

DETECCIÓN DE DETERMINANTES DE TIPO PMQR EN *Salmonella* spp.

Prevalencia de genes de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas de codificación plasmídica en *Salmonella* spp aislada de tres matrices alimentarias en Barrancabermeja

Alexander David Castro

Trabajo de Grado para optar el título de Magister en Microbiología

Director

Giovanna Rincón Cruz

PhD. Farmacia y Bioquímica

Codirector

Clara Isabel González Rugeles

PhD en Ciencias Biológicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Microbiología

Maestría en Microbiología

Bucaramanga

2022

Tabla de Contenido

	Pág.
INTRODUCCIÓN.....	14
1. OBJETIVOS.....	21
1.1 Objetivo General.....	21
1.2 Objetivos Específicos.....	21
2. MARCO CONCEPTUAL Y ESTADO DEL ARTE.....	22
2.1 Características generales de <i>Salmonella</i> spp.	22
2.2 Epidemiología de <i>Salmonella</i>	23
2.3 Resistencia Bacteriana.....	26
2.3.1 Clasificación de resistencia.....	28
2.3.1.1 Mecanismos de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas.....	28
2.3.1.2 Proteínas Qnr.....	31
2.3.1.3 Variante de la enzima modificadora de aminoglicósidos [AAC (6')- Ib-cr].	32
2.3.1.5 Bombas de eflujo QepA y OqxAB.....	35
3. METODOLOGÍA.....	37
3.1 Diseño.....	37
3.1.1 Tipo de estudio.....	37
3.1.2 Área de estudio.....	37
3.1.3 Aislamientos de <i>Salmonella</i> spp.....	37
2.1.1.7 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).	40

3.2 Detección molecular de genes de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR)	41
3.2.1 Obtención del material genético	41
3.2.2 Protocolo de amplificación por PCR	42
3.2.3 Visualización de los productos amplificados	44
3.2.4 Secuenciación	45
3.3 Estabilidad de los genes	45
3.4 ERIC-PCR y REP-PCR	45
5. RESULTADOS	50
5.3 Identificación molecular de genes de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR)	50
5.2 Perfil de sensibilidad a de los aislamientos	51
5.4 Perfil de sensibilidad de los aislados con PMQR	56
5.5 Estabilidad de los genes	60
5.6 Tipificación bacteriana	61
5.6.1 Análisis de amplificación de secuencias intergénicas de consenso repetitivas de enterobacterias (ERIC-PCR)	61
5.6.2 Análisis de amplificación de elementos palindrómicos extragénicos repetitivos (REP-PCR)	63
6. DISCUSIÓN	65
6.1 Perfiles de resistencia bacteriana y PMQR	65
6.2 Tipificación bacteriana	69
6.3 Estabilidad del plásmido	72

3. CONCLUSIONES.....	75
4. RECOMENDACIONES	77
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	79
APENDICES	86

Dedicatoria

Este proyecto está dedicada a quienes han generado cambios sustanciales en mi manera de ver el mundo, y en mi constante búsqueda de la automejora personal y académica:

A Jehová Dios, quien tendió su mano derecha y me levanto cada vez que caí o tropecé, me consoló con misericordia y cariño cada vez que sortee cada tribulación.

A Sandra mi esposa, que siempre tuvo una palabra de aliento, que con su cariño me mostro que todo es posible si uno se lo propone, Quien siempre ha visto mis capacidades, que cada vez que tengo un triunfo personal ella lo celebra como la mejor de las hazañas y por demostrarme que el amor existe y es incondicional.

A Carmen mi suegra, que siempre vio lo mejor en mí, que no hace cuenta de mis errores y ve luz en donde solo hay oscuridad y por acogerme en su familia.

Agradecimientos

Agradezco especialmente al personal técnico de los laboratorios de la Escuela de Microbiología y Bioanálisis y al Laboratorio Clínico de la Universidad Industrial de Santander, por su compromiso, compañerismo y apoyo incondicional en especial a Oscar, Yudi, Magda, Gina y Martha.

Agradecimiento especial a las doctoras Giovanna Rincón, Clara Isabel González Rugeles, Ruth Arali Martínez y al Doctor Bladimiro Orozco por compartir conmigo sus conocimientos y experiencias en el área de la investigación, por su entrega y apoyo incondicional en cada etapa de este proceso, y quienes como orientadoras contribuyeron enormemente en mi formación profesional y científica.

Agradecimiento al Instituto Universitario de la Paz, especialmente al Ing. Oscar Orlando Porras Atencia y al MVZ. Jorge Eliecer Franco, por brindarme los espacios de la institución y ser parte de este proyecto así como a los estudiantes de la escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia que participaron activamente en el desarrollo del proyecto.

A mis compañeros de la Maestría de Microbiología, especialmente a Sandy, Laura, Nathalia quienes me acompañaron en todo este camino, y compartieron conmigo los espacios académicos y de esparcimiento que ante las dificultades siempre había un café para buscar una salida.

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Número actual de serovares, en cada especie y subespecies de <i>Salmonella</i>	23
Tabla 2. Mecanismos de resistencia a las quinolonas	29
Tabla No. 3. Enzimas de resistencia de dominio bifuncional y la enzima de resistencia de sustrato dual	33
Tabla 4: Iniciadores utilizados para la detección de genes de resistencia	43
Tabla 5. Indicadores de clonalidad	47
Tabla 6. Porcentaje de identidad de las secuencias consensos de los <i>qnr</i> detectados	51
Tabla 7. Frecuencia de la presencia de resistencia a antibióticos en aislados de <i>Salmonella</i> spp., para las diferentes matrices.	54
Tabla 8. Frecuencia de la presencia de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas en aislados de <i>Salmonella</i> spp., para las diferentes matrices.	55
Tabla 9. Perfil de sensibilidad por concentración mínima inhibitoria de los aislamientos de <i>Salmonella</i> con PMQR.	56
Tabla 10. Frecuencia de la presencia de resistencia a antibióticos en aislados de <i>Salmonella</i> spp., con presencia de PMQR	59
Tabla 11. Estabilidad del gen plasmídico hasta el repique 50	61
Tabla 12. Virotipos, perfil de resistencia y grupo serológico de <i>Salmonella</i> spp, con presencia de PMQR.	64
Tabla 13. Hallazgos de PMQR en diversos alimentos y PMQR encontrados.	68

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Mecanismos de resistencia a las quinolonas	30
Figura 2. Alineación de secuencia de ocho variantes diferentes de <i>aac(6')-Ib</i> y variantes <i>aac(6')-Ib-cr</i>	33
Figura 3. Población de estudio	40
Figura 4. Diagrama de flujo para la identificación de PMQR	42
Figura 5. Diagrama de flujo para identificar estabilidad del gen <i>qnr</i>	46
Figura 6. Porcentaje de sensibilidad de los aislados de <i>Salmonella</i> spp.	53
Figura 7. Gráfica del porcentaje de resistencia a antibióticos en aislados de <i>Salmonella</i> spp., para las diferentes matrices.	55
Figura 8. Perfil antimicrobiano por CIM para FQ y Q, y otros grupos de antibióticos.	57
Figura 9. Perfil de resistencia por CIM para B-lactámicos y cefalosporinas	58
Figura 10. Estabilidad del gen plasmídico hasta el repique 50	60
Figura 11. Perfiles electroforéticos generados por ERIC-PCR y dendograma derivado del agrupamiento	62
Figura 12. Perfiles electroforéticos generados por REP-PCR y dendograma derivado del agrupamiento.	63

Lista de Apéndices

	Pág.
Apéndice A. Materiales utilizados para la reactivación de los aislados de <i>Salmonella</i> y de sensibilidad.	82
Apéndice B. Condiciones de estandarización para cada uno de los genes analizados mediante PCR.	83
Apéndice C. Protocolo Kit comercial PureLink™ Quick Gel Extraction.	86
Apéndice D. Materiales usados para electroforesis y preparación de reactivos.	87
Apéndice E. Imágenes de gel de electroforesis y comprobación de controles positivos.	88
Apéndice F. <i>Enterobacteriaceae</i> ; categorías antimicrobianas y agentes utilizados para definir MDR, XDR y PDR (hoja de trabajo para categorizar aislamientos).	91
Apéndice G. Análisis de secuencias.	93

Abreviaturas

ADN: ácido desoxirribonucleico

AMC Amoxicilina + clavulánico

AMP: Ampicilina

ATM: Aztreonam

BLAST: Herramienta básica de búsqueda de alineación local

C: Cloranfenicol

CAZ: Ceftazidima

CIP: Ciprofloxacina

CMI: Concentración mínima inhibitoria

COIPARS: *Colombian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance*

CRO: Ceftriaxona

CTX: Cefotaxima

ERIC: Secuencias de consenso intergénico repetitivo de enterobacterias

ETA: enfermedades transmitidas por alimentos

FEP: Cefepima

LEV: Levofloxacina

LPS: Lipopolisacárido

MDR: Multidrogo resistentes

NA: Nalidíxico

NOR: Norfloxacina

OMS: Organización Mundial de la Salud

PB: Pares de bases

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

PDR: *Pandrug resistant*

PFGE: Electroforesis en gel de campo pulsado

PMQR: Resistencia a quinolonas mediada por plásmidos

RPM: Revoluciones por minutos

QRDR: Regiones determinantes de resistencia a quinolonas

REP: Elementos palindrómicos extragénicos repetitivos

RMA: Resistente a múltiples antibióticos

RMD: Resistencia a múltiples fármacos

STX: Sulfametoxazol/trimetoprim

TAE: Solución amortiguadora Tris-acetato-EDTA

UFC: Unidades formadoras de colonias

UV: Ultravioleta

XDR: resistencia extrema a los medicamentos

Resumen

Título: Prevalencia de genes de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas de codificación plasmídica en *Salmonella* spp. aislada de tres matrices alimentarias en Barrancabermeja*

Autor: Alexander David Castro**

Palabras Clave: Seguridad alimentaria, PMQR, Pentapéptido repetido, Zoonosis, Enfermedades transmitidas por alimentos

Introducción: La salmonelosis es un problema zoonótico y de salud pública de distribución mundial y es uno de los patógenos alimentarios más comunes transmitidos a los humanos por el consumo de productos agroalimentarios. El uso de antimicrobianos como promotores del crecimiento beneficia la productividad de la industria agropecuaria y contribuye al desarrollo de resistencia a los antimicrobianos reduciendo el uso de estos, para el tratamiento de enfermedades infecciosas en humanos y animales. Las quinolonas (Q) y fluoroquinolonas (FQ) son un grupo de antimicrobianos de amplio espectro, usado frecuentemente en infecciones gastrointestinales. Los determinantes de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR) han surgido como una preocupación importante en los últimos años. **Objetivo:** Determinar la prevalencia de genes de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas de codificación plasmídica en *Salmonella* spp., aislada de matrices alimentarias en Barrancabermeja. **Métodos:** Se procesaron 277 aislamientos de *Salmonella* spp. de origen alimentario aislados e identificados mediante la norma ISO 6579:2002 y confirmados molecularmente. Se determinó el perfil de sensibilidad de los aislamientos, presencia de genes PMQR por PCR, la estabilidad de los mismos hasta el repique 50 y las posibles relaciones clonales en los aislados con PMQR. **Resultados:** El 61% (169/277) de los aislamientos fueron sensibles a las Q y FQ probadas. Se halló la presencia de PMQR en el 5,4% (15/277) de los aislados, correspondientes a 12 *qnrB* (4.3%) y tres *qnrA* (1,07%); los genes *oqxA*, *oqxB*, *qepA* y *aac(6')-Ib-cr* no fueron detectados y no determinaron posibles relaciones clonales. **Conclusiones:** Los aislados de pollo presentaron una menor sensibilidad a los antibióticos de este estudio, así como una baja frecuencia de aislamientos con genes PMQR. Este estudio demuestra la necesidad de caracterizar los aislamientos de una región, debido a que estos determinantes limitarán el espectro de antibióticos a utilizar en el tratamiento de esta zoonosis.

* Proyecto de grado

** Facultad de Salud. Escuela de Microbiología. Maestría en Microbiología Directora: Giovanna Rincón Cruz PhD. En Ciencias – Bioquímica Co-Directora: Clara Isabel González Rugeles PhD. En Ciencias Biológicas.

Abstract

Title: Prevalence of plasmid-encoded fluoroquinolone and quinolone resistance genes in *Salmonella* spp. isolated from three food matrices in Barrancabermeja *

Author: Alexander David Castro **

Key Words: Food safety, PMQR, Repeated pentapeptide, Zoonoses, Food-borne diseases

Introduction: Salmonellosis is a zoonotic and public health problem of worldwide distribution. *Salmonella* is considered one of the most common foodborne pathogens mainly and indirectly transmitted to humans by the consumption of contaminated poultry products. The use of antimicrobials as growth promoters benefits the poultry industry productivity but contributes to the development of antimicrobial resistant that markedly reduce the number of antimicrobials available for effective treatment of this infectious diseases in humans and animals. The quinolone groups are an important class of broad-spectrum antimicrobial agents. Plasmid mediated quinolone resistance (PMQR) determinants have emerged as a significant concern in recent years. **Objective:** To determine the prevalence of plasmid-encoded quinolone and fluoroquinolone resistance genes in *Salmonella* spp., isolated from food matrices in Barrancabermeja. **Methods:** 277 isolates of *Salmonella* spp. of food origin isolated and identified by ISO 6579:2002 and molecularly confirmed. The sensitivity profile of the isolates, the presence of PMQR genes by PCR, their stability up to the 50th ring, and the possible clonal relationships in the isolates with PMQR were determined. **Results:** 61% (169/277) of the isolates were sensitive to the Q and FQs tested. The presence of PMQR was found in 5.4% (15/277) of the isolates, corresponding to 12 *qnrB* (4.3%) and three *qnrA* (1.07%); the *oqxA*, *oqxB*, *qepA* and *aac(6')-Ib-cr* genes were not detected and did not determine possible clonal relationships. **Conclusions:** The chicken isolates presented a lower sensitivity to the antibiotics in this study, as well as a low frequency of isolates with PMQR genes. This study demonstrates the need to characterize the isolates of a region, because these determinants will limit the spectrum of antibiotics to be used in the treatment of this zoonosis.

* Proyecto de grado

** Facultad de Salud. Escuela de Microbiología. Maestría en Microbiología Directora: Giovanna Rincón Cruz PhD. En Ciencias – Bioquímica Co-Directora: Clara Isabel González Rugeles PhD. En en Ciencias Biológicas

Introducción

La salmonelosis es una enfermedad zoonótica de distribución mundial y de importancia en salud pública y en salud animal, la cual se caracteriza por su curso agudo y por ser una enfermedad transmitida por alimentos (ETA) (Cloekaert, 2006; Ochoa & Rodríguez, 2005; Bruno Rocha Pribul, Festivo, de Souza, & dos Prazeres Rodrigues, 2016).

La fiebre tifoidea es una de las enfermedades que, así como la salmonelosis, puede ser adquirida por alimentos, y que es causada por *Salmonella* Typhi. Se estima que se presentan más de 16 millones de casos de fiebre tifoidea por año en todo el mundo, con aproximadamente entre 3 y 6 millones de casos fatales y 1.300 millones de casos de gastroenteritis (Dekker & Frank, 2015; Ochoa & Rodríguez, 2005).

La salmonelosis se presenta con mayor prevalencia en países desarrollados, como Estados Unidos de América, Canadá, Inglaterra, Noruega y Dinamarca, entre otras naciones, donde los brotes son de origen alimentario (Gutiérrez Castillo, Paasch Martínez, & Calderón Apodaca, 2008).

Para Colombia en el año 2015, se presentó un total de 3.041.766 casos de ETA, con una incidencia nacional de morbilidad por ETA de 63,1 casos por 1000 habitantes. Así mismo se estableció que uno de los agentes etiológicos identificados en muestras biológicas, alimentos y

agua procedentes de brotes de ETA, fue *Salmonella* spp con una frecuencia del 20,7 % (18/87) (SIVIGILA, 2015).

En las últimas dos décadas en Barrancabermeja se estableció una incidencia acumulada para enfermedades emergentes y reemergentes del 2,6 %, siendo las ETA las de mayor frecuencia, donde el 21,1 % de los procesos de diarrea y gastroenteritis fueron de origen bacteriano. Asimismo se planteó que las “posibles causas o factores identificados, para la presentación de estas enfermedades son las condiciones ambientales de Barrancabermeja, tales como humedad, temperatura, presencia de afluentes de agua como lagunas, humedales, ríos, los cuales favorecen la proliferación de vectores, reservorios y portadores, además la falta de recursos y el desconocimiento de las medidas de prevención por parte de la ciudadanía” (Alexander David Castro, 2015).

En Colombia entre 2012 y 2015 se informaron 836 casos de fiebre tifoidea distribuidos por todo el país y 27 de los 32 departamentos notificaron la enfermedad, la mayoría (676/836; 80,1%) de los casos notificados se originaron en sólo siete departamentos: Antioquia ($n = 233$), Norte de Santander ($n = 233$), Huila ($n = 57$), Meta ($n = 44$), Chocó ($n = 41$), Bolívar ($n = 35$) y Valle del Cauca ($n = 33$). La incidencia mínima media combinada de enfermedad durante el período de vigilancia de cuatro años fue de 0,44 / 100.000 personas por año (Diaz-Guevara et al., 2020).

Para el caso puntual del municipio de Barrancabermeja, la información sobre la presentación de *Salmonella* spp. en productos de origen animal sigue siendo limitada, encontrando reportes de su presencia en queso (Osorio Padilla, 2013), leche (Alexander David Castro, Albino Rivera,

Mendoza Vargas, & Mendoza Pinzón, 2013) y productos cárnicos (Gutiérrez Pérez, 2013), con una frecuencia del 41 %, 17 % y 27 %, respectivamente.

En relación a la resistencia bacteriana, en los años 70 y 80 diversos aislamientos de *Salmonella* han demostrado sensibilidad variada a la ampicilina, tetraciclina y trimetoprim sulfametoxazol, y más recientemente a nivel mundial se demostró la resistencia a ampicilina, trimetoprim sulfametoxazol, cloranfenicol, aminoglucósidos y sulfonas, lo que sugiere el potencial de esta bacteria de intercambiar fácilmente con otras bacterias, múltiples genes de resistencia incorporados en integrones o transposones (DuPont & Whichard, 2017; Levings, Lightfoot, Partridge, Hall, & Djordjevic, 2005; Moreno et al., 2014; Murgia et al., 2015), causando la diseminación rápida de aislamientos con resistencia a múltiples fármacos (RMD)(Murgia et al., 2015).

El uso de antibióticos en la medicina humana y la cría de animales genera una presión selectiva que favorece la aparición de resistencia entre los microorganismos, lo que podría socavar la efectividad de los mismos (Hur, Jawale, & Lee, 2012). Algunos de los antimicrobianos utilizados en la industria agropecuaria tienen equivalentes químicos idénticos en la medicina humana. La mayoría de los antibióticos utilizados en animales destinados a la alimentación pertenecen a clases de antibióticos que también se utilizan para tratar enfermedades humanas; éstos incluyen tetraciclinas, sulfonamidas, penicilinas, macrólidos, fluoroquinolonas, cefalosporinas, aminoglucósidos (gentamicina y kanamicina), cloranfenicol y estreptograminas (Hur et al., 2012).

Adicionalmente, la presencia de medicamentos en los alimentos se encuentra asociada a tres problemas principales en la salud del consumidor final, entre los que se encuentran: procesos alérgicos, tóxicos y de resistencia bacteriana (Errecalde, 2004). Este último ha sido uno de los más investigados en los años recientes, encontrándose en los microorganismos un incremento en la resistencia de los mismos; donde algunos de los factores asociados a este fenómeno son la automedicación, el uso de dosis insuficientes, ciclos incompletos de tratamientos, inadecuadas políticas en el uso de antibióticos, escasa documentación de los resultados de ensayos clínicos para nuevos antibióticos y la no existencia de vigilancia y notificación de patrones de resistencia antimicrobiana, así como el consumo de alimentos de origen animal, con aislamientos que ya presentan mecanismos de resistencia (Davidson et al., 2008; L Maka & Popowska, 2016).

Lo anterior, se complementa con una práctica común en animales de granja, la implementación de ciclos terapéuticos a través del agua de bebida o de los alimentos que se le suministran a toda una población, o la transferencia de resistencia que proviene del medio ambiente contaminado por la eliminación de altos niveles de antibióticos y bacterias resistentes a los mismos. Un ejemplo es la aplicación de estiércol de granjas porcinas, donde se usan grandes cantidades de antibióticos en tratamientos preventivos. La contaminación de verduras y frutas puede ocurrir a través de su contacto con tierra o agua contaminada durante el crecimiento, y luego las bacterias resistentes se transfieren a través de la ruta fecal-oral (Gilchrist et al., 2007; L Maka & Popowska, 2016). Por lo tanto, un gran número de animales puede estar expuesto por un lapso de tiempo extenso a antibióticos de amplio espectro, lo que concluye en una presión para la selección de la resistencia bacteriana (Ungemach, Müller-Bahrtdt, & Abraham, 2006).

En este sentido, se ha hallado que algunos aislamientos de *Salmonella* spp. presentan resistencia a antibióticos clínicamente importantes como quinolonas, fluoroquinolonas, tetraciclinas y cefalosporinas de amplio espectro, entre otros (Hur et al., 2012; Murgia et al., 2015). En el estudio realizado por Rotini y colaboradores, hallaron en *Salmonella* spp. resistencia a múltiples drogas en lugares como Kuwait y los Emiratos Árabes Unidos, registrando un aumento de cinco veces en la tasa de resistencia a las cefalosporinas de tercera generación, como la ceftriaxona y la cefotaxima (Rotimi, Jamal, Pal, Sovenned, & Albert, 2008). Este incremento en la aparición y posible transmisión de aislamientos de *Salmonella* resistentes, constituye una amenaza grave para la salud humana, particularmente en relación con los productos alimenticios listos para el consumo.

En este sentido, las quinolonas, y en particular las fluoroquinolonas, son algunos de los antibióticos más utilizados como promotores de crecimiento en animales de consumo y para el tratamiento de la salmonelosis en infecciones humanas y animales, debido a su amplio espectro en la actividad antimicrobiana (Bruno Rocha Pribul et al., 2016). El uso inadecuado de estos antibióticos y en especial la subdosificación, generan una mayor presión selectiva incrementando la resistencia antimicrobiana en diferentes bacterias incluyendo a *Salmonella* spp. y aumentando los casos de falla terapéutica en los cuales está indicado el uso de los mismos (Errecalde, 2004; Maria Karczmarczyk et al., 2010).

La diseminación de la resistencia a los antimicrobianos a menudo se realiza a través de elementos genéticos móviles tales como plásmidos, transposones y casetes de genes en integrones (L Maka & Popowska, 2016). En *Salmonella* se han descrito determinantes de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas codificados a nivel plasmídico como es el caso de *qnrD* y su alelo

qnrD2, genes reportados inicialmente en aislamientos de este género (Abgottspon, Zurfluh, Nüesch-Inderbinnen, Hächler, & Stephan, 2014; Cavaco, Hasman, Xia, & Aarestrup, 2009; Bruno Rocha Pribul et al., 2016). En Colombia se han descrito aislamientos con presencia de determinantes que afectan la sensibilidad a las quinolonas como *qnrB* (Abgottspon et al., 2014; Cavaco et al., 2009; Donado-Godoy et al., 2015), así como la presencia del gen *qnrB19* (M. Karczmarczyk et al., 2010), pero no se encontraron estudios acerca de la frecuencia de estos determinantes.

Los datos puntuales, del Grupo de Vigilancia de Infecciones Intrahospitalarias, reportan en Colombia resistencia antimicrobiana, principalmente relacionadas a los serotipos *S. Enteritidis*, *S. Typhi*, y *S. Typhimurium* siendo la resistencia más frecuente a la tetraciclina (36%), seguida por cefotazime (13%) (Salud, 2010). En este estudio no se evaluaron determinantes de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas que permitan actualizar protocolos de prevención y tratamiento, esta información podría ser útil para disminuir los fracasos terapéuticos en relación con los niveles de contaminación y el riesgo potencial para la salud pública. Por consiguiente, se hace necesario contar con esta información epidemiológica acerca de *Salmonella* como causante de síndromes entéricos y los cambios que puedan presentar frente a su perfil de resistencia a antimicrobianos.

Por ende, la caracterización molecular de los aislamientos de *Salmonella* es esencial para la investigación epidemiológica de las infecciones y brotes, así como, la vigilancia de determinantes de resistencia situados en elementos móviles que ayudan a la propagación de la resistencia a antimicrobianos. De igual manera, los datos obtenidos en este tipo de estudios enriquecerían Programas como “*Colombian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance*”-

COIPARS en la región del Magdalena Medio Santandereano, que beneficiaría el comercio internacional de alimentos, así como el enriquecer programas de monitoreo con el fin de identificar la llegada de clones al país.

Con base en los anteriores argumentos se formuló la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la prevalencia de determinantes de resistencia de codificación plasmídica a quinolonas y fluoroquinolonas en *Salmonella* spp. aislada en alimentos de origen animal en Barrancabermeja, Santander?

Adicionalmente, para complementar la pregunta de investigación principal se formularon las siguientes preguntas directrices: ¿Cuál es el perfil de sensibilidad que presentan los aislados de *Salmonella* spp. a fluoroquinolonas y quinolonas? ¿Cuál es la estabilidad del gen de tipo PMQR, que se detectó con mayor frecuencia, en ausencia de presión de antibiótico?

1. Objetivos

1.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de genes de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas de codificación plasmídica en *Salmonella* spp., aislada de matrices alimentarias en Barrancabermeja.

1.2 Objetivos Específicos

Determinar la frecuencia de los genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qnrVC*, *oqxA*, *oqxB*, *aac(6')Ib-cr* y *qepA* en los aislamientos analizados.

Establecer el perfil de sensibilidad de todos los aislamientos y la concentración mínima inhibitoria de quinolonas y fluoroquinolonas en los aislamientos que presenten PMQR.

Establecer la estabilidad del gen de resistencia de codificación plasmídica más frecuente frente a un mayor número de repiques en ausencia de antibióticos.

Determinar relaciones clonales de los aislamientos en los cuales fueron detectados los genes PMQR.

2. Marco conceptual y estado del arte

2.1 Características generales de *Salmonella* spp.

El género *Salmonella* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae*, éste está integrado por bacterias de forma bacilar, Gram negativas, anaerobias facultativas y no esporuladas que utilizan citrato como única fuente de carbono y poseen metabolismo de tipo oxidativo y fermentativo (Dekker & Frank, 2015). La mayor parte de los serotipos del género *Salmonella* son móviles, mediante flagelos peritricos; excepto *Salmonella enterica* ser. Pullorum, *Salmonella enterica* ser. Gallinarum y *Salmonella enterica* subesp. arizonae que son inmóviles. *Salmonella* resiste a la congelación y la desecación (Anderson, 2005), crece entre 5°C y 47°C, con temperatura óptima de 37°C. Por debajo de los 10°C y por encima de los 42°C, el crecimiento disminuye. Pueden crecer a pH comprendido entre 4,5 y 9,0 con resultado óptimo entre valores de pH 6,5 y 7,5. Por debajo de pH 4,1 tiene lugar la inactivación y muerte de *Salmonella*. (Anderson, 2005; Joerger, Sartori, & Kniel, 2009).

La clasificación del género *Salmonella* es compleja y está basada en estudios relacionados con técnicas fenotípicas, serológicas y de hibridación del ADN bacteriano. En consenso de los diversos investigadores se pudo concluir que este género está compuesto por dos especies, *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. A su vez *S. enterica* se divide en seis subespecies: *S. enterica* subsp. *enterica*, *S. enterica* subsp. *salamae*, *S. enterica* subsp. *arizonae*, *S. enterica* subsp. *diarizonae*, *S. enterica* subsp. *houtenae*, y *S. enterica* subsp. *indica*, (Dekker & Frank, 2015; Prokaryotes, 2005) (Tabla 1).

Hasta la fecha, se han reportado cerca de 2.659 serotipos de *Salmonella* (Issenhuth-Jeanjean et al., 2014). Muchos de estos serotipos han sido asociados con la presentación de enfermedades, con hospedantes definidos en la transmisión del microorganismo (Achtman et al., 2012), en este sentido, la determinación del serotipo cobra importancia para la vigilancia epidemiológica y la evaluación del agente.

Tabla 1.

Número actual de serovares, en cada especie y subespecie de Salmonella

<i>S. enterica</i>	<i>Serovares</i>
subsp. <i>enterica</i>	1586
subsp. <i>salamae</i>	522
subsp. <i>arizonae</i>	102
subsp. <i>diarizonae</i>	338
subsp. <i>houtenae</i>	76
subsp. <i>indica</i>	13
<i>S. bongori</i>	22
Total	2659

Nota: Modificada de: Issenhuth-Jeanjean S. 2014.

