



FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

"EVALUACIÓN DE PIPELINES BIOINFORMÁTICOS PARA LA

IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA

ANTIMICROBIANOS"

Elaborado por:

GONZALO JAVIER ZAMBRANO CRESPO

Director del Proyecto:

ING. MANUEL ANDRÉS YELA HERRERA, MSc.

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Quito- agosto 2024



Declaratoria Juramentada

Yo, GONZALO JAVIER ZAMBRANO CRESPO, con cédula de identidad # 1717834681, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado de calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo.

ongulo

FIRMA CI: 1717834681



Declaratoria

El presente trabajo de investigación titulado:

"EVALUACIÓN DE PIPELINES BIOINFORMÁTICOS PARA LA

IDENTIFICACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA

ANTIMICROBIANOS"

Realizado por:

GONZALO JAVIER ZAMBRANO CRESPO

como Requisito para la Obtención del Título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

Ha sido dirigido por el profesor:

MANUEL ANDRÉS HERRERA YELA

quien considera que constituye un trabajo original de su autor



Los Profesores Informantes

Los Profesores Informantes:

ING. JORGE PATRICIO ESPINOSA ESPINOSA ING. RUBEN ALEXANDER MALDONADO ORBE

Después de revisar el trabajo presentado,

lo han calificado como apto para su defensa oralante el

tribunal examinador

FIRMA

FIRMA

Quito- 2 de agosto del 2024



El presente Trabajo de Fin de Carrera ha sido realizado dentro del Programa de Investigación de la Universidad Internacional SEK denominado:

Energías, Ambiente y Biotecnología

Perteneciente a la Facultad de Ciencias de la Salud



DEDICATORIA

Para toda mi familia que ha estado presente en mi vida, en especial a mis padres Pablo y Alegría que me guiaron en el camino, apoyándome incondicionalmente todo este tiempo.

A mis hermanos Rodrigo y Alegría del Mar que son los pilares de mi vida por estar siempre conmigo en los malos y en los buenos momentos.

Los amigos y a la gente que he conocido a través de los años por enseñarme y a disfrutar de cada momento en el camino de la vida.

A mis abuelos Gonzalo Zambrano Palacios y Rodrigo Crespo Fabara quienes eran mi inspiración para ser un hombre de ciencia, su legado y ejemplo han guiado cada paso en mi camino académico.

Por último, a mis profesores de la Universidad Internacional SEK por todo lo que me han enseñado para ser un gran profesional y cumplir uno de los primeros pasos para poder ser alguien que ayude en el mundo.



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a mi director de tesis Andrés Herrera, por su invaluable orientación, apoyo y paciencia durante todo este proceso. Sus conocimientos y consejos fueron fundamentales, para el desarrollo de este trabajo.

A mis padres Pablo Zambrano y Alegría Crespo por construir mi camino en la vida, con su esfuerzo me dieron el mundo les agradezco, siendo una motivación para ser una mejor persona y por su amor incondicional.

A mis hermanos Rodrigo y Alegría del Mar, por siempre estar a mí lado apoyándome y demostrándome que puedo ser capaz de todo. No siempre estaremos juntos, pero tienen un lugar especial en mi corazón.

Mi familia que ha estado siempre presente para mí, tengo que decir que ha sido un camino difícil, pero gracias a ustedes por darme esperanza y no rendirme en cumplir mis sueños.

Con las personas y amigos que he conocido en la vida, ha sido una montaña rusa de emociones, la verdad he podido de conocer de todo un poco, probar cosas nuevas. Disfrutar de esos pequeños momentos, las risas compartidas.

Por último, con la Universidad Internacional SEK, por demostrar que ha sido una experiencia desafiante, pero al mismo tiempo se disfrutó. Los retos presentados y en el crecimiento constante de mi aprendizaje he podido demostrar mi talento en el campo de la investigación.



RESUMEN

La creciente amenaza de la resistencia a los antimicrobianos plantea un desafío importante para la salud pública y afecta la eficacia de los tratamientos médicos y el manejo de enfermedades infecciosas. Este estudio aborda la necesidad crítica de estrategias efectivas para identificar genes de resistencia a los antimicrobianos en microorganismos patógenos. Al realizar un análisis comparativo de los procesos bioinformáticos, la investigación contribuye a discernir prácticas óptimas para la detección de genes de resistencia. Esto es particularmente crucial en regiones como Ecuador, donde la infraestructura de atención médica es inadecuada, altas tasas de enfermedades infecciosas y la comunicación sobre temas de salud pública. Aprovechando el poder de la secuenciación de próxima generación (NGS) y los procesos bioinformáticos, el estudio subraya la importancia de adoptar un enfoque genómico para un análisis exhaustivo de cepas bacterianas. La bioinformática facilita la identificación específica de genes de resistencia, desentrañando las complejidades genéticas de la resistencia a los antimicrobianos. La evaluación de los procesos bioinformáticos dentro de la plataforma Galaxy se alinea con los desarrollos de vanguardia en genómica y bioinformática, proporcionando información valiosa tanto para la comprensión científica como para las estrategias de salud pública. Entre los proyectos bioinformáticos comparados, ABRIcate emerge como la herramienta más eficaz para evaluar genes de resistencia en comparación con StarAMR. Además, el estudio revela que la base de datos CARD arroja resultados superiores en este contexto. Estos hallazgos resaltan la importancia de las tecnologías de secuenciación avanzadas, los flujos de trabajo bioinformáticos integrales y las plataformas colaborativas para comprender y abordar los desafíos asociados con la resistencia a los antimicrobianos.

