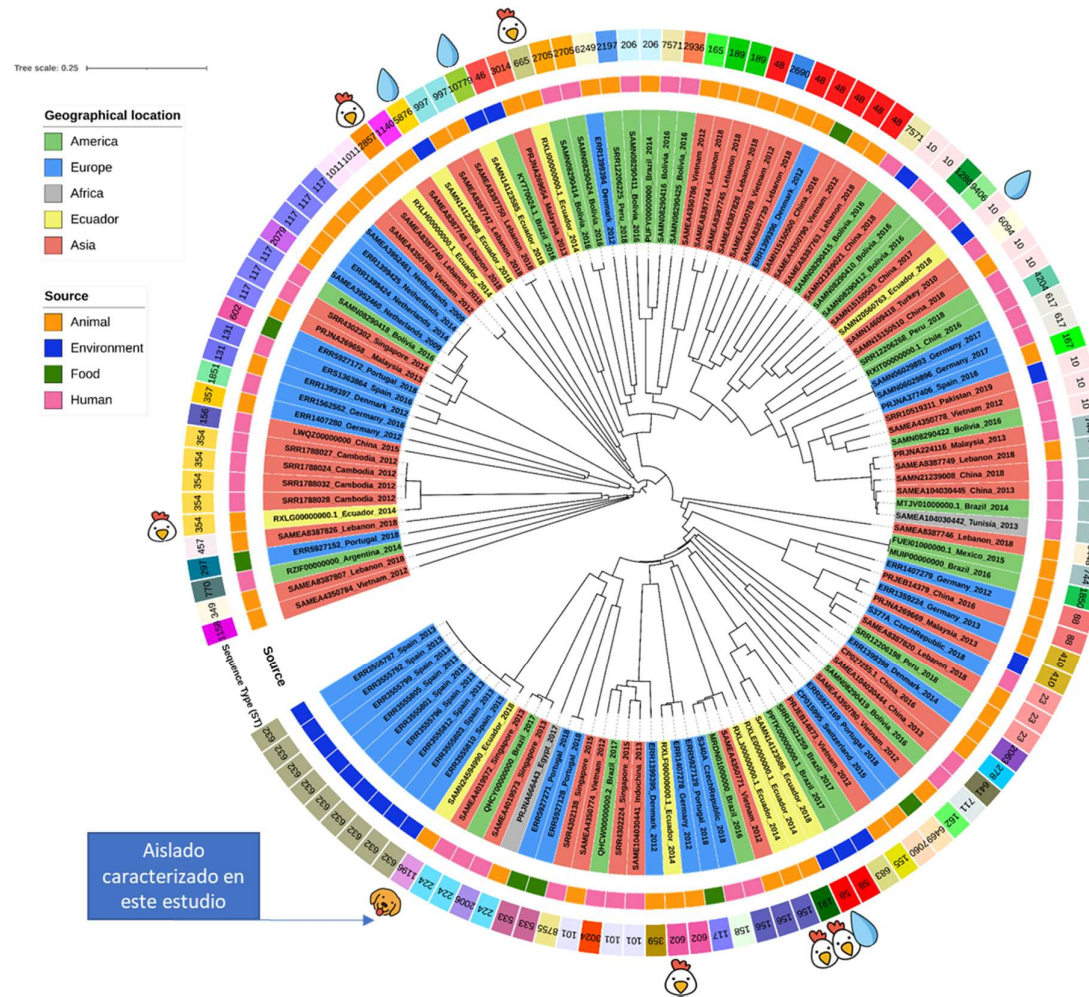
Los aislamientos que portan el gen *mcr-1* por lo general portan una gran plétora de genes de resistencia a antibióticos (Mendes Oliveira et al., 2019; J. Sun et al., 2018), como se presenta en anexos. El caso del aislamiento UTA069 no es la excepción, en el cual lleva consigo los genes de resistencia a betalactámicos de tipo *bla*_{TEM} y *bla*_{CTX-M-55}, los cuales son frecuentemente detectados en aislamientos ecuatorianos de *E. coli* de origen clínico, animal (pollos) y ambiental en los últimos años (Calero-Cáceres et al., 2022; Ortega-Paredes et al., 2020; Zurita et al., 2020). Adicionalmente, porta el gen *mdf(A)* el cual es responsable de otorgar resistencia a una numerosa cantidad de clases de antibióticos, y cuya presencia en organismos de origen clínico es frecuente alrededor del mundo (Montealegre et al., 2020; Rafique et al., 2020). El gen de resistencia a fosfomicina *fosA3*, el cual tiene un origen reciente y es ordinariamente detectado en aislamientos animales y clínicos que portan el gen de resistencia *bla*_{CTX-M} y otros aislamientos multirresistentes (Y. Zhou et al., 2022). La presencia de genes de tipo *fosA* es de amplia preocupación desde el punto de vista epidemiológico, ya que la fosfomicina es continuamente utilizada por su actividad frente a un amplio rango de patógenos bacterianos, incluidos miembros del orden *Enterobacterales* altamente resistentes (Elliott et al., 2019). El gen de resistencia *aadA1* la cual porta resistencia a los aminoglucósidos, los cuales son una clase esencial de antibióticos bactericidas que se utilizan con frecuencia, principalmente en combinación con betalactámicos, para tratar infecciones graves causadas por bacterias gramnegativas (Ramirez & Tolmasky, 2010). La resistencia a los aminoglucósidos se ha reportado con una mayor frecuencia en los últimos años, incluso, lo que es más preocupante, en asociación con otras clases de antibióticos, como los betalactámicos y las fluoroquinolonas (Bodendoerfer et al., 2020).

El gen de resistencia *tetA* es uno de los principales mecanismos de resistencia a las tetraciclinas, las cuales son parte de los antibióticos más usados a nivel global en el ámbito ganadero (Møller et al., 2016).

3.1.8. Filogenia bajo el esquema cgMLST de las 125 WGS a de *E.coli*

Con la finalidad de evaluar la distancia filogenética e identificar las diferencias entre las secuencias de genoma completo de *E. coli* portadoras del gen *mcr-1* de origen ecuatoriano con secuencias representativas de diferente origen geográfico descargados de las bases de datos se presenta la figura 1, esta comprende un esquema general de cgMLST de las 125 cepas de 25 países que corresponde a cuatro continentes América: Argentina, Bolivia, Brasil, Chile, Ecuador, México y Perú; África: Egipto y Túnez; Asia: Camboya, China, Líbano, Malasia, Pakistán, Singapur, Indochina y Vietnam; por último, Europa: Alemania, República Checa, Dinamarca, Países bajos, Portugal, España, Turquía y Suiza.

Figura 1. Filogenia bajo el esquema cgMLST de las 125 WGS de *E. coli mcr-1* positivo de 25 países a nivel mundial



Aislamientos: Cada país está diferenciado bajo un color referencial de acuerdo al continente que pertenezcan, destacando los de origen ecuatoriano. **Origen:** se presenta 4 fuentes diferenciados por colores: Animal (Naranja), Ambiental (Azul); Alimento (Verde); Humano (Rosado). Se ha incluido en los aislamientos de origen ecuatoriano un emoticono que resalta su origen (openmoji.com).

La figura 1 revela que las relaciones evolutivas entre *mcr-1* que albergan *E. coli* no se correlacionaron con el origen de las muestras y la procedencia geográfica, denotando que existe una distribución de cepas de manera heterogénea. El ST al cual pertenece el aislado UTA069 es 1196, el cual se encuentra relacionado de manera cercana con el ST 632, el cual en la figura 1 se aprecia que pertenece a aislamientos de origen ambiental de España. De la misma forma, nuestro aislamiento objeto de estudio posee los genes de resistencia *bla*_{TEM-1B}, *bla*_{CTX-M-55}, *aadA1* y *sul3* detallados en la figura 4 y 5; así como genes de virulencia similares *traT*, *terC*, *gad*, *IpfA*, además de compartir las mismas clases de plásmidos (Ovejero et al., 2017), como se evidencia en la figura 2 y 3.

En cuanto al resto de las cepas aisladas ecuatorianas, como es el caso del grupo parafilético entre las 4 cepas de aislamiento clínico humano de Camboya y la cepa ecuatoriana RXLG00000000.1 aislada de pollos de engorde reportado por **Vinueza-Burgos et al., (2019)**, se puede observar que pertenecen al mismo ST354, mientras que en la figura 1 se observa dos relaciones al compartir los genes de resistencia *bla*_{TEM-1B} y *sul2*. Por lo cual, se puede sugerir que existe un reservorio de esta variedad clonal en Ecuador al tener un ancestro en común con potencial de diseminación a partir de los continentes América y Asia para el resto del mundo. Por otro lado, se presenta una ramificación que relaciona genéticamente la cepa ecuatoriana RXLF00000000.1 con la cepa alemana ERR1407278, ambos de origen ambiental. Además, estas cepas comparten los plásmidos IncFIB e IncFIC detallados en la figura 3.

La diversidad clonal de los aislamientos ecuatorianos que portan los genes *mcr-1* es sumamente amplia. Sin embargo, la pequeña cantidad de aislamientos de origen ecuatoriano de los cuales se posee las secuencias de genoma completo limita el análisis de las relaciones filogenéticas entre estos aislamientos, motivo por el cual es necesaria la realización de una mayor cantidad de estudios enfocados en la caracterización de patógenos de interés epidemiológico utilizando herramientas de secuenciación de genomas completos.

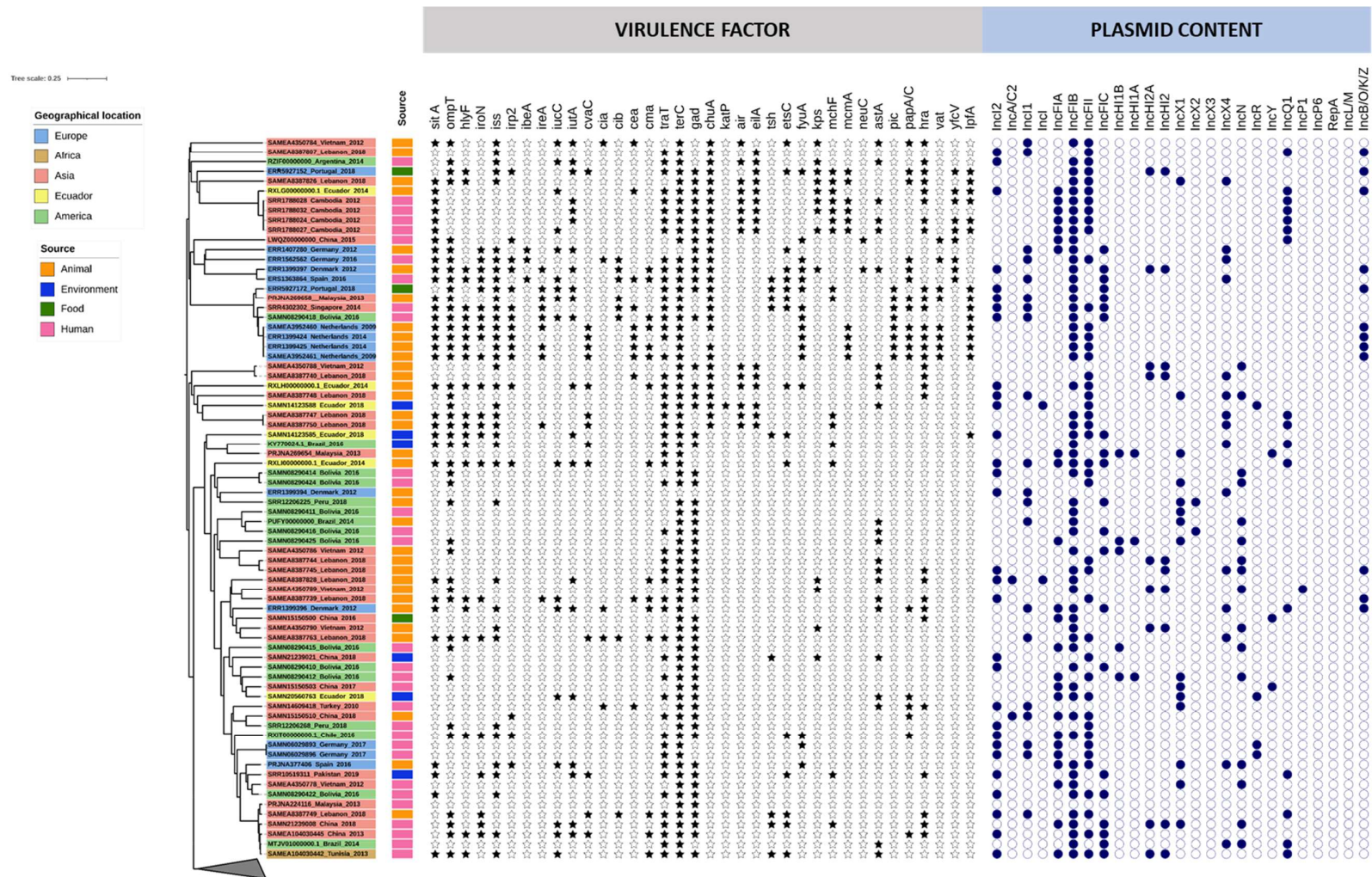


Figura 2. Genes de virulencia y contenido de plásmidos de las secuencias de *E. coli* evaluadas (parte 1).