2.2 Epidemiología de *Salmonella*.

La epidemiología de *Salmonella* parece ser muy variable, la fiebre tifoidea está asociada con transmisión sostenida en algunas regiones y brotes de corta duración en otros departamentos.

La fiebre tifoidea se distribuye ampliamente y es causada por múltiples genotipos, de los cuales la mayoría puede estar restringida a Colombia y no parece circular entre otros países latinoamericanos (Diaz-Guevara et al., 2020).

Los datos obtenidos a nivel nacional sobre la presentación de *Salmonella* y la ocurrencia de la enfermedad en humanos son escasos, sin embargo, en la semana epidemiológica 52 de 2015 se notificaron al SIVIGILA 10.381 casos de ETA, involucrados en 895 brotes a nivel nacional. Solo en 35 brotes se han identificado agentes patógenos procedentes de muestras biológicas, de estos, 18 casos correspondían a *Salmonella* (SIVIGILA, 2015). Esto pudiera atribuirse al subregistro de enfermedades en el sistema nacional de captura de datos, debido a que es poco probable que el sistema de vigilancia nacional capte el alcance total de la carga de la enfermedad en Colombia (Diaz-Guevara et al., 2020).

Asimismo, en la semana epidemiológica 52 de 2015 se notificaron 371 casos de fiebre tifoidea y paratifoidea. Algo que inquieta en este tipo de informes es que, en relación con el año anterior, se observó un aumento en la notificación del 13,5 %, aunque solo el 75 % de las entidades territoriales notificaron casos para este evento; la mayor proporción de casos fueron notificados por Antioquia con el 28,6 %, por el contrario Santander reportó solo 6 casos (SIVIGILA, 2015).

Para el caso puntual de Barrancabermeja, el panorama es desolador frente a reportes de problemas de salud, y en especial en lo referente a ETA. Muchos de los hallazgos recopilados se obtienen a través de investigaciones realizadas y reportes de entidades de salud. En este sentido, con base en el SIVIGILA, las principales enfermedades emergentes y reemergentes presentadas en Barrancabermeja entre los años de 1980-2010 son el dengue con el 46,5 %, seguido de ETA como gastroenteritis por bacterias con 21,1% y en un 0,02% se ha aislado *Salmonella*. A pesar de que el porcentaje es bajo, no significa que no sea un problema de salud pública, ya que el solo hecho de que se sigan reportando casos en estos últimos años de manera regular, debería ser

preocupante para las entidades encargadas de la vigilancia epidemiológica y por ende para la población de Barrancabermeja (Alexander David Castro, 2015).

Al estudiar la presencia de *Salmonella* spp. en diversas matrices alimentarias, y particularmente leche, se encontró que en tres centros de acopio lácteo de Barrancabermeja había presencia de *Salmonella* spp en el 13,7 %. Igualmente se determinó que las características fisicoquímicas en donde se halló presencia del microorganismo fueron: pH $5,96 \pm 0,276$, humedad $88,53 \pm 1,380$ %, densidad $1,079 \pm 0,049$ g/ml, cloruros $0,29 \pm 0,026$ mg/litros y acidez $23,24 \pm 7,242$ g/litros. Estos hallazgos demuestran condiciones higiénico sanitarias deficientes en los centros de acopio lecheros del municipio de Barrancabermeja, además plantean la necesidad de adoptar mecanismos de inspección, vigilancia y control que incluyan acciones de mejora en la productividad del eslabón primario del sector lácteo en concordancia con lo establecido en el Decreto 616 de 2006 que regula este sector productivo (Alexander David Castro et al., 2013).

Para el caso de derivados lácteos se halló una frecuencia para *Salmonella* spp. del 41% en queso costeño y de 11% para queso campesino, aunque en el análisis fisicoquímico de la matriz, los valores se mantuvieron dentro de los límites establecidos en la NTC 750. Los hallazgos obtenidos manifiestan las deficiencias en el cumplimiento de lo establecido en el Decreto 3075 de 1997, además de la ausencia de mecanismos de inspección, vigilancia y control en este eslabón del sector lácteo (Osorio Padilla, 2013).

Con respecto a productos cárnicos, en una planta de beneficio de ganado porcino en el municipio de Barrancabermeja, se detectó la presencia *Salmonella* spp., donde se obtuvo una

frecuencia del 27,2% (3/11). Las variables fisicoquímicas de humedad $73,27\% \pm 17,97$, pH $5,80 \pm 0,42$, acidez, $0,082 \pm 0,037$ (g A. Láctico/20 ml), y la a_w $0,975 \pm 0,02$ demostraron condiciones óptimas para el crecimiento de *Salmonella* spp. (Gutiérrez Pérez, 2013).

2.3 Resistencia Bacteriana

El aumento de la resistencia entre patógenos transmitidos por los alimentos está relacionado con el uso excesivo de antimicrobianos en animales. Los animales de granja y los productos cárnicos que a menudo se contaminan con diversos microorganismos, los cuales contienen genes de resistencia activos contra los betalactámicos de tercera y cuarta generación, que son antibióticos cruciales en la medicina humana. Estos elementos genéticos móviles y los aislamientos resistentes son transmitidos a las personas a través de la cadena alimentaria (L Maka & Popowska, 2016).

La resistencia a los antimicrobianos es uno de los mejores ejemplos conocidos de adaptación bacteriana, en cierta medida esta capacidad ha sido atribuida a los mecanismos de mutación de las bacterias, asociado al intercambio o transferencia de material genético entre bacterias (Benaicha, Barrijal, Ezzakkioui, & Elmalki, 2017; L Maka & Popowska, 2016). Cualquiera que sea el caso, los antimicrobianos han sido considerados la clave terapéutica ante cualquier proceso infeccioso, poniendo de manifiesto los riesgos crecientes en el tratamiento eficaz de algunas patologías (fiebre tifoidea, neumonías, meningitis, malaria, tuberculosis, entre otras) (Davidson et al., 2008). Para el caso particular de *Salmonella* spp., considerado un patógeno de origen alimentario con capacidad de colonizar el intestino humano y causar enfermedades clínicas, donde la resistencia a los

antimicrobianos utilizados para tratar las especies tifoideas y no tifoideas ha surgido y se ha difundido en todo el mundo rápidamente (L. F. Chen, Chopra, & Kaye, 2009).

Antibióticos, tales como ciprofloxacina, se consideran fármacos de elección para el tratamiento empírico de la fiebre tifoidea, excepto en las zonas del mundo donde la resistencia a esta fluoroquinolona es común (por ejemplo, Asia) (Davidson et al., 2008). Hasta ahora, la resistencia a la ciprofloxacina es poco frecuente en los Estados Unidos, pero se encontró en hasta un 23% de *S. Typhi* aislada en el Reino Unido desde 1999, así como la resistencia a cloranfenicol, ampicilina, y trimetropin (TMP). Este fenómeno de multirresistencia¹ se presentó en el 26% de todos los aislamientos de esta serovariedad. Otras alternativas de tratamiento oral en infecciones de *S. Typhi* incluyen amoxicilina, TMP-SMX, cefixima, azitromicina, y cloranfenicol, siempre y cuando los aislamientos presenten sensibilidad *in vitro* (Hur et al., 2012).

Asimismo, se han aislados de productos alimenticios *Salmonella* spp. resistentes a ampicilina y tetraciclina, pero sensibles a aminoglucósidos, como gentamicina y estreptomina. Los aislamientos resistentes se han descrito en Reino Unido, Brasil, Turquía, Irán, India, Malasia, Canadá y Vietnam (L Maka & Popowska, 2016).

En el estudio realizado por Mąka y Popowska en China, se encontraron aislamientos de *Salmonella* spp. resistencia a la ciprofloxacina con una frecuencia del 42,1%. La mayor tasa de

¹ Multirresistencia es definida como la resistencia a los antimicrobianos que muestra una especie de microorganismo a, al menos un fármaco antimicrobiano en tres o más categorías de antimicrobianos.

resistencia a esta fluoroquinolona se observó en los aislados de productos de pollo en España (L Maka & Popowska, 2016).

La resistencia a la familia de las quinolonas² por los diferentes grupos bacterianos se cree que está fuertemente asociada a la exposición de los mismos, así lo demuestra un estudio llevado a cabo en 2002 en una comunidad de Perú, en una población donde no hay presión selectiva de las quinolonas y donde no se encontraron aislamientos de *E. coli* comensales con resistencia a ciprofloxacina y ácido nalidíxico (Bartoloni et al.), sugiriendo que la probable fuente de resistencia es la presión selectiva, no solamente por quinolonas, sino también se propone que otras sustancias como la cloroquina, la cual es utilizada en el tratamiento de la malaria, se cree podría generar aislados resistentes a ciprofloxacina (Davidson et al., 2008).

2.3.1 Resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas

2.3.1.1 Mecanismos de resistencia

Los mecanismos de resistencia a quinolonas en *Salmonella* spp. se dan principalmente por sustituciones aminoacídicas generadas por mutaciones en regiones denominadas QRDR (Región Determinante de Resistencia a Quinolona). Tales mutaciones causan sustituciones de aminoácidos que modifican las girasa (*gyrA*, *gyrB*) y topoisomerasa IV (*parC*, *parE*), y los hacen menos sensibles a la unión de quinolonas (Karl Drlica, Malik, Kerns, & Zhao, 2008; K. Drlica & Zhao,

² Aunque quinolonas y fluorquinolonas son diferentes por motivos prácticos se utilizara el término familia de quinolonas para incluirlas a ambas.

1997; Guan et al., 2013; Hur et al., 2012; L Maka & Popowska, 2016; Ruiz, 2003). Las sustituciones de aminoácidos en las enzimas diana causan aumentos en el valor de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI); las siguientes alteraciones son las más frecuentes: *GyrA* - Ser83 → Phe (CIM = 256 µg / ml para ácido nalidíxico, CMI = 0,25 - 2 µg / ml para ciprofloxacina), Asp87 → Gly, Tyr (256 - 512 µg / ml para ácido nalidíxico, CMI = 0,12 - 0,5 µg / ml para ciprofloxacina); ParC - Ser80 → Ile, Arg (S. Chen et al., 2007; Rodríguez-Martínez, Cano, Velasco, Martínez-Martínez, & Pascual, 2010; Rodríguez-Martínez et al., 2016; Ruiz, 2003).

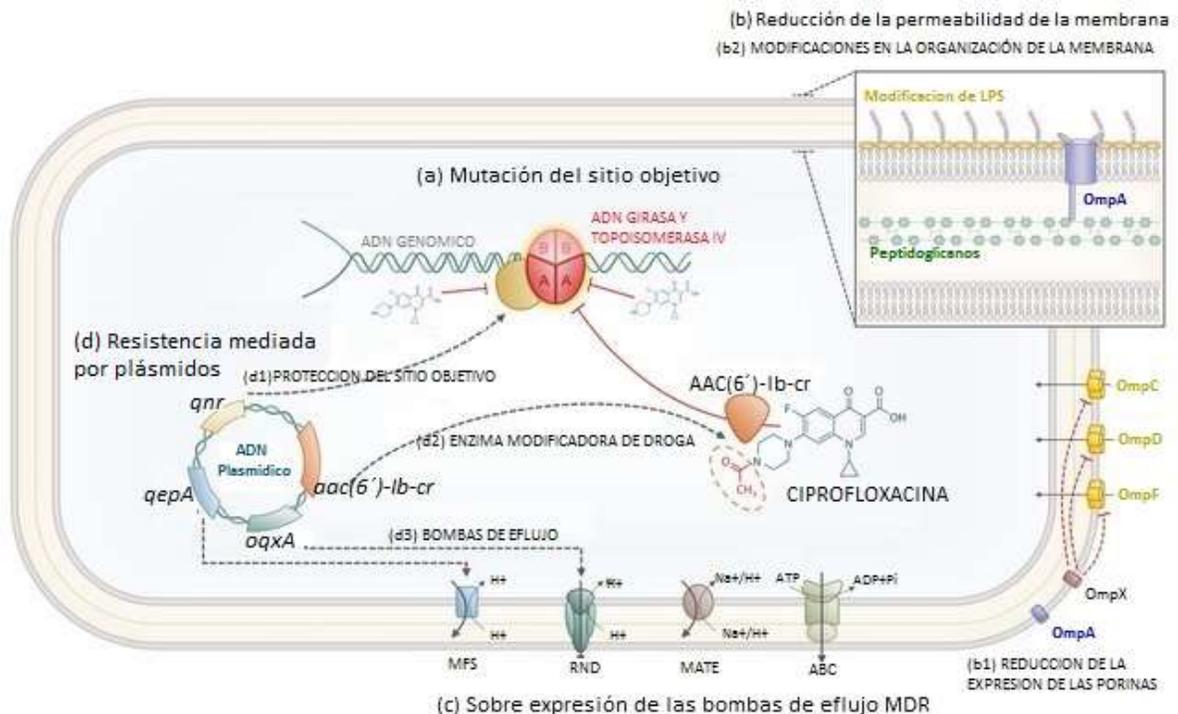
Tabla 2.

Mecanismos de resistencia a las quinolonas

	Mecanismo	Proteínas	Genes
Mediada por cromosomas	Cambios en las subunidades A y/B de las topoisomerasas tipo II	ADN-girasa Topoisomerasa IV	<i>gyrA</i> [<i>gyrB</i> *] <i>parC</i> [<i>parE</i> *]
	Disminución de la permeabilidad	Pérdida de Porin / cambios estructurales	Principales genes porin
		Defectos de lipopolisacáridos	
	Aumento del flujo de salida activo	Bombas de eflujo (expresión basal o <i>upregulation</i>)	<i>rfaD</i> , <i>rfaE</i> Codificación y genes reguladores
Mediada por plásmido	Protección del sitio objetivo	Familia de Qnr	Genes <i>qnr</i>
	Acetilación	AAC (6') - Ib-cr	<i>aac</i> (6') - <i>Ib-cr</i>
	Bombas de eflujo	QepA OqxAB	<i>qepA</i> <i>oqxAB</i>
		QacBIII	<i>qacBIII</i>

Nota. *Poco común en aislados clínicos. Adaptado de Rodríguez (Rodríguez-Martínez et al., 2016)

Figura 1.

Mecanismos de resistencia a las quinolonas.

Nota: Adaptado de Correia (Correia, Poeta, Hebraud, Capelo, & Igrejas, 2017). (a) Las mutaciones cromosómicas dentro de los QRDR de los genes que codifican las subunidades A y B de la ADN girasa y la topoisomerasa IV cambian estructuralmente la proteína diana, reduciendo su afinidad de unión al fármaco. (b) Las mutaciones cromosómicas que conducen a una reducción de la permeabilidad de la membrana externa, ya sea por la reducción de la expresión de la porina (b1) o modificaciones en la organización de la membrana externa (b2), y también las mutaciones que conducen a una mayor expresión de las bombas de salida (c), contribuyen de manera aditiva a la resistencia al disminuir la acumulación citoplasmática de quinolonas. (d) Los genes de resistencia a quinolonas codificados por plásmidos pueden producir proteínas de protección de diana Qnr (d1), variantes de acetiltransferasa de AAC (6') - Ib-cr capaces de modificar ciertas quinolonas (d2) o bombas de salida de QepA y OqxAB que extruyen activamente las quinolonas. LPS, lipopolisacárido; MFS, superfamilia facilitadora principal; RND, resistencia-nodulación-división; MATE, extrusión de múltiples antibióticos y toxinas; ABC, casete de unión a ATP; MDR, multirresistencia.

2.3.1.2 Proteínas Qnr

Las proteínas Qnr son miembros de la familia de proteínas repetitivas del pentapéptido (PRP) y contienen dominios compuestos de secuencias de aminoácidos repetidas en tándem con una secuencia consenso de [Ser, Thr, Ala, Val] [Asp, Asn] [Leu, Phe] [Ser, Thr, Arg] [Gly] (Abgottspon et al., 2014; G. A. Jacoby, Strahilevitz, & Hooper, 2014; Rodríguez-Martínez et al., 2016) (ver figura 1). La estructura tridimensional del primer miembro de la familia PRP se determinó para la proteína de resistencia a las fluoroquinolonas (MfpA) de *Mycobacterium tuberculosis* y reveló que las repeticiones pentapeptídicas codificaban el plegamiento de un nuevo tipo de beta-hélice cuadrilateral diestra. MfpA se une a DNA girasa e inhibe su actividad. La proteína dímera en forma de bastón es notablemente similar en tamaño, forma y propiedades electrostáticas al ADN (G. A. Jacoby et al., 2014; Rodríguez-Martínez et al., 2016).

Diversos reportes han identificado determinantes de Qnr en todo mundo, incluyendo países como Estados Unidos y países de Europa, Asia y África. Estos determinantes se han hallado en varias especies del orden Enterobacterales como: *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Providencia stuartii*, así como *Acinetobacter baumannii*, una especie gramnegativa no enterobacteriana (Guan et al., 2013; Jamborova et al., 2017). Se han reportado a la fecha once *qnrA*, ochenta y tres *qnrB*, un *qnrC*, catorce *qnrS*, nueve determinantes de *qnrVC* (G. Jacoby et al., 2008; Jamborova et al., 2017; Rodríguez-Martínez et al., 2016), tres *qnrD* (Jamborova et al., 2017) y cuatro *qnrE* (Albornoz et al., 2017).

Las funciones de las proteínas *qnr* varían, los plásmidos que portan variantes de *qnrA* a menudo portan otros genes de resistencia a antibióticos, que pueden ser transferibles o no (Guan et al., 2013); *qnrA* puede revertir la capacidad de las fluoroquinolonas para inhibir la ADN girasa, debido a que se puede unir directamente al ADN, reducir la unión de la girasa al ADN y proteger la topoisomerasa IV de la quinolona (G. A. Jacoby et al., 2014; Tran & Jacoby, 2002). *qnrA* puede unirse a la holoenzima DNA girasa y sus respectivas subunidades, GyrA y GyrB.

La actividad protectora de *qnr* se ha limitado a aquellos compuestos que, como las quinolonas, atrapan la girasa en el ADN en complejos escindidos, como la 2-piridona ABT-719, la quinazolina-2,4-diona PD 0305970 y la espiropirimidinatriona pirazinil- alquinil-tetrahydroquinolina, lo que indica que *qnr* no es estrictamente quinolona específica (Rodríguez-Martínez et al., 2016).

2.3.1.3 Variante de la enzima modificadora de aminoglicósidos [AAC (6')-Ib-cr].

La variante de enzimas modificadoras de aminoglicósidos, pertenece al grupo de enzimas bifuncionales de modificación a aminoglucósidos. Las enzimas de resistencia bifuncionales pueden contribuir significativamente al futuro de la resistencia a los antibióticos bacterianos. Este fenómeno se ejemplifica mediante la identificación de una enzima de sustrato dual que confiere resistencia a algunos aminoglucósidos y disminuye la actividad de dos fluoroquinolonas norfloxacin y la ciprofloxacina, (ver tabla 3).

Tabla. 3

Enzimas de dominio bifuncional y la enzima de resistencia de sustrato dual

Enzima	Descubrimiento	Patrón de resistencia del sustrato
Dominio bifuncional β -lactamasa <i>blaLRA-13</i>	2009	<i>Clase C</i> (tipo AmpC) - proteína de fusión β -lactamasa <i>clase D</i> (tipo Oxa)
Dominio bifuncional enzimas modificadoras de aminoglucósidos		
AAC(6')/APH(2'')	1986	<i>Acetilación y fosforilación</i> : todos los aminoglucósidos, con excepción de la estreptomina y la espectinomicina
ANT (3'') - Ii / AAC (6') - IId	2002	<i>Adenilación y acetilación</i> : kanamicina, tobramicina, 5'-episisomicina, gentamicina, 2'-N- etiltilmicina, netilmicina, estreptomina, espectinomicina
AAC (3) -Ib / AAC (6') - Ib'	2002	<i>Acetilación</i> : kanamicina, tobramicina, gentamicina, netilmicina, fortimicina, dibekacina, isepamicina, neomicina, amikacina
AAC (6') - 30 / AAC (6') - Ib'	2004	<i>Acetilación</i> : kanamicina, tobramicina, gentamicina, netilmicina, isepamicina, neomicina, amikacina, sisomicina
Enzima modificadora de sustrato dual (fluoroquinolona y aminoglucósido)		
AAC (6') - Ib-cr	2006	<i>Acetilación</i> : aminoglucósidos (kanamicina, tobramicina, amikacina) y fluoroquinolonas (norfloxacina y ciprofloxacina)

Nota: Tomado de Weilie Zhang, Jed F Fisher and Shahriar Mobashery (Zhang, Fisher, & Mobashery, 2009)

AAC(6')-Ib-cr es una enzima plasmídica que reduce la actividad de los aminoglucósidos kanamicina, tobramicina y amikacina y la fluoroquinolonas ciprofloxacina y norfloxacina; esta enzima es una variante de las aminoglucósido acetiltransferasa, la cual tiene dos cambios de aminoácidos Trp102Arg y Asp179Tyr (ver figura 2) (Guan et al., 2013; Robicsek et al., 2006; Rodríguez-Martínez et al., 2016). Esta enzima bifuncional es capaz de acetilar ciprofloxacina, norfloxacina y otras quinolonas en el amino nitrógeno secundario N4 en su sustituyente piperazinilo, esta modificación es necesaria para la actividad de acetilación de quinolonas. Quinolonas que carecen de esta sustitución (levofloxacina) no se ven afectadas por esta

AAC (6')-Ib-cr se encuentra generalmente en un casete como parte de un integrón en un plásmido de multiresistencia, que puede contener otros genes PMQR. Este gen se ha encontrado en todo el mundo en una variedad de *Enterobacterales* e incluso en *P. aeruginosa*, siendo más prevalente en *E. coli* que en otras *Enterobacterales* (G. A. Jacoby et al., 2014; Zhang et al., 2009).

2.3.1.5 Bombas de eflujo *QepA* y *OqxAB*

qepA es una bomba de expulsión mediada por plásmido de la Super Familia Facilitadora (MFS) del que se conocen a la fecha tres variantes *qepA1*, *qepA2* y *qepA3* (D. Wang, Huang, Chen, Mou, & Qi, 2017), las cuales aumentan la resistencia a las fluoroquinolonas hidrofílicas, especialmente ciprofloxacina y norfloxacina, mediante un mecanismo de flujo de salida activo, que conduce a un aumento moderado (de 2 a 64 veces) en la CIM. Las diferencias sustanciales en la sensibilidad a quinolonas producidas por diferentes transconjugantes de *qepA* sugieren variabilidad en el nivel de expresión de *qepA* por mecanismos aún por definir. Aunque el depósito natural de *qepA* se desconoce, se ha demostrado que *qepA* comparte una identidad significativa de aminoácidos con supuestos transportadores de membrana de miembros del orden de *Actinomycetales* (G. A. Jacoby et al., 2014; Rodríguez-Martínez et al., 2016).

Por otra parte, *OqxAB* es un sistema de eflujo perteneciente a la familia de transportadores de la división de nodulación de resistencia (RND), que se encuentra comúnmente a nivel cromosomal en *K. pneumoniae*. *OqxAB* posteriormente se reportó en el plásmido pOLA52, responsable de la resistencia al olaquinox, un promotor utilizado para la mejora del crecimiento en cerdos, así

mismo se encontró *oqxAB* en plásmidos transmisibles en 39% de aislados de animales y 30% de aislamientos de trabajadores agrícolas (Zhao et al., 2010). *OqxAB* tiene una amplia especificidad de sustrato que incluye cloranfenicol, trimetoprim y quinolonas, como ciprofloxacina, flumequin, norfloxacina y ácido nalidíxico (G. A. Jacoby et al., 2014; Rodríguez-Martínez et al., 2016). El gen correspondiente, no solo está presente en los plásmidos, sino que también se encuentra comúnmente en el cromosoma de *K. pneumoniae*, donde se ha observado una variación de expresión de hasta 20 veces. Existe una alta prevalencia de la bomba de flujo de salida *OqxAB* en *K. pneumoniae* productora de betalactamasa de espectro extendido (BLEE) y este organismo representa un reservorio potencial para la diseminación de esos genes. La alta expresión de esta bomba de eflujo contribuye a la reducción de la sensibilidad a las quinolonas en aislados clínicos de *K. pneumoniae* productora de BLEE (Rodríguez-Martínez et al., 2016).

3. Metodología

3.1 Diseño

3.1.1 Tipo de estudio

Se realizó un estudio observacional, descriptivo de corte transversal.

3.1.2 Área de estudio

Esta investigación se realizó a partir de los aislamientos de *Salmonella* spp., de origen alimentario provenientes de las tres principales plazas de mercado de la ciudad de Barrancabermeja (Santander): Central, Torcoroma y Satélite. Las condiciones climáticas para este municipio son: precipitación media anual de 2.836 mm; temperatura promedio de 28,4 °C, una humedad relativa entre 76-83% y 75.94 m.s.n.m. (IDEAM).

3.1.3 Aislamientos de *Salmonella* spp

Los aislamientos de *Salmonella* spp. se obtuvieron del procesamiento de tres matrices alimentarias (queso, pollo y carne de cerdo) provenientes de las tres plazas de mercado de la ciudad de Barrancabermeja³, donde se recolectaron 100 muestras por cada matriz aleatoriamente. El

³ En la obtención de estos aislamientos participaron los estudiantes del programa de veterinaria de UNIPAZ, como parte de su trabajo de grado y los miembros del equipo de investigación que hacen parte del proyecto de investigación aprobado por MINCIENCIAS No. 110274455994.

número de muestras recolectadas se realizó basado en la frecuencia de *Salmonella* reportada en estudios previos en la ciudad de Barrancabermeja, con un intervalo de confianza del 95 % (Alexander David Castro et al., 2016).

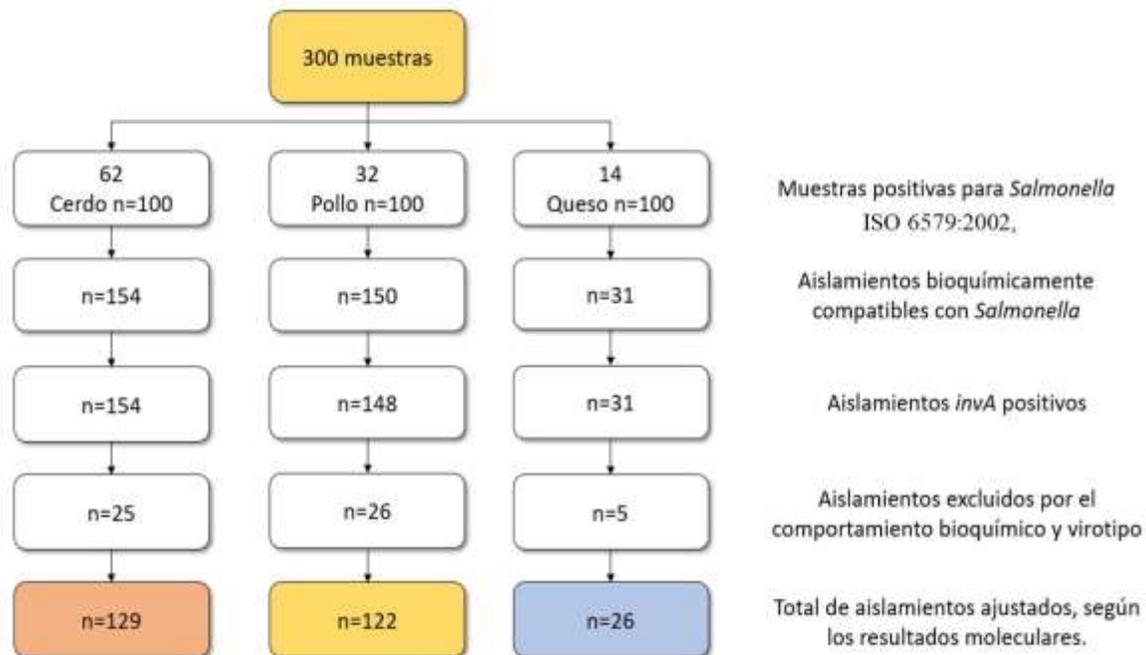
Los aislamientos fueron obtenidos como parte de un proyecto macro aprobado por MinCiencias, acorde a la guía estándar internacional ISO 6579:2002, utilizando el método horizontal para la determinación de la presencia o ausencia de *Salmonella* spp. en donde después preenriquecimiento e incubación, se usaron dos caldos de enriquecimiento Rappaport Vassiliadis y Tetracionato, cada caldo se cultivó en cuatro tipos de agar selectivo para *Salmonella* (Hektoen-HE, Bismuto Sulfito-BS, *Salmonella Shigella*-SS y Xilosa Lisina Desoxicolato-XLD) y se seleccionaron hasta dos colonias sospechosas de *Salmonella* por agar y se cultivaron en agar nutritivo para la bioquímica posterior. De cada uno de ellos se seleccionó una colonia con las características fenotípicas de *Salmonella* spp. y se identificó tanto serológicamente por antisueros policlonales, bioquímicamente y molecularmente mediante la presencia del gen *invA*. Por ende de cada muestra se podían obtener más de un aislamiento (ver figura 2).