Palabras Clave: resistencia antimicrobiana, secuenciación NGS, pipeline bioinformático, Resfinder, CARD, StarAMR, ABRIcate.



ABSTRACT

The growing threat of antimicrobial resistance poses a significant challenge to public health and affects the effectiveness of medical treatments and the management of infectious diseases. This study addresses the critical need for effective strategies to identify antimicrobial resistance genes in pathogenic microorganisms. By performing a comparative analysis of bioinformatics processes, the research contributes to discerning optimal practices for the detection of resistance genes. This is particularly crucial in regions like Ecuador, where healthcare infrastructure is inadequate, high rates of infectious diseases and communication on public health issues. Harnessing the power of next-generation sequencing (NGS) and bioinformatics processes, the study underlines the importance of adopting a genomic approach for comprehensive analysis of bacterial strains. Bioinformatics facilitates the targeted identification of resistance genes, unraveling the genetic complexities of antimicrobial resistance. The evaluation of bioinformatics processes within the Galaxy platform aligns with cutting-edge developments in genomics and bioinformatics, providing valuable information for both scientific understanding and public health strategies. Among the compared bioinformatics projects, ABRIcate emerges as the most effective tool for evaluating resistance genes compared to StarAMR. Furthermore, the study reveals that the CARD database yields superior results in this context. These findings highlight the importance of advanced sequencing technologies, comprehensive bioinformatics workflows, and collaborative platforms to understand and address the challenges associated with antimicrobial resistance.

Keywords: antimicrobial resistance, NGS sequencing, bioinformatics pipeline, Resfinder, CARD, StarAMR, ABRIcate.



INDICE GENERAL

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN 1	1
1.1 Planteamiento del problema	l
1.2 Justificación	2
1.3 Marco Teórico	5
1.3.1 Resistencia a los antimicrobianos (Grupo ESKAPE)	5
1.3.2 Mecanismos de resistencia en bacterias	3
1.3.3 Pruebas Tradicionales)
1.3.4 Secuenciación y Bioinformática para la identificación de genes resistentes)
1.4 Objetivo General	l
1.5 Objetivos Específicos	l
1.5 Hipótesis	l
CAPITULO 2. METODOLOGÍA 12	2
2.1 Descarga de Datos	2
2.2 Control de calidad de los archivos de secuenciación	2
2.4 Identificación de genes de resistencia	5
2.5 Flujo de Trabajo	7
CAPITULO 3. RESULTADOS	3
3.1 Ensamblaje <i>de Novo</i> de las Bacterias del Grupo ESKAPE18	3
3.1.1 Análisis y Comparación con otros estudios en el Ensamblaje de los Genomas	3
3.2 Comparativa de genes de resistencia encontrados)
3.2.1 Comparación de Métodos para la Identificación de Genes en Escherichia coli)



3.2.2 Comparación de Métodos para la Identificación de Genes en Salmonella enterica
3.2.3 Comparación de Métodos para la Identificación de Genes en Salmonella infantis
3.2.4 Comparación de Métodos para Identificación de Genes en <i>Staphylococcus aureus</i>
CAPITULO 4. DISCUSIÓN
4.1 Evaluación de los conjuntos de genomas bacterianos: Comparación del tamaño del genoma y el N50 de las muestras bacterianas
4.2 Análisis comparativo de la detección de genes de resistencia: ABRIcate vs. StarAMR
CAPITULO 5. CONCLUSIONES
CAPITULO 6. RECOMENDACIONES
CAPITULO 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
CAPITULO 8. ANEXOS
Anexo 1. Genomas de <i>Escherichia coli</i> con StarAMR
Anexo 2. Genomas de <i>Escherichia coli</i> con ABRIcate
Anexo 3. Genomas de <i>Salmonella enterica</i> con StarAMR
Anexo 4. Genomas de <i>Salmonella enterica</i> con ABRIcate
Anexo 5. Genomas de Salmonella infantis con StarAMR
Anexo 6. Genomas de Salmonella infantis con ABRIcate
Anexo 7. Genomas de Staphylococcus aureus con StarAMR
Anexo 8. Genomas de <i>Staphylococcus aureus</i> con ABRIcate
Anexo 9. Análisis de Varianza con Infostat en Escherichia coli
Anexo 10. Análisis de Varianza con Infostat en Salmonella enterica
Anexo 11. Análisis de Varianza con Infostat en Salmonella infantis



Anexo 12. Análisis de Varianza realizado con Infostat en Staphylococcus aureus	6.	5
--	----	---



INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismos de resistencia identificados en bacterias del grupo ESKAPE	8
Figura 2. Estrategias de resistencia a los antibióticos en las bacterias	9
Figura 3. Pipeline del procesamiento NGS, trimado, ensamblaje e identificación de genes de resistencia	17
Figura 4. ANOVA realizado en Infostat con <i>E.coli</i>	64
Figura 5. ANOVA realizado en Infostat con S. enterica	64
Figura 6. ANOVA realizado en Infostat con S. infantis	65
Figura 7. ANOVA realizado en Infostat con <i>S.aureus</i>	65



INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en E.coli	21
Gráfico 2. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en S. enterica	23
Gráfico 3. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en S.infantis	26
Gráfico 4. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en S.aureus	28



INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ensamblaje de Novo de los genomas bacterianos del Grupo ESKAPE	
Tabla 2. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en <i>E.coli</i>	20
Tabla 3. Datos obtenidos del ANOVA en E.coli	21
Tabla 4. Medias y Error Estándar en E.coli	22
Tabla 5. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en S. enterica	22
Tabla 6. Datos obtenidos del ANOVA en S. enterica	24
Tabla 7. Medias y Error Estándar en S. enterica	24
Tabla 8. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en S.infantis	25
Tabla 9. Datos obtenidos del ANOVA en S.infantis	26
Tabla 10. Medias y Error Estándar en S. infantis	27
Tabla 11. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en S.aureus	27
Tabla 12. Datos obtenidos del ANOVA en S.aureus	
Tabla 13. Medias y Error Estándar en S.aureus	29



CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1 Planteamiento del problema

La creciente amenaza de la resistencia a los antimicrobianos presenta un desafío crítico para la salud pública, poniendo en peligro la eficacia de los tratamientos médicos y el manejo de enfermedades infecciosas (Naccache et al., 2014). Esta cuestión urgente destaca la necesidad de una comprensión integral de los genes de resistencia a los antimicrobianos en los microorganismos patógenos. Sin embargo, en Ecuador, existe una notoria ausencia de investigación y discurso sobre cuestiones críticas de salud pública, lo que exacerba la gravedad del problema (Satán et al., 2023). Este estudio busca abordar esta brecha mediante la realización de un análisis comparativo de diversas metodologías bioinformáticas destinadas a identificar genes de resistencia a los antimicrobianos. El desafío general es formular estrategias eficaces para la detección y la comprensión, sentando las bases para mitigar las amenazas a la salud pública asociadas con la resistencia a los antimicrobianos. La inmediatez de esta investigación se ve acentuada por las posibles ramificaciones de la resistencia a los antibióticos, incluida consecuencias graves como muertes, lo que lleva a una exploración meticulosa de los mecanismos de resistencia bacteriana (McArthur & Wright, 2015).

La utilización de tecnologías avanzadas, incluida la secuenciación de próxima generación (NGS) y los procesos bioinformáticos, se vuelve imperativa para un análisis exhaustivo de cepas bacterianas. La naturaleza compleja de los mecanismos de resistencia bacteriana exige un enfoque detallado facilitado por la bioinformática, que permita la identificación específica de genes de resistencia (Lv *et al.*, 2020). Sin embargo, la ausencia de una cultura de investigación bien establecida en ciertas



regiones intensifica el imperativo de realizar tales estudios, contribuyendo no sólo al conocimiento científico sino también al desarrollo de estrategias e intervenciones efectivas de salud pública (Calero-Cáceres *et al.*, 2023).

1.2 Justificación

La resistencia antimicrobiana no es un fenómeno reciente, de hecho, ha evolucionado a lo largo de las décadas y se ha convertido en un problema global. Los primeros informes de resistencia a los antibióticos datan de la década de 1940, poco después de la introducción de la penicilina (Davies & Davies, 2010). En la actualidad sigue siendo un creciente problema de salud pública de gran relevancia, con graves implicaciones para la eficacia de los tratamientos médicos y el manejo de enfermedades infecciosas que puedan ser tratadas a tiempo. En este contexto, el presente estudio propone un análisis comparativo de diferentes metodologías utilizadas para la identificación de genes de resistencia a antimicrobianos en microorganismos patógenos (Ramos Meyers et al., 2022). El fundamento de esta investigación radica en la necesidad apremiante de desarrollar estrategias efectivas para detectar y comprender la resistencia a los antimicrobianos, lo que permitirá abordar adecuadamente las amenazas a la salud pública (Richardson, 2017). A través de la evaluación crítica y comparativa de los pipelines bioinformáticos, este estudio contribuirá a identificar mejores prácticas para la detección de genes de resistencia, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones y posibles aplicaciones clínicas, lo cual es esencial en la lucha contra la propagación de la resistencia a los antimicrobianos (Frieri et al., 2017).

Es muy importante que dentro de la academia se siga investigando este tipo de temas por la repercusión que tiene en la sociedad, más aún en el Ecuador, debido al uso excesivo de antibióticos, una regulación y aplicación insuficientes, una infraestructura de atención médica inadecuada y altas tasas de enfermedades infecciosas (Tamayo



Trujillo *et al.*, 2022). En el país se encuentran dos centros de investigación enfocados en la resistencia bacteriana que son: el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) y el Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI). Con estos centros de investigación se podrá seguir desarrollando una cultura y comunicación sobre este tipo de situaciones para la salud pública, las prácticas agrícolas para que sean más sostenibles y el impacto grave que representa la resistencia hacia los antibióticos (Torres Darwin, 2021). La identificación de genes de resistencia mediante secuenciación de siguiente generación (NGS) y pipelines bioinformáticos, es de importancia para el diagnóstico clínico, debido a los beneficios complementarios que ofrecen en el estudio de bacterias obtenidas de muestras de laboratorio (Petit & Read, 2020). Por otro lado, la inclusión de un enfoque genómico mediante NGS y pipelines bioinformáticos es fundamental porque permite un análisis más profundo y completo de las cepas bacterianas (Jeong *et al.*, 2023).

