



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

“Secuenciación de 3era generación de un plásmido portador de KPC-2 aislado de la cepa *Salmonella enterica* serovar *Infantis*”

Realizado por:

ALEJANDRA VANESSA GUZMÁN QUESADA

Director del proyecto:

Dr. José Rubén Ramírez, Ph.D.

Como requisito para la obtención del título de:

MAGISTER EN BIOMEDICINA

Quito, 04 de octubre de 2023

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, **ALEJANDRA VANESSA GUZMÁN QUESADA**, ecuatoriana, con cédula de ciudadanía N° **172405811-8**, declaro bajo juramento que la tesis titulada:

Secuenciación de 3era generación de un plásmido portador de KPC-2 aislado de la cepa *Salmonella enterica serovar* Infantis es de mi autoría, que no ha sido presentado anteriormente para ningún grado o calificación profesional, y se basa en las referencias bibliográficas descritas en este documento.

A través de esta declaración, cedo los derechos de propiedad intelectual a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido en la Ley de Propiedad Intelectual, reglamento y normativa institucional vigente.



ALEJANDRA VANESSA GUZMÁN QUESADA

C.C.: 172405811-8

DECLARACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.



José Rubén Ramírez Iglesias

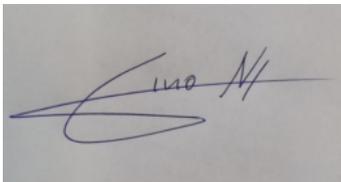
C.C.: 3050666993

LOS PROFESORES INFORMANTES

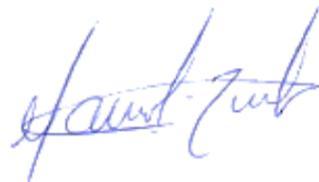
Lino Arisqueta

María Fernanda Gutiérrez

Después de revisar la tesis presentada, lo han calificado como apto para su defensa oral ante el tribunal examinador.



Lino Arisqueta
CC: 1756916456



María Fernanda Gutiérrez
CC: 1724427669

Quito, 4 de Octubre de 2023

Resumen

Los antibióticos son una herramienta poderosa para combatir las infecciones. Sin embargo, su uso descontrolado ha favorecido la aparición de cepas bacterianas que presentan resistencia a múltiples fármacos, lo que imposibilita cada vez más el tratamiento de infecciones. Un ejemplo de esto es la bacteria *Salmonella entérica* serovar Infantis, encargada de producir la Salmonelosis. Este microorganismo se ha convertido en un patógeno importante para los sistemas de vigilancia a nivel mundial, debido a su capacidad de ser portador y diseminador de genes de resistencia frente a varios antibióticos ampliamente usados en infecciones humanas y animales.

En Ecuador, en el 2018 se reportaron dos casos de salmonelosis producida por *Salmonella entérica* serovar Infantis productora de carbapenemasas. Estudios realizados por el INSPI demostraron que la bacteria presenta un fenotipo de multirresistencia que incluyen cefalosporinas, carbapenémicos y otros antibióticos de primera línea usados para el tratamiento de infecciones por parte de bacterias gram-negativas. Además, mediante un análisis de secuenciación de genoma se sabe que esta bacteria posee genes de resistencia como CTX-M-65 y blaKPC-2 y presenta plásmidos IncFIB(pN55391), IncM1 y IncX4 que están implicados en los mecanismos de resistencia bacteriana. Sin embargo, no se ha establecido la estructura de los plásmidos y la ubicación de los genes.

Este estudio tendrá como finalidad la obtención de las secuencias completas de los plásmidos IncFIB(pN55391), IncM1, IncX4. De esta manera se confirmará de manera inequívoca la presencia de los genes de resistencia a carbapenémicos blaKPC-2 y CTX-M-65 dentro de uno o varios de estos plásmidos. Para el desarrollo de esta investigación se usará una cepa de *Salmonella enterica* serovar Infantis productora de KPC, donada por el INSPI y la plataforma de secuenciación de tercera generación MinION de Oxford Nanopore Technologies (ONT).

La secuencia completa de los plásmidos será subida a bases de datos (NCBI) para ser compartida a nivel mundial. Esto permitirá realizar seguimientos epidemiológicos moleculares, la implementación de programas de vigilancia epidemiológica, establecer nuevos tratamientos para el tratamiento de este microorganismo, así como desarrollar nuevos métodos de diagnóstico.

Palabras clave:

Salmonelosis, *Salmonella enterica* serovar Infantis, resistencia antibacteriana, carbapenemasas, MinION

La información detallada del presente proyecto de desarrollo reposa en la Facultad de
Ciencia de la Salud de la UISEK.

Abstract

Antibiotics are a powerful tool for fighting infections. However, its uncontrolled use has favored the emergence of bacterial strains that are resistant to multiple drugs, making the treatment of infections increasingly impossible. An example of this is the bacteria *Salmonella enterica* serovar Infantis, responsible for producing Salmonellosis. This microorganism has become an important pathogen for surveillance systems worldwide, due to its ability to carry and disseminate resistance genes against several antibiotics widely used in human and animal infections.

In Ecuador, in 2018, two cases of salmonellosis caused by *Salmonella enterica* serovar Infantis, which produces carbapenemases, were reported. Studies carried out by INSPI demonstrated that the bacteria present a multi-resistance phenotype that includes cephalosporins, carbapenems and other first-line antibiotics used for the treatment of infections caused by gram-negative bacteria. Furthermore, through a genome sequencing analysis, it is known that this bacteria have resistance genes such as CTX-M-65 and blaKPC-2 and has plasmids IncFIB(pN55391), IncM1 and IncX4 that are involved in bacterial resistance mechanisms. However, the structure of the plasmids and the location of the genes have not been established.

The purpose of this study will be to obtain the complete sequences of the plasmids IncFIB(pN55391), IncM1, IncX4. In this way, the presence of the carbapenem resistance genes blaKPC-2 and CTX-M-65 within one or more of these plasmids will be unequivocally confirmed. To carry out this research, a KPC-producing strain of *Salmonella enterica* serovar Infantis will be used, donated by INSPI and the MinION third-generation sequencing platform from Oxford Nanopore Technologies (ONT).

The complete sequence of the plasmids will be uploaded to databases (NCBI) to be shared worldwide. This will allow molecular epidemiological monitoring, the implementation of epidemiological surveillance programs, the establishment of new treatments for the treatment of this microorganism, as well as development of new diagnostic methods.

Key words: Salmonellosis, *Salmonella enterica* serovar Infantis, antibacterial resistance, carbapenemases, MinION

The detailed information on the present Development Project rests in the Faculty of

Health Science of the UISEK.