El origen de los aislamientos se especifica por diferentes colores: Animal (Naranja), Ambiental (Azul); Alimento (Verde); Humano (Rosado). La presencia o ausencia de los genes de virulencia o los grupos de incompatibilidad de plásmidos se indican con estrellas y círculos, respectivamente.

Tree scale: 0.25

Geographical location

- Europe
- Africa
- Asia
- Ecuador
- America

Source

- Animal
- Environment
- Food
- Human

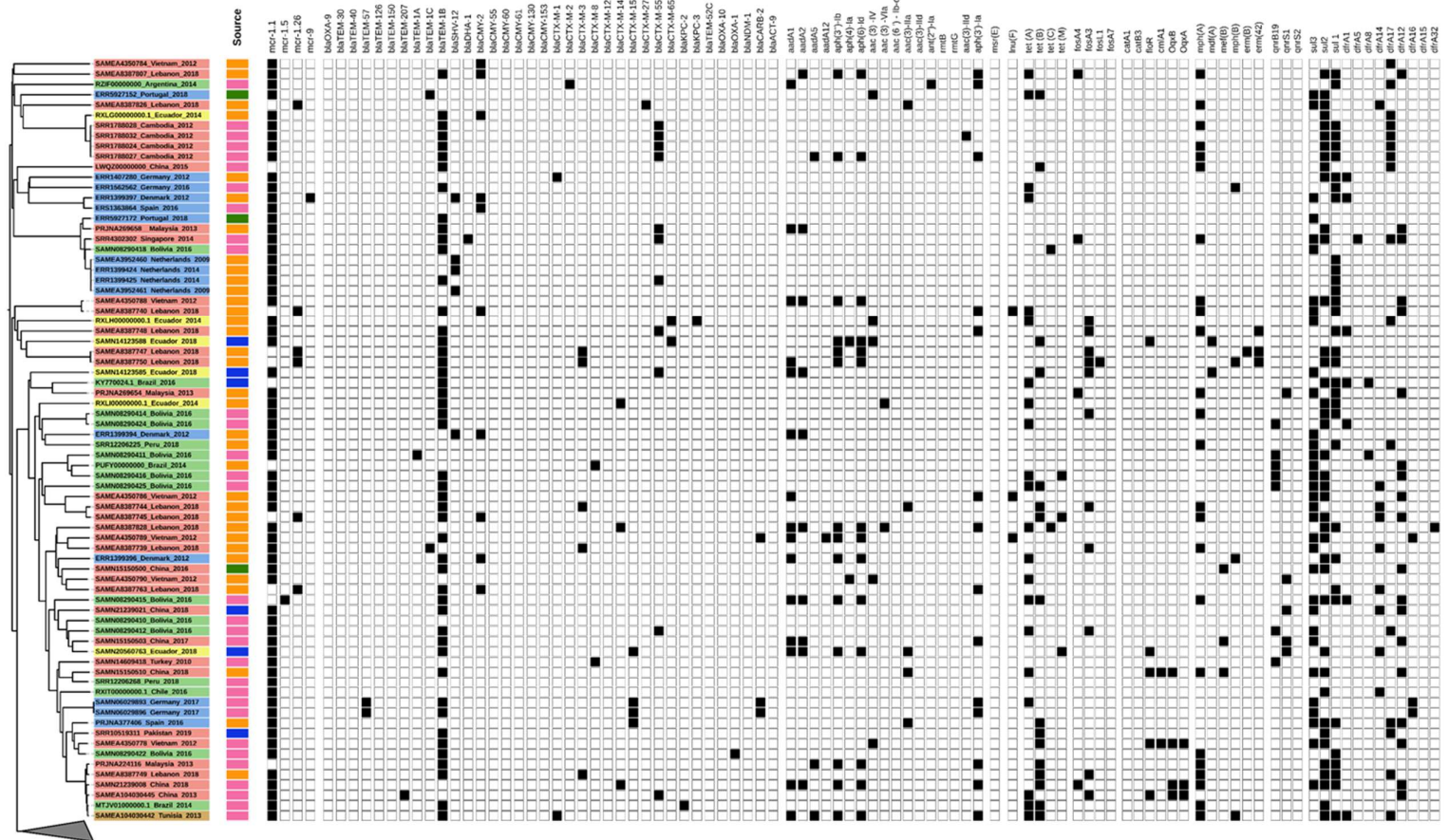


Figura 4. Contenido de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) de los aislamientos de *E. coli* evaluados (parte 1).

El origen de los aislamientos se especifica por diferentes colores: Animal (Naranja), Ambiental (Azul); Alimento (Verde); Humano (Rosado). La presencia o ausencia de los genes de resistencia a antibióticos se representa con un cuadrado de color negro (presencia) y sin color (ausencia).

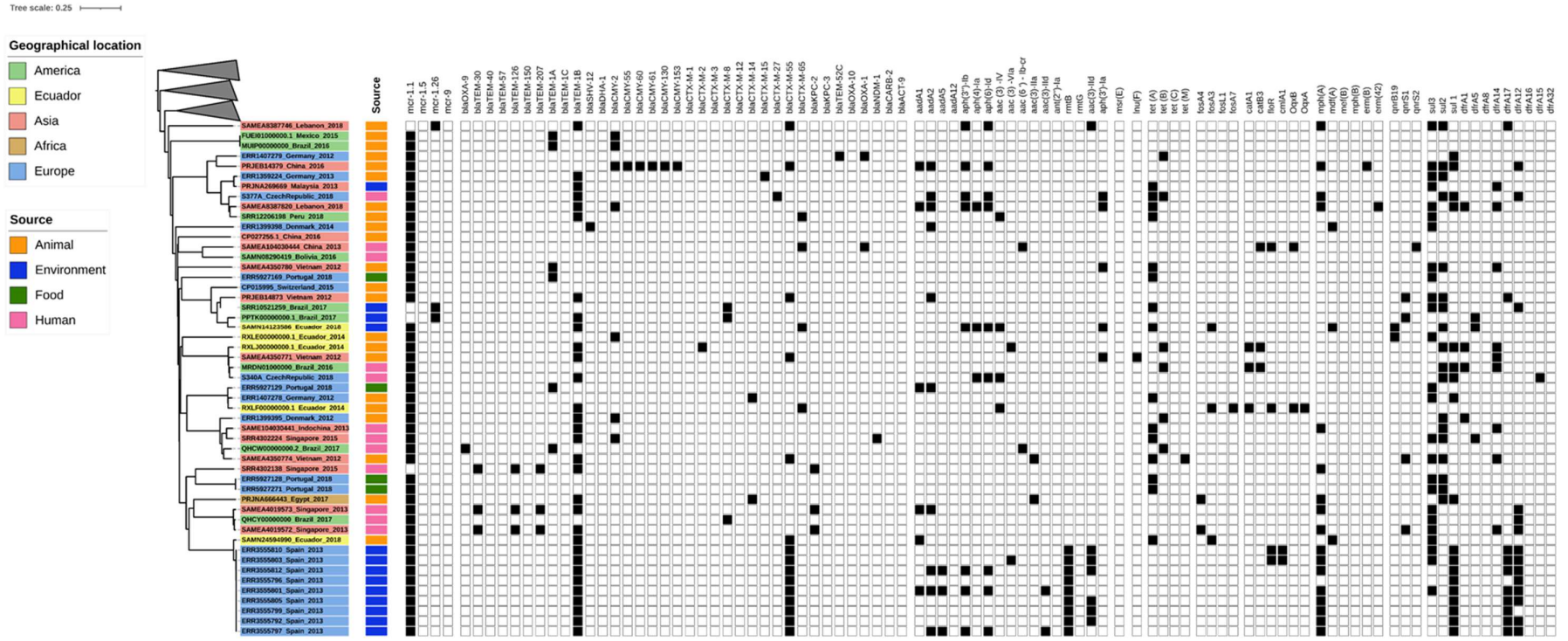


Figura 5.Contenido de genes de resistencia a antibióticos (ARGs) de los aislamientos de *E. coli* evaluados (parte 2).

El origen de los aislamientos se especifica por diferentes colores: Animal (Naranja), Ambiental (Azul); Alimento (Verde); Humano (Rosado). La presencia o ausencia de los genes de resistencia a antibióticos se representa con un cuadrado de color negro (presencia) y sin color (ausencia).

3.1.9. Comparación con secuencias de diverso origen geográfico y tipo de muestra

Con respecto al contenido de plásmidos, UTA069 porta a los grupos IncX1, IncFIB, IncFII e IncI2, los cuales representan los grupos de incompatibilidad más frecuentemente detectados en aislamientos de *E. coli* que portan el gen *mcr-1* a nivel global (**Matamoros et al., 2017**). Tal y como se aprecia en las figuras 2 y 3, los plásmidos de tipo IncFIB presentan una elevada presencia en aislamientos de tipo humano y animal, en comparación con los detectados en orígenes ambientales. De forma contraria, los plásmidos IncFII e IncI2 presentan una elevada frecuencia de detección en aislamientos ambientales, en comparación con los detectados en entornos humanos y animales. La investigación de **Matamoros et al., (2017)** hipotetiza acerca del mecanismo de transferencia genética horizontal de los plásmidos de tipo IncI2, los cuales tendrían un origen animal. Con la finalidad de comprender mejor los mecanismos de diseminación y los elementos genéticos móviles que mayoritariamente participan en la diseminación de *mcr-1*, sería necesaria una re-secuenciación de los plásmidos que se encuentran dentro de estos aislamientos para identificar en cuál de ellos se encuentran presentes el gen *mcr-1* (**Antipov et al., 2016**). Con respecto al origen geográfico, se observa una distribución homogénea de los tipos de plásmidos presentes en los aislamientos analizados.

Con respecto a los mecanismos de virulencia, los genes *terC*, *traT* y *gad* son aquellos que muestran una elevada presencia de forma general a nivel global, los cuales se los asocia principalmente a organismos considerados patogénicos de origen animal (**Kaipainen et al., 2002; Skarżyńska et al., 2021; Turkovicova et al., 2016**). En referencia al tipo de muestra, los genes *ompT*, *iss* y *sitA* son detectados con una mayor frecuencia en aislamientos de origen animal y en los continentes América, Asia y África (figura 2 y 3). El gen *ompT* se usa en estudios epidemiológicos para identificar el patotipo de *E. coli* uropatogénico (UPEC) (**Desloges et al., 2019**). El gen *iss* se lo asocia a microorganismos causantes de shock séptico en humanos en el ámbito clínico, así como el gen *sitA* detectado de forma habitual en UPEC y en *E. coli* patogénico en aves (APEC) (**Bakhshi et al., 2020; Fröding et al., 2020**).

Con respecto a los genes de resistencia a antibióticos, la presencia del gen de resistencia a betalactámicos *bla_{TEM}* es la más frecuente a nivel global, cuya presencia se asocia al impacto antropogénico y cuya presencia en aislamientos multirresistentes se ha incrementado notablemente desde hace más de 20 años (**Chaturvedi et al., 2021; Gootz,**

2014). Entre las variantes de CTX-M de relevancia clínica, *bla*_{CTX-M-55} representó el gen más usual detectado en aislados ambientales y con menor frecuencia en muestras humanas y animales. La variante CTX-M-55 muestra una presencia abundante en aislamientos de Asia, Europa y América. La prevalencia de *Enterobacterales* productores de BLEE de tipo CTX-M-55 está aumentando en todo el mundo sin que se haya aclarado completamente el mecanismo de transmisión, lo que amenaza la salud pública y veterinaria **(Li et al., 2022).**

Otro mecanismo de resistencia que se encuentra presente en UTA069 y con una presencia atípica es *fosA3*, el cual ha sido detectado en aislamientos asiáticos, ausente en la mayoría de aislamientos americanos y totalmente ausente en los aislamientos africanos y europeos (figura 4 y 5). Los aislamientos de *E. coli* resistentes a fosfomicina presentaron un incremento en China desde el año 2010 **(Cao et al., 2017).** En países de Europa, su detección es sumamente infrecuente y ha sido relacionada prioritariamente a aislamientos clínicos de viajeros provenientes de Asia **(Loras et al., 2020).** En Ecuador, el único reporte de resistencia a fosfomicina catalizada por el gen *fosA3* es un póster presentado por INSPI, en el cual se indica una prevalencia mayor al 10% en aislamientos de origen humano y avícola en los últimos años **(Villavicencio et al., 2022)**, el cual es un porcentaje notablemente más alto en comparación con los países de la región.