Las bacterias seleccionadas, como *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Salmonella infantis* y *Staphylococcus aureus*, son ampliamente reconocidas por su relevancia clínica y capacidad para desarrollar resistencia a diversos antimicrobianos, al ser parte del grupo ESKAPE. Según un análisis sistemático publicado en The Lancet por Murray *et al.*, "Carga global de resistencia bacteriana a los antimicrobianos en 2019", se estima que se produjeron 4,95 millones de muertes asociadas con la resistencia a los antimicrobianos (RAM) en 204 países. Entre estas muertes, 1,25 millones se atribuyeron a infecciones de las vías respiratorias inferiores, causadas principalmente por *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* (Murray *et al.*, 2022). Para abordar las preocupaciones sobre los criterios de selección y la relevancia clínica de las bacterias elegidas para este estudio, es esencial proporcionar una explicación detallada de los mecanismos por los



cuales estas bacterias evaden los tratamientos antimicrobianos en casos clínicos y análisis estadísticos que ocurrieron en el Ecuador. Fue realizado un análisis de bacterias aisladas de muestras de pacientes hospitalizados y ambulatorios, obtenidas de la base de datos nacional de vigilancia de la resistencia a los antimicrobianos en el 2018 del Centro Nacional de Referencia para la Resistencia a los Antimicrobianos, abarcó 57.305 aislamientos bacterianos. De ellos, el 48,8% procedían de pacientes hospitalizados, el 55,7% eran mujeres y el 60,1% eran pacientes mayores de 45 años. Las muestras clínicas más frecuentes fueron las de orina (42,9%), seguidas de las de sangre (12,4%). Las bacterias gramnegativas constituyeron el 77,1% de los aislados, siendo *Escherichia coli* la especie predominante entre ellas. Entre las bacterias grampositivas, *Staphylococcus aureus* fue la más común. Los niveles de resistencia a los antimicrobianos fueron notablemente más altos en los pacientes hospitalizados que en los ambulatorios (Satán *et al.*, 2023).

Para *Escherichia coli*, el principal mecanismo de resistencia es la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Un estudio realizado en Ecuador por Pinguil *et al.* en 2022 tuvo como objetivo caracterizar la resistencia de BLEE en muestras aisladas de *E. coli* en el Hospital Homero Castanier Crespo utilizando datos de la red WHONET. El estudio informó una alta resistencia de *E. coli* en Trimetoprima + Sulfametoxazol y a cefalosporinas de primera y segunda generación, con tasas de resistencia del 48%. *E. coli* está asociada con infecciones humanas tanto adquiridas en la comunidad como en hospitales (Pinguil Yugsi *et al.*, 2022). El *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) está ampliamente estudiado y prevalece tanto en entornos comunitarios como hospitalarios, asociado con infecciones de la piel y tejidos blandos, así como con bacteriemia. En Ecuador, el MRSA es monitoreado por el Centro Nacional de Referencia de Resistencia a los Antimicrobianos (CRN-RAM) debido a su alta prevalencia en entornos de salud, lo que requiere el control y



establecimiento de alternativas terapéuticas. Entre los aislados hospitalarios, la penicilina mostró el mayor porcentaje de resistencia con un 87%, seguida de la cefazolina con un 60% de resistencia (Ministerio de Salud, 2018).

Salmonella enterica abarca más de 2.500 serovares, muchos de los cuales están relacionados con enfermedades humanas transmitidas por los alimentos. particularmente a través de aves de corral y cerdos, que sirven como reservorios de cepas resistentes a los antibióticos. Un estudio destinado a determinar la prevalencia, los serovares, los genes de resistencia a los β-lactámicos y los factores de riesgo asociados de Salmonella enterica en la carne de cerdo vendida en los mercados abiertos de Quito destaca esta cuestión (Vinueza-Burgos et al., 2024). Además, se sabe que Salmonella Infantis, un contaminante común de los productos avícolas alberga elementos genéticos móviles que confieren resistencia a múltiples fármacos (MDR). Cuatro cepas de MDR S. Infantis procedentes de gallineros en la isla Santa Cruz de las Islas Galápagos demostraron resistencia a las β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) y una susceptibilidad reducida a las fluoroquinolonas. Estos hallazgos enfatizan la relevancia clínica y los mecanismos de resistencia de las bacterias seleccionadas, justificando su inclusión en el estudio (Burnett et al., 2021).

La disponibilidad de secuencias genómicas de estas bacterias en bases de datos públicas como NCBI-SRA las convierte en candidatas ideales para el análisis de genes de resistencia (Feretzakis *et al.*, 2021). La tecnología de secuenciación por síntesis (SBS) de Illumina proporciona lecturas de extremos emparejados de alta precisión, esenciales para detectar mutaciones de resistencia de baja frecuencia y variantes estructurales (Boyer *et al.*, 2015). La rentabilidad y las capacidades de análisis integral de NGS permiten la secuenciación del genoma completo, revelando todos los genes de resistencia potenciales dentro de comunidades microbianas complejas. La



bioinformática es fundamental para gestionar e interpretar la gran cantidad de datos generados por NGS (Cabral Borelli *et al.*, 2021). El procesamiento de los archivos FastQ, alinea lecturas con genomas de referencia y llama a variantes para identificar mutaciones asociadas a la resistencia. Los archivos FastQ almacenan datos sin procesar de alta calidad que, a través del análisis bioinformático, se convierten en información procesable (Chen, 2023). Las herramientas bioinformáticas también anotan genes de resistencia utilizando bases de datos como CARD y ResFinder, integran datos multiómicos y ofrecen plataformas de visualización para un examen genómico detallado. Estas capacidades garantizan una identificación precisa y una comprensión funcional de los mecanismos de resistencia (Seoane & Bou, 2021).