La seroagrupación se realizó utilizando el kit comercial “Wellcolex Colour *Salmonella*”, acorde a lo indicado por el fabricante. Los resultados de este proceso hacen parte del trabajo de maestría denominado “*Determinación de genes de virulencia codificados en islas de patogenicidad y plásmidos en Salmonella spp. aislada de pollo, queso y carne de cerdo en la ciudad de Barrancabermeja, Santander*” (Alarcón Navas, 2021), en el cual se obtuvieron un total de 277 aislamientos de *Salmonella* spp., confirmados molecularmente (ver figura 2).

A los 277 aislados se les realizó antibiograma por el método de difusión en disco , *Kirby-Bauer* según protocolo establecido por el CLSI (Hudzicki, 2009) con los siguientes antibióticos: ciprofloxacina (CIP 5µg), ampicilina (AMP 10µg), amoxicilina-ácido clavulánico (AMC 20/10µg), cefotaxime (CTX 30µg), ceftazidime (CAZ 30µg), ceftriaxona (CRO 30µg), cefepime (FEP 30µg), aztreonam (ATM 30µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT1.25/23.75 µg) y cloranfenicol (C30µg). Se utilizó el suplemento M100 del CLSI *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) del 2018 y como control del proceso se utilizó la cepa de *E. coli* ATCC 25922.

Con el fin de caracterizar los aislamientos , se utilizó la clasificación propuesta por Magiorakos y col, para definir multirresistencia a los fármacos en las bacterias que se definen así: multidrogo resistentes MDR resistencia al menos a un agente en tres o más categorías de antimicrobianos; resistencia extrema a los medicamentos (XDR) resistencia al menos a un agente en todas las categorías de antimicrobianos menos de dos (es decir, los aislados bacterianos siguen siendo sensibles a solo una o dos categorías); *pandrug* resistente (PDR) se define como resistencia a todos los agentes en todas las categorías de antimicrobianos (es decir, ningún agente probado como sensible para ese organismo). Por tanto, un aislado bacteriano que se caracteriza como XDR también se caracterizará como MDR. De manera similar, un aislado bacteriano tendría que ser XDR para poder definirlo mejor como PDR (Magiorakos et al., 2012) (Apéndice F).

Figura 3.

Población de estudio**2.1.1.7 Determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).**

La determinación de la CMI de los aislamientos en los que fueron detectados al menos un gen de tipo PMQR fue realizada en el Hospital Universitario de Santander, en el equipo BD Phoenix™ *automated identification and susceptibility testing system*. El reporte del equipo incluyó los siguientes antibióticos Amikacina (AMK); Ampicilina (AMP); Ampicilina –Sulbactam (SAM); Cefazolina (CFZ); Cefepima (FEP); Cefoxitina (FOX); Ceftazidina (CAZ); Ceftriazona (CRO); Ciprofloxacina (CIP); Ertapenem (ETP); Fosfomicina c/G6P (FOF); Gentamicina (GEN); Imipenem (IPM); Levofloxacino (LEV); Meropenem (MEM); Piperacilina-Tazobactam (TZP);

Tigeciclina (TGC); Trimetropin – Sulfametoxazol (SXT). Como cepa control se utilizó la *E. coli* ATCC 25922.

3.2 Detección molecular de genes de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR)

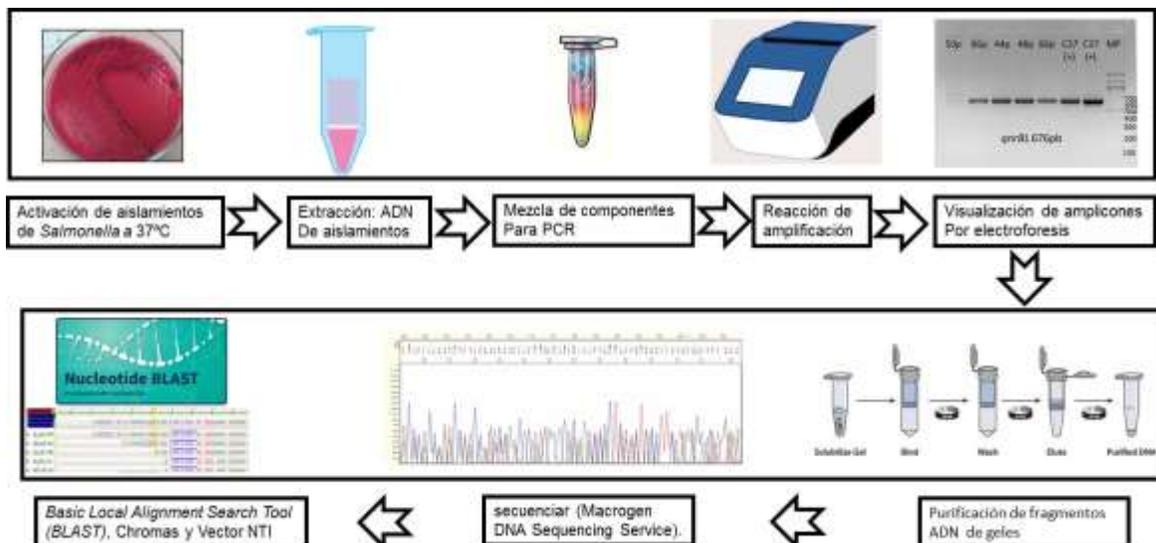
3.2.1 Obtención del material genético

La extracción de ADN de los aislamientos de *Salmonella* spp. se realizó utilizando el protocolo de extracción por ebullición, en el cual a partir de un cultivo puro se preparó una suspensión bacteriana en 200µL de agua MQ estéril de cada uno de los aislamientos, se llevó a ebullición durante 20 minutos en un baño termorregulado, se centrifugó por cinco minutos a 6000 rpm y se recolectó el sobrenadante, al cual con la ayuda de un espectrofotómetro UV-Vis Thermo Scientific™ NanoDrop™ se le determinó la concentración de ADN y se llevó a 300 – 600ng para su utilización (ver figura 4).

La presencia de los genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qnrVC*, *oqxA*, *oqxB*, *aac(6')Ib-cr* y *qepA* se detectó por PCR convencional (en punto final), y los fragmentos amplificados fueron purificados y secuenciados para determinar sus alelos, los iniciadores se describen en la tabla 4.

Figura 4.

Diagrama de flujo para la identificación de PMQR.



Nota: La activación de los aislados se realizó en caldo tripticasa de soya (CASO) y después fue sembrado en agar xilosa, lisina, desoxicolato (XLD) para verificar la presencia de sus características fenotípicas.

3.2.2 Protocolo de amplificación por PCR

La PCR se realizó en un termociclador AERISTM (ESCO), los protocolos de cada uno de los genes se encuentran detallados en el apéndice B. Como control positivo se utilizaron aislamientos que contenían el PMQR, los cuales fueron aislamientos previamente secuenciados en otro estudio, ver apéndice E.

La reacción para la PCR se llevó a cabo para un volumen final de 25 μ L, se utilizó la enzima Taq DNA Polymerase, recombinant (5U/ μ L) polimerasa (Thermo Scientific™), el detalle de la

mezcla de reacción para cada gen y las diferentes condiciones de amplificación se pueden consultar en el apéndice B.

Tabla 4.

Iniciadores utilizados para la detección de genes de resistencia

GEN		Secuencia 5'-3'	Tamaño esperado (pb)	Ta	Ref
<i>qnrA</i>	F	TGCCAGGCACAGATCTTGAC	579	54	(Cattoir, Poirel, Rotimi, Soussy, & Nordmann, 2007)
	R	AGAGGATTTCTCACGCCAGG			
	F	GCCGTATGGATATTATTGA	662	56	(Benaicha et al., 2017)
	R	CTAATCCGGCAGCACTAT			
<i>qnrC</i>	F	GGGTTGTACATTTATTGAATCG	308	50	(M. Wang et al., 2009)
	R	CACCTACCCATTTATTTCA			
	F	ACTGAGTTGGCTCATGTAGC	932	52	(Benaicha et al., 2017)
	R	CCATTAAGTGACCCGTTG			
<i>qnrD</i>	F	AACAAGCTGAAGCGCCTG	582	55	(Cavaco et al., 2009)
	R	CGAGATCAATTTACGGGAATA			
	F	GGGATTGTATGAATCAATTTTAGC	799	55	(Jamborova et al., 2017)
	R	ATGTCGCTTCGCTCCGTTTTG			
<i>qnrS</i>	F	TCTAAACCGTCGAGTTCGGCG	427	54	(Cattoir et al., 2007)
	R	GCAAGTTCATTGAACAGGGT			
	F	ATGGAAACCTACAATCATAAC	492	52	(Benaicha et al., 2017)
	R	AAAAACACCTCGACTTAAGT			
<i>qnrB</i>	F	GGMATHGAAAATCGCCACTG	264	55	(Cattoir et al., 2007)
	R	TTTGCYGYCYGCCAGTCGAA			
	F	CCTGAGCGGCACTGAATTTAT	409	56	(Benaicha et al., 2017)
	R	GTTTGCTGCTCGCCAGTCGA			
<i>qnrBL</i>	F	ATGWYGYCATTACTGTATA	676	54	(Cruz et al., 2013)
	R	CCMATHAYMCGATRCCAAG			
<i>qnrBC</i>	F	GTTRGCGAAAAAATTRACAG	626	51	(Cruz et al., 2013)
	R	CCMATHAYMCGATRCCAAG			
<i>qnrVC1</i>	F	TTAGTCAGGAACAATGATTAC	656	45	(Cavaco et al., 2009)

GEN		Secuencia 5'-3'	Tamaño esperado (pb)	Ta	Ref
	R	TGGAAAAATCAAAGCAATTAT			
<i>qnrVC2</i>	F	GTTATATGTACAAGCAGACT	554	45	(Cavaco et al., 2009)
	R	TCCGAGGGTCTAAACCATACA			
<i>aac(6')-Ib</i>	F	CGATCTCATATCGTCGAGTGTT	476	60	(Cruz et al., 2013)
	R	TTAGGCATCACTGCGTGTTT			
	F	TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA	482	45	(Park, Robicsek, Jacoby, Sahn, & Hooper, 2006)
	R	CTCGAATGCCTGGCGTGTTT			
<i>oqxA</i>	F	CCACTCTTCACGGGAGACGA	393	58	(Kim et al., 2009)
	R	CTCGGCGCGATGATGCT			
<i>oqxB</i>	F	TTCTCCCCCGGCGGGAAGTAC	513	65	(Kim et al., 2009)
	R	CTCGGCCATTTTGCGCGTA			
<i>qepA</i>	F	AACTGCTTGAGCCCCTAGATC	502	63	(Cruz et al., 2013)
	R	ACATCTACGGCTTCTTCGTCG			

3.2.3 Visualización de los productos amplificados

La visualización e identificación del tamaño de cada producto se realizó en geles de agarosa al 2% en buffer Tris Acetato EDTA (TAE-1X) (ver preparación en el apéndice D), como intercalante de ADN se utilizó Midori Green® (1X) y el marcador de peso molecular de 100pb (NEW ENGLAND BioLabs).

La electroforesis se realizó a un voltaje constante de 70 voltios durante 60 minutos, posteriormente, los geles fueron visualizados y documentados con el equipo ChemiDoc™ Bio-Rad.

3.2.4 Secuenciación

Los productos amplificados fueron purificados utilizando el Kit comercial *PureLink™ Quick Gel Extraction* y se enviaron a secuenciar a la compañía *Macrogen DNA Sequencing Service* en Seúl, Corea. Las secuencias se analizaron empleando los programas: *Basic Local Alignment Search Tool* (BLAST), *Codon Code aligner* y *Vector NTI*.

3.3 Estabilidad de los genes

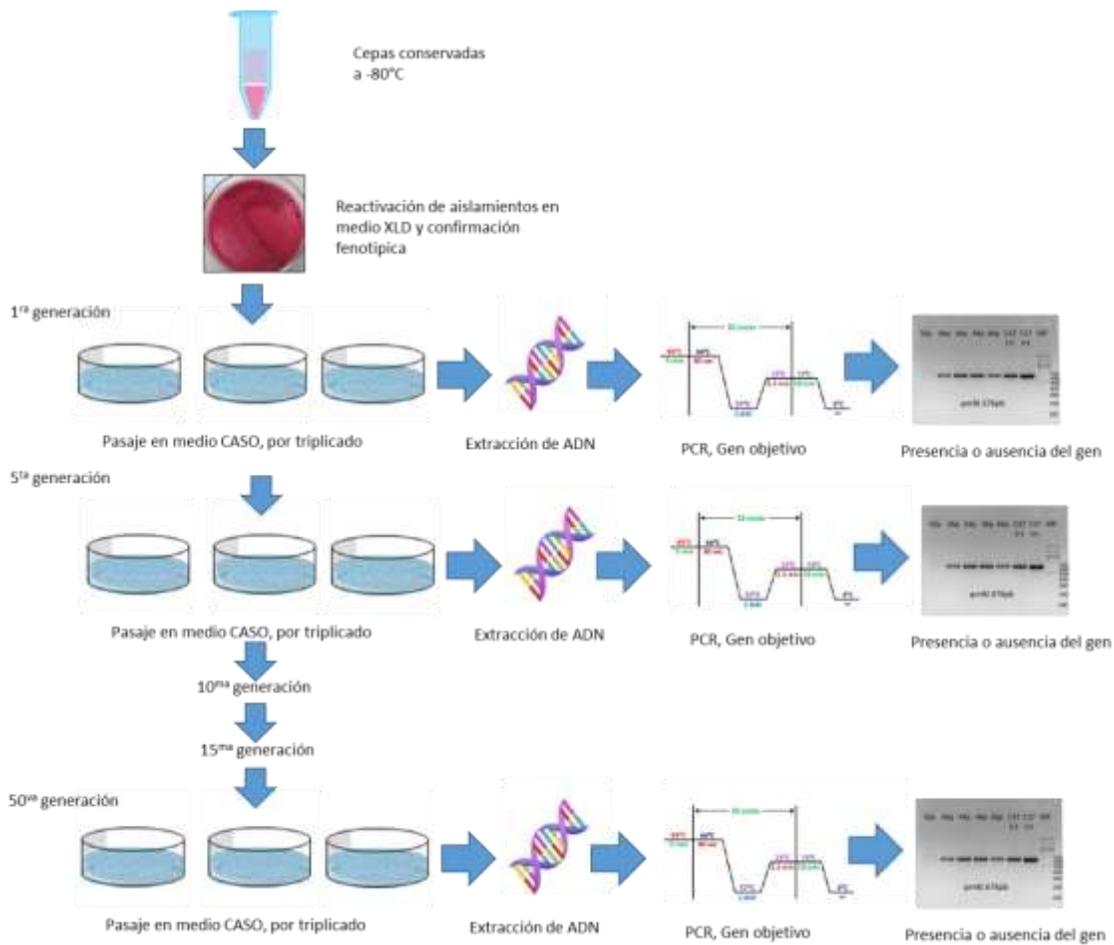
Para medir la estabilidad de los genes en los aislamientos en que se detectó el gen *qnr*, los aislamientos fueron reactivados en un caldo enriquecido (CASO), y después se confirmó su fenotipo en agar XLD, y se realizó el rastreo del gen por PCR para verificar la presencia o ausencia del mismo cada cinco generaciones; el total de repiques por aislamiento fue de 50. (ver figura 5).

3.4 ERIC-PCR y REP-PCR

Para determinar patrones de clonalidad entre los aislamientos se utilizaron las técnicas de ERIC-PCR (*Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Sequence-Based PCR*) y REP-PCR (*Repetitive Element Palindromic PCR*). Los iniciadores usados se presentan en la tabla 5.

Figura 5.

Diagrama de flujo para identificar estabilidad del gen *qnr*.



Nota: Cada 5 generaciones se confirmaba a través de siembra en XLD la presencia de *Salmonella* en los aislados tratados.

Tabla 5.

Indicadores de clonalidad

Gen	Iniciadores 5'-3'
ERIC	
Eric1	CACTTAGGGGTCCTCAATGTA
Eric 2	AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG
REP	
Rep1	GCGCCGICATCAGGC
Rep2	ACGTCTTATCAGGCCTAC

Los fragmentos amplificados fueron visualizados en geles de agarosa al 2% en TBE al 0,5X (ver apéndice D) y se analizaron según los patrones de bandas empleando los *softwar* Image Lab™ Bio-Rad y GelJ v.2.0. Basados en la posición de las bandas (Dice, Jaccard, Ochiai, Jeffrey's X, y Band difference) y en las curvas de intensidades (Pearson coefficient, Cosine correlation, Euclidean distance, y Manhattan distance). Una vez calculada la similitud entre las distintas muestras del dendograma se realizó sobre la base del método de grupos de pares no ponderados con análisis de media aritmética (UPGMA).

4. Aspectos éticos

Este proyecto de investigación denominado “Prevalencia de genes de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas de codificación plasmídica en *Salmonella* spp., aislada de tres matrices alimentarias en Barrancabermeja” se encuentra anidado en el proyecto denominado “Determinación de genes de virulencia y resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas en aislamientos de *Salmonella* spp., en alimentos de origen animal”, aprobado y financiado por MinCiencias Id.110274455994 y fue realizado a partir de aislamientos de *Salmonella* spp. que provienen de tres matrices alimentarias (queso, pollo y cerdo), los aislamientos del estudio fueron conservados a -80°C , este proyecto no incluye muestras humanas. Este proyecto es de investigación científica con fines no comerciales, cuyos resultados serán usados con propósitos epidemiológicos. Los microorganismos utilizados son considerados especímenes de especies domésticas, por lo tanto, no aplica el decreto 1376 de 2013 del Ministerio del Medio Ambiente y Desarrollo Sostenible y no requiere contrato de acceso a recursos genéticos y sus productos derivados.

El manejo de los aislamientos se llevó a cabo con todas las normas de seguridad para microorganismos de grupo de riesgo 2 (clasificación OMS). Se utilizaron elementos de barrera como guantes, gorro, bata, tapabocas, entre otros, garantizando el manejo seguro por parte de los investigadores. Los materiales de desecho fueron autoclavados antes de su eliminación e inactivados según lo consignado en el Plan de Gestión Integral de Residuos – PGIR en la sección de residuos peligrosos de riesgo biológico los reactivos se dispusieron adecuadamente e inactivaron para no causar daño al medio ambiente, y dar cumplimiento a las normas para el trabajo

seguro del Sistema de Gestión Integral, en concordancia a la normativa contemplada en la resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de la República de Colombia. Título 4, bioseguridad de las investigaciones referente al trabajo con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos. El manejo de los aislamientos de *Salmonella* spp. se realizó en los laboratorios de la Escuela de Microbiología, los cuales cuentan con las normas de bioseguridad necesarias en el manejo de este tipo de microorganismos.

Por último, el manejo de los residuos químicos generados en el Laboratorio Central de Investigaciones se realizó seleccionando el contenedor ideal para cada residuo y su posterior identificación mediante el rótulo con el nombre del servicio al que pertenecen y el tipo de residuo que contienen. Además, se tuvieron en cuenta las rutas y horarios de recolección, las características de los sitios de almacenamiento temporal, las directrices para la segregación de los residuos, el tratamiento y la verificación de su correcta disposición, según lo establecido en el Artículo 6 del Decreto 4741 de 2005. Los procedimientos de tratamiento de desechos se acogieron a las normas generales de los aspectos ambientales y de salud ocupacional de la Universidad Industrial de Santander, asegurando que no se generara algún adverso efecto sobre el medio ambiente.

5. Resultados

5.3 Identificación molecular de genes de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR)

A través de PCR punto final en los 277 aislados de *Salmonella* spp. se testaron los genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qnrVC1*, *qnrVC2*, los cuales hacen parte de la familia de los pentapéptidos repetidos (*qnr*), hallando solo presencia en el 5,4% (15/277) de los aislados correspondientes a 12 *qnrB* (4.3%) y tres *qnrA* (1,07%); estos se encontraron en la matriz pollo (12/122) y cerdo (3/129) respectivamente, no se encontró ningún gen en la matriz queso, los genes *oqxA*, *oqxB*, *qepA* y *aac(6')-Ib-cr* no fueron detectados.

En 15 aislamientos en los cuales se detectó el gen *qnr*, 12 pertenecían a aislamientos de pollo de un total de 122 analizadas, en los cuales fue amplificado un alelo similar a *qnrB19* con un porcentaje de similitud, en su proteína entre el 69 al 97 % según el aislamiento. Los tres aislamientos restantes fueron aislados de carne de cerdo en los que se detectaron dos alelos diferentes de *qnrA*, dos que presentaban *qnrA7* con un porcentaje de similitud de proteína entre el 94 y 95% y uno con *qnrA3* con porcentaje de similitud del 90%. No se detectó ningún otro determinante de tipo PMQR en los aislamientos restantes de las tres matrices alimentarias. (Ver tabla 6) (Ver apéndice E).

Tabla 6.

Porcentaje de identidad de las secuencias consensos de los qnr detectados

Cepa	Código	Matriz	%QnrB5 WP_063866143.1	%QnrB19 WP_012954666.1	Resultado
8T-SS	3	Pollo	89%	89%	<i>QnrB19 like</i>
24R-BS	5	Pollo	69%	69%	<i>QnrB19 like</i>
24R-XLD	6	Pollo	91%	91%	<i>QnrB19 like</i>
24T-XLD	13	Pollo	82%	82%	<i>QnrB19 like</i>
24R-HE	23	Pollo	83%	83%	<i>QnrB19 like</i>
17T-BS	37	Pollo	95%	95%	<i>QnrB19 like</i>
48T-XLD	44	Pollo	97%	97%	<i>QnrB19 like</i>
17T-XLD	48	Pollo	93%	93%	<i>QnrB19 like</i>
40T-SS	49	Pollo	93%	93%	<i>QnrB19 like</i>
40R-XLD	50	Pollo	94%	94%	<i>QnrB19 like</i>
23R-SS	51	Pollo	93%	93%	<i>QnrB19 like</i>
24R-SS	66	Pollo	94%	94%	<i>QnrB19 like</i>
Cepa	Código	Matriz	%QnrA6 WP_020442395.1	%QnrA7 WP_025888029.1	Resultado
52T-HE	13	Cerdo	95%	95%	<i>QnrA7 like</i>
44T-HE	19	Cerdo	93%	94%	<i>QnrA7 like</i>
Cepa	Código	Matriz	%QnrA3 WP_024266192.1	%QnrA10 WP_044735234.1	Resultado
85T-HE	120	Cerdo	90%	89%	<i>QnrA3 like</i>

5.2 Perfil de sensibilidad a de los aislamientos

Se realizó el perfil de sensibilidad a los 277 aislamientos de *Salmonella* spp. 169 (61%) fueron sensibles, 6 (2,2%) intermedios y 102 (36,8%) resistentes a las quinolonas (Q) y fluoroquinolonas (FQ) probadas dentro del estudio (ver figura 6). Se destaca que el mayor porcentaje de sensibilidad a estos antibióticos se presentó en la matriz de queso, donde todos los aislamientos fueron sensibles a las quinolonas y fluoroquinolonas probadas (ver figura 5). En el caso de la matriz de cerdo el

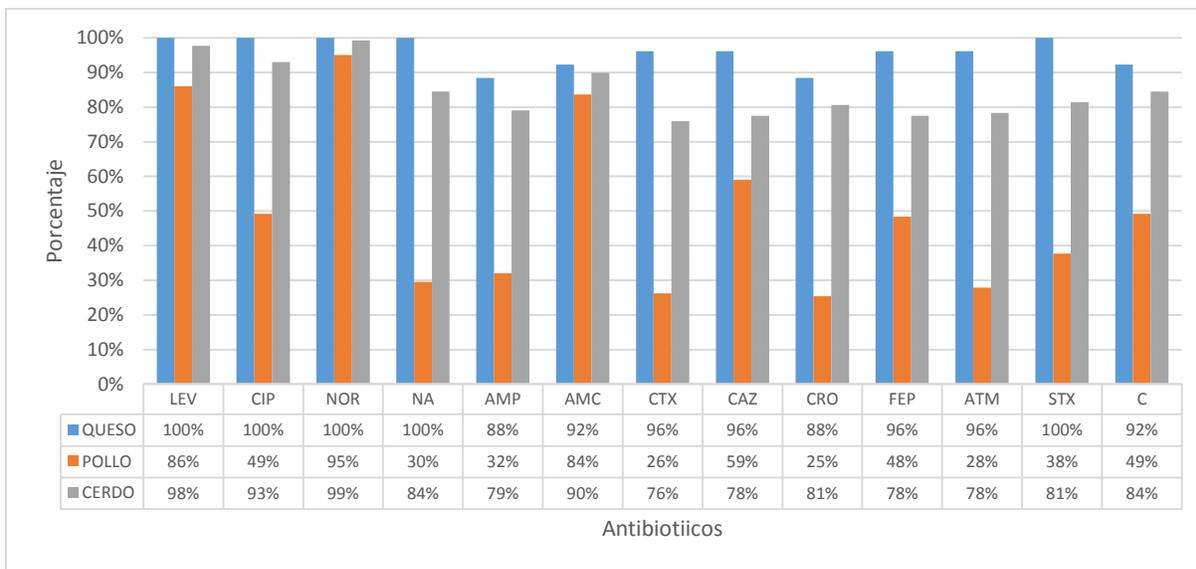
porcentaje de aislamientos sensibles fue del 83% (107/129), donde el 99% (128/129) de estos fueron sensibles a NOR, seguido de 98% (126/129) a LEV, 93% (120/129) a CIP y 85% (114/129) a NA. El menor porcentaje de sensibilidad a quinolonas y fluoroquinolonas se presentó en la matriz de pollo siendo sensibles en un 69,7% (85/122) a NOR, 95,1% (116/122) a LEV, 86,1% (105/122) a CIP 49,2% (60/122) y 29,5% (36/122) a NA. Asimismo, se identificó que el 36,5% (101/277) de los aislamientos son sensibles a todos los antibióticos que fueron probados.

Respecto al perfil de sensibilidad a antibióticos de tipo betalactámicos (AMC, CTX, CAZ, FEP) y sulfonamidas (SXT) se encontró que al igual que en el caso de fluoroquinolonas y quinolonas, la matriz de queso presenta el mayor porcentaje de sensibilidad (100% STX, 92% AMC, 96% CTX, 96% CAZ y 96% FEP). En relación con las matrices de cerdo y pollo se observa que en el grupo de betalactámicos el mayor porcentaje de sensibilidad se encuentra para AMC (90% y 84% respectivamente) comparado con las cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Finalmente, con respecto a STX el menor porcentaje de sensibilidad fue detectado en los aislamientos de pollo con un 38%, comparado con la matriz de cerdo en la cual se obtuvo un 81% (ver figura 5)

En otro punto, y según la clasificación propuesta por Magiorakos y col, para definir multirresistencia a los fármacos en las bacterias, se halló que los aislados que contenían un PMQR se catalogaron como bacterias MDR, en los siguientes porcentajes: para pollo del 84,4% y 52,7% en cerdo. Los porcentajes de sensibilidad se observan en la figura 6.

Figura 6.

Porcentaje de sensibilidad de los aislados de Salmonella spp.



Nota: Levofloxacina: LEV, Ciprofloxacina: CIP, Norfloxacina: NOR, Nalidíxico: NA, Ampicilina: AMP, Amoxicilina, clavulánico: AMC, Cefotaxima: CTX, Cefotaxidima: CAZ, Ceftriaxona: CRO, Cefepima: FEP, Aztreonam: ATM, Sulfametoxazol/trimetoprim: STX, Cloranfenicol: C.

Asimismo, se torna preocupante que el 63,5% presenta resistencia al menos a uno de los antibióticos, o son resistente a múltiples antibióticos (RMA) (ver tabla 7 y figura 7.)

Asimismo, se estableció que de los 277 aislados de *Salmonella* spp. el 36,8% (102/277) presentaron resistencia al menos a una fluoroquinolona o a una quinolona, distribuyéndose así; 69,7% (85/122) pollo y 13,2% (17/129) cerdo. El perfil de resistencia de cada uno de los aislados para queso fueron todos sensibles a todas las quinolonas y fluoroquinolonas probadas en el estudio; para pollo y cerdo se pueden observar la distribución en la tabla 8.

Tabla 7.

Frecuencia de la presencia de resistencia a antibióticos en aislados de *Salmonella* spp., para las diferentes matrices.