Otro mecanismo detectado en UTA069 y de identificación frecuente en aislamientos globales es *sul3*, el cual otorga resistencia a la familia de las sulfonamidas. La resistencia a las sulfonamidas está muy extendida en diferentes entornos, incluidos lugares con baja actividad antropogénica **(Lin et al., 2021; Pruden et al., 2012).** Aunque se encuentran con menos frecuencia, otro grupo de ARGs que se detectó con periodicidad fue el de los genes de resistencia a la tetraciclina, específicamente el gen *tetA*, que están ampliamente diseminados en los clones actuales que circulan en todo el mundo. El uso extensivo de tetraciclinas en entornos clínicos y veterinarios como profilácticos y promotores del crecimiento puede generar una presión selectiva para desarrollar y difundir estos ARGs **(Rose et al., 2016; Samanta & Bandyopadhyay, 2020).**

Por lo antes expuesto, la caracterización del aislamiento UTA069 ha permitido destacar su relevancia epidemiológica en base a su información molecular. La presencia de aislamientos de *E. coli* que poseen los genotipos de multirresistencia antibiótica y

mecanismos de virulencia asociados a organismos patogénicos es preocupante, y sugiere que las mascotas podrían representar un reservorio silencioso de bacterias multirresistentes y actuar como elementos de diseminación de estos organismos entre diferentes ambientes.

CAPITULO IV

4.1. CONCLUSIONES

4.1.1 Se analizó una secuencia de genoma completo de *Escherichia coli* portadora del gen *mcr-1* de origen animal a través del uso de plataformas bioinformáticas, por lo que se obtuvo información molecular relativa a la caracterización *in silico* como el número de contigs, longitud total del genoma, *N50*, contenido de GC, calidad del genoma y su porcentaje de contaminación, serotipo, tipo de secuencia MLST, contenido de plásmidos, factores de virulencia, elementos genéticos móviles y genes de resistencia. La secuencia de UTA069 demostró ser una cepa patógena multirresistente, disponible en la base de datos del NCBI bajo el número de acceso SAMN24594990. El análisis servirá como referencia para investigaciones futuras relacionadas con la amenaza sanitaria global como es la resistencia antimicrobiana, en especial para reforzar la vigilancia epidemiológica en el Ecuador y el continente de América.

4.1.2 Se evaluó la distancia filogenética entre las cepas de *E. coli mcr-1* positivas aisladas de diverso origen de Ecuador y aislados de estudios semejantes de diferentes localización geográfica, observándose una distribución de cepas de manera heterogénea; donde la cepa de estudio se relacionó genéticamente con sus análogos provenientes de España, por lo cual, se sugiere que comparten un ancestro en común; en base a la demostración epidemiológica, el reservorio de esta variedad clonal puede encontrarse en países vecinos. Adicionalmente, muchas cepas ecuatorianas están mayormente relacionadas con continentes asiáticos y europeos. Las conexiones epidemiológicas entre los aislamientos, permitirán detectar de manera temprana brotes y orígenes de cepas multirresistentes, sus variantes, y su diseminación en fuentes ambientales, humanas, animales y agroalimentarias a nivel mundial.

4.1.3 Los 11 clones *E. coli* ecuatorianos analizados pertenecieron a distintos tipos de secuencia MLST, a una amplia gama de plásmidos como los tipos de incompatibilidad IncI2, IncFIB, IncFII, IncFIA, IncX4, IncX1, IncN, IncQ1 entre otros. Donde IncI2 e IncFIB demostraron una presencia mayoritaria para

aislamientos ecuatorianos y cepas de distinta fuente aisladas de los cuatro continentes. Los plásmidos se encuentran asociados a diferentes mecanismos de resistencia a antibióticos facilitando la diseminación de los mismos entre miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Adicionalmente, se observó una homogeneidad en los genes de resistencia a antibióticos en función de los orígenes geográficos. Los aislamientos ecuatorianos portadores de resistencia móvil a colistina portan adicionalmente ARGs para aminoglucósidos, sulfonamidas, tetraciclinas, y betalactámicos, cuya presencia ha aumentado en los últimos años los microorganismos del orden *Enterobacterales*. De manera global, los perfiles de resistencia muestran patrones diferentes de acuerdo a su origen geográfico y fuente; de igual manera sucedió con los factores de virulencia.

4.2 RECOMENDACIONES

- 4.2.1** Estudiar activamente los componentes implicados en la vigilancia epidemiológica reforzaran las medidas precautorias para reducir con mayor certeza la ocurrencia de enfermedades o infecciones ocasionadas por *Escherichia coli* en la población, de tal forma, que aclare el conocimiento de los mecanismos que adquieren los patógenos para diseminarse en varios huéspedes y áreas geográficas determinadas.
- 4.2.2** El mundo no está haciendo lo suficiente para hacer frente a la RAM. Nuestros planes de acción actuales necesitan ser más rápidos para controlar la amenaza, debido a que RAM está ejerciendo una presión adicional sobre los trabajadores de atención médica de primera línea al hacer que las infecciones comunes sean más difíciles de tratar, por ello se debe ayudar a los países de todo el mundo a proteger sus sistemas de salud. Además abordar el tratamiento de compuestos antimicrobianos en los efluentes de los hogares, hospitales e instalaciones farmacéuticas para disminuir la evolución bacteriana y desarrollo de superbacterias en diversos reservorios.
- 4.2.3** Fomentar una prohibición global del uso de polimixinas en aplicaciones agroalimentaria, veterinarias puesto que por dichas actividades pueden propagar el *mcr-1* inadvertidamente a los humanos y medio ambiente. No hay que olvidar que, la diseminación de estos marcadores genéticos no está restringidos por fronteras nacionales, por lo cual, es significativo el estudio de los viajes o

comercios de alimentos y animales en la introducción de *mcr-1* en nuevos ecosistemas y países, incluso aquellos con políticas establecidas de administración de antibióticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Adiguzel, M. C., Baran, A., Wu, Z., Cengiz, S., Dai, L., Oz, C., Ozmenli, E., Goulart, D. B., & Sahin, O. (2021). Prevalence of Colistin Resistance in *Escherichia coli* in Eastern Turkey and Genomic Characterization of an *mcr-1* Positive Strain from Retail Chicken Meat. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 27(3), 424–432. <https://doi.org/10.1089/MDR.2020.0209>
- Afgan, E., Baker, D., Batut, B., van den Beek, M., Bouvier, D., Čech, M., Chilton, J., Clements, D., Coraor, N., Grüning, B. A., Guerler, A., Hillman-Jackson, J., Hiltemann, S., Jalili, V., Rasche, H., Soranzo, N., Goecks, J., Taylor, J., Nekrutenko, A., & Blankenberg, D. (2018). The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Research*, 46(W1), W537–W544. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKY379>
- Albán M, V., Tamayo, R., Villavicencio, F. X., Núñez, E. J., Zurita, J., Sevillano, G., Villacís, J. E., & Calero-Cáceres, W. (2020). Canines with different pathologies as carriers of different lineages of *Escherichia coli* harboring *mcr-1* and clinically relevant β -lactamases in central Ecuador. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.05.017>
- Alcock, B. P., Raphenya, A. R., Lau, T. T. Y., Tsang, K. K., Bouchard, M., Edalatmand, A., Huynh, W., Nguyen, A. L. V., Cheng, A. A., Liu, S., Min, S. Y., Miroshnichenko, A., Tran, H. K., Werfalli, R. E., Nasir, J. A., Oloni, M., Speicher, D. J., Florescu, A., Singh, B., ... McArthur, A. G. (2020). CARD 2020: antibiotic resistance surveillance with the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Research*, 48(D1), D517–D525. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKZ935>
- Ali, A., Fontana, H., Sano, E., Li, R., Humayon, M., Rahman, S., Lincopan, N., & Mohsin, M. (2021). Genomic features of a high-risk *mcr-1.1*-positive *Escherichia coli* ST10 isolated from cattle farm environment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(38). <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15437-6>
- Antipov, D., Hartwick, N., Shen, M., Raiko, M., Lapidus, A., & Pevzner, P. A. (2016). PlasmidSPAdes: Assembling plasmids from whole genome sequencing data. *Bioinformatics*, 32(22). <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw493>

- Arcilla, M. S., van Hattem, J. M., Matamoros, S., Melles, D. C., Penders, J., de Jong, M. D., & Schultsz, C. (2016). Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *The Lancet Infectious Diseases*, *16*(2), 147–149. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00541-1/ATTACHMENT/031B4AFB-8CB9-42BC-8D8F-7AAAFD98E687/MMC1.PDF](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00541-1/ATTACHMENT/031B4AFB-8CB9-42BC-8D8F-7AAAFD98E687/MMC1.PDF)
- Arkin, A. P., Cottingham, R. W., Henry, C. S., Harris, N. L., Stevens, R. L., Maslov, S., Dehal, P., Ware, D., Perez, F., Canon, S., Sneddon, M. W., Henderson, M. L., Riehl, W. J., Murphy-Olson, D., Chan, S. Y., Kamimura, R. T., Kumari, S., Drake, M. M., Brettin, T. S., ... Yu, D. (2018). KBase: The United States Department of Energy Systems Biology Knowledgebase. *Nature Biotechnology* *2018* *36*:7, *36*(7), 566–569. <https://doi.org/10.1038/nbt.4163>
- Bai, L., Hurley, D., Li, J., Meng, Q., Wang, J., Fanning, S., & Xiong, Y. (2016). Characterisation of multidrug-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* cultured from pigs in China: co-occurrence of extended-spectrum β -lactamase- and *mcr-1*-encoding genes on plasmids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *48*(4). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.06.021>
- Bakhshi, M., Zandi, H., Bafghi, M. F., Astani, A., Ranjbar, V. R., & Vakili, M. (2020). A survey for phylogenetic relationship; presence of virulence genes and antibiotic resistance patterns of avian pathogenic and uropathogenic *Escherichia coli* isolated from poultry and humans in Yazd, Iran. *Gene Reports*, *20*. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100725>
- Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., Gurevich, A. A., Dvorkin, M., Kulikov, A. S., Lesin, V. M., Nikolenko, S. I., Pham, S., Prjibelski, A. D., Pyshkin, A. V., Sirotkin, A. V., Vyahhi, N., Tesler, G., Alekseyev, M. A., & Pevzner, P. A. (2012). SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *Journal of Computational Biology*, *19*(5). <https://doi.org/10.1089/cmb.2012.0021>
- Bilal, H., Ur Rehman, T., Khan, M. A., Hameed, F., Jian, Z. G., Han, J., & Yang, X. (2021). Molecular Epidemiology of *mcr-1*, *bla*_{KPC-2}, and *bla*_{NDM-1} Harboring Clinically Isolated *Escherichia coli* from Pakistan. *Infection and Drug Resistance*, *14*, 1467–1479. <https://doi.org/10.2147/IDR.S302687>
- Bodendoerfer, E., Marchesi, M., Imkamp, F., Courvalin, P., Böttger, E. C., & Mancini,