En síntesis, la selección de estas bacterias y la elección de varias secuencias por especie garantizan una representación completa y diversa en la investigación sobre resistencia antimicrobiana (Mancuso *et al.*, 2021). La evaluación de los procesos bioinformáticos dentro de la plataforma Galaxy se alinea con el estado actual del arte en genómica y bioinformática. Esta evaluación tiene importancia ya que aprovecha tecnologías de secuenciación avanzadas, flujos de trabajo bioinformáticos integrales y plataformas colaborativas para descifrar las complejidades genéticas de la resistencia a los antimicrobianos (Hernández *et al.*, 2020). Los resultados están preparados para contribuir no sólo al conocimiento científico sino también a las estrategias de salud pública, ofreciendo ideas para intervenciones específicas y regímenes de tratamiento optimizados (Darwish *et al.*, 2022). La integración de iniciativas de colaboración global enfatiza aún más la necesidad de un enfoque unificado para mitigar los desafíos que plantea la resistencia a los antimicrobianos. (Tuan *et al.*, 2019).

1.3 Marco Teórico

1.3.1 Resistencia a los antimicrobianos (Grupo ESKAPE)

El grupo ESKAPE, que incluye especies de Enterococcus faecium,

6



Staphylococcus Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter aureus, baumannii, Pseudomonas aeruginosa y Enterobacter, representa una preocupación importante en el ámbito de la resistencia a los antimicrobianos. Estas bacterias son conocidas por su capacidad para "escapar" de los efectos de los fármacos antibacterianos, lo que provoca infecciones difíciles de tratar (Aloke & Achilonu, 2023). A menudo están implicados en infecciones adquiridas en hospitales (IAH), lo que contribuye al aumento de la morbilidad, la mortalidad y los costos de atención médica (Miller & Arias, 2024). Los patógenos ESKAPE son particularmente preocupantes porque han desarrollado resistencia a múltiples antibióticos, incluidos tratamientos de último recurso, lo que los convierte en un foco crítico para la investigación y el manejo clínico en la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos (De Oliveira et al., 2020).

La importancia del grupo ESKAPE se extiende más allá de los resultados de los pacientes individuales. Estas bacterias representan una amenaza más amplia para la salud pública debido a su potencial de propagación rápida en los entornos sanitarios (Weber *et al.*, 2020). Como se puede observar en la Figura 1 (M.A Loyola-Cruz *et al.*, 2023), los mecanismos de resistencia del grupo ESKAPE pueden diseminarse horizontalmente entre diferentes especies bacterianas mediante la transferencia de material genético, exacerbando el problema de la resistencia a los antibióticos, dentro del metabolismo de cada bacteria se generan diferentes defensas para contrarrestar los efectos de cada tipo de antibiótico al generar una mutación específica y por la producción de proteínas (Jawade *et al.*, 2024). Comprender y abordar los desafíos que plantean los patógenos ESKAPE es crucial para desarrollar estrategias efectivas de control de infecciones, programas de administración de antibióticos y enfoques terapéuticos novedosos para mitigar el impacto de estos formidables organismos en la salud global (Sserwadda & Mboowa, 2021).





Fuente: (M.A Loyola-Cruz et al., 2023).

1.3.2 Mecanismos de resistencia en bacterias

Las bacterias emplean diversos mecanismos para resistir los efectos de los antibióticos, siendo uno de los más comunes la producción de enzimas que inactivan el fármaco. Por ejemplo, las β -lactamasas descomponen los antibióticos β -lactámicos como las penicilinas y las cefalosporinas, volviéndolos ineficaces (Su *et al.*, 2018). Otro mecanismo implica alterar el sitio objetivo del antibiótico dentro de la bacteria, evitando que el fármaco se una eficazmente. *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) ejemplifica esta estrategia al modificar las proteínas de unión a penicilina, reduciendo la eficacia de los antibióticos β -lactámicos (Silva *et al.*, 2023).

En la Figura 2 (ReAct, 2016), se muestra como las bacterias pueden desarrollar resistencia a través de cambios en la permeabilidad de la membrana y la salida activa de antibióticos. Al modificar sus paredes o membranas celulares, las bacterias pueden impedir que los antibióticos entren en la célula. Las bombas de eflujo expulsan



activamente los antibióticos de la célula bacteriana antes de que puedan alcanzar su objetivo (Lipworth *et al.*, 2023). Este mecanismo se observa notablemente en *Pseudomonas aeruginosa y Acinetobacter baumannii* resistentes a múltiples fármacos. Comprender estos mecanismos de resistencia es vital para desarrollar nuevos antibióticos y tratamientos capaces de superar las defensas bacterianas, mejorando así el tratamiento de las infecciones resistentes (Puvača & de Llanos Frutos, 2021).