Numero	Queso n=26(%)	Pollo n=122(%)	Cerdo n=129(%)	Total n=277(%)
0	23(88,5)	17(13,9)	64(49,6)	104(36,8)
1	1(3,8)	2(1,6)	24(18,6)	27(10,1)
2	1(3,8)	4(3,3)	5(3,9)	10(4,0)
3		8(6,6)	5(3,9)	13(4,7)
4		2(1,6)	7(5,4)	9(3,2)
5		9(7,4)	5(3,9)	14(5,1)
6		7(5,7)	2(1,6)	9(3,2)
7		22(18,0)	7(5,4)	29(10,5)
8	1(3,8)	28(23,0)	8(6,2)	37(13,4)
9		15(12,3)	2(1,6)	17(6,1)
10		5(4,1)		5(1,8)
11		2(1,6)		2(0,7)
12		1(0,8)		1(0,4)
Total resistencia 1*	1(3,8)	2(1,6)	24(18,6)	27(9,7)
Total resistencia 2-3*	1(3,8)	21(17,2)	23(17,8)	44(16,2)
Total resistencia 4-5*	1(3,8)	34(27,9)	16(12,4)	51(18,4)
Total resistencia > 6*		48(39,3)	2(1,6)	50(18,1)

Nota: Los números agrupados en la columna indican la cantidad de antibióticos a los que los aislamientos son resistentes, donde 0 indica el porcentaje de aislamientos sensibles a todos antibióticos probados en el estudio y 12 es el número máximo de antibióticos probados, independientemente de su clase. No se tuvieron en cuenta aislados con categoría sensibles dependientes o intermedios. *Hace referencia a los grupos de antibióticos a los que los aislamientos son resistentes según la clasificación de Magiorakos y colaboradores (Magiorakos et al., 2012).

Figura 7.

Gráfica del porcentaje de resistencia a antibióticos en aislados de *Salmonella* spp. para las diferentes matrices.

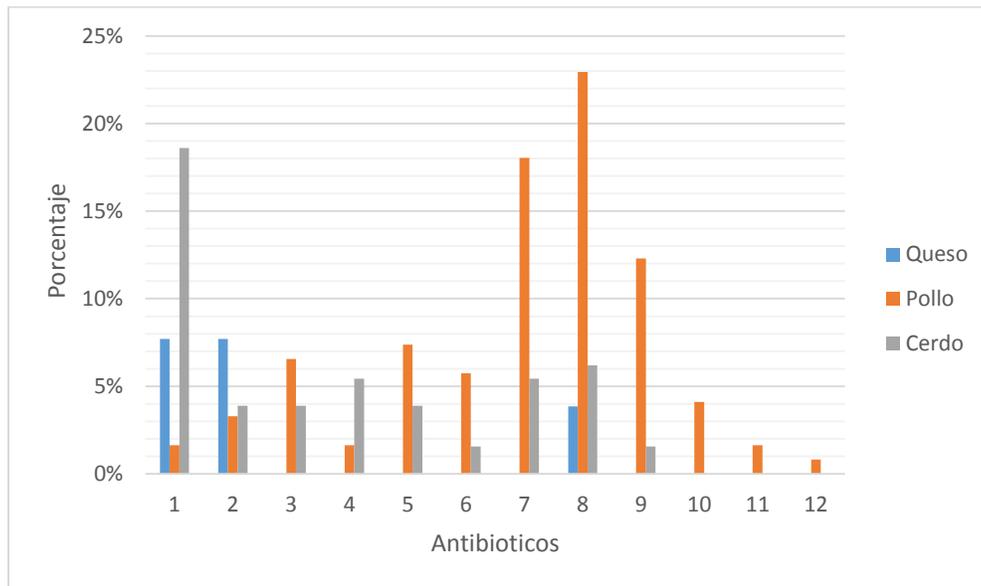


Tabla 8.

Frecuencia de la presencia de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas en aislados de *Salmonella* spp., para las diferentes matrices.

Perfil de Resistencia a Q y FQ	Queso n=26(%)	Pollo n=122(%)	Cerdo n=129(%)	Total n=277(%)
LEV	0	0	1(5,9)	1(1,0)
CIP	0	0	1(5,9)	1(1,0)
NOR	0	0	1(5,9)	1(1,0)
NA	0	74 (87,1)	12(70,6)	86(84,3)
CIP,NA	0	3(3,5)	2(11,8)	5(4,9)
NOR,NA	0	2(2,4)	0	2(2,0)
LEV,NOR,NA	0	3 (3,5)	0	3(2,9)
LEV,CIP,NA	0	2(2,4)	0	2(2,0)
LEV,CIP,NOR,NA	0	1(1,2)	0	1(1,0)
Total	0(0)	85(69,7%)	17(13,2)	102(36,8%)

Nota: Levofloxacina: LEV, Ciprofloxacina: CIP, Norfloxacina: NOR, Nalidíxico: NA. No se tuvieron en cuenta aislados sensibles dosis dependientes o intermedios.

5.4 Perfil de sensibilidad de los aislados con PMQR

El perfil de sensibilidad determinado por CIM de los 15 aislamientos con PMQR se presenta en la tabla 9, donde se puede observar una resistencia disociada entre cefalosporinas de tercera, y resistencia de todos los aminoglucósidos probados en este estudio.

Tabla 9.

Perfil de sensibilidad por concentración mínima inhibitoria de los aislamientos de Salmonella con PMQR.

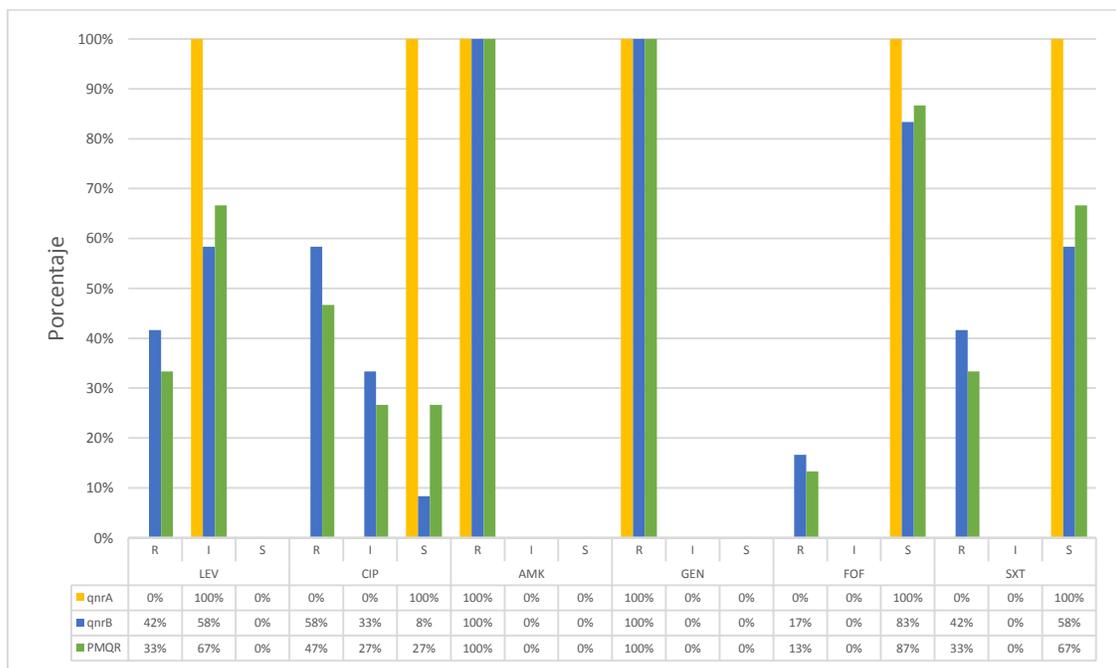
Aislamiento	LEV	CIP	AMP	SAM	CFZ	CAZ	FEP	FOX	CRO	AMK	ETP	FOF	GEN	IPM	MEM	TZP	TGC	SXT
8T-SS	NR	I	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R
24R-BS	R	R	R	R	R	S	I	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S
24R-XLD	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S
24T-XLD	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S
24R-HE	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R
17T-BS	NR	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
48T-XLD	NR	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
17T-XLD	NR	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R
40T-SS	NR	I	R	S	R	S	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R
40R-XLD	NR	I	R	S	R	S	I	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R
23R-SS	NR	I	R	S	R	S	I	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	S
24R-SS	R	R	R	S	R	S	R	R	I	R	S	S	R	S	S	S	S	S
52T-HE	NR	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
44T-HE	NR	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
85T-HE	NR	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S

Nota: NR: No resistentes, se refiere a que los aislamientos pueden ser sensibles o intermedios. Amikacina (AMK); Ampicilina (AMP); Ampicilina –Sulbactam (SAM); Cefazolina (CFZ); Cefepima (FEP); Cefoxitina (FOX); Ceftazidima (CAZ); Ceftriaxona (CRO); Ciprofloxacina (CIP); Ertapenem (ETP); Fosfomicina c/G6P (FOF); Gentamicina (GEN); Imipenem (IPM); Levofloxacino (LEV); Meropenem (MEM); Piperacilina-Tazobactam (TZP); Tigeciclina (TGC); Trimetoprima – Sulfametoxazol (SXT).

Asimismo, se pudieron identificar los diferentes perfiles de resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas, encontrando que los aislados que tenían presencia de un PMQR el 47% (7/15) presenta resistencia a una Q o FQ probada, y el 100% de los aislados presentan en su perfil mostraron ser intermedios a una Q o FQ, lo que pudiera explicar la capacidad de los PMQR en incrementar la CIM de los aislados. También se observó que los aislados que poseían el gen *qnrA* tenían una mayor sensibilidad a la ciprofloxacina, contrario a lo observado con los que tenían presencia del gen *qnrB* (ver figura 8 y 9).

Figura 8.

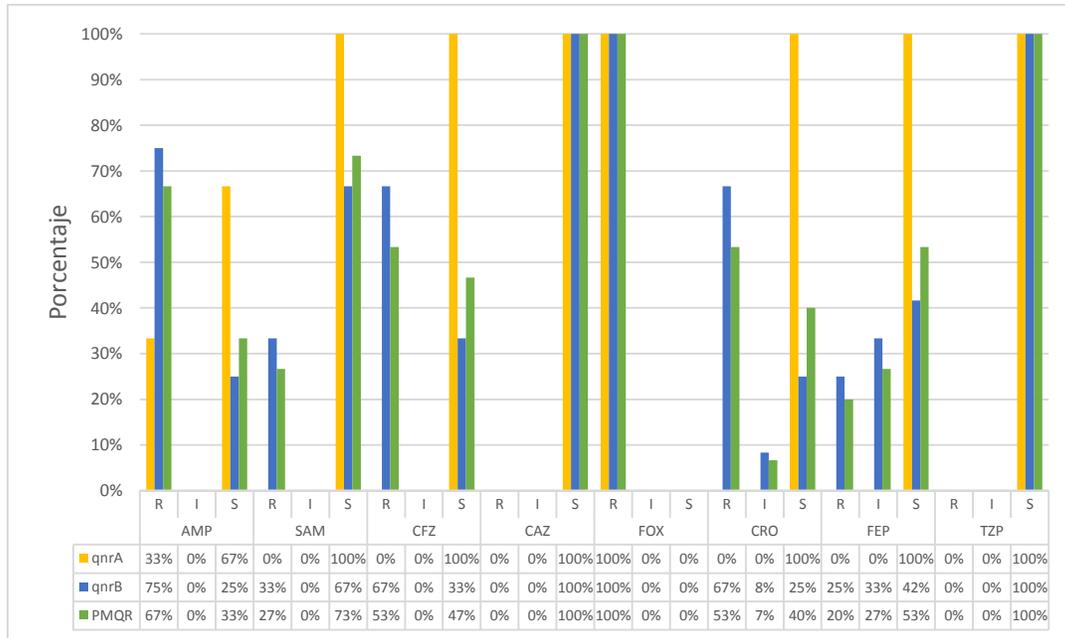
Perfil antimicrobiano por CIM para FQ y Q, y otros grupos de antibioticos.



Nota: Amikacina (AMK); Ciprofloxacina (CIP); Fosfomicina c/G6P (FOF); Gentamicina (GEN) Levofloxacino (LEV); Trimetoprima – Sulfametoxazol (SXT).

Figura 9.

Perfil de resistencia por CIM para B-lactámicos y cefalosporinas.



Nota: Ampicilina (AMP); Ampicilina –Sulbactam (SAM); Cefazolina (CFZ); Cefepima (FEP); Cefoxitina (FOX); Ceftazidima (CAZ); Ceftriaxona (CRO); Piperacilina-Tazobactam (TZP).

Para el caso de los antibióticos del grupo carbapenem como Imipenem (IPM); Ertapenem (ETP); Meropenem (MEM); todos los aislados fueron sensibles así como a la Tigeciclina (TGC).

En este sentido se pudo determinar que los aislados que poseen un PMQR son MDR y poseen resistencia a múltiples antibióticos (MRA); encontramos que el 53,3% (8/15) presentaron resistencia a más de 8 antibióticos (ver tabla 10), de igual manera se encontró que el 100%(15/15) de los aislados con PMQR son resistentes al grupo de los aminoglucósidos y cefamicinas, el 67% (10/15) poseen resistencia al grupo de las penicilinas, el 60% (9/15) al grupo de cefalosporinas de

espectro extendido. En cuanto a los siguientes grupos de antibióticos: cefalosporinas de tercera, cuarta generación, cefalosporinas de espectro no extendido, cefalosporinas de 1ra y 2da generación los aislados son resistentes en un 53% (8/15) y el 47% (7/15) al grupo de las fluoroquinolonas.

Tabla 10.

Frecuencia de la presencia de resistencia a antibióticos en aislados de Salmonella spp., con presencia de PMQR.

Número Antibióticos	<i>qnrB</i> n=12(%)	<i>qnrA</i> n=3(%)	PMQR n=15(%)
3	1(8,3)	2(66,6)	3(20)
4	1(8,3)	1(33,4)	2(13,3)
5	1(8,3)		1(6,6)
6	2(16,6)		2(13,3)
8	3(25)		3(20)
9	1(8,3)		1(6,6)
10	3(25)		3(20)
Total resistencia 2 – 4*	3(20,0)	3(100)	6 (40,0)
Total resistencia 5 – 6*	5(33,3)		5(33,3)
Total resistencia ≥7*	4(26,7)		4(26,7)

Nota: Los números agrupados en la columna indican la cantidad de antibióticos a los que los aislamientos fueron resistentes. *Hace referencia a los grupos de antibióticos a los que los aislamientos son resistentes según la clasificación de Magiorakos y otros (Magiorakos et al., 2012).

Para el grupo de los Inhibidores de la vía del folato se encontró resistencia en un 33% (5/15) y 27% (4/15) al grupo de las penicilinas antipseudomonas más inhibidores de β -lactamasa según la clasificación de Magiorakos y colaboradores (Magiorakos et al., 2012).

También se identificó que el 80% (12/15) de los aislamientos con PMQR, mostraron resistencia al ácido nalidíxico a través del método por difusión de disco, y dos de los aislados (52T-HE y 85T-HE) con presencia del gen *qnrA* fueron sensibles a los antibióticos probados por este método y solo mostraron resistencia a FOX y a los aminoglucósidos (GEN y AMK), e intermedios a LEV.

5.5 Estabilidad de los genes

Frente a la estabilidad de los genes plasmídicos, se observó en los 15 aislamientos con PMQR detección de los tres genes hasta el repique 15 en todas las réplicas lo que mostro estabilidad de los mismo en un 100%, después de este repique solo nueve aislados (8 *qnrB19 like* y 1 *qnrA3 like*) continuaron amplificando hasta el repique 50, en sus tres replicas, los restante seis aislamientos dejaron de amplificar entre los repiques 25 – 35. El detalle de los porcentajes observado de las tres replica se puede observar en la figura 10 y tabla 11

Figura 10.

Estabilidad del gen plasmídico hasta el repique 50.

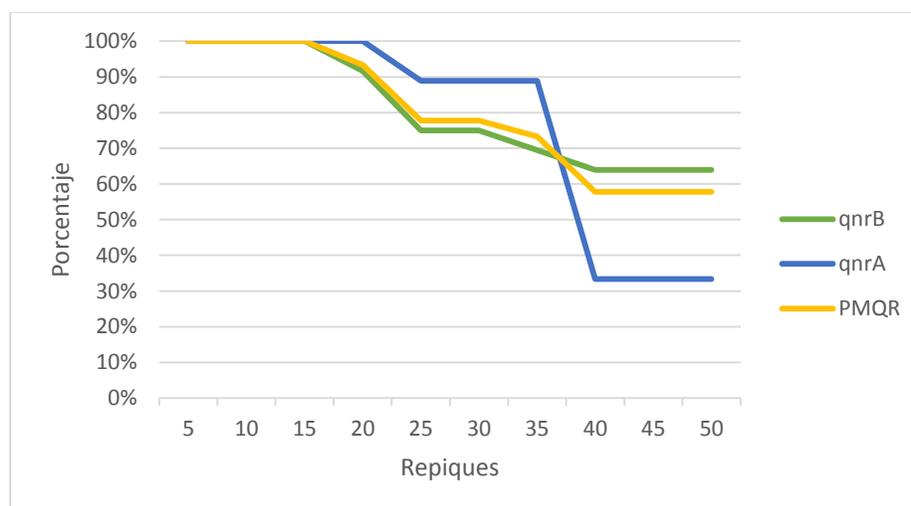


Tabla 11.

Estabilidad del gen plasmídico qnr hasta el repique 50.

Repiques	<i>qnrB</i>		<i>qnrA</i>		PMQR	
	<i>n</i>	<i>Pos.</i>	<i>n</i>	<i>Pos.</i>	<i>n</i>	<i>Pos.</i>
1	36	36(100%)	9	9(100%)	45	45(100%)
5	36	36(100%)	9	9(100%)	45	45(100%)
10	36	36(100%)	9	9(100%)	45	45(100%)
15	36	36(100%)	9	9(100%)	45	45(100%)
20	36	33(91,67%)	9	9(100%)	45	42(93,33%)
25	36	27(75,00%)	9	8(88,89%)	45	35(77,78%)
30	36	27(75,00%)	9	8(88,89%)	45	35(77,78%)
35	36	25(69,44%)	9	8(88,89%)	45	33(73,33%)
40	36	23(63,89%)	9	3(33,33%)	45	26(57,78%)
45	36	23(63,89%)	9	3(33,33%)	45	26(57,78%)
50	36	23(63,89%)	9	3(33,33%)	45	26(57,78%)

Nota: *n*: número de cepas repicadas por tipo de gen; *pos*: obtención del amplificado por PCR del gen *qnr*.

5.6 Tipificación bacteriana

5.6.1 Análisis de amplificación de secuencias intergénicas de consenso repetitivas de enterobacterias (ERIC-PCR)

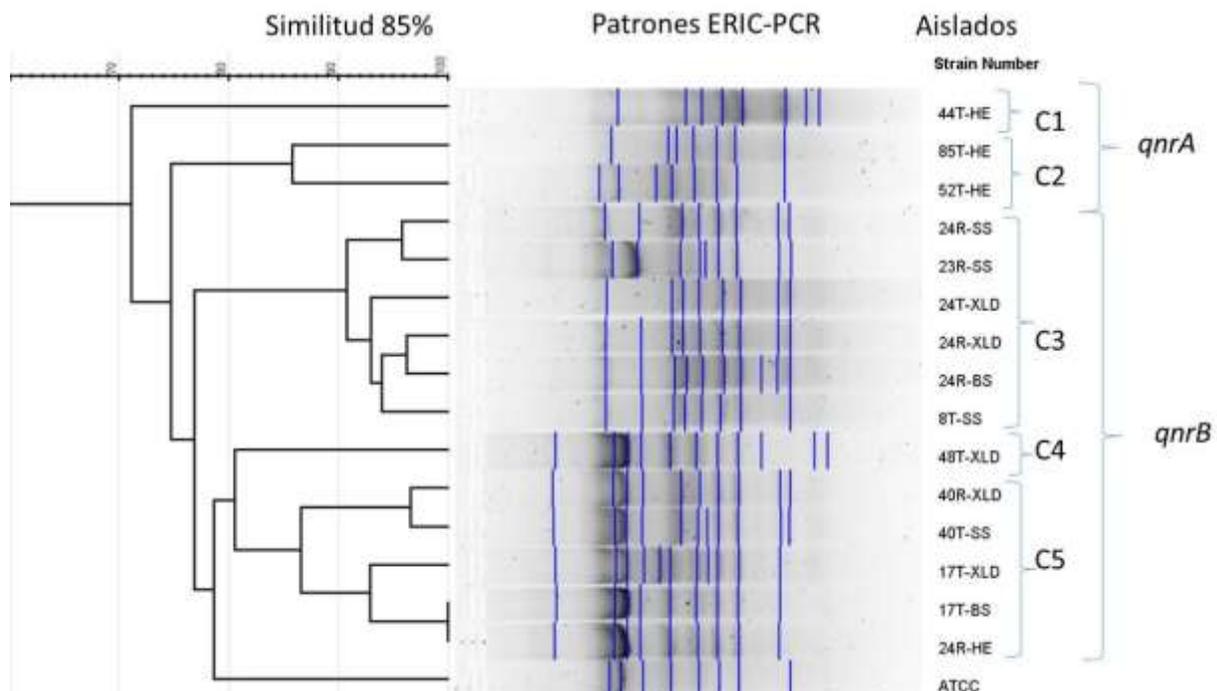
Las secuencias de ERIC se encuentran en los genomas de *Enterobacterales* y *Vibrionaceae* y se encuentran sólo en regiones intergénicas transcritas y son específicas para especies y cepas bacterianas. Las secuencias pueden amplificarse por PCR y usarse para huellas dactilares de bacterias (Versalovic, Koeuth, & Lupski, 1991). En este estudio se realizó ERIC-PCR a los 15 aislamientos que amplificaron el gen *qnr*, lo que permitirá relacionar los aislamientos que posiblemente podrían pertenecer a un mismo clon o que están muy relacionados entre sí.

Los perfiles electroforéticos generados por ERIC-PCR fueron 14 de los 15 aislamientos, los cuales fueron agrupados, con un coeficiente de similitud del 0,85, en cinco grupos de C1-C5. Las agrupaciones para cada aislamiento se ilustran en la figura 11.

En este sentido, se observó que los aislamientos de *Salmonella* spp., que presentaban el gen *qnrA* se encontraba en los grupos C1 y C2; mientras que los aislamientos con *qnrB* se hallaban en los grupos C3, C4 y C5, en donde este último grupo 24R-HE y 17T-BS, presentaron el mismo patrón electroforético, lo que indica una mayor relación entre ellos. Sin embargo, al relacionarlos con su virotipo, perfil de resistencia y grupo serológico no se puede concluir que se traten de clones (ver tabla 12).

Figura 11.

Perfiles electroforéticos generados por ERIC-PCR y dendograma derivado del agrupamiento.



5.6.2 Análisis de amplificación de elementos palindrómicos extragénicos repetitivos (REP-PCR)

Los elementos REP son secuencias repetitivas y palindrómicas de 21 a 65 pb ubicadas en el espacio extragénico de los genomas bacterianos (Rasschaert et al., 2005; Tobes & Ramos, 2005).

Los REP-PCR generados en este estudio presentaron ocho perfiles electroforéticos, los cuales fueron agrupados, con un coeficiente de similitud del 0,88, en seis grupos de C1 – C6, a diferencia de la ERIC-PCR, los alelos *qnrA* presentaron menor similitud distribuyéndose en los grupos C2 y C5, en este último grupo el aislamiento con *qnrA*(44T-HE), muestra el mismo patrón electroforético que el aislamiento 85T-HE, que presenta *qnrB*, los tres patrones restantes pertenecen al grupo C1 con los aislamientos 17T-XLD y 48T-XLD, al grupo C4 con 40R-XLD y 40T-SS, C6 con los aislamientos 24T-XLD, 24R-XLD, 24R-BS y 8T-SS (ver figura 12).

Figura 12.

Perfiles electroforéticos generados por REP-PCR y dendograma derivado del agrupamiento.

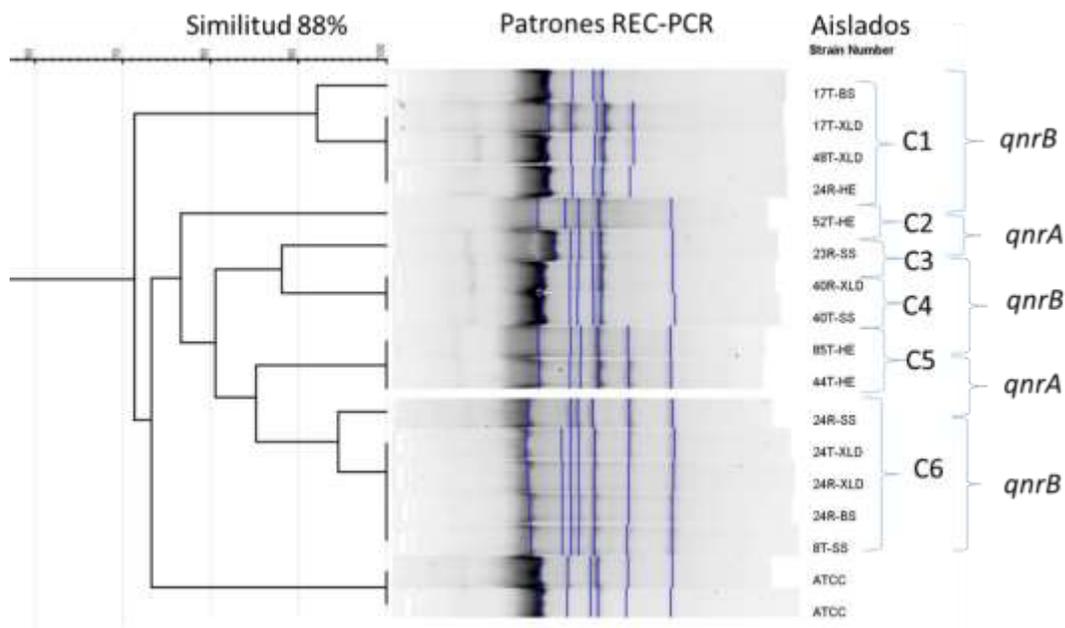


Tabla 12.

Virotipos, perfil de resistencia y grupo serológico de Salmonella spp, con presencia de PMQR

Grupos	Id	Grupo	Alelo	Virotipo	Perfil de Resistencia
C2E, C2R	52T-HE	Ng	<i>qnrA6</i> <i>like</i>	<i>ssaD-ttrC-avrA</i>	GEN, AMK, FOX
C2E, C5R	85T-HE	Ng	<i>qnrA3</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ, ttrC, avrA</i>	GEN, AMK, FOX
C1E, C5R	44T-HE	Ng	<i>qnrA6</i>	<i>invE, sseF, spvB, ssaD, spvC, ssaQ, ttrC, avrA</i>	GEN, AMK, FOX, AMP
C3E, C3R	23R-SS	C	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ</i>	GEN, AMK, CFZ, CRO, FEP, FOX, CIP, AMP, FOF
C5E, C4R	40R-XLD	C	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ, ttrC, avrA</i>	GEN, AMK, CFZ, CRO, FEP, FOX, CIP, SXT, AMP, FOF
C5E, C4R	40T-SS	C	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ, avrA</i>	GEN, AMK, CFZ, CRO, FEP, FOX, CIP, SXT, AMP, FOF
C3E, C6R	24R-SS	B	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF</i>	GEN, AMK, CFZ, CRO, FEP, FOX, LEV, CIP, AMP
C3E, C6R	24R-BS	B	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ</i>	GEN, AMK, CFZ, CRO, FEP, FOX, LEV, CIP, AMP, SAM
C3E, C6R	24T-XLD	B	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ, avrA</i>	GEN, AMK, CFZ, CRO, FEP, FOX, LEV, CIP, AMP, SAM
C3E, C6R	24R-XLD	B	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ, ttrC, avrA</i>	GEN, AMK, CFZ, CRO, FEP, FOX, LEV, CIP, AMP, SAM
C3E, C6R	8T-SS	B	<i>qnrB19</i>	<i>invE, ttrC</i>	GEN, AMK, CRO, FOX, CIP, SXT, AMP, SAM
C5E, C1R	17T-BS	E o G	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ, ttrC, avrA</i>	GEN, AMK, FOX
C4E, C1R	48T-XLD	C	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ, ttrC, avrA</i>	GEN, AMK, FOX, CIP
C5E, C1R	24R-HE	B	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ssaQ</i>	GEN, AMK, FOX, CIP
C5E, C1R	17T-XLD	E o G	<i>qnrB19</i>	<i>invE, sseF, ssaD, ttrC</i>	GEN, AMK, FOX, CIP, SXT

Nota. Amikacina (AMK); Ampicilina (AMP); Ampicilina –Sulbactam (SAM); Cefazolina (CFZ); Cefepima (FEP); Cefoxitina (FOX); Ceftazidima (CAZ); Ceftriaxona (CRO); Ciprofloxacina (CIP); Fosfomicina c/G6P (FOF); Gentamicina (GEN); Levofloxacino (LEV); Trimetoprima – Sulfametoxazol (SXT). Ng: Negativo. E: ERIC-PCR, R: REP-PCR

6. Discusión

6.1 Perfiles de resistencia bacteriana y PMQR

El incremento de la prevalencia de *Salmonella* spp. con disminución de la sensibilidad a los antimicrobianos ha sido un reto para la salud pública y una preocupación frente al uso racional de los antibióticos (Brooks & Brooks, 2014; de la Salud, 2015; He et al., 2020). Las fluoroquinolonas y quinolonas han sido los antibióticos de elección para el tratamiento de ETA y en especial de infecciones causadas por *Salmonella* spp (B. R. Pribul, Festivo, de Souza, & Rodrigues Ddos, 2016; Wen, Best, & Nourse, 2017). En este sentido, la resistencia al ácido nalidíxico y a la ciprofloxacina, aumentó significativamente en los últimos años, pero los niveles altos de resistencia a otras fluoroquinolonas son, hasta ahora, escasos (He et al., 2020).