- S. (2020). Co-occurrence of aminoglycoside and β -lactam resistance mechanisms in aminoglycoside- non-susceptible *Escherichia coli* isolated in the Zurich area, Switzerland. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 56(1). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106019>
- Bortolaia, V., Kaas, R. S., Ruppe, E., Roberts, M. C., Schwarz, S., Cattoir, V., Philippon, A., Allesoe, R. L., Rebelo, A. R., Florensa, A. F., Fagelhauer, L., Chakraborty, T., Neumann, B., Werner, G., Bender, J. K., Stingl, K., Nguyen, M., Coppens, J., Xavier, B. B., ... Aarestrup, F. M. (2020). ResFinder 4.0 for predictions of phenotypes from genotypes. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3491–3500. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAA345>
- Calero-Cáceres, W., Tadesse, D., Jaramillo, K., Villavicencio, X., Mero, E., Lalaleo, L., Welsh, C., Villacís, J. E., Quentin, E., Parra, H., Ramirez, M. S., Harries, A. D., & Balcázar, J. L. (2022). Characterization of the genetic structure of *mcr-1* gene among *Escherichia coli* isolates recovered from surface waters and sediments from Ecuador. *Science of the Total Environment*, 806. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.150566>
- Cao, X. L., Shen, H., Xu, Y. Y., Xu, X. J., Zhang, Z. F., Cheng, L., Chen, J. H., & Arakawa, Y. (2017). High prevalence of fosfomycin resistance gene *fosA3* in *bla*_{CTX-M}-harbouring *Escherichia coli* from urine in a Chinese tertiary hospital during 2010–2014. *Epidemiology & Infection*, 145(4), 818–824. <https://doi.org/10.1017/S0950268816002879>
- Carattoli, A., Zankari, E., García-Fernández, A., Larsen, M. V., Lund, O., Villa, L., Aarestrup, F. M., & 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. <https://doi.org/10.1128/AAC.02412-14>
- Chaturvedi, P., Chowdhary, P., Singh, A., Chaurasia, D., Pandey, A., Chandra, R., & Gupta, P. (2021). Dissemination of antibiotic resistance genes, mobile genetic elements, and efflux genes in anthropogenically impacted riverine environments. *Chemosphere*, 273. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129693>
- Chen, Y., Marimuthu, K., Teo, J., Venkatachalam, I., Cherng, B. P. Z., de Wang, L., Prakki, S. R. S., Xu, W., Tan, Y. H., Nguyen, L. C., Koh, T. H., Ng, O. T., & Gan,

- Y. H. (2020). Acquisition of Plasmid with Carbapenem-Resistance Gene *bla*_{KPC2} in Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, Singapore. *Emerging Infectious Diseases*, 26(3), 549. <https://doi.org/10.3201/EID2603.191230>
- Clermont, O., Bonacorsi, S., & Bingen, E. (2000). Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(10), 4555–4558. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.10.4555-4558.2000/ASSET/99153ED3-A832-4ACB-A111-BD6BD26A335E/ASSETS/GRAPHIC/AM1000238002.JPEG>
- Cordeiro-Moura, J. R., Kraychete, G. B., Longo, L. G. de A., Corrêa, L. L., da Silva, N. M. V., Campana, E. H., Oliveira, C. J. B., & Picão, R. C. (2022). Description and comparative genomic analysis of a *mcr-1*-carrying *Escherichia coli* ST683/CC155 recovered from touristic coastal water in Northeastern Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*, 97. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2021.105196>
- Cortés, G. (2016). *Caracterización de la resistencia antimicrobiana y tipificación molecular de cepas de Escherichia coli aisladas de diferentes hospederos en Puebla, México* [Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/handle/20.500.12371/1048>
- Cosentino, S., Larsen, M. V., Aarestrup, F. M., & Lund, O. (2013). PathogenFinder - Distinguishing Friend from Foe Using Bacterial Whole Genome Sequence Data. *PLOS ONE*, 8(10), e77302. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0077302>
- Daza-Cardona, E. A., Buenhombre, J., Dos Santos Fontenelle, R. O., & Barbosa, F. C. B. (2022). *mcr*-mediated colistin resistance in South America, a One Health approach: A review. In *Reviews and Research in Medical Microbiology* (Vol. 33, Issue 1). <https://doi.org/10.1097/MRM.0000000000000293>
- Delgado-Blas, J. F., Ovejero, C. M., David, S., Montero, N., Calero-Caceres, W., Garcillan-Barcia, M. P., de la Cruz, F., Muniesa, M., Aanensen, D. M., & Gonzalez-Zorn, B. (2021). Population genomics and antimicrobial resistance dynamics of *Escherichia coli* in wastewater and river environments. *Communications Biology*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/s42003-021-01949-x>
- Desloges, I., Taylor, J. A., Leclerc, J. M., Brannon, J. R., Portt, A., Spencer, J. D., Dewar, K., Marczynski, G. T., Manges, A., Gruenheid, S., Le Moual, H., & Thomassin, J.

- L. (2019). Identification and characterization of OmpT-like proteases in uropathogenic *Escherichia coli* clinical isolates. *MicrobiologyOpen*, 8(11). <https://doi.org/10.1002/mbo3.915>
- Díaz-Sánchez, A. A., Martínez-Marrero, S., & Corona-González, B. (2018). Tipificación multilocus de secuencias aplicada a la caracterización molecular de hemoparásitos en el ganado bovino. *Revista de Salud Animal*, 40(1). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2018000100007
- Dominguez, J. E., Faccone, D., Tijet, N., Gomez, S., Corso, A., Fernández-Miyakawa, M. E., & Melano, R. G. (2019). Characterization of *Escherichia coli* carrying *mcr-1*-plasmids recovered from food animals from Argentina. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9(MAR). <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2019.00041/FULL>
- Elbediwi, M., Li, Y., Paudyal, N., Pan, H., Li, X., Xie, S., Rajkovic, A., Feng, Y., Fang, W., Rankin, S. C., & Yue, M. (2019). Global Burden of Colistin-Resistant Bacteria: Mobilized Colistin Resistance Genes Study (1980-2018). *Microorganisms*, 7(10). <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS7100461>
- Elliott, Z. S., Barry, K. E., Cox, H. L., Stoesser, N., Carroll, J., Vegesana, K., Kotay, S., Sheppard, A. E., Wailan, A., Crook, D. W., Parikh, H., & Mathers, A. J. (2019). The Role of *fosA* in challenges with fosfomicin susceptibility testing of multispecies *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(10). <https://doi.org/10.1128/JCM.00634-19>
- ENA. (2022). *ENA Browser*. Recuperado el: 2022/04/20, de: <https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/home>.
- Enterobase. (2022). *Enterobase - Buscar E. coli*. Recuperado el: 2022/04/20, de: https://enterobase.warwick.ac.uk/species/ecoli/search_strains
- Falgenhauer, L., Waezsada, S. E., Gwozdzinski, K., Ghosh, H., Doijad, S., Bunk, B., Spröer, C., Imirzalioglu, C., Seifert, H., Irrgang, A., Fischer, J., Guerra, B., Käsbohrer, A., Overmann, J., Goesmann, A., & Chakraborty, T. (2016). Chromosomal locations of *mcr-1* and *bla_{CTX-M-15}* in fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* ST410. In *Emerging Infectious Diseases* (Vol. 22, Issue 9). <https://doi.org/10.3201/eid2209.160692>

- Fernandes, M. R., Sellera, F. P., Esposito, F., Sabino, C. P., Cerdeira, L., & Lincopan, N. (2017). Colistin-Resistant *mcr-1* -Positive *Escherichia coli* on Public Beaches, an Infectious Threat Emerging in Recreational Waters . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *61*(7). <https://doi.org/10.1128/aac.00234-17>
- Fiallos López, J. D., Enriquez, M. D. L., & Navarro Ocaña, A. (2018). Caracterización serológica de *Escherichia coli* en cepas de origen humano. *Portal de La Ciencia*. <https://doi.org/10.5377/pc.v0i14.6637>
- Forde, B. M., Zowawi, H. M., Harris, P. N. A., Roberts, L., Ibrahim, E., Shaikh, N., Deshmukh, A., Ahmed, M. A. S., Maslamani, M. Al, Cottrell, K., Trembizki, E., Sundac, L., Yu, H. H., Li, J., Schembri, M. A., Whiley, D. M., Paterson, D. L., & Beatson, S. A. (2018). Discovery of *mcr-1*-Mediated Colistin Resistance in a Highly Virulent *Escherichia coli* Lineage. *MSphere*, *3*(5), 486–504. <https://doi.org/10.1128/MSPHERE.00486-18>
- Fratamico, P. M., DebRoy, C., Liu, Y., Needleman, D. S., Baranzoni, G. M., & Feng, P. (2016). Advances in molecular serotyping and subtyping of *Escherichia coli*. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 7, Issue MAY). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00644>
- Fritzenwanker, M., Imirzalioglu, C., Gentil, K., Falgenhauer, L., Wagenlehner, F. M., & Chakraborty, T. (2016). Incidental detection of a urinary *Escherichia coli* isolate harbouring *mcr-1* of a patient with no history of colistin treatment. In *Clinical Microbiology and Infection* (Vol. 22, Issue 11). <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.08.027>
- Fröding, I., Hasan, B., Sylvén, I., Coorens, M., Naucmér, P., & Gisk, C. G. (2020). Extended-spectrum- β -lactamase- And plasmid *AmpC*Producing *Escherichia coli* causing community-onset bloodstream infection: Association of bacterial clones and virulence genes with septic shock, source of infection, and recurrence. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *64*(8). <https://doi.org/10.1128/AAC.02351-19>
- Fuentes-Castillo, D., Esposito, F., Cardoso, B., Dalazen, G., Moura, Q., Fuga, B., Fontana, H., Cerdeira, L., Dropa, M., Rottmann, J., González-Acuña, D., Catão-Dias, J. L., & Lincopan, N. (2020). Genomic data reveal international lineages of critical priority *Escherichia coli* harbouring wide resistome in Andean condors

- (*Vultur gryphus* Linnaeus, 1758). *Molecular Ecology*, 29(10), 1919–1935.
<https://doi.org/10.1111/MEC.15455>
- Garza-Ramos, U., Tamayo-Legorreta, E., Arellano-Quintanilla, D. M., Rodriguez-Medina, N., Silva-Sanchez, J., Catalan-Najera, J., Rocha-Martínez, M. K., Bravo-Díaz, M. A., & Alpuche-Aranda, C. (2018). Draft genome sequence of a multidrug- and colistin-resistant *mcr-1*- producing *Escherichia coli* isolate from a swine farm in Mexico. *Genome Announcements*, 6(10).
<https://doi.org/10.1128/genomeA.00102-18>
- Giani, T., Sennati, S., Antonelli, A., Di Pilato, V., Di Maggio, T., Mantella, A., Niccolai, C., Spinicci, M., Monasterio, J., Castellanos, P., Martinez, M., Contreras, F., Villaroel, D. B., Damiani, E., Maury, S., Rocabado, R., Pallecchi, L., Bartoloni, A., & Rossolini, G. M. (2018). High prevalence of carriage of *mcr-1*-positive enteric bacteria among healthy children from rural communities in the Chaco region, Bolivia, september to october 2016. *Eurosurveillance*, 23(45).
<https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.45.1800115>
- González de la Fuente, S. (2018). *Ensamblaj de novo y anotación genética del genoma de Leishmania major mediante secuenciación masiva*.
<http://openaccess.uoc.edu/webapps/o2/bitstream/10609/81889/6/sgonzalezdelaTFM0618memoria.pdf>
- Gootz, T. D. (2014). Global dissemination of β 2-lactamases mediating resistance to cephalosporins and carbapenems. *Http://Dx.Doi.Org/10.1586/14787210.2.2.317*, 2(2), 317–327. <https://doi.org/10.1586/14787210.2.2.317>
- Gutiérrez, C., Zenis, J., Legarraga, P., Cabrera-Pardo, J. R., García, P., Bello-Toledo, H., Opazo-Capurro, A., & González-Rocha, G. (2019). Genetic analysis of the first *mcr-1* positive *Escherichia coli* isolate collected from an outpatient in Chile. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 23(3). <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2019.05.008>
- Harrison, P. W., Ahamed, A., Aslam, R., Alako, B. T. F., Burgin, J., Buso, N., Courtot, M., Fan, J., Gupta, D., Haseeb, M., Holt, S., Ibrahim, T., Ivanov, E., Jayathilaka, S., Kadhivelu, V. B., Kumar, M., Lopez, R., Kay, S., Leinonen, R., ... Cochrane, G. (2021). The European Nucleotide Archive in 2020. *Nucleic Acids Research*, 49(D1).
<https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1028>