Figura 2. Estrategias de resistencia a los antibióticos en las bacterias.

Fuente: (ReAct, 2016).

1.3.3 Pruebas Tradicionales

Los antibiogramas, son las pruebas tradicionales utilizadas para evaluar la susceptibilidad bacteriana a los antibióticos, implican cultivar bacterias y exponerlas a discos o tiras impregnadas de antibióticos (Klinker *et al.*, 2021). Si bien estas pruebas brindan información valiosa sobre los antibióticos eficaces, pueden ser ambiguas debido a la variabilidad en las prácticas de laboratorio, la interpretación subjetiva de los resultados y la incapacidad de detectar mecanismos de resistencia que no se expresan fenotípicamente durante las pruebas. Además, estas pruebas requieren mucho tiempo y, a menudo, tardan varios días en producir resultados, lo que puede retrasar el tratamiento adecuado (Landecker, 2016).



1.3.4 Secuenciación y Bioinformática para la identificación de genes resistentes

La secuenciación del genoma completo (WGS) y la bioinformática han revolucionado la identificación de genes de resistencia a los antimicrobianos (AMR). WGS proporciona un análisis exhaustivo de todo el material genético de una bacteria, revelando genes de resistencia que los métodos tradicionales podrían pasar por alto (Ducarmon *et al.*, 2020). Herramientas bioinformáticas como StarAMR, que utiliza la base de datos Resfinder, y ABRIcate, que puede emplear varias bases de datos como la base de datos integral de resistencia a los antibióticos (CARD), permiten una identificación precisa de genes de resistencia conocidos (Kakoullis *et al.*, 2021). Estas herramientas comparan datos genéticos secuenciados con bases de datos de genes de resistencia seleccionadas, lo que permite una detección rápida y precisa de RAM.

StarAMR, utilizando la base de datos Resfinder, se centra en identificar genes adquiridos de resistencia a los antimicrobianos y mutaciones cromosómicas que confieren resistencia (Bitar *et al.*, 2020). Esta herramienta detecta patrones de resistencia al hacer coincidir secuencias del genoma bacteriano con las del repositorio Resfinder, lo que garantiza una identificación completa y actualizada. Los investigadores que utilizan StarAMR pueden generar informes detallados sobre los genes de resistencia presentes, lo que ayuda en los estudios epidemiológicos y orienta las decisiones de tratamiento (Ali *et al.*, 2022). ABRIcate ofrece flexibilidad en la selección de bases de datos, lo que permite a los investigadores elegir la base de datos más adecuada para su estudio (Montealegre *et al.*, 2020). La base de datos CARD, que se utiliza a menudo con ABRIcate, es reconocida por su amplia colección de genes de resistencia y datos fenotípicos asociados, lo que mejora la precisión de la identificación de genes de resistencia (Khezri *et al.*, 2020). La utilización de CARD con ABRIcate garantiza la detección de genes de resistencia incluso nuevos o poco comunes (Grant *et al.*, 2023). La combinación de WGS y procesos



bioinformáticos proporciona un enfoque poderoso para comprender y combatir la resistencia a los antimicrobianos, superando las limitaciones de los antibiogramas tradicionales al ofrecer perfiles de resistencia bacteriana más rápidos, precisos y completos (Kiyaga *et al.*, 2022).

1.4 Objetivo General

- Evaluar dos pipelines bioinformáticos mediante la plataforma Galaxy, para la identificación de genes de resistencia a los antimicrobianos.

1.5 Objetivos Específicos

- Descargar archivos crudos de secuenciación del genoma completo de bacterias desde la base de datos de NCBI-SRA.
- Analizar la calidad de lecturas de secuenciación de los archivos descargados.
- Ensamblar el genoma completo de las bacterias contenidas de los archivos de secuenciación descargadas.
- Aplicar los pipelines bioinformáticos StarAMR y ABRIcate para la identificación de genes de resistencias a los antimicrobianos en los genomas ensamblados.
- Identificar estructuras genómicas extracromosomales que contribuyan a la resistencia antimicrobiana en los genomas ensamblados.
- Comparar los resultados de las estructuras genómicas de los pipelines bioinformáticos.

1.5 Hipótesis

- La eficacia de los pipelines bioinformáticos para identificar genes de resistencia a los antimicrobianos depende de la base de datos utilizada.



CAPITULO 2. METODOLOGÍA

2.1 Descarga de Datos

- Se descargaron archivos crudos de secuenciación desde la base de Datos de SRA (Sequence Read Archive) de NCBI. Se seleccionaron archivos de secuenciación de la plataforma Illumina en formato FastQ de las bacterias: *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Salmonella infantis*, *Staphylococus aureus*, debido a su importancia clínica y formar parte del grupo ESKAPE. Con los siguientes Accession Numbers:
- E. coli: SRX22934506, SRX22934411, SRX22932831, SRX22920367,
 SRX22920172.
- S. enterica: SRX23098497, SRX22688550, SRX22870922, SRX22948137,
 SRX22948109.
- S. infantis: SRX22095099, SRX22094976, SRX22094963, SRX22094843,
 SRX22094822.
- *S. aureus*: SRX22917086, SRX22788443, SRX22582017, SRX22582012, SRX23072338.

2.2 Control de calidad de los archivos de secuenciación

 El control de calidad de los datos de secuenciación utilizó FASTQC y Trimmomatic, centrándose en garantizar lecturas de alta calidad a través de configuraciones de parámetros específicos.