En general en la literatura relaciona la resistencia a Q y FQ con los mecanismos cromosómicos y, con mayor frecuencia a alteraciones en los sitios de unión de las quinolonas a las enzimas de tipo topoisomerasas (topoisomerasas de tipo II: ADN girasa o topoisomerasa IV). Las mutaciones en la región de determinantes de resistencia a quinolona (QRDRs del inglés *quinolone resistance-determining regions*) generan resistencia a las quinolonas (Rodríguez-Martínez et al., 2016) (G. A. Jacoby et al., 2014), es decir entre mayor número de mutaciones mayor es la resistencia a este tipo de antibióticos. En *Salmonella* spp. y otras bacterias estas mutaciones están relacionadas con la resistencia al ácido nalidíxico (NAL) y ciprofloxacina (CIP) (Abgottspon et al., 2014) (L Maka & Popowska, 2016).

La resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (PMQR) se ha encontrado en aislamientos clínicos y ambientales de todo el mundo y parece estar extendiéndose (Rodríguez-Martínez et al., 2016; Tyson et al., 2017). En *Salmonella* spp. tiene importantes implicaciones para la salud pública, aunque los mecanismos de PMQR por sí solos causan solo un nivel bajo de resistencia a las quinolonas, ellos pueden complementar otros mecanismos de resistencia cromosómica para alcanzar el nivel de resistencia clínica y facilitar la selección de un nivel de resistencia superior, lo que plantea una amenaza para el tratamiento de infecciones por microorganismos que albergan estos mecanismos (Abgottspon et al., 2014; G. A. Jacoby et al., 2014; Kuang et al., 2018; Bruno R. Pribul et al., 2017). En otras palabras, la adquisición de genes PMQR conduce a una menor sensibilidad de las fluoroquinolonas, lo que acelera la selección de mutantes resistentes a las mismas; usualmente son aislamientos que llevan genes de resistencia a otro tipo de antibióticos como los betalactámicos.

En el presente estudio, las pruebas fenotípicas y la detección de resistencia PMQR en cepas aisladas en diferentes matrices alimentarias de cerdo ($n=129$); pollo ($n=122$) y queso ($n=26$), permitieron identificar una alta prevalencia de resistencia a fluoroquinolona (FQ) y quinolonas (Q) mediante las pruebas de difusión en disco y CMI en las cuales el 33,8% de los aislados (102/277) presentaron resistencia al menos una fluoroquinolona o quinolona, estos se distribuyeron así; 69,67% pollo y 13,17% cerdo, para el caso de la matriz queso no se pudieron identificar genes PMQR. Se reportan resultados similares en otros estudios en Asia, Europa y América del Norte (ver tabla 12) (He et al., 2020; L. Maka et al., 2018; B. R. Pribul et al., 2016; Xu et al., 2020).

De los 102 aislados resistentes a una Q o FQ exhibieron resistencia múltiple a la mayoría de los antibióticos probados; nueve de los cuales 18 (17,0%) fueron resistentes a ≥ 10 agentes antimicrobianos probados, 60 (56%) fueron resistentes entre 7 y 9 agentes y 29 (27%) entre 2 y 6 agentes. Los cuatro aislamientos restantes (2,2%) eran resistentes a cuatro tipos de quinolonas, pero aún eran susceptibles a los otros antibióticos probados.

En este trabajo se pudo establecer la baja frecuencia de determinantes de resistencia de codificación plasmídica, para Q y FQ, con solo 14,7% (15/102) de los aislamientos que presentaron resistencia a alguno de los fármacos de esta familia, demostrando una baja prevalencia de aislamientos portadores de genes PMQR en los aislamientos de *Salmonella* que provenían de alimentos. De los aislados que contenían un PMQR se determinó que todos son RMA, asimismo se observó una resistencia disociada entre cefalosporinas de tercera, y resistencia de todos los aislamientos a amikacina y a gentamicina. En estudios similares se encontraron frecuencias de PMQR en alimentos muy parecidos a los hallados (ver tabla 12). Los datos obtenidos en este estudio y los comparados con estudios similares demuestran que *Salmonella* spp., está ampliamente presente en todo el mundo en los alimentos de origen animal, así como el incremento en la resistencia bacteriana. Particularmente para Barrancabermeja, la presencia de *Salmonella* en las matrices alimentarias podría estar estrechamente relacionado con las altas temperaturas y la humedad asociadas con el clima en la región subtropical de esta región del país, y así como deficiencias en las buenas prácticas agropecuarias, lo que conlleva a un mal uso de los antibióticos en la industria agroalimentaria lo que en cierta medida explicaría el aumento en la resistencia (Alexander David Castro, 2015)(Alexander David Castro et al., 2013; Xiaoting et al., 2021) y la relación con las condiciones climáticas (Z. Chen et al., 2021).

La presencia de genes PMQR está relacionada “con una menor sensibilidad a las fluoroquinolonas”, acelerando la selección de mutantes resistentes a las fluoroquinolonas (Bruno R. Pribul et al., 2017; Xu et al., 2020). Estudios similares encontraron que muchos de los aislados que presentan resistencia a uno o más antibióticos de este grupo, coincidían con mutaciones en *gyrA* y *parC*, siendo la más común para *gyrA* en S83F y D87N y en *parC* eran T57S y S80I, asimismo se hallaron PMQR en muchos de los aislados resistentes asociados con este tipo de mutación (Z. Chen et al., 2021; M. Karczmarczyk et al., 2010; L. Maka et al., 2018). Lo anterior pudiera explicar la alta frecuencia de resistentes a Q y FQ 3 (102/277) en este estudio, pudiéndose deber a mutaciones en los QRDR, las cuales no fueron medidas en este estudio (ver tabla 13).

Tabla 13.

Hallazgos de PMQR en diversos alimentos y PMQR encontrados.

Autor	Tipo de aislamiento	No. de aislados	País	Resistencia ¹	PMQR	% PMQR
(Bruno R. Pribul et al., 2017)	Diversas fuentes de alimento y animales	45*	Brasil	CIP; NAL, ENO CIP, NAL, ENO, LVX, OFL NAL, ENO	<i>qnrD</i> (2) <i>aac(6')-Ib</i> (6) <i>qnrS</i> (1)	20% (9/45)
(L. Maka et al., 2018)	Alimento venta al por menor	181*	Polonia	Todos los aislados resistentes a NAL y CIP	<i>qnrB19</i> (5) <i>qnrS1</i> (5)	5,5% (10/181)
(Z. Chen et al., 2021)	Pollo, cerdo y pato	500*	China	Resistencia a CIP 54% 100% 81,1% 45,9%	<i>qnrB</i> (40) <i>qnrS</i> (74) <i>aac(6')-Ib-cr</i> (60) <i>oqxAB</i> (34)	41,6% (208/500)
(He et al., 2020)	Cerdo	222*	China	NAL, Disminución de la sensibilidad a CIP	<i>qnrB</i> (1) <i>qnrS</i> (14) <i>aac(6')-Ib-cr</i> (24) <i>oqxAB</i> (8) <i>oqxAB + aac(6')-Ib-cr</i> (68) <i>qnrS + aac(6')-Ib-cr</i> (10) <i>qnrS+qnrB+aac(6')-Ib</i> (1) <i>oqxAB+qnrB+aac(6')-Ib(1)</i>	58,1% (129/222)
(Kuang et al., 2018)	Humanos con GE, pollo, cerdo, mariscos y vegetales.	179*	Shanghai, China	Resistencia a CIP 100%, NAL 92%; OFL 88.3%; LVX 64.8%	<i>qnrA</i> (19) <i>qnrB</i> (2) <i>qnrS</i> (30) <i>aac(6')-Ib-cr</i> (111) <i>oqxAB</i> (60) <i>qepA</i> (10)	71,5% (128/179)
Este estudio	Pollo, cerdo y queso fresco	107 ⁺	B/bermeja, Colombia	AMK 100%; FOX 100%; GEN 100%; NA 99%; CIP 58%; LVX 42%	<i>qnrB19</i> (12) <i>qnrA7</i> (2) <i>qnrA3</i> (1)	14,7% (15/107)

Nota: ¹Resistencia medida por CMI * Aislados resistentes a CIP por difusión en disco + Resistencia a una FQ o Q.

La presencia de genes *qnr* se confirmó en 15 aislamientos (14.7%) de los cuales 12 contenían *qnrB19like* y 3 *qnrA*. En comparación con otros autores, este un número relativamente bajo de aislamientos que albergan estos determinantes de la resistencia a quinolonas mediada por plásmidos (ver tabla 12). Sin embargo concuerda con reportes de *Salmonella* spp aisladas de productos cárnicos en Colombia, las cuales presentaban resistencia al ácido nalidíxico y donde se encontró en el 30,8% el alelo *qnrB19* (M. Karczmarczyk et al., 2010).

En otro punto, la propagación horizontal de genes de resistencia a antibióticos entre patógenos bacterianos ha desatado que diversos patógenos responsables de infecciones enfermedades asociadas al cuidado de la salud y de otro tipo se hayan vuelto resistentes a casi todos los antibióticos disponibles lo que dificulta la capacidad de tratar eficazmente infecciones graves y, a veces, letales. En particular, especies como *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Salmonella* spp, debido a que se ha demostrado que adquieren resistencia mediada por plásmidos a las cefalosporinas de tercera generación y cada vez más a los carbapenémicos (Loftie-Eaton et al., 2016).

6.2 Tipificación bacteriana.

La tipificación bacteriana se utiliza para discriminar entre aislamientos bacterianos y es una herramienta importante para la investigación, vigilancia y estudios filogenéticos de brotes. La electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) se considera el "estándar de oro" para la tipificación de bacterias. El método implica la restricción enzimática del ADN de las bacterias, la separación de las bandas de ADN restringidas utilizando una cámara de electroforesis de campo

pulsado, seguida por la asignación clonal de bacterias basada en patrones de bandas de PFGE (Neoh, Tan, Sapri, & Tan, 2019).

Como alternativa a la PFGE se han introducido métodos de tipificación basados en PCR, tras el descubrimiento en genomas bacterianos de secuencias que constan de fragmentos repetitivos de ADN (repeticiones en tándem) los cuales se pueden utilizar para la tipificación bacteriana. Estos métodos de tipificación basados en PCR, que son más robustos y fáciles de realizar, incluyen elementos palindrómicos extragénicos repetitivos (REP-PCR) y secuencias de consenso intergénico repetitivo de enterobacterias PCR (ERIC-PCR)(Neoh et al., 2019).

ERIC-PCR y REP-PCR utilizan la identificación en el genoma bacteriano de secuencias de ADN repetitivas intercaladas cortas que permiten la generación de huellas dactilares de ADN (Tobes & Ramos, 2005). Estos métodos examinan el contenido genómico de los organismos y, por lo tanto, son útiles para diferenciar las cepas e identificar la posible fuente en la investigación de los brotes, así como para establecer la relación clonal de microorganismos y discriminar si su diseminación es vertical u horizontal, actualmente son herramientas de tipificación empleadas en este tipo de estudios (Neoh et al., 2019; Ngoi, Teh, Chai, & Thong, 2015; Rasschaert et al., 2005; Rodríguez et al., 2006) (Cumpa-Velásquez et al., 2021; Xiaoting et al., 2021).

De esta manera, en este trabajo tras emplear estas técnicas en los aislamientos de *Salmonella* spp con presencia de PMQR, se identificaron cinco grupos denominados C1, C2, C3, C4 y C5 para ERIC-PCR, generando 14 patrones las diferencias en los patrones serían explicadas por eventos genéticos como mutaciones puntuales, inserciones o deleciones que ocurren de manera

espontánea y al azar, y que pueden ser parte de diferentes aislamientos de *Salmonella* spp. Los aislados 17T-BS y 24R-HE, presentaron el mismo patrón electroforético por lo cual podría sospecharse de un posible clon. Sin embargo, tanto el serogrupo, el virotipo y el perfil de resistencia difieren significativamente (ver tabla 12), así como los patrones obtenidos por REC-PCR, razón que lleva a pensar que aunque estos aislamientos se encuentren estrechamente relacionados no son un clon, sin embargo se sugiere confirmar mediante la identificación de su secuenciotipo.

Asimismo, se pudo observar en el grupo C2 el mismo perfil de resistencia, lo cual podría ser debido a que compartan un elemento móvil con los genes de resistencia, sin embargo, sus perfiles de virulencia son diferentes, así como el tipo de PMQR, lo que indicaría que el plásmido con este gen es diferente en estos aislamientos.

Por otro lado, REP-PCR presentó un mayor número de patrones iguales, donde en el grupo C6 se encuentran cuatro de los cinco aislamientos de la muestra 24, tres de ellos presentan el mismo patrón y lo comparten con el aislamiento 8T-SS sugiriendo la presencia en una mismo aislamiento. Sin embargo, estos aislamientos presentan diferencias en cuanto sus virotipo y perfiles de resistencia y comparten el serogrupo (ver tabla 12), lo cual podría indicar que hacen parte de la misma serovariedad, y la presencia de *qnrB19 like*, que podría mostrar que portan el mismo plásmido.

A pesar de no concluir la presencia de otras relaciones clonales, ambas técnicas tienen un aceptable poder de discriminación; además de ser rápido; fácil de realizar y su bajo costo. Como

desventaja se pudiera mencionar la baja reproducibilidad y la dificultad de analizar los patrones de bandas debido a la baja intensidad de algunas de ellas (Ngoi et al., 2015).

6.3 Estabilidad del plásmido

Los plásmidos son fragmentos extracromosómicos de ADN al interior de las bacterias, que se replican de forma independiente del cromosoma. Son un depósito común de genes que codifican la resistencia a los antibióticos, y los plásmidos conjugativos pueden facilitar la propagación de dichos genes mediante transferencia horizontal (Jordt et al., 2020; Pinilla-Redondo, Cyriaque, Jacquiod, Sorensen, & Riber, 2018), esto lleva a la emergencia de patógenos MDR, lo cual hace que sean los principales responsables de la crisis de resistencia bacteriana (de la Salud, 2015; Jordt et al., 2020; Loftie-Eaton et al., 2016).

En nuestro estudio nueve de los 15 aislamientos continuaron amplificando hasta el repique 50, lo que indica estabilidad del elemento móvil en el que se encuentra el gen PMQR, contrario a lo que sucedió con los otros seis aislamientos en donde el gen no amplificó posterior al repique 25 sin presión selectiva. Dentro de las posibles causas para que un plásmido no persista en una población bacteriana en ausencia de selección por los rasgos que codifica, pudiera atribuirse a que los sistemas necesarios para asegurar la persistencia del plásmido pueden funcionar de manera subóptima, lo que da como resultado una pérdida de plásmido en ausencia de selección (Loftie-Eaton et al., 2016). Dentro de los sistemas que promueven la persistencia de un plásmido se encuentran cuatro procesos subyacentes: segregación adecuada del plásmido en células hijas durante la división celular (Ebersbach & Gerdes, 2005), inhibición del crecimiento o muerte de

células libres de plásmidos mediante el sistema de toxina-antitoxina (TA) codificada por plásmido (Hayes, 2003), reinfección de células libres de plásmidos mediante transferencia conjugativa y un bajo costo de plásmidos que evita que las células que contienen plásmidos sean rápidamente superadas por las células libres de ellos (Ponciano, De Gelder, Top, & Joyce, 2007; Stewart & Levin, 1977; Wein, Hulter, Mizrahi, & Dagan, 2019).

Adicionalmente, pudiéramos incluir las interacciones plásmido-hospedero, los factores abióticos que afectan la fisiología y evolución del hospedador deben considerarse como elementos que influyen en la persistencia o pérdida del plásmido, especialmente en ausencia de selección. Por ejemplo, la temperatura de crecimiento tiene un impacto en múltiples procesos celulares afectando la cinética enzimática, las velocidades de difusión y las interacciones de ADN, ARN y proteínas. Por tanto, es probable que la temperatura ambiental tenga consecuencias para la replicación del plásmido y la dinámica de segregación (Wein et al., 2019).

De igual modo, mientras que los plásmidos que no confieren una ventaja selectiva se consideran costosos y se espera que se extingan. La pérdida de plásmido está determinada por conflictos de transcripción-replicación (Wein et al., 2019). En este sentido, se sugiere que, aunque los plásmidos de resistencia confieren un costo a su hospedero, los segregantes libres de plásmidos no se formarán necesariamente y, por lo tanto, no pueden barrer a través de la población, reduciendo así el nivel de resistencia. También se deduce que la pérdida de un gen de resistencia en un plásmido aún puede dejar al hospedante con otros determinantes de resistencia codificados por el plásmido (Loftie-Eaton et al., 2016). Además, los genes de resistencia a los antibióticos presentes en los plásmidos no están sujetos a los controles generales de expresión génica del

plásmido y, a menudo, se expresan de forma constitutiva (Wein, Wang, Hulter, Hammerschmidt, & Dagan, 2020).

La paradoja de la persistencia del plásmido sigue siendo un dilema evolutivo, que llevó a varias teorías y modelos teóricos que apuntan a explicar su persistencia a largo plazo en comunidades microbianas (MacLean & San Millan, 2015; Wein et al., 2019). Pero lo que se observa en este trabajo es que posterior al repique 40 en ausencia de presión selectiva probablemente se empiezan a perder por uno de los mecanismos ya descritos.

Este estudio presenta algunas limitaciones que se debieran tomar en cuenta para posteriores investigaciones en este campo, dentro de las cuales se destacan:

- No se pudieron determinar posibles mutaciones en la región de resistencia a quinolonas QRDRs
- No fue posible determinar posibles asociaciones con otros determinantes de resistencia por ejemplo para aminoglucosidos, BLEE, *ampC*.
- No se secuenció la totalidad del gen a fin de esclarecer el tipo de alelo, debido a limitaciones en los primers.
- Identificación de la presencia del plásmido al inicio del estudio de estabilidad del mismo y subsecuente verificación en la no amplificación del gen PMQR
- No contar con la batería de Serogrupo y serovariedad para poder identificar de manera las especies de *Salmonella* de este estudio.

3. Conclusiones

En este trabajo se identificó una baja prevalencia de determinantes de resistencia mediados por plásmidos, detectándose el gen *qnr* en 15 de los 277 aislamientos, los alelos encontrados fueron *qnrB19 like* y *qnrA(7 y 3 like)* en las matrices de pollo y cerdo respectivamente.

Se identificaron los diferentes perfiles de sensibilidad para aislamientos de *Salmonella* spp., aislada de las tres matrices alimentarias de la ciudad de Barrancabermeja, destacándose los porcentajes de resistencia en los aislamientos de pollo, así como una mayor cantidad de aislados multidrogo resistentes (MDR). El perfil de sensibilidad determinado por difusión de disco determinó que los aislados provenientes de la matriz queso son sensibles a todas las quinolonas y fluoroquinolonas probadas en este estudio, en contraste a lo hallado con la matriz pollo y cerdo en donde se identificó resistencia a una Q o FQ en el 69,7% y 13,2%, respectivamente.

El perfil de sensibilidad determinado por CIM de los 15 aislamientos con PMQR se evidenció una resistencia disociada entre cefalosporinas de tercera, y resistencia de todos los aminoglucósidos probados en este estudio.

No se pudieron establecer de forma clara relaciones clonales determinadas mediante ERIC-PCR y REP-PCR en los aislamientos con presencia de PMQR.

Los resultados obtenidos en el estudio mostraron estabilidad sin presión selectiva de los genes de resistencia tipo PMQR donde fue posible detectarlos en todos los aislamientos hasta el repique 15, y en nueve continuar detectándolos hasta el repique 50.

4. Recomendaciones

Confirmar mediante electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) la presencia de clones emergentes o mediante la detección de los secuenciotipos de los aislamientos que se encontraron más estrechamente relacionados, igualmente sería de utilidad la tipificación de bacterias mediante la secuenciación del genoma completo (WGS).

Realizar estudios para incrementar la cobertura de los genes detectados e identificar adecuadamente el alelo al cual pertenece, para posteriormente realizar estudios de funcionalidad de los alelos encontrados y determinar claramente la presencia de un alelo nuevo.

Realizar estudios que permitan conocer el mecanismo de la pérdida de plásmido en alguno de los aislados así como su funcionalidad.

Identificar posibles mutaciones en *gyrA* y *parC* en los aislados que fenotípicamente mostraron resistencia a las quinolonas y fluoroquinolonas.

Continuar con estudios epidemiológicos que permitan observar los cambios en la resistencia y la presencia de mecanismos de resistencia en aislamientos de origen alimentario.

Las investigaciones futuras deberían centrarse en la epidemiología molecular de los aislamientos de *Salmonella* spp. en la producción porcina para guiar la implementación de medidas preventivas destinadas a reducir la transmisión horizontal de *Salmonella* de cerdos a humanos.

Referencias Bibliográficas

- Abgottspon, H., Zurfluh, K., Nüesch-Inderbini, M., Hächler, H., & Stephan, R. (2014). Quinolone Resistance Mechanisms in *Salmonella enterica* Serovars Hadar, Kentucky, Virchow, Schwarzengrund, and 4,5,12:i:-, Isolated from Humans in Switzerland, and Identification of a Novel qnrD Variant, qnrD2, in *S. Hadar*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(6), 3560-3563. doi:10.1128/AAC.02404-14
- Achtman, M., Wain, J., Weill, F.-X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., . . . the, S. e. M. s. g. (2012). Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathogens*, 8(6), e1002776. doi:10.1371/journal.ppat.1002776
- Alarcón Navas, S. V. (2021). *Determinación de genes de virulencia codificados en islas de patogenicidad y plásmidos en Salmonella spp. aislada de pollo, queso y carne de cerdo en la ciudad de Barrancabermeja, Santander*. (Maestría en Microbiología), Universidad Industrial de Santander, 2021.
- Albornoz, E., Tijet, N., De Belder, D., Gomez, S., Martino, F., Corso, A., . . . Petroni, A. (2017). qnrE1, a Member of a New Family of Plasmid-Located Quinolone Resistance Genes, Originated from the Chromosome of Enterobacter Species. *Antimicrob Agents Chemother*, 61(5). doi:10.1128/AAC.02555-16
- Anderson, M. d. R. P. (2005). *Enfermedades de origen alimentario: su prevención*: Ediciones Díaz de Santos.
- Bartoloni, A., Pallecchi, L., Rodríguez, H., Fernandez, C., Mantella, A., Bartalesi, F., . . . Rossolini, G. M. (2009). Antibiotic resistance in a very remote Amazonas community. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33(2), 125-129. doi:10.1016/j.ijantimicag.2008.07.029
- Benaicha, H., Barrijal, S., Ezzakkioui, F., & Elmalki, F. (2017). Prevalence of PMQR genes in *E. coli* and *Klebsiella* spp. isolated from North-West of Morocco. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10(Supplement C), 321-325. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.05.024>
- Brooks, B. D., & Brooks, A. E. (2014). Therapeutic strategies to combat antibiotic resistance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 78, 14-27. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2014.10.027>
- Cattoir, V., Poirel, L., Rotimi, V., Soussy, C.-J., & Nordmann, P. (2007). Multiplex PCR for detection of plasmid-mediated quinolone resistance qnr genes in ESBL-producing enterobacterial isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60(2), 394-397. doi:10.1093/jac/dkm204
- Cavaco, L. M., Hasman, H., Xia, S., & Aarestrup, F. M. (2009). qnrD, a Novel Gene Conferring Transferable Quinolone Resistance in *Salmonella enterica* Serovar Kentucky and Bovismorbificans Strains of Human Origin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(2), 603-608. doi:10.1128/AAC.00997-08
- Cloeckaert, A. (2006). Introduction: emerging antimicrobial resistance mechanisms in the zoonotic foodborne pathogens *Salmonella* and *Campylobacter*. *Microbes and Infection*, 8(7), 1889-1890. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2005.12.024>
- Correia, S., Poeta, P., Hebraud, M., Capelo, J. L., & Igrejas, G. (2017). Mechanisms of quinolone action and resistance: where do we stand? *J Med Microbiol*, 66(5), 551-559. doi:10.1099/jmm.0.000475

- Cruz, G. R., Radice, M., Sennati, S., Pallecchi, L., Rossolini, G. M., Gutkind, G., & Conza, J. A. D. (2013). Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants among oxyiminocephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108(7), 924-927. doi:10.1590/0074-0276130084
- Cumpa-Velásquez, L. M., Moriconi, J. I., Dip, D. P., Castagno, L. N., Puig, M. L., Maiale, S. J., . . . Estrella, M. J. (2021). Prospecting phosphate solubilizing bacteria in alkaline-sodic environments reveals intra-specific variability in *Pantoea eucalypti* affecting nutrient acquisition and rhizobial nodulation in *Lotus tenuis*. *Applied Soil Ecology*, 168, 104125. doi:10.1016/j.apsoil.2021.104125
- Chen, L. F., Chopra, T., & Kaye, K. S. (2009). Pathogens Resistant to Antibacterial Agents. *Infectious Disease Clinics of North America*, 23(4), 817-845. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2009.06.002>
- Chen, S., Cui, S., McDermott, P. F., Zhao, S., White, D. G., Paulsen, I., & Meng, J. (2007). Contribution of target gene mutations and efflux to decreased susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium to fluoroquinolones and other antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 51(2), 535-542.
- Chen, Z., Bai, J., Zhang, X., Wang, S., Chen, K., Lin, Q., . . . Zhang, J. (2021). Highly prevalent multidrug resistance and QRDR mutations in *Salmonella* isolated from chicken, pork and duck meat in Southern China, 2018-2019. *Int J Food Microbiol*, 340, 109055. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109055
- David Castro, A. (2015). *Estudio de cohortes de enfermedades emergentes y reemergentes en Barrancabermeja entre los años 1980- 2010* (Vol. 6).
- David Castro, A., Albino Rivera, O., Mendoza Vargas, O. M., & Mendoza Pinzón, E. (2013). *Determinación de la presencia de Listeria spp. y Salmonella spp. en tres centros de acopio lecheros del Municipio de Barrancabermeja, Santander* (Ing. Agroindustrial y Medico Veterinaria y Zootecnista Pregrado), Instituto Universitario de la Paz - UNIPAZ.
- David Castro, A., Porras Atencia, O. O., Carolina Bermúdez, S., Velasco Sánchez, N. J., Padilla, O., & Laudid, M. (2016). DETECCIÓN DE *Listeria* spp Y *Salmonella* spp EN QUESO Y SU RELACION CON LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS. *Revista Politécnica*, 12(23).
- Davidson, R. J., Davis, I., Willey, B. M., Rizg, K., Bolotin, S., Porter, V., . . . Silverman, M. S. (2008). Antimalarial Therapy Selection for Quinolone Resistance among *Escherichia coli* in the Absence of Quinolone Exposure, in Tropical South America. *PLoS ONE*, 3(7), e2727. doi:10.1371/journal.pone.0002727
- de la Salud, A. M. (2015). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*. Organización Mundial de la Salud.
- Dekker, J. P., & Frank, K. M. (2015). *Salmonella, Shigella, and Yersinia*. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35(2), 225-246. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.002>
- Diaz-Guevara, P., Montano, L. A., Duarte, C., Zabaleta, G., Maes, M., Martinez Angarita, J. C., . . . Baker, S. (2020). Surveillance of *Salmonella enterica* serovar Typhi in Colombia, 2012-2015. *PLoS Negl Trop Dis*, 14(3), e0008040. doi:10.1371/journal.pntd.0008040
- Donado-Godoy, P., Bernal, J. F., Rodríguez, F., Gomez, Y., Agarwala, R., Landsman, D., & Mariño-Ramírez, L. (2015). Genome Sequences of Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Paratyphi B (dT+) and Heidelberg Strains from the Colombian Poultry Chain. *Genome Announcements*, 3(5), e01265-01215. doi:10.1128/genomeA.01265-15