- Hasman, H., Hammerum, A. M., Hansen, F., Hendriksen, R. S., Olesen, B., Agersø, Y., Zankari, E., Leekitcharoenphon, P., Stegger, M., Kaas, R. S., Cavaco, L. M., Hansen, D. S., Aarestrup, F. M., & Skov, R. L. (2015). Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Eurosurveillance*, *20*(49). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2015.20.49.30085>
- Hussein, N. H., AL-Kadmy, I. M. S., Taha, B. M., & Hussein, J. D. (2021). Mobilized colistin resistance (*mcr*) genes from 1 to 10: a comprehensive review. *Molecular Biology Reports*, *48*(3), 2897–2907. <https://doi.org/10.1007/S11033-021-06307-Y/FIGURES/7>
- Joensen, K., Tetzschner, A., Iguchi, A., Aarestrup, F., & Scheutz, F. (2015). Rapid and Easy *In Silico* Serotyping of *Escherichia coli* Isolates by Use of Whole-Genome Sequencing Data. *Journal of Clinical Microbiology*, *53*(8), 2410–2426. <https://doi.org/10.1128/JCM.00008-15>
- Johansson, M. H. K., Bortolaia, V., Tansirichaiya, S., Aarestrup, F. M., Roberts, A. P., & Petersen, T. N. (2021). Detection of mobile genetic elements associated with antibiotic resistance in *Salmonella enterica* using a newly developed web tool: MobileElementFinder. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *76*(1), 101–109. <https://doi.org/10.1093/JAC/DKAA390>
- Kaipainen, T., Pohjanvirta, T., Shpigel, N. Y., Shwimmer, A., Pyörälä, S., & Pelkonen, S. (2002). Virulence factors of *Escherichia coli* isolated from bovine clinical mastitis. *Veterinary Microbiology*, *85*(1). [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(01\)00483-7](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(01)00483-7)
- Kaye, K. S., Pogue, J. M., Tran, T. B., Nation, R. L., & Li, J. (2016). Agents of Last Resort: Polymyxin Resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*, *30*(2), 391–414. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.005>
- Kekre, M., Arevalo, S. A., Valencia, M. F., Lagrada, M. L., Macaranas, P. K. V., Nagaraj, G., Oaikhena, A. O., Olorosa, A. M., Aanensen, D. M., Abudahab, K., Abrudan, M., Argimón, S., Harste, H., Muddyman, D., Taylor, B., Underwood, A., Wheeler, N., David, S., Donado-Godoy, P., ... Vegvari, C. (2021). Integrating Scalable Genome Sequencing Into Microbiology Laboratories for Routine Antimicrobial Resistance

- Surveillance. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 73(Suppl_4), S258–S266. <https://doi.org/10.1093/CID/CIAB796>
- Kim, S., Woo, J. H., Kim, N., Kim, M. H., Kim, S. Y., Son, J. H., Moon, D. C., Lim, S. K., Shin, M., & Lee, J. C. (2019). Characterization Of Chromosome-Mediated Colistin Resistance In *Escherichia coli* Isolates From Livestock In Korea. *Infection and Drug Resistance*, 12, 3291. <https://doi.org/10.2147/IDR.S225383>
- Kluytmans-van den bergh, M., Huizinga, P., Bonten, M. J., Bos, M., De Bruyne, K., Friedrich, A. W., Rossen, J. W., Savelkoul, P. H., & Kluytmans, J. A. (2016). Presence of *mcr-1*-positive *Enterobacteriaceae* in retail chicken meat but not in humans in the Netherlands since 2009. *Eurosurveillance*, 21(9). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.9.30149>
- Krutova, M., Kalova, A., Nycova, E., Gelbicova, T., Karpiskova, R., Smelikova, E., Nyc, O., Drevinek, P., & Tkadlec, J. (2021). The colonisation of Czech travellers and expatriates living in the Czech Republic by colistin-resistant *Enterobacteriaceae* and whole genome characterisation of *E. coli* isolates harbouring the *mcr-1* genes on a plasmid or chromosome: A cross-sectional study. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 39. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2020.101914>
- Lalaoui, R., Djukovic, A., Bakour, S., Sanz, J., Gonzalez-Barbera, E. M., Salavert, M., López-Hontangas, J. L., Sanz, M. A., Xavier, K. B., Kuster, B., Debrauwer, L., Ubeda, C., & Rolain, J. M. (2019). Detection of plasmid-mediated colistin resistance, *mcr-1* gene, in *Escherichia coli* isolated from high-risk patients with acute leukemia in Spain. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 25(8). <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.03.007>
- Larsen, M. V., Cosentino, S., Rasmussen, S., Friis, C., Hasman, H., Marvig, R. L., Jelsbak, L., Sicheritz-Pontén, T., Ussery, D. W., Aarestrup, F. M., & Lund, O. (2012). Multilocus sequence typing of total-genome-sequenced bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1355–1361. <https://doi.org/10.1128/JCM.06094-11>
- Leitão, J. H. (2020). Microbial Virulence Factors. *International Journal of Molecular Sciences* 2020, Vol. 21, Page 5320, 21(15), 5320. <https://doi.org/10.3390/IJMS21155320>

- Letunic, I., & Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W293–W296. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAB301>
- Li, C., Wen, R., Mu, R., Chen, X., Ma, P., Gu, K., Huang, Z., Ju, Z., Lei, C., Tang, Y., & Wang, H. (2022). Outer Membrane Vesicles of Avian Pathogenic *Escherichia coli* Mediate the Horizontal Transmission of *bla*_{CTX-M-55}. *Pathogens* 2022, Vol. 11, Page 481, 11(4), 481. <https://doi.org/10.3390/PATHOGENS11040481>
- Lin, H., Sun, W., Jin, D., Yu, Q., Yang, Y., Zhang, Z., Sun, P., & Ma, J. (2021). Effect of composting on the conjugative transmission of sulfonamide resistance and sulfonamide-resistant bacterial population. *Journal of Cleaner Production*, 285, 125483. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2020.125483>
- Liu, B., Furevi, A., Perepelov, A. V., Guo, X., Cao, H., Wang, Q., Reeves, P. R., Knirel, Y. A., Wang, L., & Widmalm, G. (2020). Structure and genetics of *Escherichia coli* O antigens. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 44, Issue 6). <https://doi.org/10.1093/femsre/fuz028>
- Liu, P., Li, P., Jiang, X., Bi, D., Xie, Y., Tai, C., Deng, Z., Rajakumar, K., & Ou, H. Y. (2012). Complete genome sequence of *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* HS11286, a multidrug-resistant strain isolated from human sputum. In *Journal of Bacteriology* (Vol. 194, Issue 7). <https://doi.org/10.1128/JB.00043-12>
- Liu, Y. Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L. X., Zhang, R., Spencer, J., Doi, Y., Tian, G., Dong, B., Huang, X., Yu, L. F., Gu, D., Ren, H., Chen, X., Lv, L., He, D., Zhou, H., Liang, Z., Liu, J. H., & Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *MCR-1* in animals and human beings in China: A microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 161–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- López Acuña, W., & Guevara Duncan, J. M. (2002). *Infeción por Escherichia coli enterohemorrágica*. Revista de La Facultad de Medicina de La Universidad Ricardo Palma. https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rfmh_urp/v03_n1/a12.htm
- Loras, C., Mendes, A. C., Peixe, L., Novais, Â., & Alós, J. I. (2020). *Escherichia coli* resistant to fosfomycin from urinary tract infections: Detection of the *fosA3* gene in Spain. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 21, 414–416.

<https://doi.org/10.1016/J.JGAR.2020.01.023>

- Matamoros, S., van Hattem, J. M., Arcilla, M. S., Willemse, N., Melles, D. C., Penders, J., Vinh, T. N., Thi Hoa, N., de Jong, M. D., & Schultsz, C. (2017). Global phylogenetic analysis of *Escherichia coli* and plasmids carrying the *mcr-1* gene indicates bacterial diversity but plasmid restriction. *Scientific Reports*, 7(1), 15364. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15539-7>
- McClelland, M., Sanderson, K. E., Clifton, S. W., Latreille, P., Porwollik, S., Sabo, A., Meyer, R., Bieri, T., Ozersky, P., McLellan, M., Harkins, C. R., Wang, C., Nguyen, C., Berghoff, A., Elliott, G., Kohlberg, S., Strong, C., Du, F., Carter, J., ... Wilson, R. K. (2004). Comparison of genome degradation in *Paratyphi A* and *Typhi*, human-restricted serovars of *Salmonella enterica* that cause typhoid. *Nature Genetics*, 36(12). <https://doi.org/10.1038/ng1470>
- Mendelson, M., Brink, A., Gouws, J., Mbelle, N., Naidoo, V., Pople, T., Schellack, N., van Vuuren, M., Rees, H., Banoo, S., Bokaba, K., Collins, M., Faure, K., Herbst, M., Hoek, B., Lancaster, R., Lotter, J., Modisane, M., Mohlala, M., ... Swan, G. (2018). The One Health stewardship of colistin as an antibiotic of last resort for human health in South Africa. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(9), e288–e294. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30119-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30119-1)
- Mendes Oliveira, V. R., Paiva, M. C., & Lima, W. G. (2019). Plasmid-mediated colistin resistance in Latin America and Caribbean: A systematic review. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 31(February), 101459. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2019.07.015>
- Mikhayel, M., Leclercq, S. O., Sarkis, D. K., & Doublet, B. (2021). Occurrence of the Colistin Resistance Gene *mcr-1* and Additional Antibiotic Resistance Genes in ESBL/AmpC-Producing *Escherichia coli* from Poultry in Lebanon: A Nationwide Survey. *Microbiology Spectrum*, 9(2). <https://doi.org/10.1128/spectrum.00025-21>
- Møller, T. S. B., Overgaard, M., Nielsen, S. S., Bortolaia, V., Sommer, M. O. A., Guardabassi, L., & Olsen, J. E. (2016). Relation between *tetR* and *tetA* expression in tetracycline resistant *Escherichia coli*. *BMC Microbiology*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-016-0649-z>
- Montealegre, M. C., Talavera Rodríguez, A., Roy, S., Hossain, M. I., Islam, M. A., Lanza,

- V. F., & Julian, T. R. (2020). High Genomic Diversity and Heterogenous Origins of Pathogenic and Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in Household Settings Represent a Challenge to Reducing Transmission in Low-Income Settings. *MSphere*, 5(1). <https://doi.org/10.1128/msphere.00704-19>
- Moore, M. E. G., Paulin-Curlee, G., Johnston, B. D., Clabots, C., DebRoy, C., Johnson, T. J., Weber, B., Porter, S., Armién, A. G., & Johnson, J. R. (2021). Molecular characteristics, ecology, and zoonotic potential of *Escherichia coli* strains that cause hemorrhagic pneumonia in animals. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(23). <https://doi.org/10.1128/AEM.01471-21>
- Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- Murray, M., Salvatierra, G., Dávila-Barclay, A., Ayzanoa, B., Castillo-Vilcahuaman, C., Huang, M., Pajuelo, M. J., Lescano, A. G., Cabrera, L., Calderón, M., Berg, D. E., Gilman, R. H., & Tsukayama, P. (2021). Market Chickens as a Source of Antibiotic-Resistant *Escherichia coli* in a Peri-Urban Community in Lima, Peru. *Frontiers in Microbiology*, 12, 327. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2021.635871/BIBTEX>
- Nagy, T., Szmolka, A., Wilk, T., Kiss, J., Szabó, M., Pászti, J., Nagy, B., & Olsz, F. (2020). Comparative Genome Analysis of Hungarian and Global Strains of *Salmonella Infantis*. *Frontiers in Microbiology*, 0, 539. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.00539>
- National Library of Medicine. (2022, June). *PubMed*. Recuperado el 2022/05/21, de: <https://www.nlm.nih.gov/>
- NCBI. (2022). *Centro Nacional de Información Biotecnológica*. Recuperado el 2022/05/21, de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Núñez Arcos, E. J. (2018). *Determinación de la presencia de genes de resistencia a antibióticos emergentes en aislados de Escherichia coli en caninos de la ciudad de Ambato* [Universidad Técnica de Ambato].