Control de calidad con FASTQ

 Se empleó FASTQC (Andrews, 2010) para evaluar la calidad de los archivos de secuenciación, utilizando la puntuación de Phred como métrica principal. Las lecturas con una puntuación Phred inferior a 30 se marcaron como de baja



calidad. Los parámetros clave para FASTQC incluyeron:

- Lista de adaptadores, lista de contaminantes, archivo de especificación de límites
- Agrupación base para lecturas >50 pb: Deshabilitada para evitar fallas en lecturas largas.
- Visualización de longitud de secuencia: 35-251.
- **Longitud de K-mer:** establecida en 7, aunque las pruebas de K-mer estaban deshabilitadas de forma predeterminada.

Control de calidad con Trimmomatic

- Después de FASTQC, se utilizó Trimmomatic (Bolger et al., 2014) para recortar y filtrar lecturas de baja calidad. Los parámetros clave incluyen:
- **Tipo de lectura:** extremo emparejado.
- **ILLUMINACLIP:** No se utiliza para retirar el adaptador.
- **Operación de recorte:** Ventana Corredera.
- **Bases a Promedio:** 4.
- Calidad media requerida: 30.

2.3 Ensamblaje De Novo

 El ensamblaje *de novo* de los archivos FASTQ trimados se realizó utilizando Shovill (Seemann, 2021) por su eficiencia y confiabilidad con datos de secuenciación de extremos emparejados de Illumina. Se eligieron lecturas de extremos emparejados por su cobertura y precisión superiores a las lecturas de un solo extremo. Posteriormente, la calidad del ensamblaje se evaluó utilizando QUAST (Mikheenko et al., 2018), centrándose en el tamaño del genoma y los valores de N50.

Parámetros y Características de Shovill con Quast

- Shovill fue seleccionado por su sólido desempeño con los datos de Illumina y su



integración con SPAdes, un ensamblador de gran prestigio. Shovill automatiza varios pasos, incluida la corrección de errores, y está optimizado para brindar velocidad y precisión. Los parámetros clave para Shovill incluyeron:

- Colección emparejada: conectada a 'fastq_out_paired' desde el paso de control de calidad.
- Lecturas recortadas: Precortadas con Trimmomatic.
- Ensamblador: SPAdes, elegido por su alto rendimiento.
- Archivo de registro de salida: habilitado para verificación y solución de problemas.
- Umbral de tamaño de contig: Estadísticas basadas en contigs ≥ 500 pb para garantizar una evaluación significativa.

Estadísticas de la Asamblea QUAST

Para proporcionar un ejemplo en el ensamblaje producido por Shovill fue evaluado con los siguientes resultados en la muestra de *E.coli* SRX22934506 y proyectado en Quast:

- Número de contigs: 247
- **Número de contigs (≥ 0 pb):** 677
- Número de Contigs (≥ 1000 pb): 158
- Contig más grande: 286.580 pb
- **Longitud total:** 5.547.450 pb
- **Longitud total (≥ 0 pb):** 5.664.210 pb
- Longitud total (≥ 1000 pb): 5.487.915 pb
- **N50:** 127.118 pb
- **N90:** 21.775 pb
- **L50:** 16
- **L90:** 54



- **Contenido de GC:** 50,43%
- Número de discrepancias: 0
- Número de N por 100 kbp: 0
- Número total de N: 0

Estas métricas indican un ensamblaje de alta calidad con un valor N50 significativo y una longitud de ensamblaje completa. La ausencia de desajustes y huecos subraya la precisión del montaje.

2.4 Identificación de genes de resistencia

Los archivos FASTA ensamblados se analizaron en busca de genes de resistencia a los antimicrobianos (AMR) utilizando dos pipelines bioinformáticos: StaRAMR con la base de datos ResFinder (Rodrigues *et al.*, 2020) y ABRIcate (Cruz *et al.*, 2024) con la base de datos CARD. Estas herramientas fueron seleccionadas por sus fortalezas en la detección de genes de RAM y la naturaleza integral de sus respectivas bases de datos. Luego se compararon los resultados de ambos proyectos para evaluar similitudes y discrepancias.

Elección de bases de Datos

ResFinder en StaRAMR:

- ResFinder fue seleccionado por su colección extensa y frecuentemente actualizada de genes de resistencia clínicamente significativos. StaRAMR utiliza ResFinder para proporcionar una identificación precisa de genes de resistencia.
- Limitaciones: se centra en genes bien caracterizados, y es posible que falten genes más nuevos o menos documentados. Complementar con otras bases de datos mitiga este problema.



Parámetros para StaRAMR:

- Umbral de identidad porcentual para BLAST: 98,0%
- BLAST Superposición de longitud de golpe (ResFinder): 60,0%
- BLAST Superposición de longitud de golpe (PointFinder): 95,0%
- BLAST Superposición de longitud de impacto (PlasmidFinder): 60,0%
- Tamaño del genoma: 4.000.000 6.000.000 pb
- **N50 mínimo:** 10.000
- Longitud mínima de contig: 300 pb
- Contigs máximos (longitud mínima): 1000
- Esquema MLST: Automático
- Excluir ciertos genes AMR: lista predeterminada
- Tipo de base de datos PlasmidFinder: todos los tipos disponibles

CARD para ABRIcate:

- Se eligió CARD por su depósito detallado de genes de resistencia, que abarca tanto la resistencia adquirida como las mutaciones cromosómicas.
- Limitaciones: Complejidad y posible retraso en las actualizaciones. Las actualizaciones periódicas y las referencias cruzadas ayudan a mitigar esto.