- Drlica, K., Malik, M., Kerns, R. J., & Zhao, X. (2008). Quinolone-Mediated Bacterial Death. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(2), 385-392. doi:10.1128/AAC.01617-06
- Drlica, K., & Zhao, X. (1997). DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and molecular biology reviews*, 61(3), 377-392.
- DuPont, H. L., & Whichard, J. M. (2017). Antimicrobial resistance of Shigella spp., Typhoid Salmonella, and non-typhoid Salmonella *Antimicrobial Drug Resistance* (pp. 959-968): Springer.
- Ebersbach, G., & Gerdes, K. (2005). Plasmid segregation mechanisms. *Annu. Rev. Genet.*, 39, 453-479.
- Errecalde, J. O. (2004). *Uso de antimicrobianos en animales de consumo: incidencia del desarrollo de resistencias en salud pública*: FAO.
- Gilchrist, M. J., Greko, C., Wallinga, D. B., Beran, G. W., Riley, D. G., & Thorne, P. S. (2007). The Potential Role of Concentrated Animal Feeding Operations in Infectious Disease Epidemics and Antibiotic Resistance. *Environmental Health Perspectives*, 115(2), 313-316. doi:10.1289/ehp.8837
- Guan, X., Xue, X., Liu, Y., Wang, J., Wang, Y., Wang, J., . . . Yang, B. (2013). Plasmid-mediated quinolone resistance—current knowledge and future perspectives. *Journal of International Medical Research*, 0300060513475965.
- Gutiérrez Castillo, A. d. C., Paasch Martínez, L. H., & Calderón Apodaca, N. L. (2008). Salmonellosis y campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. *Veterinaria México*, 39, 81-90.
- Gutiérrez Pérez, F. A. Á., Adriana Leidys; Campo Salas, Tania Marcela; David Castro, Alexander. (2013). *Determinación de la presencia de E. coli, Listeria spp y Salmonella spp en carne de ganado porcino en una planta de beneficio en el municipio de Barrancabermeja*. (Ingeniero Agroindustrial Pregrado), Instituto Universitario de la Paz - UNIPAZ.
- Hayes, F. (2003). Toxins-antitoxins: plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science*, 301(5639), 1496-1499.
- He, J., Sun, F., Sun, D., Wang, Z., Jin, S., Pan, Z., . . . Jiao, X. (2020). Multidrug resistance and prevalence of quinolone resistance genes of Salmonella enterica serotypes 4,[5],12:i:- in China. *Int J Food Microbiol*, 330, 108692. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108692
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol.
- Hur, J., Jawale, C., & Lee, J. H. (2012). Antimicrobial resistance of Salmonella isolated from food animals: A review. *Food Research International*, 45(2), 819-830. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2011.05.014>
- Issenhuth-Jeanjean, S., Roggentin, P., Mikoleit, M., Guibourdenche, M., de Pinna, E., Nair, S., . . . Weill, F.-X. (2014). Supplement 2008–2010 (no. 48) to the White–Kauffmann–Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, 165(7), 526-530. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.resmic.2014.07.004>
- Jacoby, G., Cattoir, V., Hooper, D., Martínez-Martínez, L., Nordmann, P., Pascual, A., . . . Wang, M. (2008). qnr Gene nomenclature. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(7), 2297-2299.
- Jacoby, G. A., Strahilevitz, J., & Hooper, D. C. (2014). Plasmid-mediated quinolone resistance. *Microbiology spectrum*, 2(2), 10.1128/microbiolspec.PLAS-0006-2013. doi:10.1128/microbiolspec.PLAS-0006-2013

- Jamborova, I., Dolejska, M., Zurek, L., Townsend, A. K., Clark, A. B., Ellis, J. C., . . . Literak, I. (2017). Plasmid-mediated resistance to cephalosporins and quinolones in *Escherichia coli* from American crows in the USA. *Environmental Microbiology*, *19*(5), 2025-2036.
- Joerger, R. D., Sartori, C. A., & Kniel, K. E. (2009). Comparison of genetic and physiological properties of *Salmonella enterica* isolates from chickens reveals one major difference between serovar Kentucky and other serovars: response to acid. *Foodborne pathogens and disease*, *6*(4), 503-512.
- Jordt, H., Stalder, T., Kosterlitz, O., Ponciano, J. M., Top, E. M., & Kerr, B. (2020). Coevolution of host-plasmid pairs facilitates the emergence of novel multidrug resistance. *Nat Ecol Evol*, *4*(6), 863-869. doi:10.1038/s41559-020-1170-1
- Karczmarczyk, M., Martins, M., McCusker, M., Mattar, S., Amaral, L., Leonard, N., . . . Fanning, S. (2010). Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* food and animal isolates from Colombia: identification of a qnrB19-mediated quinolone resistance marker in two novel serovars. *FEMS Microbiol Lett*, *313*(1), 10-19. doi:10.1111/j.1574-6968.2010.02119.x
- Karczmarczyk, M., Martins, M., McCusker, M., Mattar, S., Amaral, L., Leonard, N., . . . Fanning, S. (2010). Characterization of antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* food and animal isolates from Colombia: identification of a qnrB19-mediated quinolone resistance marker in two novel serovars. *FEMS Microbiology Letters*, *313*(1), 10-19. doi:10.1111/j.1574-6968.2010.02119.x
- Kim, H. B., Wang, M., Park, C. H., Kim, E.-C., Jacoby, G. A., & Hooper, D. C. (2009). oqxAB Encoding a Multidrug Efflux Pump in Human Clinical Isolates of Enterobacteriaceae. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *53*(8), 3582-3584. doi:10.1128/AAC.01574-08
- Kuang, D., Zhang, J., Xu, X., Shi, W., Chen, S., Yang, X., . . . Meng, J. (2018). Emerging high-level ciprofloxacin resistance and molecular basis of resistance in *Salmonella enterica* from humans, food and animals. *International Journal of Food Microbiology*, *280*, 1-9. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.05.001
- Levings, R. S., Lightfoot, D., Partridge, S. R., Hall, R. M., & Djordjevic, S. P. (2005). The genomic island SGI1, containing the multiple antibiotic resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 or variants of it, is widely distributed in other *S. enterica* serovars. *J Bacteriol*, *187*(13), 4401-4409. doi:10.1128/JB.187.13.4401-4409.2005
- Loftie-Eaton, W., Yano, H., Burleigh, S., Simmons, R. S., Hughes, J. M., Rogers, L. M., . . . Top, E. M. (2016). Evolutionary Paths That Expand Plasmid Host-Range: Implications for Spread of Antibiotic Resistance. *Mol Biol Evol*, *33*(4), 885-897. doi:10.1093/molbev/msv339
- MacLean, R. C., & San Millan, A. (2015). Microbial Evolution: Towards Resolving the Plasmid Paradox. *Current Biology*, *25*(17), R764-R767. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.07.006>
- Magiorakos, A. P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., . . . Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect*, *18*(3), 268-281. doi:10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Maka, L., Mackiw, E., Stasiak, M., Wolkowicz, T., Kowalska, J., Postupolski, J., & Popowska, M. (2018). Ciprofloxacin and nalidixic acid resistance of *Salmonella* spp. isolated from

- retail food in Poland. *Int J Food Microbiol*, 276, 1-4. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.012
- Maka, L., & Popowska, M. (2016). Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from food. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 67(4).
- Moreno, A. G., Moncayo, S. T., Caranguay, M., Paz, M. C., Ibarra, M. A., Trujillo-Montalvo, E., . . . Rocha-Buelvas, A. (2014). Prevalencia de *Salmonella* spp.(no tifoideas) en el Departamento de Nariño, Colombia 2011. *Universitas Médica*, 55(4), 363-373.
- Murgia, M., Bouchrif, B., Timinouni, M., Al-Qahtani, A., Al-Ahdal, M. N., Cappuccinelli, P., . . . Paglietti, B. (2015). Antibiotic resistance determinants and genetic analysis of *Salmonella* enterica isolated from food in Morocco. *International journal of food microbiology*, 215, 31-39. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.08.003>
- Neoh, H. M., Tan, X. E., Sapri, H. F., & Tan, T. L. (2019). Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE): A review of the "gold standard" for bacteria typing and current alternatives. *Infect Genet Evol*, 74, 103935. doi:10.1016/j.meegid.2019.103935
- Ngoi, S. T., Teh, C. S., Chai, L. C., & Thong, K. L. (2015). Overview of Molecular Typing Tools for The Characterization of *Salmonella* enterica in Malaysia. *Biomed Environ Sci*, 28(10), 751-764. doi:10.3967/bes2015.105
- Ochoa, I. M. F., & Rodríguez, A. V. (2005). Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 47(1-2), 25-42.
- Osorio Padilla, L. M. V. S., J Nadia; David Castro, Alexander. (2013). *Determinación de la presencia de Listeria spp., y Salmonella spp., en queso costeño y campesino comercializados en el municipio de Barrancabermeja*. (Ing. Agroindustrial y Médico Veterinaria y Zootecnista Pregrado), Instituto Universitario de la Paz - UNIPAZ.
- Park, C. H., Robicsek, A., Jacoby, G. A., Sahm, D., & Hooper, D. C. (2006). Prevalence in the United States of aac (6')-Ib-cr encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(11), 3953-3955.
- Ponciano, J. M., De Gelder, L., Top, E. M., & Joyce, P. (2007). The population biology of bacterial plasmids: a hidden Markov model approach. *Genetics*, 176(2), 957-968.
- Pribul, B. R., Festivo, M. L., de Souza, M. M., & Rodrigues Ddos, P. (2016). Characterization of quinolone resistance in *Salmonella* spp. isolates from food products and human samples in Brazil. *Braz J Microbiol*, 47(1), 196-201. doi:10.1016/j.bjm.2015.04.001
- Pribul, B. R., Festivo, M. L., de Souza, M. M. S., & dos Prazeres Rodrigues, D. (2016). Characterization of quinolone resistance in *Salmonella* spp. isolates from food products and human samples in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 196-201. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bjm.2015.04.001>
- Pribul, B. R., Festivo, M. L., Rodrigues, M. S., Costa, R. G., Rodrigues, E. C. d. P., de Souza, M. M. S., & Rodrigues, D. d. P. (2017). Characteristics of Quinolone Resistance in *Salmonella* spp. Isolates from the Food Chain in Brazil. *Frontiers in Microbiology*, 8(299). doi:10.3389/fmicb.2017.00299
- Prokaryotes, J. C. o. t. I. C. o. S. o. (2005). The type species of the genus *Salmonella* Lignieres 1900 is *Salmonella* enterica (ex Kauffmann and Edwards 1952) Le Minor and Popoff 1987, with the type strain LT2T, and conservation of the epithet enterica in *Salmonella* enterica over all earlier epithets that may be applied to this species. Opinion 80. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55(1), 519-520. doi:10.1099/ijs.0.63579-0

- Rasschaert, G., Houf, K., Imberechts, H., Grijspeerdt, K., De Zutter, L., & Heyndrickx, M. (2005). Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates. *J Clin Microbiol*, 43(8), 3615-3623. doi:10.1128/JCM.43.8.3615-3623.2005
- Robicsek, A., Strahilevitz, J., Jacoby, G. A., Macielag, M., Abbanat, D., Park, C. H., . . . Hooper, D. C. (2006). Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase. *Nat Med*, 12(1), 83-88. doi:10.1038/nm1347
- Rodríguez-Martínez, J. M., Cano, M. E., Velasco, C., Martínez-Martínez, L., & Pascual, Á. (2010). Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 17(2), 149-182. doi:10.1007/s10156-010-0120-2
- Rodríguez-Martínez, J. M., Machuca, J., Cano, M. E., Calvo, J., Martínez-Martínez, L., & Pascual, A. (2016). Plasmid-mediated quinolone resistance: Two decades on. *Drug Resistance Updates*, 29(Supplement C), 13-29. doi:<https://doi.org/10.1016/j.drug.2016.09.001>
- Rodríguez, J. M., López-Romalde, S., Beaz, R., Alonso, M. C., Castro, D., & Romalde, J. L. (2006). Molecular fingerprinting of *Vibrio tapetis* strains using three PCR-based methods: ERIC-PCR, REP-PCR and RAPD. *Dis Aquat Organ*, 69(2-3), 175-183. doi:10.3354/dao069175
- Rotimi, V. O., Jamal, W., Pal, T., Sovenned, A., & Albert, M. J. (2008). Emergence of CTX-M-15 type extended-spectrum β -lactamase-producing *Salmonella* spp. in Kuwait and the United Arab Emirates. *Journal of Medical Microbiology*, 57(7), 881-886. doi:10.1099/jmm.0.47509-0
- Ruiz, J. (2003). Mechanisms of resistance to quinolones: target alterations, decreased accumulation and DNA gyrase protection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(5), 1109-1117. doi:10.1093/jac/dkg222
- Salud, O. P. d. l. (2010). *Informe Anual de la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos I 2010*. Retrieved from http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=24101&Itemid=
- SIVIGILA. (2015). *BES - Boletín Epidemiológico Semanal*. Retrieved from http://www.ins.gov.co/boletin-epidemiologico/Boletn%20Epidemiolgico/2015%20Boletin%20epidemiologico%20Semana%2052.pdf?Mobile=1&Source=%2Fboletin-epidemiologico%2F_layouts%2Fmobile%2Fmblwp.aspx%3FUrl%3D%252Fboletin-epidemiologico%252FPaginas%252Fdefault.aspx%26Source%3D%252Fboletin-epidemiologico%252F_layouts%252Fmobile%252Fview.aspx%253FList%253D59810c81-37d0-4e09-bdee-d821ba803626%2526View%253D58acc166-c5bd-4e87-b352-3d6a1f53fd79%2526CurrentPage%253D1%26CurrentPage%3D1
- Standardization, I. O. f. (2017). Microbiology of the food chain—horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella*—part 1: detection of *Salmonella* spp.
- Stewart, F. M., & Levin, B. R. (1977). The population biology of bacterial plasmids: a priori conditions for the existence of conjugationally transmitted factors. *Genetics*, 87(2), 209-228.
- Tobes, R., & Ramos, J. L. (2005). REP code: defining bacterial identity in extragenic space. *Environmental microbiology*, 7(2), 225-228.

- Tran, J. H., & Jacoby, G. A. (2002). Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(8), 5638-5642. doi:10.1073/pnas.082092899
- Tyson, G. H., Tate, H. P., Zhao, S., Li, C., Dessai, U., Simmons, M., & McDermott, P. F. (2017). Identification of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in *Salmonella* Isolated from Swine Ceca and Retail Pork Chops in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*, 61(10). doi:10.1128/AAC.01318-17
- Ungemach, F. R., Müller-Bahrtdt, D., & Abraham, G. (2006). Guidelines for prudent use of antimicrobials and their implications on antibiotic usage in veterinary medicine. *International Journal of Medical Microbiology*, 296, Supplement 2, 33-38. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2006.01.059>
- Versalovic, J., Koeuth, T., & Lupski, R. (1991). Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic acids research*, 19(24), 6823-6831.
- Wang, D., Huang, X., Chen, J., Mou, Y., & Qi, Y. (2017). Characterization of a novel qepA3 variant in *Enterobacter aerogenes*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 50(2), 254-257. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2016.01.001>
- Wang, M., Guo, Q., Xu, X., Wang, X., Ye, X., Wu, S., . . . Wang, M. (2009). New Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Gene, qnrC, Found in a Clinical Isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(5), 1892-1897. doi:10.1128/AAC.01400-08
- Wein, T., Hulter, N. F., Mizrahi, I., & Dagan, T. (2019). Emergence of plasmid stability under non-selective conditions maintains antibiotic resistance. *Nat Commun*, 10(1), 2595. doi:10.1038/s41467-019-10600-7
- Wein, T., Wang, Y., Hulter, N. F., Hammerschmidt, K., & Dagan, T. (2020). Antibiotics Interfere with the Evolution of Plasmid Stability. *Curr Biol*, 30(19), 3841-3847 e3844. doi:10.1016/j.cub.2020.07.019
- Wen, S. C., Best, E., & Nourse, C. (2017). Non-typhoidal *Salmonella* infections in children: Review of literature and recommendations for management. *J Paediatr Child Health*, 53(10), 936-941. doi:10.1111/jpc.13585
- Xiaoting, W., Chengcheng, N., Chunhui, J., Yan, L., Jing, L., Qingling, M., . . . Xuepeng, C. (2021). Antimicrobial resistance profiling and molecular typing of ruminant-borne isolates of *Clostridium perfringens* from Xinjiang, China. *J Glob Antimicrob Resist*, 27, 41-45. doi:10.1016/j.jgar.2021.08.003
- Xu, Z., Wang, M., Zhou, C., Gu, G., Liang, J., Hou, X., . . . Wei, P. (2020). Prevalence and antimicrobial resistance of retail-meat-borne *Salmonella* in southern China during the years 2009-2016: The diversity of contamination and the resistance evolution of multidrug-resistant isolates. *Int J Food Microbiol*, 333, 108790. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108790
- Zhang, W., Fisher, J. F., & Mobashery, S. (2009). The bifunctional enzymes of antibiotic resistance. *Curr Opin Microbiol*, 12(5), 505-511. doi:10.1016/j.mib.2009.06.013
- Zhao, J., Chen, Z., Chen, S., Deng, Y., Liu, Y., Tian, W., . . . Liu, J.-H. (2010). Prevalence and Dissemination of oqxAB in *Escherichia coli* Isolates from Animals, Farmworkers, and the Environment. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(10), 4219-4224. doi:10.1128/AAC.00139-10

APENDICES

Apéndice A. Materiales utilizados para la reactivación de los aislados de *Salmonella* y de sensibilidad.

1. **Agar XLD (*Xilosa Lisina Desoxicolato*)**. 105287 Millipore. según ISO 6579 GranuCult® Agar XLD (*Xilosa Lisina Desoxicolato*): Ficha de datos de seguridad (MSDS o SDS), certificado de análisis y de calidad (CoA y CoQ)
2. **Agar Triptona de Soya**. 105458 Millipore. según EP, USP, JP, ISO y FDA-BAM GranuCult® Agar Triptona de Soya: Ficha de datos de seguridad (MSDS o SDS), certificado de análisis y de calidad (CoA y CoQ), Sinónimos: Casein-peptone soyameal-peptone agar, Cacein-peptone soyameal-peptone agar.
3. **MUELLER-HINTON Agar**. Media proposed by MUELLER and HINTON (1941) for testing the sensitivity of clinically important pathogens towards antibiotics or sulfonamides. These culture media comply with the requirements of the WHO (1961, 1977) and DIN Norm 58930. MUELLER-HINTON agar is used for agar diffusion tests while.
4. **Invitrogen™ Agua destilada UltraPure™ sin ADNasa/ARNasa**. UltraPure™ DNase/RNase-Free Distilled Water, 500mL, Clear, 7pH, Membrane-Filtered Purification, DNase-Free, Molecular Biology Grade, Protease-Free, RNase-Free Quality Grade, Not DEPC-Treated Sample Treatment, Used For DNA Extraction, Nucleic Acid Ge.
5. **Sensidiscos Oxoid™ de susceptibilidad antimicrobiana**. ciprofloxacina (CIP 5µg), ampicilina (AMP 10µg), amoxicilina-ácido clavulánico (AMC 20/10µg), cefotaxime (CTX 30µg), ceftazidime (CAZ 30µg), ceftriaxona (CRO 30µg), cefepime (FEP 30µg), aztreonam (ATM 30µg), trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT1.25/23.75 µg) y cloranfenicol (C30µg).

Apéndice B. Condiciones de estandarización para cada uno de los genes analizados mediante PCR.

qnrB

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer KCL	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	2,5 µL
Oligo forward	10µM	0,8 µL
Oligo reverse	10µM	0,8 µL
MgCl ₂	2 mM	2 µL
Taq DNA polimerasa	1 U	0,2 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

qnrBL y *qnrBC*

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer KCL	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	1 µL
Oligo forward	10µM	2,5 µL
Oligo reverse	10µM	2,5 µL
MgCl ₂	2 mM	2 µL
Taq DNA polimerasa	1,25 U	0,25 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

qnrVC1, *qnrVC2*

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer KCL	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	1 µL
Oligo forward	10µM	2 µL
Oligo reverse	10µM	2 µL
MgCl ₂	1,5 mM	2,5 µL
Taq DNA polimerasa	1 U	0,2 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

qnrD

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer(NH ₄) ₂ SO ₄	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	1 µL
Oligo forward	10µM	2 µL
Oligo reverse	10µM	2 µL
MgCl ₂	2 mM	2 µL
Taq DNA polimerasa	1 U	0,2 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

qnrA, *qnrS*

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer KCL	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	1,5 µL
Oligo forward	10µM	1 µL
Oligo reverse	10µM	1 µL
MgCl ₂	1,5 mM	1,5 µL
Taq DNA polimerasa	1 U	0,2 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

qnrC

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer KCL	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	2,5 µL
Oligo forward	10µM	0,5 µL
Oligo reverse	10µM	0,5 µL
MgCl ₂	2 mM	2 µL
Taq DNA polimerasa	0,625 U	0,125 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

aac(6')-Ib

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer KCL	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	1 µL
Oligo forward	10µM	2,5 µL
Oligo reverse	10µM	2,5 µL
MgCl ₂	2 mM	2 µL
Taq DNA polimerasa	1,25 U	0,25 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

oqxA y *oqxB*

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer(NH ₄) ₂ SO ₄	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	2 µL
Oligo forward	10µM	1,5 µL
Oligo reverse	10µM	1,5 µL
MgCl ₂	1,5 mM	1,5 µL
Taq DNA polimerasa	1 U	0,2 µL
ADN	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

qepA

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer(NH ₄) ₂ SO ₄	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	1 µL
Oligo forward	10µM	2,5 µL
Oligo reverse	10µM	2,5 µL
MgCl ₂	1,5 mM	2 µL
Taq DNA polimerasa	1,25 U	0,25 µL
ADN*	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

* ADN se adiciona desnaturalizado

ERIC y REP

Reactivos PCR	Concentración	Vol
10X Taq Buffer KCl	1X	2,5 µL
dNTPs	10 µM Mix	3 µL
Oligo 1	10µM	3 µL
Oligo 2	10µM	3 µL
MgCl ₂	5 mM	5 µL
Taq DNA polimerasa	2,5 U	0,5 µL
ADN*	200 - 500 ng/mL	1 µL
Agua libre de nucleasas	Para un volumen de 25 µL	

Condiciones de ciclado: <i>qnrB</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	94	30 seg	1
Cycles	94	30 seg	35
	54	30 seg	
	68	30 seg	
Final Extension	68	5 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>qnrBL</i> y <i>qnrBC</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	94	1 min	1
Cycles	94	1 min	35
	50	1 min	
	68	1 min	
Final Extension	68	5 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>qnrVC1</i> y <i>qnrVC2</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	95	5 min	1
Cycles	94	1 min	35
	45	1 min	
	72	1 min	
Final Extension	72	10 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>oqxA</i> y <i>oqxB</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	94	1 min	1
Cycles	94	1 min	35
	58	1 min	
	68	1 min	
Final Extension	68	10 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>qnrD</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	95	1 min	1
Cycles	95	1 min	35
	54	1 min	
	68	1 min	
Final Extension	68	10 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>qnrA</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	95	1 min	1
Cycles	95	1 min	40
	55	1 min	
	68	1 min	
Final Extension	68	10 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>qnrC</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	95	1 min	1
Cycles	95	1 min	30
	54	1 min	
	68	1 min	
Final Extension	68	10 min	1
Hold	10	∞	1

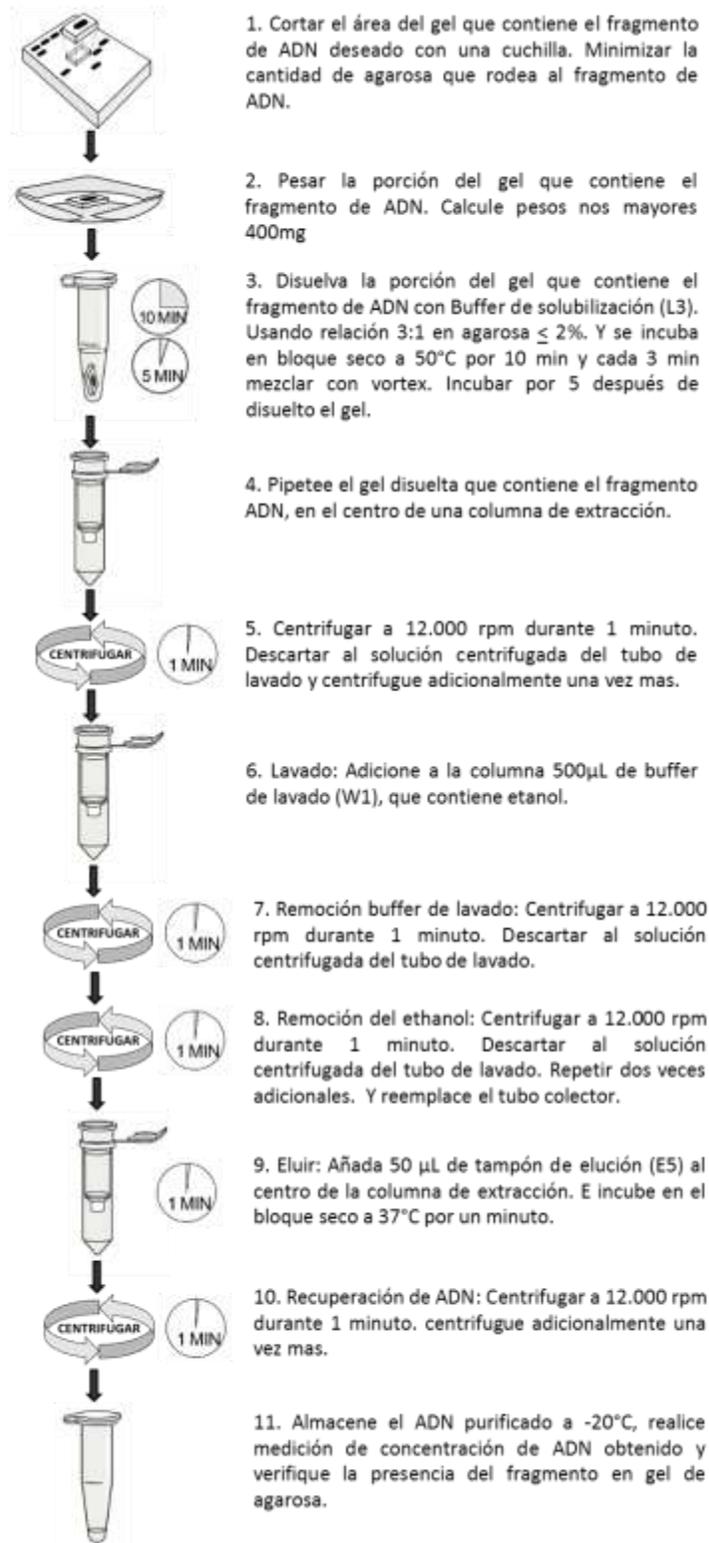
Condiciones de ciclado: <i>qnrS</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	95	10 min	1
Cycles	94	1 min	30
	54	1 min	
	72	1 min	
Final Extension	72	10 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>aac(6')-Ib</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	94	10	1
Cycles	94	1	35
	55	1	
	68	1	
Final Extension	68	10 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: <i>qepA</i>			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	97	10 min	1
Cycles	96	1, 15 min	35
	63	45 seg	
	72	45 seg	
Final Extension	72	10 min	1
Hold	10	∞	1

Condiciones de ciclado: ERIP Y REC			
Pasos	Temp °C	Tiempo	ciclos
Initial Denaturation	94	30 seg	1
Cycles	94	30 seg	35
	54	30 seg	
	68	30 seg	
Final Extension	68	5 min	1
Hold	10	∞	1