<https://repositorio.uta.edu.ec:8443/jspui/handle/123456789/28393>

- Ortega-Paredes, D., Barba, P., & Zurita, J. (2016). Colistin-resistant *Escherichia coli* clinical isolate harbouring the *mcr-1* gene in Ecuador. *Epidemiology and Infection*, 2016, 1–4. <https://doi.org/10.1017/S0950268816001369>
- Ortega-Paredes, David, de Janon, S., Villavicencio, F., Ruales, K. J., De La Torre, K., Villacís, J. E., Wagenaar, J. A., Matheu, J., Bravo-Vallejo, C., Fernández-Moreira, E., & Vinueza-Burgos, C. (2020). Broiler Farms and Carcasses Are an Important Reservoir of Multi-Drug Resistant *Escherichia coli* in Ecuador. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 547843. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547843>
- Ortega-Paredes, David, Haro, M., Leoro-Garzón, P., Barba, P., Loaiza, K., Mora, F., Fors, M., Vinueza-Burgos, C., & Fernández-Moreira, E. (2019). Multi-drug resistant *Escherichia coli* isolated from canine feces in a public park in Quito, Ecuador. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. <https://doi.org/10.1016/J.JGAR.2019.04.002>
- Ortiz de la Tabla, V., Ortega, A., Buñuel, F., Pérez-Vázquez, M., Marcos, B., & Oteo, J. (2017). Detection of the high-risk clone ST131 of *Escherichia coli* carrying the colistin resistance gene *mcr-1* and causing acute peritonitis. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 49, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.10.003>
- Ovejero, C. M., Delgado-Blas, J. F., Calero-Caceres, W., Muniesa, M., & Gonzalez-Zorn, B. (2017). Spread of *mcr-1*-carrying *Enterobacteriaceae* in sewage water from Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(4). <https://doi.org/10.1093/jac/dkw533>
- PAHO/WHO. (2016). *Epidemiological Alert: Enterobacteriaceae with plasmid-mediated transferable colistin resistance, public health implications in the Americas* (Issue June).
- Petrillo, M., Angers-Loustau, A., & Kreysa, J. (2016). Possible genetic events producing colistin resistance gene *mcr-1*. In *The Lancet Infectious Diseases* (Vol. 16, Issue 3). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00005-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00005-0)
- Podladchikova, O. N., Dikhanov, G. G., Rakin, A. V., & Heesemann, J. (1994). Nucleotide sequence and structural organization of *Yersinia pestis* insertion

- sequence IS100. *FEMS Microbiology Letters*, 121(3).
<https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07111.x>
- Pruden, A., Arabi, M., & Storteboom, H. N. (2012). Correlation between upstream human activities and riverine antibiotic resistance genes. *Environmental Science & Technology*, 46(21), 11541–11549. <https://doi.org/10.1021/es302657r>
- Pulss, S., Stolle, I., Stamm, I., Leidner, U., Heydel, C., Semmler, T., Prenger-Berninghoff, E., & Ewers, C. (2018). Multispecies and Clonal Dissemination of OXA-48 Carbapenemase in *Enterobacteriaceae* From Companion Animals in Germany, 2009-2016. *Frontiers in Microbiology*, 9(JUN).
<https://doi.org/10.3389/FMICB.2018.01265>
- Puvača, N., & Frutos, R. de L. (2021). Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains isolated from humans and pet animals. In *Antibiotics* (Vol. 10, Issue 1).
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10010069>
- Quainoo, S., Coolen, J. P. M., van Hijum, S. A. F. T., Huynen, M. A., Melchers, W. J. G., van Schaik, W., & Wertheim, H. F. L. (2017). Whole-Genome Sequencing of Bacterial Pathogens: the Future of Nosocomial Outbreak Analysis. *Clinical Microbiology Reviews*, 30(4), 1015–1063. <https://doi.org/10.1128/CMR.00016-17>
- Rafique, M., Potter, R. F., Ferreira, A., Wallace, M. A., Rahim, A., Ali Malik, A., Siddique, N., Abbas, M. A., D'Souza, A. W., Burnham, C. A. D., Ali, N., & Dantas, G. (2020). Genomic Characterization of Antibiotic Resistant *Escherichia coli* Isolated From Domestic Chickens in Pakistan. *Frontiers in Microbiology*, 10.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03052>
- Ramadan, H., Soliman, A. M., Hiott, L. M., Elbediwi, M., Woodley, T. A., Chattaway, M. A., Jenkins, C., Frye, J. G., & Jackson, C. R. (2021). Emergence of Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Producing CTX-M, *MCR-1*, and *FosA* in Retail Food From Egypt. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.681588>
- Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2010). Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resistance Updates*, 13(6). <https://doi.org/10.1016/j.drug.2010.08.003>
- Ribeiro, S., Mourão, J., Novais, Â., Campos, J., Peixe, L., & Antunes, P. (2021). From farm to fork: Colistin voluntary withdrawal in Portuguese farms reflected in

- decreasing occurrence of *mcr-1*-carrying *Enterobacteriaceae* from chicken meat. *Environmental Microbiology*, 23(12). <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15689>
- Rodríguez-Santiago, J., Cornejo-Juárez, P., Silva-Sánchez, J., & Garza-Ramos, U. (2021). Polymyxin resistance in Enterobacterales: overview and epidemiology in the Americas. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 58, Issue 5). <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2021.106426>
- Roer, L., Johannesen, T., Hansen, F., Stegger, M., Tchesnokova, V., Sokurenko, E., Garibay, N., Allesøe, R., Thomsen, M., Lund, O., Hasman, H., & Hammerum, A. (2018). CHTyper, a Web Tool for Subtyping of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Based on the *fumC* and *fimH* Alleles. *Journal of Clinical Microbiology*, 56(4). <https://doi.org/10.1128/JCM.00063-18>
- Rose, L., Peahota, M. M., & Gallagher, J. C. (2016). Beta-Lactams and Tetracyclines. In *Side Effects of Drugs Annual* (Vol. 38, pp. 217–227). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.seda.2016.09.003>
- Rumi, M. V., Mas, J., Elena, A., Cerdeira, L., Muñoz, M. E., Lincopan, N., Gentilini, É. R., Di Conza, J., & Gutkind, G. (2019). Co-occurrence of clinically relevant β -lactamases and *MCR-1* encoding genes in *Escherichia coli* from companion animals in Argentina. *Veterinary Microbiology*, 230, 228–234. <https://doi.org/10.1016/J.VETMIC.2019.02.006>
- Samanta, I., & Bandyopadhyay, S. (2020). Resistance to aminoglycoside, tetracycline and macrolides. *Antimicrobial Resistance in Agriculture*, 81–95. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815770-1.00009-2>
- Sánchez-Benito, R., Iglesias, M. R., Quijada, N. M., Campos, M. J., Ugarte-Ruiz, M., Hernández, M., Pazos, C., Rodríguez-Lázaro, D., Garduño, E., Domínguez, L., & Quesada, A. (2017). *Escherichia coli* ST167 carrying plasmid mobilisable *mcr-1* and *bla*_{CTX-M-15} resistance determinants isolated from a human respiratory infection. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 50(2), 285–286. <https://doi.org/10.1016/J.IJANTIMICAG.2017.05.005>
- Sarowska, J., Futoma-Koloch, B., Jama-Kmiecik, A., Frej-Madrzak, M., Ksiazczyk, M., Bugla-Ploskonska, G., & Choroszy-Krol, I. (2019). Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated

- from different sources: Recent reports. *Gut Pathogens*, 11(1), 1–16. <https://doi.org/10.1186/S13099-019-0290-0/TABLES/5>
- Sayers, E. W., Bolton, E. E., Brister, J. R., Canese, K., Chan, J., Comeau, D. C., Connor, R., Funk, K., Kelly, C., Kim, S., Madej, T., Marchler-Bauer, A., Lanczycki, C., Lathrop, S., Lu, Z., Thibaud-Nissen, F., Murphy, T., Phan, L., Skripchenko, Y., ... Sherry, S. T. (2022). Database resources of the national center for biotechnology information. *Nucleic Acids Research*, 50(D1). <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1112>
- Shen, C., Zhong, L. L., Yang, Y., Doi, Y., Paterson, D. L., Stoesser, N., Ma, F., El-Sayed Ahmed, M. A. E. G., Feng, S., Huang, S., Li, H. Y., Huang, X., Wen, X., Zhao, Z., Lin, M., Chen, G., Liang, W., Liang, Y., Xia, Y., ... Tian, G. B. (2020). Dynamics of *mcr-1* prevalence and *mcr-1*-positive *Escherichia coli* after the cessation of colistin use as a feed additive for animals in China: a prospective cross-sectional and whole genome sequencing-based molecular epidemiological study. *The Lancet Microbe*, 1(1). [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30005-7](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30005-7)
- Siguiier, P., Perochon, J., Lestrade, L., Mahillon, J., & Chandler, M. (2006). ISfinder: the reference centre for bacterial insertion sequences. *Nucleic Acids Research*, 34(Database issue). <https://doi.org/10.1093/nar/gkj014>
- Skarżyńska, M., Zajac, M., Bomba, A., Bocian, Ł., Kozdruń, W., Polak, M., Wiącek, J., & Wasyl, D. (2021). Antimicrobial Resistance Glides in the Sky—Free-Living Birds as a Reservoir of Resistant *Escherichia coli* With Zoonotic Potential. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.656223>
- Stoesser, N., Mathers, A. J., Moore, C. E., Day, N. P. J., & Crook, D. W. (2016). Colistin resistance gene *mcr-1* and pHNSHP45 plasmid in human isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *The Lancet. Infectious Diseases*, 16(3), 285–286. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(16\)00010-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(16)00010-4)
- Sun, D., Jin, S., Wang, J., Wang, Z., Fan, J., Xu, Z., Xu, Y., Chen, X., & Jiao, X. (2020). Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Strain Isolated from Swine in China Harbors *mcr-3.1* on a Plasmid of the IncX1 Type That Cotransfers with *mcr-1.1*. *Foodborne Pathogens and Disease*, 17(10), 597–601. https://doi.org/10.1089/FPD.2019.2769/ASSET/IMAGES/LARGE/FPD.2019.2769_FIGURE4.JPEG

- Sun, J., Zeng, X., Li, X.-P., Liao, X.-P., Liu, Y.-H., & Lin, J. (2018). Plasmid-mediated colistin resistance in animals: current status and future directions. *Animal Health Research Reviews*, *18*(2), 136–152. <https://doi.org/10.1017/s1466252317000111>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Kattula, D., & Burkert, F. (2017). *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*.
- Teo, J. Q. M., Ong, R. T. H., Xia, E., Koh, T. H., Khor, C. C., Lee, S. J. Y., Lim, T. P., & Kwa, A. L. H. (2016). *mcr-1* in Multidrug-Resistant *bla*_{KPC-2}-Producing Clinical *Enterobacteriaceae* Isolates in Singapore. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *60*(10), 6435. <https://doi.org/10.1128/AAC.00804-16>
- The Center for Disease Dynamics Economics & Policy. (2018). *Mapa de resistencia*. <https://resistancemap.cddep.org/CountryPage.php?countryId=73&country=Ecuador+>
- Trung, N. V., Matamoros, S., Carrique-Mas, J. J., Nghia, N. H., Nhung, N. T., Chieu, T. T. B., Mai, H. H., van Rooijen, W., Campbell, J., Wagenaar, J. A., Hardon, A., Mai, N. T. N., Hieu, T. Q., Thwaites, G., de Jong, M. D., Schultsz, C., & Hoa, N. T. (2017). Zoonotic transmission of *mcr-1* colistin resistance gene from small-scale poultry farms, Vietnam. *Emerging Infectious Diseases*, *23*(3). <https://doi.org/10.3201/eid2303.161553>
- Turkovicova, L., Smidak, R., Jung, G., Turna, J., Lubec, G., & Aradska, J. (2016). Proteomic analysis of the TerC interactome: Novel links to tellurite resistance and pathogenicity. *Journal of Proteomics*, *136*. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.01.003>
- Uddin, M. B., Alam, M. N., Hasan, M., Hossain, S. M. B., Debnath, M., Begum, R., Samad, M. A., Hoque, S. F., Chowdhury, M. S. R., Rahman, M. M., Hossain, M. M., Hassan, M. M., Lundkvist, Å., Järhult, J. D., El Zowalaty, M. E., & Ahmed, S. S. U. (2022). Molecular Detection of Colistin Resistance *mcr-1* Gene in Multidrug-Resistant *Escherichia coli* Isolated from Chicken. *Antibiotics*, *11*(1). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010097>
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., Criscuolo, N. G., Gilbert, M., Bonhoeffer, S., & Laxminarayan, R. (2019). Global trends in antimicrobial

- resistance in animals in low- And middle-income countries. *Science*, 365(6459).
<https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>
- Villavicencio, F., Jaramillo, K., Zurita, J., Ocampo, R., Ayala, D., & Vinueza Burgos, C. (2022). Unexpected high prevalence of fosfomycin resistance mediated by *fosA3* in *Escherichia coli* ESBL isolated from poultry farms , broiler carcasses , and humans in Quito , Ecuador. *32nd ECCMID, April*, 6–7.
- Vinueza-Burgos, C., Ortega-Paredes, D., Narváez, C., Zutter, L. De, & Zurita, J. (2019). Characterization of cefotaxime resistant *Escherichia coli* isolated from broiler farms in Ecuador. *PLOS ONE*, 14(4), e0207567.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0207567>
- Welch, R. A. (2006). The Genus *Escherichia*. In *The Prokaryotes*.
https://doi.org/10.1007/0-387-30746-x_3
- Woodford, N., Turton, J. F., & Livermore, D. M. (2011). Multiresistant Gram-negative bacteria: The role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 35, Issue 5). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00268.x>
- World Health Organization. (2021). *Immunization, Vaccines and Biologicals*.
[https://www.who.int/teams/immunization-vaccines-and-biologicals/diseases/enterotoxigenic-escherichia-coli-\(etec\)](https://www.who.int/teams/immunization-vaccines-and-biologicals/diseases/enterotoxigenic-escherichia-coli-(etec))
- Yamamoto, Y., Calvopina, M., Izurieta, R., Villacres, I., Kawahara, R., Sasaki, M., & Yamamoto, M. (2019). Colistin-resistant *Escherichia coli* with *mcr* genes in the livestock of rural small-scale farms in Ecuador. *BMC Research Notes*, 12(1).
<https://doi.org/10.1186/s13104-019-4144-0>
- Yu, C. Y., Ang, G. Y., Chin, P. S., Ngeow, Y. F., Yin, W. F., & Chan, K. G. (2016). Emergence of *mcr-1*-mediated colistin resistance in *Escherichia coli* in Malaysia. In *International Journal of Antimicrobial Agents* (Vol. 47, Issue 6).
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.04.004>
- Yu, H., Qu, F., Shan, B., Huang, B., Jia, W., Chen, C., Li, A., Miao, M., Zhang, X., Bao, C., Xu, Y., Chavda, K. D., Tang, Y. W., Kreiswirth, B. N., Du, H., & Chen, L. (2016). Detection of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from different hospitals in China. *Antimicrobial Agents and*

Chemotherapy, 60(8). <https://doi.org/10.1128/AAC.00440-16>

- Zhang, S., Abbas, M., Rehman, M. U., Wang, M., Jia, R., Chen, S., Liu, M., Zhu, D., Zhao, X., Gao, Q., Tian, B., & Cheng, A. (2021). Updates on the global dissemination of colistin-resistant *Escherichia coli*: An emerging threat to public health. *Science of The Total Environment*, 799, 149280. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2021.149280>
- Zhou, Y., Ai, W., Cao, Y., Guo, Y., Wu, X., Wang, B., Rao, L., Xu, Y., Zhao, H., Wang, X., & Yu, F. (2022). The Co-occurrence of *NDM-5*, *MCR-1*, and *FosA3*-Encoding Plasmids Contributed to the Generation of Extensively Drug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.811263>
- Zhou, Z., Alikhan, N. F., Mohamed, K., Fan, Y., & Achtman, M. (2020). The Enterobase user's guide, with case studies on *Salmonella* transmissions, *Yersinia pestis* phylogeny, and *Escherichia* core genomic diversity. *Genome Research*, 30(1). <https://doi.org/10.1101/gr.251678.119>
- Zurfluh, K., Tasara, T., Poirel, L., Nordmann, P., & Stephan, R. (2016). Draft genome sequence of *Escherichia coli* S51, a chicken isolate harboring a chromosomally encoded *mcr-1* gene. *Genome Announcements*, 4(4). <https://doi.org/10.1128/genomeA.00796-16>
- Zurita, J., Yáñez, F., Sevillano, G., Ortega-Paredes, D., & Paz y Miño, A. (2020). Ready-to-eat street food: a potential source for dissemination of multidrug-resistant *Escherichia coli* epidemic clones in Quito, Ecuador. *Letters in Applied Microbiology*, 70(3), 203–209. <https://doi.org/10.1111/lam.13263>

ANEXOS

ANEXO A

SECUENCIAS OBTENIDAS DE BASE DE DATOS

Tabla 2. Aislamientos de *Escherichia coli mcr-1* positiva de diferente origen y ubicación geográfica reportadas en diversos estudios tomados como referencia.

País	Tipo de secuencia ST	Origen	Año de muestra	N° de acceso de muestra biológica	Referencia
Argentina	770	animal	2014	RZIF00000000	(Rumi et al., 2019)
Bolivia	117	human	2016	SAMN08290418	(Giani et al., 2018)
	2705	human	2016	SAMN08290414	
	2705	human	2016	SAMN08290424	
	206	human	2016	SAMN08290411	
	7571	human	2016	SAMN08290416	
	2936	human	2016	SAMN08290425	
	7571	human	2016	SAMN08290415	
	10	human	2016	SAMN08290410	
	1286	human	2016	SAMN08290412	
	10	human	2016	SAMN08290422	
711	human	2016	SAMN08290419		
Brazil	46	environment	2016	KY770024.1	(Fernandes et al., 2017)
	206	animal	2014	PUFY00000000	(Cordeiro-Moura et al., 2022)
	744	human	2014	MTJV01000000.1	
	1850	animal	2016	MUIP00000000	
	683	environment	2017	SRR10521259	
	58	environment	2017	PPTK00000000 .1	
	156	human	2016	MRDN01000000	
	3024	human	2017	QHCW00000000.2	
	224	human	2017	QHCV00000000	
Cambodia	354	human	2012	SRR1788028	(Stoesser et al., 2016)
	354	human	2012	SRR1788032	
	354	human	2012	SRR1788024	
	354	human	2012	SRR1788027	
Chile	4204	human	2016	RXIT00000000.1	(Gutiérrez et al., 2019)
China	156	human	2015	LWQZ00000000	(H. Yu et al., 2016)
	48	food	2016	SAMN15150500	(Shen et al., 2020)
	10	environment	2018	SAMN21239021	
	9406	human	2017	SAMN15150503	
	10	livestock	2018	SAMN15150510	
	744	human	2018	SAMN21239008	
744	human	2013	SAMEA104030445	(Arcilla et al., 2016)	

País	Tipo de secuencia ST	Origen	Año de muestra	N° de acceso de muestra biológica	Referencia
	88	animal	2016	PRJEB14379	(Bai et al., 2016)
	278	animal	2016	CP027255.1	(Arcilla et al., 2016)
	641	human	2013	SAMEA104030444	
Czech Republic	23	human	2018	S377A	(Krutova et al., 2021)
	158	human	2018	S340A	
Denmark	131	animal	2012	ERR1399397	(Hasman et al., 2015)
	6249	animal	2013	ERR1399394	
	48	animal	2012	ERR1399396	
	2063	animal	2014	ERR1399398	
	359	animal	2012	ERR1399395	
Ecuador	354	animal	2014	RXLG00000000.1	(Dominguez et al., 2019)
	2857	animal	2014	RXLH00000000.1	(Vinueza-Burgos et al., 2019)
	5876	environment	2018	SAMN14123588	(Calero-Cáceres et al., 2022)
	10779	environment	2018	SAMN14123585	
	665	animal	2014	RXLI00000000.1	(Vinueza-Burgos et al., 2019)
	10	environment	2018	SAMN20560763	(Calero-Cáceres et al., 2022)
	58	environment	2018	SAMN14123586	
	191	animal	2014	RXLE00000000.1	(Vinueza-Burgos et al., 2019)
	156	animal	2014	RXLJ00000000.1	
	602	animal	2014	RXLF00000000.1	
	1196	animal	2018	SAMN24594990	(Calero-Cáceres et al., 2022)
Egypt	224	animal	2017	PRJNA666443	(Ramadan et al., 2021)
Germany	357	animal	2012	ERR1407280	(Falgenhauer et al., 2016)
	1851	human	2016	ERR1562562	(Fritzenwanker et al., 2016)
	617	human	2017	SAMN06029893	
	617	human	2017	SAMN06029896	
	88	animal	2012	ERR1407279	(Falgenhauer et al., 2016)
	410	animal	2013	ERR1359224	
	602	animal	2012	ERR1407278	
Lebanon	349	animal	2018	SAMEA8387807	(Mikhayel et al., 2021)
	457	animal	2018	SAMEA8387826	
	1011	animal	2018	SAMEA8387740	
	1140	animal	2018	SAMEA8387748	
	997	animal	2018	SAMEA8387747	
	997	animal	2018	SAMEA8387750	
	189	animal	2018	SAMEA8387744	
	189	animal	2018	SAMEA8387745	
	48	animal	2018	SAMEA8387828	
	48	animal	2018	SAMEA8387739	
	744	animal	2018	SAMEA8387749	

País	Tipo de secuencia ST	Origen	Año de muestra	N° de acceso de muestra biológica	Referencia
	6448	animal	2018	SAMEA8387746	
	23	animal	2018	SAMEA8387820	
Malaysia	117	animal	2013	PRJNA269658	(Petrillo et al., 2016)
	3014	animal	2013	PRJNA269654	
	744	human	2013	PRJNA224116	(C. Y. Yu et al., 2016)
	410	environment	2013	PRJNA269669	(Petrillo et al., 2016)
Mexico	744	animal	2015	FUEI01000000.1	(Garza-Ramos et al., 2018)
Netherlands	2079	animal	2009	SAMEA3952460	(Kluytmans-van den bergh et al., 2016)
	117	animal	2014	ERR1399424	
	117	animal	2014	ERR1399425	
	117	animal	2009	SAMEA3952461	
Pakistan	10	environment	2019	SRR10519311	(Ali et al., 2021)
Peru	2197	animal	2018	SRR12206225	(M. Murray et al., 2021)
	10	human	2018	SRR12206268	
	23	animal	2018	SRR12206198	
Portugal	297	food	2018	ERR5927152	(Ribeiro et al., 2021)
	602	food	2018	ERR5927172	
	6469	food	2018	ERR5927169	
	117	food	2018	ERR5927129	
	533	food	2018	ERR5927128	
	533	food	2018	ERR5927271	
Singapore	117	human	2014	SRR4302302	(Chen et al., 2020)
	101	human	2015	SRR4302224	
	8755	human	2015	SRR4302138	
	2006	human	2013	SAMEA4019573	(Teo et al., 2016)
	224	human	2013	SAMEA4019572	
Spain	131	human	2016	ERS1363864	(Ortiz de la Tabla et al., 2017)
	167	human	2016	PRJNA377406	(Sánchez-Benito et al., 2017)
	632	environment	2013	ERR3555810	(Delgado-Blas et al., 2021)
	632	environment	2013	ERR3555803	
	632	environment	2013	ERR3555812	
	632	environment	2013	ERR3555796	
	632	environment	2013	ERR3555801	
	632	environment	2013	ERR3555805	
	632	environment	2013	ERR3555799	
	632	environment	2013	ERR3555792	
	632	environment	2013	ERR3555797	
Switzerland	7060	animal	2015	CP015995	
Indochina	101	human	2013	SAME104030441	(Arcilla et al., 2016)
Tunisia	744	human	2013	SAME104030442	

País	Tipo de secuencia ST	Origen	Año de muestra	Nº de acceso de muestra biológica	Referencia
Turkey	6094	animal	2010	SAMN14609418	(Adiguzel et al., 2021)
Vietnam	1158	animal	2012	SAMEA4350784	(Trung et al., 2017)
	1011	animal	2012	SAMEA4350788	
	165	animal	2012	SAMEA4350786	
	2690	animal	2012	SAMEA4350789	
	48	animal	2012	SAMEA4350790	
	10	human	2012	SAMEA4350778	
	162	animal	2012	SAMEA4350780	
	155	animal	2012	PRJEB14873	
	156	animal	2012	SAMEA4350771	
	101	animal	2012	SAMEA4350774	

Fuente:(ENA, 2022; Enterobase, 2022; NCBI, 2022)

ANEXO B

HERRAMIENTAS BIOINFORMÁTICAS

Figura 6. Resultado del ensamblaje a través de la plataforma de Kbase del aislamiento de *Escherichia coli* UTA069.