Apéndice C. Protocolo Kit comercial PureLink™ Quick Gel Extraction

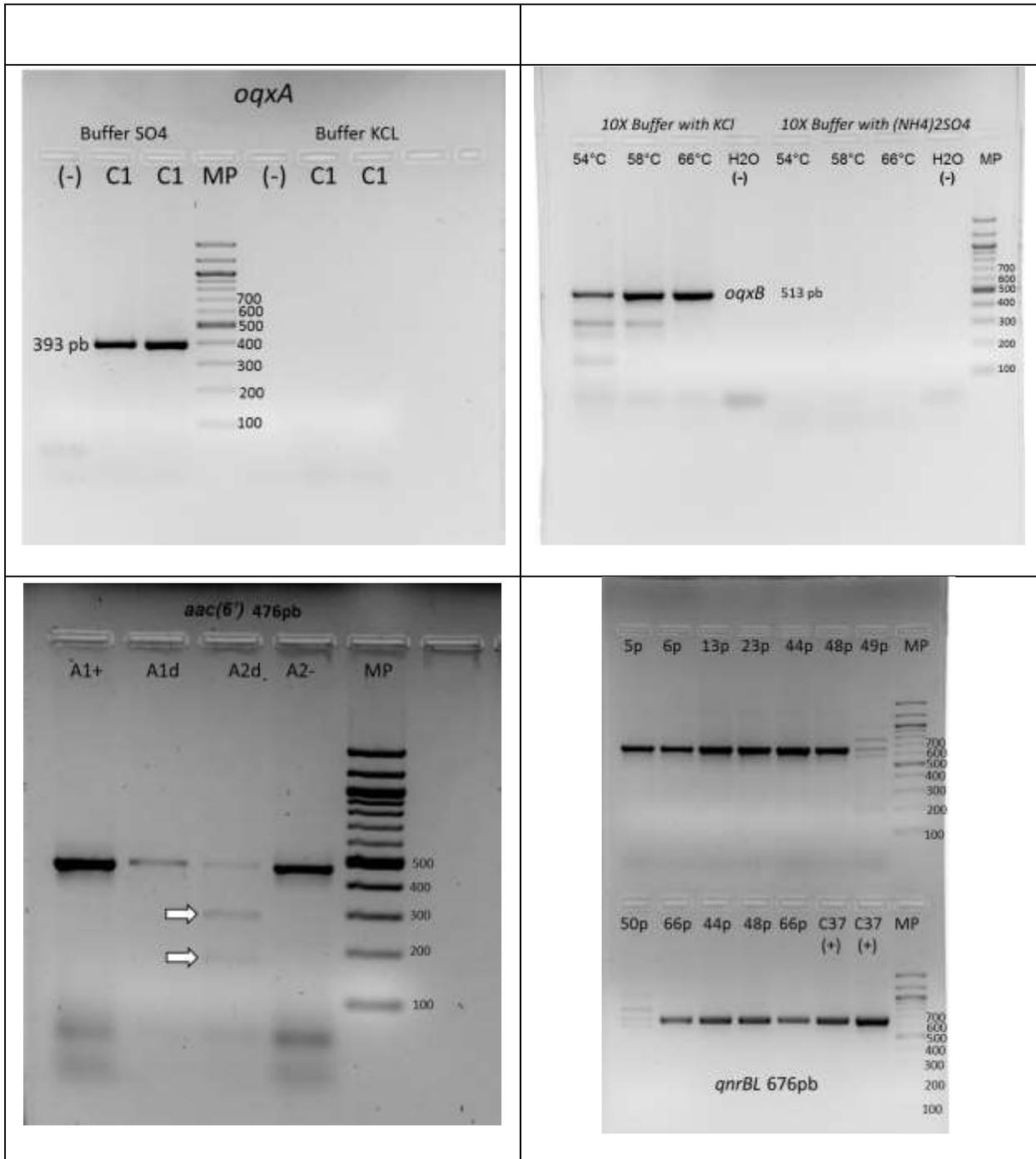


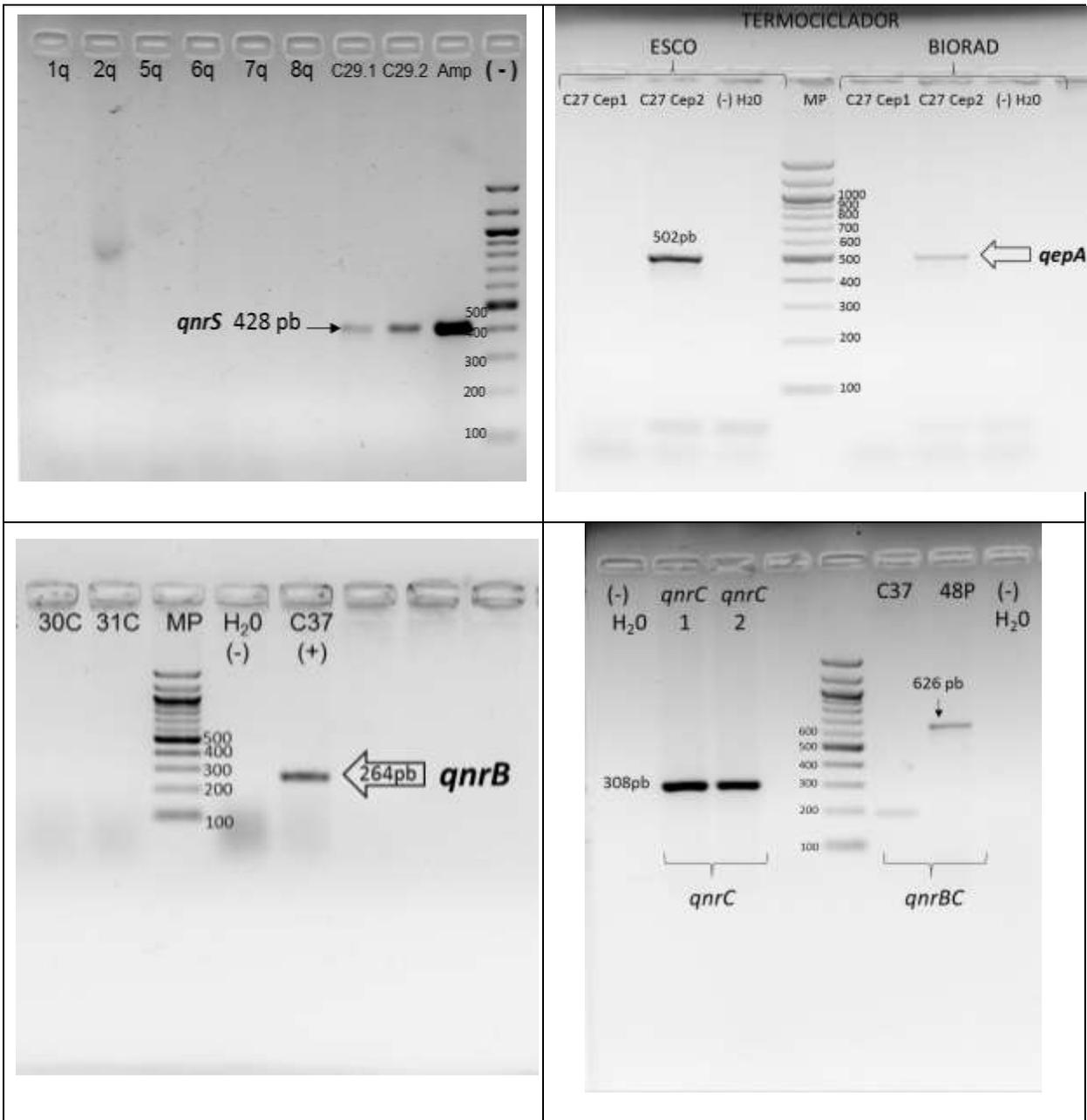
Modificado por Alexander David Castro

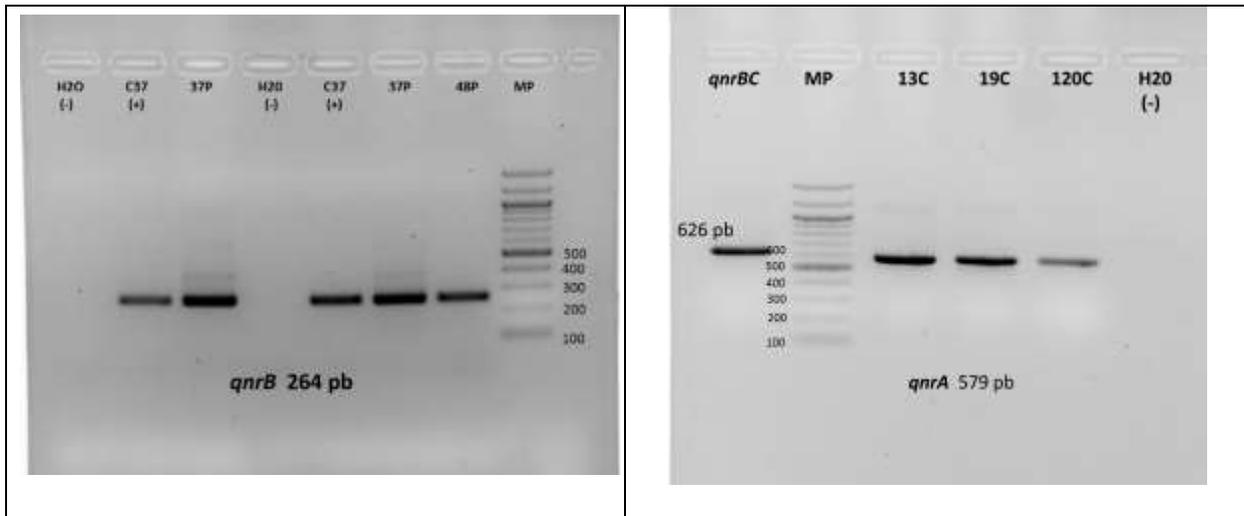
Apéndice D. Materiales usados para electroforesis y preparación de reactivos.

1. **Agarosa SeaKem™ LE, Lanza™.** Para análisis / transferencia de ADN. Grado de Biología Molecular. EEO 0.09–0.13 Temperatura de gelificación $36^{\circ} \pm 1,5^{\circ} \text{C}$. Sin DNasa / RNasa.
2. **Invitrogen™ UltraPure™ TBE Buffer, 10X.** El tampón TBE UltraPure 10X es una solución filtrada estéril de 1 M de Tris, 0,9 M de ácido bórico y 0,01 M de EDTA que se emplea para preparar un tampón 1 de electroforesis en gel de poliacrilamida y agarosa. El tampón TBE UltraPure 10X está disponible en botella de plástico de 1l/caja Cutitanier™ de 10l. Pruebas de rendimiento y calidad: no se ha detectado ninguna actividad de ADNasa, ARNasa ni proteasa. Embalaje sostenible. Electroforesis en gel de acrilamida, análisis & purificación de ADN & ARN, electroforesis en gel & transferencia de ácido nucleico.
3. **Tris (hidroximetil) aminometano.** 108382 Millipore. Tris (hidroximetil) aminometano GR para la sustancia tampón de análisis ACS, Reag. Ph Eur. CAS 77-86-1, EC 201-064-4, fórmula química $\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$.
4. **Ácido etilendiaminotetraacético (EDTA).** Para uso en laboratorio, investigación o fabricación. Ensayo ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 99,0 – 101,0%. Materia insoluble $\leq 0,005\%$. pH de la solución al 5% a 25°C 4.0 – 6.0. Ácido nitrilotriacético (por polarografía) $\leq 0,1\%$. Metales pesados (como Pb) $\leq 0,005\%$. Hierro (Fe) $\leq 0,01\%$. Marca: J. T. BAKER.
5. **Ácido acético (glacial) 100%.** 100063 Supelco. anhidro p.a. EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur. Sinónimos: Ethanoic acid. Nº CAS: 64-19-7 Número CE : 200-580-7 Masa molar: 60.05 g/mol Fórmula química: CH_3COOH Fórmula Hill: $\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$ Grado: ACS,ISO,Reag. Ph Eur.
6. **Preparación TAE 50X.** Para la preparación de 1000 mL se requieren 100 mL de EDTA al 0,5N a pH 8.0; 242,28 g de Tris disueltos 650 mL de agua destilada, se adiciona 57,1 mL de ácido acético y se afora hasta 1000 mL. Se deja en agitación hasta que la solución se torne trasparente y sin grumos. Nota: para corregir el pH del EDTA, para un volumen de 500 mL se adicional lentejas de NaOH (aprox 50 lentejas). Después de preparar se autoclava y se almacena hasta su uso.

Apéndice E. Imágenes de gel de electroforesis y comprobación de controles positivos.







Apéndice F. *Enterobacteriaceae*; categorías antimicrobianas y agentes utilizados para definir MDR, XDR y PDR (hoja de trabajo para categorizar aislamientos)

Tomado de: Magiorakos AP y et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012 Mar;18(3):268-81. doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x. Epub 2011 Jul 27. PMID: 21793988.

Categoría antimicrobiana	Agente antimicrobiano	Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (S o NS)	Especies con resistencia intrínseca a agentes antimicrobianos o categorías ¹
Aminoglucósidos	Gentamicina		<i>Providencia rettgeri</i> (<i>P. rettgeri</i>), <i>Providencia stuartii</i> (<i>P. stuartii</i>)
	Tobramicina		<i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
	Amikacina		
	Netilmicina		<i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
Cefalosporinas anti-MRSA	Ceftarolina (aprobada solo para <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>)		
Penicilinas antipseudomonas + inhibidores de β -lactamasa	Ticarcilina-ácido clavulánico		<i>Escherichia hermannii</i> (<i>E. hermannii</i>)
	Piperacilina-tazobactam		<i>E. hermannii</i>
Carbapenémicos	Ertapenem		
	Imipenem		
	Meropenem		
	Doripenem		
Cefalosporinas de espectro no extendido; Cefalosporinas de 1ra y 2da generación	Cefazolina		<i>Citrobacter freundii</i> (<i>C. freundii</i>), <i>Enterobacter aerogenes</i> (<i>E. aerogenes</i>), <i>Enterobacter cloacae</i> (<i>E. cloacae</i>), <i>Hafnia alvei</i> (<i>H. alvei</i>), <i>Morganella morganii</i> (<i>M. morganii</i>), <i>Proteus penneri</i> (<i>P. penneri</i>), <i>Proteus vulgaris</i> (<i>P. vulgaris</i>), <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>Serratia marcescens</i> (<i>S. marcescens</i>)
	Cefuroxima		<i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. marcescens</i>
Cefalosporinas de espectro	Cefotaxima o Ceftriaxona		

Categoría antimicrobiana	Agente antimicrobiano	Resultados de las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos (S o NS)	Especies con resistencia intrínseca a agentes antimicrobianos o categorías ¹
extendido; Cefalosporinas de 3ra y 4ta generación	Ceftazidima		
	Cefepima		
Cefamicinas	Cefoxitina		<i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i>
	Cefotetán		<i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i>
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina		
Inhibidores de la vía del folato	Trimetoprim-sulfametoxazol		
Gliciliclinas	Tigeciclina		<i>M. morganii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> (<i>P. mirabilis</i>), <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
Monobactámicos	Aztreonam		
Penicilinas	Ampicilina		<i>Citrobacter koseri</i> (<i>C. koseri</i>), <i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. hermanii</i> , <i>H. alvei</i> , <i>Klebsiellae spp.</i> , <i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>S. marcescens</i>
Penicilinas + inhibidores de β -lactamasa	Amoxicilina-ácido clavulánico		<i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i> , <i>M. morganii</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>S. marcescens</i>
	Ampicilina-sulbactam		<i>C. freundii</i> , <i>C. koseri</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>S. marcescens</i>
Fenicoles	Cloranfenicol		
Ácidos fosfónicos	Fosfomicina		
Polimixinas	Colistina		<i>M. morganii</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>S. marcescens</i>
Tetraciclinas	Tetraciclina		<i>M. morganii</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
	Doxiciclina		<i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
	Minociclina		<i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>

Criterios para definir MDR, XDR y PDR en *Enterobacteriaceae*

MDR: no sensible a ≥ 1 agente en >3 categorías antimicrobianas.

XDR: no sensible a ≥ 1 agente en todas las categorías excepto ≤ 2 .

PDR: no sensible a todos los agentes antimicrobianos enumerados.

¹ Cuando una especie tiene resistencia intrínseca a un agente antimicrobiano o a toda la categoría, ese agente o categoría debe eliminarse de la lista de esta tabla antes de aplicar los criterios para las definiciones y no debe contarse al calcular el número de agentes o categorías a las que el aislado bacteriano no es susceptible.

Apéndice G. Análisis de secuencias

Muestras de Pollo

8T-SS

Secuencia consenso

Nucleótidos

ACCTCTCGCTTCACCGGTGAGAAAGTTGAAAATAGTACATTTTTTAACTGCGATTTTTTCAGGT
 GCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGG
 GTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGG
 CAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAGGCGCA
 GATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATA
 TACTACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGC
 TGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGATCTC
 TCCGGCGGCGAGTTTTCGACTTTGACTGGCGAGCAGCAAACCTCACACATTGCGATCTGAC
 CAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTGATTACAAGGCGTTAAGTTAGACA
 GCTACCAGGCATCGTTGCT

Proteína

MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYA
 NFSKVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
 GVDLQGVKLD SYQASLLRGRRAW DGGGGX

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrB19, partial [Escherichia coli]

GenBank: AFA52649.1

>AFA52649.1:25-215 QnrB19, partial [Escherichia coli]

NRFTGEKVENSTFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLSMADFRNV SAL
 GIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVLEKCELWENRWMGTQVLGATFS
 GSDLGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASL

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRF TGEKVENSTFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNV SALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVI
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRF TGEKVENSTFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNV SALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AII G

Alineamiento con proteínas similares de referencia

8T-SS	1	-----	1
QnrB19_WP_01295..	1	MTLALVGEKIDRNRFTGKVENSTFFNCDGSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRA	60
QnrB5_WP_063866..	1	MTLALVGEKIDRNRFTGKVENSTFFNCDGSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRA	60
8T-SS	2	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	61
QnrB19_WP_01295..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5_WP_063866..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
8T-SS	62	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	121
QnrB19_WP_01295..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5_WP_063866..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
8T-SS	122	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASTI-----	144
QnrB19_WP_01295..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASTILMERLGI AIVIG	214
QnrB5_WP_063866..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASTILMERLGI AITIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 8T-SS entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 89% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 8T-SS como alguna QnrB, sin embargo nos inclinamos hacia QnrB19 like.

24R-BS**Secuencia consenso**

Nucleótidos

```
GGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATG
GCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGGCGC
AGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCAT
ATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAG
CTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGATCT
CTCCGGCGGCGAGTTTTCGACTTTCGACTGGCGAGCAGCAA ACTTCACACATTGCGATCTGA
CCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGAC
AGCTACCAGGC
```

Proteína

```
MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYA
NFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
GVDLQGVKLD SYQAST
```

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

Salmonella enterica strain FDAARGOS_717 plasmid unnamed1, complete sequence

GenBank: CP054899.1

>CP054899.1:16-464 *Salmonella enterica* strain FDAARGOS_717 plasmid unnamed1, complete sequence

GGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAAAGCTGTGATTATCAATGGCAGATTTCCGCA
 ACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAA
 TATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTCGAAA
 GTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTTACGTGGT
 TCAGATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTTCACACATTGCGATCTGACCAATT
 CGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTGATTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAGGCATC

• **Secuencias proteicas similares**

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCFDSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVI
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCFDSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIIIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

24R-BS	1	-----	1
QnrB19_WP_01295..	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCFDSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5_WP_063866..	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCFDSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
24R-BS	2	-----	61
QnrB19_WP_01295..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5_WP_063866..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
24R-BS	62	-----	121
QnrB19_WP_01295..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5_WP_063866..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
24R-BS	122	-----	143
QnrB19_WP_01295..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVI	214
QnrB5_WP_063866..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIIIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 24R-BS entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 69% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 24R-BS como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

24R-XLD

Secuencia consenso

Nucleótidos

CTTCACCGGTGAGAAAGTTGAAAATAGTACATTTTTTAACTGCGATTTTTCAGGTGCCGACCT
 GAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGAATT

TTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGGCAGATTTCCG
 CGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGGCGCAGATTTCCG
 CGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCACTA
 ATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAA
 AACCGCTGGATGGGGACTCAGGTAAGTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGATCTCTCCGGCGG
 CGAGTTTTTCGACTTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTTCACACATTGCGATCTGACCAATTCGG
 AGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAG
 GCATCGTTGCTCATGGAGCGGCTTGGCATCG

Proteína

MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYA
 NFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
 GVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

Salmonella entérica strain FDAARGOS_717 plasmid unnamed1, complete sequence

GenBank: CP054899.1

>CP054899.1:16-464 Salmonella enterica strain FDAARGOS_717 plasmid unnamed1, complete
 sequence

GGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAAT
 GGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGGCGC
 CAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCA
 TATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGA
 GCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTAAGTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGAT
 CTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTTCACACATTGCGATCT
 GACCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAG
 ACAGCTACCAGGCATC

- **Secuencias proteicas similares**

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI
 VI
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI
 AIIIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

24R-XLD	1	-----	1
QnrB19 WP_01295..	1	MTLALVGEKIDRNRFTGKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRA	60
QnrB5_WP_063866..	1	MTLALVGEKIDRNRFTGKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRA	60
24R-XLD	2	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	61
QnrB19 WP_01295..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5_WP_063866..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
24R-XLD	62	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	121
QnrB19 WP_01295..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5_WP_063866..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
24R-XLD	122	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGT----	151
QnrB19 WP_01295..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGTAVIG	214
QnrB5_WP_063866..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGTAVIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 24R-XLD entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 91% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 24R-XLD como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

24T-XLD**Secuencia consenso**

Nucleótidos

```
GTACATTTTTTAACTGCGATTTTTTCAGGTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCC
AGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCC
ATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGA
AATTCGCCACTGCCGCGCACAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCA
CCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTT
CGAAAGTCGTGTTGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTACT
GGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGATCTCTCCGCGCGGAGTTTTCGACTTTCGACTGGCGAG
CAGCAAATTCACACATTGCGATCTGACCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGT
GTTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCA
```

Proteína

```
MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYA
NFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
CVDLQGVK
```

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrB19 Quinolone resistance protein (plasmid) [*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Infantis*] GenBank: ADI46176.1

>ADI46176.1:34-207

NSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRA
 QGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEF
 STFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVK

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDNRNFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A VI
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDNRNFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A IIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

24T-XLD	1	-----	1
QnrB19 WP_01295..	1	MTLALVGEKIDNRNFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5_WP_063866..	1	MTLALVGEKIDNRNFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
24T-XLD	2	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	61
QnrB19 WP_01295..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5_WP_063866..	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
24T-XLD	62	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	121
QnrB19 WP_01295..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5_WP_063866..	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
24T-XLD	122	LGDLDIRGVDLQGVKLD SY-----	140
QnrB19 WP_01295..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A VI G	214
QnrB5_WP_063866..	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A IIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 24T-XLD entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 82% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 24T-XLD como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

24R-HE

Secuencia consenso

Nucleótidos

GTACATTTTTTAACTGCGATTTTTTCAGGTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCC
 AGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCC
 ATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGA
 AATTCGCCACTGCCGCGCACAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCA

CCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTT
 CGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTACT
 GGGTGCACGTTTCAGTGGTTCAGATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTCGACTGGCGAG
 CAGCAAACCTTCACACATTGCGATCTGACCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGT
 GTTGATTTACAAGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAGGCAT

Proteína

MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYA
 NFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
 GVDLQGVKLD SYQA

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrB19, partial [Escherichia coli]

GenBank: AFA52649.1

>AFA52649.1:35-213 QnrB19, partial [Escherichia coli]

STFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQ
 GADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLGGEF
 STFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQA

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A V I
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A I I G

Alineamiento con proteínas similares de referencia

24R-HE	1	-----	1
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRA	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCD FSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRA	60
24R-HE	2	-----	61
QnrB19	61	MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5	61	MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
24R-HE	62	-----	121
QnrB19	121	LYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5	121	LYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
24R-HE	122	-----	142
QnrB19	181	GGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A V I G	214
QnrB5	181	GGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI A I I G	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 24R-HE entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el

Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 83% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 24R-HE como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

17T-BS

Secuencia consenso

Nucleótidos

```
CGAAAAATTGACAGAAATCGCTTCACCGGTGAGAAAGTTGAAAATAGTACATTTTTTAACTG
CGATTTTTTCAGGTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCCAGTTCTATGATCGCG
AAAGTCAGAAAGGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGT
GATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCG
CGCACAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGT
TTTGCAGCGCATATACACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTCGAAAGTCGTGTTGG
AAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTTCAG
TGGTTCAGATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTTCACAC
ATTGCGATCTGACCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTGATTTACAAGGC
GTTAAGTTAGACAGCTACCAGGCATCGTTGCTCATGGAGCGGCTTGGTATCGCTAGG
```

Proteína

```
MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYA
NFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
GVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGIA
```

BLAST

Secuencia con Máxima similitud

QnrB19 Quinolone resistance protein (plasmid) [*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Infantis*] GenBank: ADI46176.1

```
>ADI46176.1:21-223 quinolone resistance protein (plasmid) [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Infantis]
KIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLSMADFRN
VSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLG
ATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGIA
```

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

```
MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGI
G
```

>QnrB5 WP_063866143.1

```
MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGI
IIG
```

Alineamiento con proteínas similares de referencia

17T-B5	1	-----	1
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
17T-B5	2	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	61
QnrB19	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
17T-B5	62	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	121
QnrB19	121	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5	121	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
17T-B5	122	LGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLGI---	152
QnrB19	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLGIIVIG	214
QnrB5	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLGIIVIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 17T-B5 entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 95% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 17T-B5 como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

48T-XLD**Secuencia consenso****Nucleótidos**

ATGACTCTGGCATTAGTTGGCGAAAAAATTGACAGAAATCGCTTCACCGGTGAGAAAGTTGAAAATAG
TACATTTTTTAACTGCGATTTTTTCAGGTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCCAGTTCTA
TGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCT
GTGATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCAC
AAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCA
TATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGG
GAAAACCGCTGGATGGGACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTTCACTGATCTCTCCGGCGGCGA
GTTTTCGACTTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTCACACATTGCGATCTGACCAATTCGGAGTTAGGTG
ACTTAGATATTCGGGTGTTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAGGCATCGTTGCTCATG
GAGCGGCTTGGC

Proteína

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELVENRWM
GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLG

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrB19, partial [Escherichia coli]

GenBank: AFA52649.1

>AFA52649.1:35-213 QnrB19, partial [Escherichia coli]

STFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQ

GADFRGASFMNMITTRTWFCSA YITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSSGGEFS
TFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQA

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCSA YITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWM
GTQVLGATFSGSDLSSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGI A VI
G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCSA YITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWM
GTQVLGATFSGSDLSSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGI A IIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

48T-XLD	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS	60
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS	60

48T-XLD	61	MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCSA YITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWM	120
QnrB19	61	MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCSA YITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWM	120
QnrB5	61	MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCSA YITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWM	120

48T-XLD	121	GTQVLGATFSGSDLSSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGI	180
QnrB19	121	GTQVLGATFSGSDLSSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGI	180
QnrB5	121	GTQVLGATFSGSDLSSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLDYSYQASLLMERLGI	180

48T-XLD	181	QASLLMERLGI A VI G	209
QnrB19	181	QASLLMERLGI A VI G	214
QnrB5	181	QASLLMERLGI A IIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 48T-XLD entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 97% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 48T-XLD como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

17T-XLD

Secuencia consenso

Nucleótidos

CCATTACTGTATAAAAACACAGGCATAGATATGACTCTGGCATTAGTTGGCGAAAAAATTGA
CAGAAATCGCTTACCCGGTGAGAAAGTTGAAAATAGTACATTTTTTAACTGCGATTTTTTTCAG
GTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAA
GGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAAT
GGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAGGCG

CAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCA
 TATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGA
 GCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGAT
 CTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTTCACACATTGCGATCT
 GACCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAG
 ACAGCTACCAGGCATCGTTGCTCATGGAGCGGCTTGGCAT

Proteína

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAI
 FKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVV
 LEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQ
 VKLDSYQASLLMERLG

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

Salmonella enterica subsp. enterica serovar Berta qnrB gene for quinolone resistance pentapeptide repeat protein QnrB5, complete CDS

NG_050513.1

>NG_050513.1:7-665 Salmonella enterica subsp. enterica serovar Berta qnrB gene for quinolone resistance pentapeptide repeat protein QnrB5, complete CDS

CCATTACTGTATAAAAACACAGGCATAGATATGACTCTGGCATTAGTTGGCGAAAAAATTGACAG
 AAATCGCTTACCGGTGAGAAAAGTTGAAAATAGTACATTTTTTAACTGCGATTTTTTCAGGTGCCGA
 CCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGCAATTT
 TAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAA
 CGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAA
 GCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCACTAATACTAATCTAA
 GCTACGCCAATTTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGG
 ACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTCGAC
 TGGCGAGCAGCAAACCTTCACACATTGCGATCTGACCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGG
 GGTGTTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAG
 GCATCGTTGCTCATGGAGCGGCTTGGCAT

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSC
 DLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELW
 ENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLL
 MERLGIIVIG

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSC
 DLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELW
 ENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLL
 MERLGIIVIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

17T-XLD	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60

17T-XLD	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB19	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120

17T-XLD	121	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB19	121	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5	121	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180

17T-XLD	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLG-----	209
QnrB19	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIVIG	214
QnrB5	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIIIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 17T-XLD entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 93% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 17T-XLD como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

40T-SS

Secuencia consenso

Nucleótidos

```
CGTCATTACTGTATAAAAACACAGGCATAGATATGACTCTGGCATTAGTTGGCGAAAAAATT
GACAGAAATCGCTTACCCGGTGAGAAAGTTGAAAATAGTACATTTTTTAACTGCGATTTTTC
AGGTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGGCTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGA
AAGGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCA
ATGGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGG
CGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCG
CATATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCAATTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGT
GAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCAGGTAAGTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAG
ATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTCACACATTGCGAT
CTGACCAATTCGGAGTTAGGTGACTTAGATATTCGGGGTGTGATTTACAAGGCGTTAAGTT
AGACAGCTACCAGGCATCGTTGCTCATGGAGCGGCTTGGCATCG
```