KBase **Escherichia coli UTA 069**
Creado por: Kerty Tatiana Rodríguez Gando (kerty_r2)

Analizar Narrativas Esquema

▼ DATOS

- Escherichia coli_UTA_069_v1**
Genoma: Escherichia coli K-12
18 de octubre de 2021
- Escherichia coli_UTA_069 v1**
Asamblea
18 de octubre de 2021

Overview Stats

Name	Escherichia_coli_UTA_069 (101069/2/1)
Uploaded File	UTA69_S7_L001_R1_001.fa
Date Uploaded	Mon Oct 18 18:58:03 2021
DNA Size	5164337
Number of Contigs	106

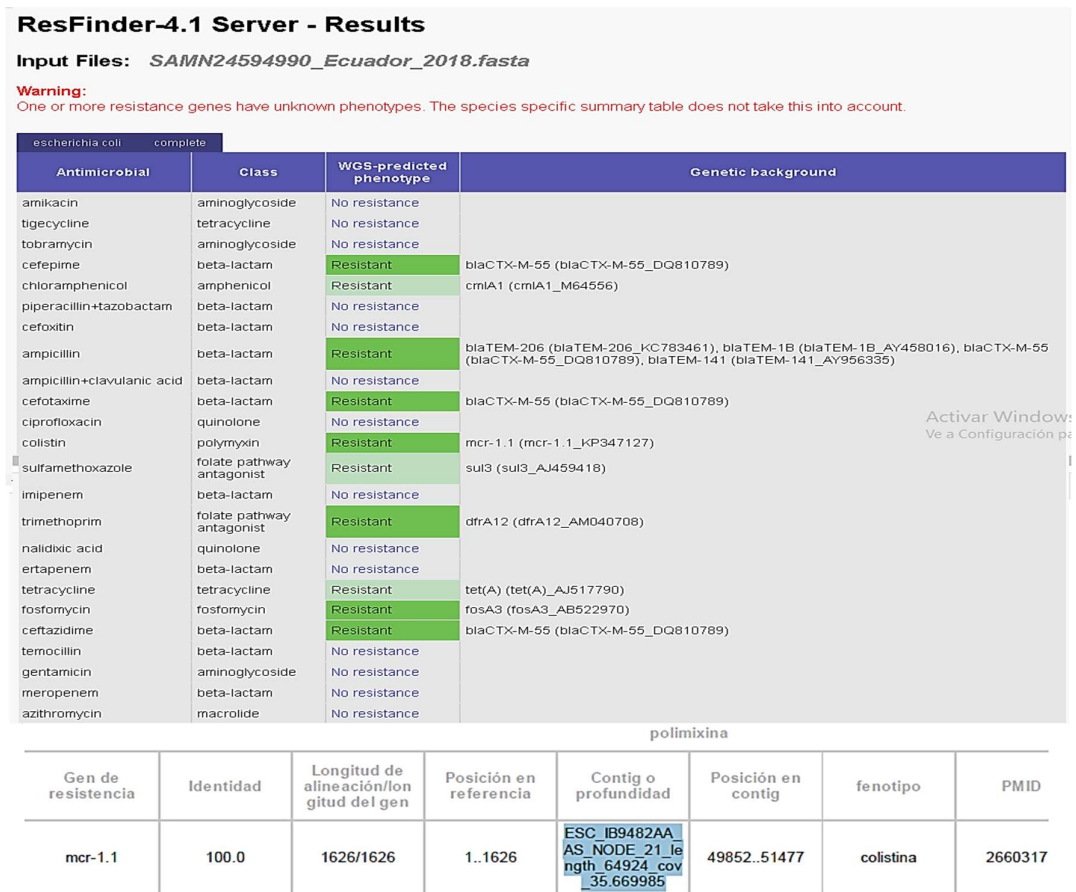
Fuente: Autor

Figura 7. Evaluación de calidad y características del aislamiento de *Escherichia coli* UTA069



Fuente: Autor

Figura 8. Determinación de la resistencia a los antimicrobianos de UTA069 mediante la plataforma ResFinder 4.1



Fuente: Autor

Figura 9. Evaluación de la patogenicidad de la cepa UTA069 empleando la herramienta PathogenFinder 1.1



Fuente: Autor

Figura 10. Tipificación de UTA069 utilizando la herramienta MLST 2.0

Servidor MLST-2.0 - Resultados

mlst Perfil: *ecoli*

Organismo: *Escherichia coli*#1

Tipo de secuencia: 1196

Lugar	Identidad	Cobertura	Longitud de alineación	Longitud del alelo	Brechas	alelo
adk	100	100	536	536	0	adk_6
fumC	100	100	469	469	0	fumC_6
gyrB	100	100	460	460	0	gyrB_33
icd	100	100	518	518	0	icd_26
mdh	100	100	452	452	0	mdh_11
pura	100	100	478	478	0	purA_8
RecA	100	100	510	510	0	recA_2

salida extendida

Archivos de entrada: SAMN24594990_Ecuador_2018.fasta

Fuente: Autor

Figura 11. Identificación de plásmidos de UTA069 utilizando la herramienta del CGE

Servidor PlasmidFinder-2.0 - Resultados

Organismo(s): *Enterobacteriales*

Enterobacteriales						
plásmido	Identidad	Longitud de consulta/plantilla	Contigo	Posición en contig	Nota	Número de acceso
IncFIB(AP001918)	98.39	682 / 682	ESC_IB9482AA_AS_NODE_39_length_10359_cov_42.685790	1958..2639		AP001918
IncFII(pHN7A8)	100	260 / 260	ESC_IB9482AA_AS_NODE_27_length_50149_cov_61.253668	39187..39446		JN232517
IncI2	99.38	324 / 324	ESC_IB9482AA_AS_NODE_21_length_64924_cov_35.669985	29803..30126		KP347127
IncX1	98.4	374 / 374	ESC_IB9482AA_AS_NODE_42_length_8807_cov_57.961406	7430..7803		EU370913
p0111	98.53	885 / 885	ESC_IB9482AA_AS_NODE_15_length_98329_cov_30.445021	24858..25742		AP010962

salida extendida

Archivos de entrada: SAMN24594990_Ecuador_2018.fasta

Fuente: Autor

Figura 12. Serotipificación in silico de la cepa UTA069

Servidor SerotypeFinder-2.0 - Resultados

Base de datos(s): *O_type,H_type*

Base de datos para genes de tipo O						
Gene	serotipo	Identidad	Longitud de plantilla/HSP	Contigo	Posición en contig	Número de acceso
wzy	O103	100	1149 / 1149	ESC_IB9482AA_AS_NODE_3_length_386366_cov_36.007708	360253..361401	EE027115
wzx	O103	99.92	1266 / 1266	ESC_IB9482AA_AS_NODE_3_length_386366_cov_36.007708	357105..358370	NC_013353

Base de datos para genes de tipo H						
Gene	serotipo	Identidad	Longitud de plantilla/HSP	Contigo	Posición en contig	Número de acceso
fliC	H28	99.71	1740 / 1740	ESC_IB9482AA_AS_NODE_26_length_55957_cov_34.245442	46948..48687	AAJT02000052

salida extendida

Resultados como texto | Resultados tsv | Aciertos en las secuencias del genoma | Secuencias de genes de serotipo

Umbral de %ID seleccionado: 85 %

Longitud mínima seleccionada: 60 %

Archivos de entrada: SAMN24594990_Ecuador_2018.fasta

Fuente: Autor

Figura 13. Subtipificación de plásmidos presentes en la secuencia UTA069

pMLST-2.0 Server - Results

pMLST profile: *IncF RST*

Sequence Type: *[F33:A-:B1]*

Locus	Identity	Coverage	Alignment Length	Allele Length	Gaps	Allele
FIA						No hit found
FIB	100.0	100.0	373	373	0	FIB_1
FIC						No hit found
FII	100.0	100.0	156	156	0	FII_33

Fuente: Autor

Figura 14. Subtipificación de la variante alélica del gen fim (CH) de cepa UTA 069

Servidor CHTyper-1.0 - Resultados

Tipo CH: *6-31*

Tipo de alelo	Identidad	Longitud de alineación/longitud del gen	Posición en referencia	Contig	Posición en contig	Número de acceso
fumC6	100.00	469/469	1.469	ESC_IB9482AA_AS_NODE_4_length_314994_cov_33.452153	259178.259646	No disponible
fimH31	100.00	489/489	1.489	ESC_IB9482AA_AS_NODE_10_longitud_156200_cov_52.451334	69182.69670	No disponible

Umbral de %ID seleccionado: **95 %**

Archivos de entrada: *SAMN24594990_Ecuador_2018.fasta*

Fuente: Autor

Figura 15. Identificación de elementos genéticos móviles presente en UTA069

MobileElementFinder Results
 Sample name: SAMN24594990_Ecuador_2018
 Date: 19/12/22 07:37
 MGEfinder version: 1.0.3
 MGEDb version: 1.0.2
 Displaying: 13 of 93 mobile elements

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_34_length_22643_cov_42.925653

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
iroN	Escherichia coli	Enterobactin siderophore receptor protein	AF449498	19926-22103	100%	100%
iss	Escherichia coli	Increased serum survival	DQ381420	9135-9443	100%	100%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_39_length_10359_cov_42.685790

Plasmid results

Plasmid name	Database	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
IncFIB(AP001918)	Enterobacteriaceae	AP001918	1958-2639	100%	98.39%

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
ompT	Escherichia coli	Outer membrane protease (protein protease 7)	LT985319	7235-8188	100%	99.9%
hlyF	Escherichia coli	Hemolysin F	NC_004938	5693-6802	100%	100%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_50_length_5719_cov_38.155222

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
cvaC	Escherichia coli	Microcin C	UDAL01000039	233-325	100%	100%
cma	Escherichia coli	Colicin M	FJ664752	2412-3227	100%	100%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_27_length_50149_cov_61.253668

Plasmid results

Plasmid name	Database	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
IncFII(pHN7A8)	Enterobacteriaceae	JN232517	39187-39446	100%	100%

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
traT	Escherichia coli	Outer membrane protein complement resistance	NC_019073	25906-26640	100%	100%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_14_length_131683_cov_49.042833

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
terC	Escherichia coli	Tellurium ion resistance protein	MG591638	94761-95719	99.28%	99.27%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_92_length_1100_cov_99.339157

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
gad	Escherichia coli	Glutamate decarboxylase	CP002185	1-1100	78.52%	99.91%
gad	Escherichia coli	Glutamate decarboxylase	AP009240	1-1100	78.52%	99.91%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_17_length_75032_cov_71.176597

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
lptA	Escherichia coli	Long polar fimbriae	AP010953	44253-44825	100%	100%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_6_length_258937_cov_44.820169

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
terC	Escherichia coli	Tellurium ion resistance protein	CP007491	119738-120451	100%	99.86%

Contig: ESC_IB9482AA_AS_NODE_43_length_8702_cov_40.488980

Virulence results

Gene name	VirulenceFinder db	Protien function	Accession	Position in contig	Coverage	Identity
sitA	Escherichia coli	Iron transport protein	ADTK01000286	1445-531	100%	100%

Fuente: Autor



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
Y BIOTECNOLOGÍA
CONSEJO DIRECTIVO

Av. Los Chasquis y Río Payamino
Teléfonos: 032400987 032400989
E-mail: fcial@uta.edu.ec



RESOLUCIÓN: FCIAB-1019-CD-P-2022

Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, en sesión ordinaria efectuada el ocho de septiembre de dos mil veintidós, en conocimiento del oficio sin número enviado por el/la señor/ita RODRIGUEZ GANDO KERLY TATIANA con C.C. 2000068367, estudiante de la Carrera de Ingeniería Bioquímica de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología, mediante el cual solicita se fije lugar, fecha y hora para la SUSTENTACIÓN ORAL DEL TRABAJO DE TITULACIÓN con el tema: "Caracterización *in silico* de una secuencia de genoma completo de *Escherichia coli mcr-l* positiva de origen animal de Ecuador" previo a la obtención del título de Ingeniero/a Bioquímico, conforme documento adjunto.

RESUELVE:

DESIGNAR, el Tribunal de Grado presidido por el/la Dr. Santiago Casado e integrado por los siguientes señores Miembros: Mg. Christian Galarza y Dr. Mario García, como CALIFICADORES PRINCIPALES y Dr. Lorena Nuñez y Mg. Ruth Perez, como CALIFICADOR SUPLENTE para que recepten la SUSTENTACIÓN ORAL, previo a la obtención del Título de INGENIERO/A BIOQUIMICO de el/la señor/ita RODRIGUEZ GANDO KERLY TATIANA con C.C. 2000068367, con el Trabajo Titulación en la MODALIDAD DE TITULACIÓN: "PROYECTO DE INVESTIGACIÓN", con el tema: "CARACTERIZACIÓN IN SILICO DE UNA SECUENCIA DE GENOMA COMPLETO DE *ESCHERICHIA COLI MCR-L* POSITIVA DE ORIGEN ANIMAL DE ECUADOR", EN LA SALA DE GRADOS N°2, EL DIA JUEVES 15 DE SEPTIEMBRE DE 2022, A LAS QUINCE HORAS CON TREINTA MINUTOS.

INFORMAR a el/la señor/ita RODRIGUEZ GANDO KERLY TATIANA con C.C. 2000068367 en caso de que por cualquier circunstancia la defensa no pueda llevarse a cabo deberá solicitar nuevo día.

Ambato, 08 de septiembre de 2022

Atentamente,


Dra. Mirari Arancibia
PRESIDENTE



REFERENCIA: Oficio s/n

CC: UNIDAD DE TITULACIÓN
COORDINACIÓN BIOQUIMICA
RODRIGUEZ GANDO KERLY TATIANA
DR. SANTIAGO CASADO, MG. CHISTIAN GALARZA Y DR. MARIO GARCIA /DRA. LORENA NUÑEZ Y MG. RUTH PEREZ
SECRETARIA DE FACULTAD