Proteína

```
MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAI
FKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVV
LEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGV
KLD SYQASLLMERLGI
```

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

Quinolone resistance protein QnrB19(plasmid) [*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Infantis*]

>ADI46176.1:3-222 quinolone resistance protein (plasmid) [*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Infantis*]
 SLLYKNTGIDMTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM

LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVV
LEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLD SY
Q
ASLLMERLGI

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVI
G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIIIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

40T-SS	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60

40T-SS	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB19	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120

40T-SS	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLINSE	180
QnrB19	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLINSE	180
QnrB5	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLINSE	180

40T-SS	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLD SYQASLLMERLGI ----	210
QnrB19	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVIG	214
QnrB5	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIIIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 40T-SS entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 93% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 40T-SS como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

40R-XLD

Secuencia consenso

Nucleótidos

TGACTCTGGCATTAGTTGGCGAAAAAATTGACAGAAATCGCTTCACCGGTGAGAAAGTTGA
 AAATAGTACATTTTTTAACTGCGATTTTTTCAGGTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGG
 CTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGCAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAG
 ATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGC
 ATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATAT
 GATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCTACTAATACTAATCTAAGCTACGCCA
 ATTTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCA
 GGTACTGGGTGCGACGTTTCAGTGGTTCAGATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTTCGACT
 GGCGAGCAGCAAACCTTCACACATTGCGATCTGACCAATTCCGAGTTAGGTGACTTAGATATT
 CGGGGTGTTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAGGCATCG

Proteína

MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYA
 NFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
 GVDLQGVKLD SYQAS

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrB19, partial [Escherichia coli]

2 GenBank: AFA52649.1

>AFA52649.1:14-214 QnrB19, partial [Escherichia coli]

TLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDL
 SMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRW
 MGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQAS

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVI
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

40R-XLD	1	-----	1
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
40R-XLD	2	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	61
QnrB19	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
40R-XLD	62	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLGSGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	121
QnrB19	121	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLGSGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5	121	LSYANFSKVVLEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLGSGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
40R-XLD	122	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQAS-----	143
QnrB19	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASILMERLGI AIVIG	214
QnrB5	181	LGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASILMERLGI AITIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 40R-XLD entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 94% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 40R-XLD como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

23R-SS

Secuencia consenso

Nucleótidos

GGCATAGATATGACTCTGGCATTAGTTGGCGAAAAAATTGACAGAAATCGCTTCACCGGTGA
 GAAAGTTGAAAATAGTACATTTTTTAACTGCGATTTTTTCAGGTGCCGACCTGAGCGGCACTG
 AATTTATCGGCTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGCAATTTTAGTCGCGCA
 ATGCTGAAAGATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAACGTCAG
 TGCCTTGGGCATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCT
 TTATGAATATGATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCACTAATACTAATCTA
 AGCTACGCCAATTTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGAT
 GGGGACTCAGGTACTGGGTGCGACGTTCAAGTGGTTCAGATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTCGA
 CTTTCGACTGGCGAGCAGCAAACCTCACACATTGCGATCTGACCAATTCGGAGTTAGGTGAC
 TTAGATATTCGGGGTGTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAGGCATCGTTGCT

Proteína

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAI
 FKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKVV
 LEKCELVENRWMGTQVLGATFSGSDLGSGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGV
 KLD SYQASL

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrB19 quinolone resistance protein (plasmid) [Salmonella enterica subsp. enterica serovar Infantis]

GenBank: ADI46176.1

>ADI46176.1:10-215

GIDMTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFK
 SCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELW
 ENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASL

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLGIAVI
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTNLSYANFSKVVLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLGIAG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

23R-SS	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTGEKVENSTFFNCDVSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60

23R-SS	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTN	120
QnrB19	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTN	120
QnrB5	61	LKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFCAYITNTN	120

23R-SS	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB19	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180
QnrB5	121	LSYANFSKVVLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGSDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSE	180

23R-SS	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASL-----	203
QnrB19	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLGIAVIG	214
QnrB5	181	LGDLDIRGVLDLQGVKLDYQASLLMERLGIAG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPAS y del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 23R-SS entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 93% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 23R-SS como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

24R-SS

Secuencia consenso

Nucleótidos

TGACTCTGGCATTAGTTGGCGAAAAAATTGACAGAAATCGCTTCACCGGTGAGAAAGTTGA
 AAATAGTACATTTTTTAAGTGGGATTTTTTCAGGTGCCGACCTGAGCGGCACTGAATTTATCGG
 CTGCCAGTTCTATGATCGCGAAAGTCAGAAAGGGTGAATTTTAGTCGCGCAATGCTGAAAG
 ATGCCATTTTCAAAGCTGTGATTTATCAATGGCAGATTTCCGCAACGTCAGTGCCTTGGGC
 ATTGAAATTCGCCACTGCCGCGCACAAGGCGCAGATTTCCGCGGTGCAAGCTTTATGAATAT

GATCACCACGCGCACCTGGTTTTGCAGCGCATATATCACTAATACTAATCTAAGCTACGCCA
 ATTTTTTCGAAAGTCGTGTTGGAAAAGTGTGAGCTGTGGGAAAACCGCTGGATGGGGACTCA
 GGTA CTGGGTGCGACGTT CAGTGGTTCAGATCTCTCCGGCGGCGAGTTTTTCGACTTTTCGACT
 GGCGAGCAGCAA ACTTCACACATTGCGATCTGACCAATTCCGGAGTTAGGTGACTTAGATATT
 CGGGGTGTTGATTTACAAGGCGTTAAGTTAGACAGCTACCAGGCATCGTTG

Proteína

MLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYA
 NFSKV VLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIR
 GVDLQGVKLD SYQASL

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrB19, partial [Escherichia coli]

GenBank: AFA52649.1

>AFA52649.1:35-213 QnrB19, partial [Escherichia coli]

STFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQ
 GADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGDLSGGEFS
 TFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQA

Secuencias proteicas similares

>QnrB19 WP_012954666.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVI
 G

>QnrB5 WP_063866143.1

MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAMLKDAIFKSCDLS
 MADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTNLSYANFSKV VLEKCELWENRWM
 GTQVLGATFSGDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSELGDLDIRGVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIIIG

Alineamiento con proteínas similares de referencia

24R-88	1	-----	1
QnrB19	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
QnrB5	1	MTLALVGEKIDRNRFTEKVENSTFFNCDFSGADLSGTEFIGCQFYDRESQKGCNFSRAM	60
24R-88	2	-----	61
QnrB19	61	LDATFFSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
QnrB5	61	LDATFFSCDLSMADFRNVSALGIEIRHCRAQGADFRGASFMNMITTRTWFC SAYITNTN	120
24R-88	62	-----	121
QnrB19	121	LYANFSKV VLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSEL	180
QnrB5	121	LYANFSKV VLEKCELWENRWMGTQVLGATFSGDLSGGEFSTFDWRAANFTHCDLTNSEL	180
24R-88	122	-----	144
QnrB19	181	GVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AVIG	214
QnrB5	181	GVDLQGVKLD SYQASLLMERLGI AIIIG	214

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExpPAS y del Bioinformatics Resource

Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 24R-SS entre QnrB19 y QnrB5 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Además, mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de dos secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 94% frente a QnrB19 y QnrB5, por lo cual no se pudo determinar el amplicon 24R-SS como alguna QnrB, sin embargo, nos inclinamos hacia QnrB19 like.

Muestras de Cerdo

52T-HE

Secuencia consenso

Nucleótidos

```
CAGCAAGAGGATTTCTCACGCCAGGATTTGAGCGACAGCCGTTTTTCGCCGCTGCCGCTTTTA
TCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGATGCCAGTTTTCGAGGATTGCAGTTTCATTG
AAAGCGGCGCCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGCTATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAG
GCCTGCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGCGGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTTCAGGGA
GTGCGATCTCAAGGGCGCCAATTTTTCCCGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAGA
TGACTTCTGCTCGGCTTATATCTCAGGCTGTAACCTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAAT
GCCTGGAAAAGTGCGAGCTGTTTGAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTC
CTTGATGGGCTCCGACCTCAGCCACGGCACCTTCTCCCGCGACTGCTGGCAACAGGTAAACC
TGCGGGGCTGTGACCTGACCTTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTC
GAAGGGGTCAAGATCTGTGCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAACCCTTGGGAGTCATAG
TGCTGCG
```

Proteína

```
MYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNL
RGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIVL
```

BLAST

Secuencia con Máxima similitud

Quinolone resistance pentapeptide repeat protein QnrA7 [Shewanella algae]

WP_025888029.1

>WP_025888029.1:9-216 quinolone resistance pentapeptide repeat protein QnrA7 [Shewanella algae]

```
QQEDFSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFSYADLRDASFKACRLSLANFS
GANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSG
ASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIVL
```

Secuencias proteicas similares

>QnrA6_WP_020442395.1 MULTISPECIES: [Enterobacterales]

```
MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAIEGCHFSYADLRDASFKACR
LSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWS
SNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVI
VLPD
```

>QnrA7_WP_025888029.1[Shewanella algae]

```
MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFSYADLRDASFKAC
RLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENN
```

WSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLG
VIVLPD

Alineamiento con proteínas similares de referencia

52T-HE	1	-----	0
QnrA7_WP_025888..	1	MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRCRFYQCFDSSHQQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFS	60
QnrA6_WP_020442..	1	MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRCRFYQCFDSSHQQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFS	60
52T-HE	1	-----MYFCSAYIS	9
QnrA7_WP_025888..	61	YADLRDASFKAQRLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYIS	120
QnrA6_WP_020442..	61	YADLRDASFKAQRLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYIS	120

52T-HE	10	GCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLT	69
QnrA7_WP_025888..	121	GCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLT	180
QnrA6_WP_020442..	121	GCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLT	180

52T-HE	70	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIVL--	105
QnrA7_WP_025888..	181	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIVLPD	218
QnrA6_WP_020442..	181	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIVLPD	218

Alineamiento de las secuencias de nucleótidos

52T-HE	1	-----CAGCAAGAGGATTTCTCAGCCAGGATTTGAGCGAC	36
QnrA7_NG_050468.1	1	ATGGATATTATTGATAAAGTTTTTTCAGCAAGAGGATTTCTCAGCCAGGATTTGAGCGAC	60
QnrA6_NG_050467.1	1	ATGGATATTATTGATAAAGTTTTTTCAGCAAGAGGATTTCTCAGCCAGGATTTGAGCGAC	60
-----TTT			
52T-HE	37	AGCCGTTTTGCGCGCTGCCGCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	96
QnrA7_NG_050468.1	61	AGCCGTTTTGCGCGCTGCCGCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	120
QnrA6_NG_050467.1	61	AGCCGTTTTGCGCGCTGCCGCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	120
-----TTT			
52T-HE	97	GCCAGTTTCGAGGATTGCAGTTCATTGAAAAGCGGCGCC--TCGAAGGGTGCCACTTCAGC	156
QnrA7_NG_050468.1	121	GCCAGTTTCGAGGATTGCAGTTCATTGAAAAGCGGCGCC--TCGAAGGGTGCCACTTCAGC	180
QnrA6_NG_050467.1	121	GCCAGTTTCGAGGATTGCAGTTCATTGAAAAGCGGCGCC--TCGAAGGGTGCCACTTCAGC	180
-----TTT			
52T-HE	157	TATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAGGCCTGCCGCCTGTCTTTGGCCAAATTCAGC	216
QnrA7_NG_050468.1	181	TATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAGGCCTGCCGCCTGTCTTTGGCCAAATTCAGC	240
QnrA6_NG_050467.1	181	TATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAGGCCTGCCGCCTGTCTTTGGCCAAATTCAGC	240
-----TTT			
52T-HE	217	GGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTTCAAGGAGTGCATCTCAAGGGCGCCAAATTTTCC	276
QnrA7_NG_050468.1	241	GGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTTCAAGGAGTGCATCTCAAGGGCGCCAAATTTTCC	300
QnrA6_NG_050467.1	241	GGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTTCAAGGAGTGCATCTCAAGGGCGCCAAATTTTCC	300
-----TTT			
52T-HE	277	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATATCTCA	336
QnrA7_NG_050468.1	301	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATATCTCA	360
QnrA6_NG_050467.1	301	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATATCTCA	360
-----TTT			
52T-HE	337	GGCTGTAACTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTGCAGACTGTTT	396
QnrA7_NG_050468.1	361	GGCTGTAACTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTGCAGACTGTTT	420
QnrA6_NG_050467.1	361	GGCTGTAACTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTGCAGACTGTTT	420
-----TTT			
52T-HE	397	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	456
QnrA7_NG_050468.1	421	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	480
QnrA6_NG_050467.1	421	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	480
-----TTT			
52T-HE	457	CACGGCACCTTCTCCCGCAGTCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	516
QnrA7_NG_050468.1	481	CACGGCACCTTCTCCCGCAGTCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	540
QnrA6_NG_050467.1	481	CACGGCACCTTCTCCCGCAGTCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	540
-----TTT			
52T-HE	517	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGGGTCAAGATCTGT	576
QnrA7_NG_050468.1	541	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGGGTCAAGATCTGT	600
QnrA6_NG_050467.1	541	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGGGTCAAGATCTGT	600
-----TTT			
52T-HE	577	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAAACCTTGGGAGTCAATAGTCTGCG-----	626
QnrA7_NG_050468.1	601	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAAACCTTGGGAGTCAATAGTCTGCGCGGATTAG	657
QnrA6_NG_050467.1	601	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAAACCTTGGGAGTCAATAGTCTGCGCGGATTAG	657
-----TTT			

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 52T-HE entre QnrA6 y QnrA7 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Se realizó un alineamiento de la secuencia consenso de nucleótidos y las secuencias de referencia de QnrA6 y QnrA7 en Uniprot, permitiendo observar una mayor similitud en 3 bases nitrogenadas con QnrA7, por lo cual se determinó el amplicon 52T-HE como QnrA7 like.

Mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de 2 secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 95% frente a QnrA6 y 95% Frente a QnrA7.

44T-HE

Secuencia consenso

Nucleótidos

```
AAGAGGATTTCTCACGCCAGGATTTGAGCGACAGCCGTTTTTCGCCGCTGCCGCTTTTATCAG
TGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGATGCCAGTTTTTCGAGGATTGCAGTTTCATTGAAAG
CGGCGCCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGCTATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAGGCCT
GCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGCGGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTCAGGGAGTGC
GATCTCAAGGGCGCCAATTTTTCCCGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAGATGTA
CTTCTGCTCGGCTTATATCTCAGGCTGTAACCTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCT
GGAAAAGTGCAGCTGTTTGGAAAACAAGTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTG
ATGGGCTCCGACCTCAGCCACGGCACCTTCTCCCGCGACTGCTGGCAACAGGTAAACCTGCG
GGGCTGTGACCTGACCTTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTCGAAG
GGGTCAAGATCTGTGCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAACCCTTGGGAGTCATAGTGC
```

Proteína

```
MYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNL
RGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLEPLGVIV
```

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

QnrA7 Quinolone resistance pentapeptide repeat protein[*Shewanella* algae]

```
>WP_025888029.1:11-215 quinolone resistance pentapeptide repeat protein QnrA7 [Shewanella algae]
EDFSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFSYADLRDASFKACRLSLANFS
GANCFGIEFRECCLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLS
GASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLEPLGVIV
```

Secuencias proteicas similares

```
>QnrA6_WP_020442395.1 MULTISPECIES: [Enterobacterales]
MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAIEGCHFSYADLRDASFKACR
LSLANFSGANCFGIEFRECCLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWS
SNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLEPLGVI
VLPD
```

```
>QnrA7_WP_025888029.1[Shewanella algae]
```

MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFSYADLRDASFAC
 RLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELLFENN
 WSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLG
 VIVLPD

Alineamiento con proteínas similares de referencia

44T-HE	1	-----	0
QnrA6_WP_020442..	1	MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFS	60
QnrA7_WP_025888..	1	MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFS	60
44T-HE	1	-----MYFCSAYIS	9
QnrA6_WP_020442..	61	YADLRDASFACRLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYIS	120
QnrA7_WP_025888..	61	YADLRDASFACRLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYIS	120

44T-HE	10	GCNLAYANLSGQCLEKCELLFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLT	69
QnrA6_WP_020442..	121	GCNLAYANLSGQCLEKCELLFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLT	180
QnrA7_WP_025888..	121	GCNLAYANLSGQCLEKCELLFENNWSNANLSGASLMGSDLSHGTFSRDCWQQVNLRGCDLT	180

44T-HE	70	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIV---	104
QnrA6_WP_020442..	181	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIVLPD	218
QnrA7_WP_025888..	181	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLGVIVLPD	218

Alineamiento de las secuencias de nucleótidos

44T-HE	1	-----AAGAGGATTTCTCACGCCAGGATTTGAGCGAC	32
QnrA6_WP_020442..	1	ATGGATATTATTGATAAAGTTTTTCAGCAAGAGGATTTCTCACGCCAGGATTTGAGTGC	60
QnrA7_WP_025888..	1	ATGGATATTATTGATAAAGTTTTTCAGCAAGAGGATTTCTCACGCCAGGATTTGAGCGAC	60

44T-HE	33	AGCCGTTTTGCGCGCTGCGCCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	92
QnrA6_WP_020442..	61	AGCCGTTTTGCGCGCTGCGCCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	120
QnrA7_WP_025888..	61	AGCCGTTTTGCGCGCTGCGCCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	120

44T-HE	93	GCCAGTTTCGAGGATTGCAGTTTCATTGAAAGCGCGCCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGC	152
QnrA6_WP_020442..	121	GCCAGTTTCGAGGATTGCAGTTTCATTGAAAGCGCGCCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGC	180
QnrA7_WP_025888..	121	GCCAGTTTCGAGGATTGCAGTTTCATTGAAAGCGCGCCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGC	180

44T-HE	153	TATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAGGCCTGCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGC	212
QnrA6_WP_020442..	181	TATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAGGCCTGCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGC	240
QnrA7_WP_025888..	181	TATGCCGATCTGCGCGATGCCAGTTTCAAGGCCTGCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGC	240

44T-HE	213	GGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTTCAGGGAGTCCGATCTCAAGGCGCCAAATTTTTC	272
QnrA6_WP_020442..	241	GGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTTCAGGGAGTCCGATCTCAAGGCGCCAAATTTTTC	300
QnrA7_WP_025888..	241	GGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTTCAGGGAGTCCGATCTCAAGGCGCCAAATTTTTC	300

44T-HE	273	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATACTCA	332
QnrA6_WP_020442..	301	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATACTCA	360
QnrA7_WP_025888..	301	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATACTCA	360

44T-HE	333	GGCTGTAACTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTCCGAGCTGTTT	392
QnrA6_WP_020442..	361	GGCTGTAACTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTCCGAGCTGTTT	420
QnrA7_WP_025888..	361	GGCTGTAACTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTCCGAGCTGTTT	420

44T-HE	393	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	452
QnrA6_WP_020442..	421	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	480
QnrA7_WP_025888..	421	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	480

44T-HE	453	CACGGCACCTTCTCCCGGACTGCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	512
QnrA6_WP_020442..	481	CACGGCACCTTCTCCCGGACTGCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	540
QnrA7_WP_025888..	481	CACGGCACCTTCTCCCGGACTGCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	540

44T-HE	513	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGGGTCAAGATCTGT	572
QnrA6_WP_020442..	541	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGGGTCAAGATCTGT	600
QnrA7_WP_025888..	541	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGACCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGGGTCAAGATCTGT	600

44T-HE	573	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAACCCCTTGGGAGTCAATAGTGC-----	618
QnrA6_WP_020442..	601	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAACCCCTTGGGAGTCAATAGTGTGCCGATTAG	657
QnrA7_WP_025888..	601	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAACCCCTTGGGAGTCAATAGTGTGCCGATTAG	657

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 44T-HE entre QnrA6 y QnrA7 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Sin embargo, se realizó un alineamiento de la secuencia consenso de nucleótidos y las secuencias de referencia de QnrA6 y QnrA7 en Uniprot, permitiendo observar una mayor similitud en 3 bases nitrogenadas con QnrA7.

Mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de 2 secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 94% frente a QnrA7 y 93% Frente a QnrA6, por lo cual se determinó el amplicon 44T-HE como QnrA7.

85T-HE**Secuencia consenso**

Nucleótidos

```
TTTCTCACGCCAGGATTTGAGTGACAGCCGTTTTTCGCCGCTGCCGCTTTTATCAGTGTGACTT
CAGCCATTGCCAGCTAAGGGATGCCAGTTTCGAGGATTGCAGTTTCATTGAAAGCGGCGCCG
TCGAAGGGTGCCACTTCAGCTATGCCGATCTGCGCGATGCAAGTTTCAAGGCCTGCCGCCTG
TCTTTGGCCAATTTTCAGCGGTGCCAACTGCTTTGGCATAGAGTTCAGGGAGTGCATCTCAA
GGGCGCCAATTTTTCCCGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAGATGTACTTCTGCTC
GGCTTATATCTCAGGCTGTAACCTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGT
GCGAGCTGTTTAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTGATGGGCTCC
GACCTCAGCCGCGGCACCTTCTCCCGCGACTGCTGGCAACAGGTAAACCTGCGGGGCTGTGA
CCTGACCTTTGCCGATCTGGATGGGCTCGATCCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGCGTCAAGA
TCTGTGCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAAC
```

Proteína

```
MYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSRGTFSRDCWQQVNL
RGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLE
```

BLAST

- Secuencia con Máxima similitud

MULTISPECIES: quinolone resistance pentapeptide repeat protein QnrA3 [Gammaproteobacteria]
WP_024266192.1

```
FSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFSYADLRDASFKACRLSLANFSGA
NCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGA
SLMGSDLSRGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLE
```

Secuencias proteicas similares

>QnrA3 WP_024266192.1

```
MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGCHFSYADLRDASFKAC
RLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENN
WSNANLSGASLMGSDLSRGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLLEPLG
VIVLPD
```

>QnrA10 WP_044735234.1

```
MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRRCRFYQCDFSHCQLRDACFEDCSFIESGAVEGCHFSYADLRDASFKAC
```

RLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYISGCNLAYANLSGQCLEKCELFENN
WSNANLSGASLMGSDLSRGTFSRDCWQQVNLRGCDLTFADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLEPLG
VIVLPD

Alineamiento con proteínas similares de referencia

85T-HE	1	-----	0
QnrA3_WF_024266..	1	MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRCRFYQCDFSHCQLRDASFEDCSFIESGAVEGGCHFS	60
QnrA10_WF_04473..	1	MDIIDKVFQQEDFSRQDLSDSRFRRCRFYQCDFSHCQLRDACFEDCSFIESGAVEGGCHFS	60
85T-HE	1	-----MYFCSAYIS	9
QnrA3_WF_024266..	61	YADLRDASFKACRLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYIS	120
QnrA10_WF_04473..	61	YADLRDASFKACRLSLANFSGANCFGIEFRECDLKGANFSRARFYNQISHKMYFCSAYIS	120
85T-HE	10	GCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSRGTFSRDCWQQVNLRGCDLI	69
QnrA3_WF_024266..	121	GCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSRGTFSRDCWQQVNLRGCDLI	180
QnrA10_WF_04473..	121	GCNLAYANLSGQCLEKCELFENNWSNANLSGASLMGSDLSRGTFSRDCWQQVNLRGCDLI	180
85T-HE	70	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLE-----	98
QnrA3_WF_024266..	181	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLEPLGVIVLPD	218
QnrA10_WF_04473..	181	FADLDGLDPRRVNLEGVKICAWQQEQLEPLGVIVLPD	218

Alineamiento de las secuencias de nucleótidos

85T-HE	1	-----TTTCTCAGCCAGGATTTGAGTGAC	25
QnrA3_NG_050464.1	1	ATGGATATTATTGATAAAGTTTTTCAGCAAGAGGATTTCTCAGCCAGGATTTGAGTGAC	60
QnrA10_NG_06804..	1	ATGGATATTATTGATAAAGTTTTTCAGCAAGAGGATTTCTCAGCCAGGATTTGAGTGAC	60
85T-HE	26	AGCCGTTTTTCGCCGCTGCCGCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	85
QnrA3_NG_050464.1	61	AGCCGTTTTTCGCCGCTGCCGCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	120
QnrA10_NG_06804..	61	AGCCGTTTTTCGCCGCTGCCGCTTTTATCAGTGTGACTTCAGCCATTGCCAGCTAAGGGAT	120
85T-HE	86	GCCAGTTTCGAGGATTCAGTTTCATTGAAAGCGGCGCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGC	145
QnrA3_NG_050464.1	121	GCCAGTTTCGAGGATTCAGTTTCATTGAAAGCGGCGCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGC	180
QnrA10_NG_06804..	121	GCCAGTTTCGAGGATTCAGTTTCATTGAAAGCGGCGCGTCGAAGGGTGCCACTTCAGC	180
85T-HE	146	TATGCCGATCTGCCGATGCAAGTTTCAAGGCCCTGCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGC	205
QnrA3_NG_050464.1	181	TATGCCGATCTGCCGATGCAAGTTTCAAGGCCCTGCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGC	240
QnrA10_NG_06804..	181	TATGCCGATCTGCCGATGCAAGTTTCAAGGCCCTGCCGCTGTCTTTGGCCAATTTTCAGC	240
85T-HE	206	GGTGCCAACTGCTTTGGCAAGSAGTTTCAGGGAGTGCAGTCTCAAGGGCGCCAATTTTTCC	265
QnrA3_NG_050464.1	241	GGTGCCAACTGCTTTGGCAAGSAGTTTCAGGGAGTGCAGTCTCAAGGGCGCCAATTTTTCC	300
QnrA10_NG_06804..	241	GGTGCCAACTGCTTTGGCAAGSAGTTTCAGGGAGTGCAGTCTCAAGGGCGCCAATTTTTCC	300
85T-HE	266	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATATCTCA	325
QnrA3_NG_050464.1	301	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATATCTCA	360
QnrA10_NG_06804..	301	CGGGCCCGTTTTTACAATCAAATCAGCCATAAGATGTACTTCTGCTCGGCTTATATCTCA	360
85T-HE	326	GGCTGCAACCTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTGGGAGCTGTTT	385
QnrA3_NG_050464.1	361	GGCTGCAACCTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTGGGAGCTGTTT	420
QnrA10_NG_06804..	361	GGCTGCAACCTGGCCTATGCCAATTTGAGCGGCCAATGCCTGGAAAAGTGGGAGCTGTTT	420
85T-HE	386	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	445
QnrA3_NG_050464.1	421	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	480
QnrA10_NG_06804..	421	GAAAACAACCTGGAGCAATGCCAACCTCAGCGGCGCTTCCTTGATGGGCTCCGACCTCAGC	480
85T-HE	446	CGCGGCACCTTCTCCCGGACTGCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	505
QnrA3_NG_050464.1	481	CGCGGCACCTTCTCCCGGACTGCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	540
QnrA10_NG_06804..	481	CGCGGCACCTTCTCCCGGACTGCTGGCAACAGGTAACCTGCGGGGCTGTGACCTGACC	540
85T-HE	506	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGATCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGCCTCAGATCTGT	565
QnrA3_NG_050464.1	541	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGATCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGCCTCAGATCTGT	600
QnrA10_NG_06804..	541	TTTGCCGATCTGGATGGGCTCGATCCAGACGGGTCAACCTCGAAGGCCTCAGATCTGT	600
85T-HE	566	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAAAC-----	593
QnrA3_NG_050464.1	601	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAAACCTTGGGAGTCATAGTCTGCCGGATTAG	657
QnrA10_NG_06804..	601	GCCTGGCAGCAGGAGCAACTGCTGGAAACCTTGGGAGTCATAGTCTGCCGGATTAG	657

Conclusión

A partir de las secuencias proteicas traducidas con la herramienta ExPASy del Bioinformatics Resource Portal, No fue posible diferenciar la secuencia 85T-HE entre QnrA3 y QnrA10 debido a que el tamaño de la secuencia no lo permite.

Sin embargo, se realizó un alineamiento de la secuencia consenso de nucleótidos y las secuencias de referencia de QnrA3 y QnrA10 en Uniprot, permitiendo observar una mayor similitud con QnrA3 donde tan solo discrepan en 4 nucleótidos mientras que con QnrA10 discrepan en 7 nucleotidos.

Mediante el Global Align del NIH el cual permite la comparación de 2 secuencias nucleotídicas, se realizó la comparación entre la secuencia consenso y las secuencias de referencia disponibles en el Reference Gene Catalog, dando un porcentaje de identidad de 90% frente a QnrA3 y 89% Frente a QnrA10, por lo cual se determinó el amplicon 85T-HE como QnrA3.