Parámetros para ABRIcate:

- Base de datos: CARD (configuración predeterminada)
- Identidad mínima de ADN: 80,0%
- Cobertura mínima de ADN: 80,0%

Evaluación de similitud y discordancia

- Se compararon los resultados de StarAMR y ABRIcate para identificar similitudes y discrepancias en la detección de genes de resistencia. Este análisis comparativo ayuda a validar los hallazgos y garantiza un perfil de resistencia integral al compensar posibles lagunas en las bases de datos individuales.



2.5 Flujo de Trabajo

- Tal como se muestra en la Figura 3 (Afgan *et al.*, 2022). El flujo de trabajo fue realizado en la plataforma Galaxy Australia, siendo una guía de pasos a seguir para el ensamblaje de los genomas bacterianos del grupo ESKAPE. Comparando entre los pipelines bioinformáticos StarAMR y ABRIcate, con las bases de datos de Resfinder y CARD. Utilizando los parámetros dentro de cada herramienta anteriormente mencionada, se recortaron los genomas para obtener una mayor precisión en las resistencias de cada muestra de las bacterias.



Figura 3. Pipeline del procesamiento NGS, trimado, ensamblaje e identificación de genes de resistencia.

Fuente: (Afgan et al., 2022).

CAPITULO 3. RESULTADOS

3.1 Ensamblaje de Novo de las Bacterias del Grupo ESKAPE

- Se logro ensamblar los genomas de todas las bacterias de forma efectiva con la herramienta Shovill dentro de la plataforma Galaxy con cada muestra bacteriana y posteriormente se evaluaron los ensamblajes con la herramienta Quast. En la Tabla 1 se observa el tamaño del genoma de referencia, del genoma ensamblado y el N50 de todos los genomas ensamblados de las bacterias del Grupo ESKAPE.

Accesion Numbers de cada	Bacteria	Tamaño del genoma de	Tamaño del Genoma	Valores del
Bacteria		referencia de la Bacteria ensamblado		N50
1) SRX22934506		4900000 pb	5547450 pb	127118 pb
2) SRX22934411			5465246 pb	118010 pb
3) SRX22932831	E. coli		5001561 pb	97361 pb
4) SRX22920367			5000042 pb	210265 pb
5) SRX22920172			5429150 pb	146272 pb
1) SRX23098497			4651061 pb	101623 pb
2) <u>SRX22688550</u>			4943462 pb	180903 pb
3) SRX22870922	S. enterica	4800000 pb	4651652 pb	440391 pb
4) SRX22948137	~~~~~~~~~~		4540688 pb	256281 pb
5) SRX22948109			4724360 pb	109746 pb
1) SRX22095099			4589090 pb	112992 pb
2) SRX22094976			4692445 pb	48965 pb
3) SRX22094963	S. infantis	4700000 pb	4966645 pb	77291 pb
4) SRX22094843	5		4596237 pb	165932 pb
5) SRX22094822			4639815 pb	175864 pb
1) SRX22917086			2740697 pb	316180 pb
2) SRX22788443			2817702 pb	212151 pb
3) SRX22582017	S. aureus	2900000 pb	2769280 pb	256866 pb
4) SRX22582012			2814496 pb	118674 pb
5) SRX23072338			2774408 pb	161394 pb

Tabla 1. Ensamblaje de Novo de los genomas bacterianos del Grupo ESKAPE

3.1.1 Análisis y Comparación con otros estudios en el Ensamblaje de los Genomas

 La eficacia de la herramienta Shovill para generar ensamblajes de alta calidad es evidente a partir de los tamaños del genoma ensamblado y los valores N50. Estos resultados coinciden estrechamente con los tamaños esperados de los genomas de referencia, con ligeras variaciones típicas de los ensamblajes *de Novo*:



E. coli:

- **Tamaño del genoma:** 5.000.042 pb a 5.547.450 pb (referencia: 4.900.000 pb)
- Valor del N50: 97.361 pb a 210.265 pb.
- Comparación: Similar a Tóth *et al.* (2022), dentro de su investigación los tamaños de los genomas construidos fueron de aproximadamente 4,9 a 5,6 Mb y los valores del N50 entre 100 y 200 kb.

S. enterica:

- **Tamaño del genoma:** 4.540.688 pb a 4.943.462 pb (referencia: 4.800.000 pb)
- Valor del N50: 101.623 pb a 440.391 pb.
- Comparación: Se alinea con Zhao *et al.* (2020), quienes describieron el tamaño del genoma ensamblado siendo de 104 plásmidos osciló entre 2.096 pb y 330.857 pb con una mediana de N50 de 190 kb, que oscila entre 31 y 718 kb para 448 aislamientos.

S.infantis

- **Tamaño del genoma:** 4.589.090 pb a 4.966.645 pb (referencia: 4.700.000 pb)
- Valor del N50: 48.965 pb a 175.864 pb.
- Comparación: De acuerdo con Bojan Papić *et al.* (2022), quienes observaron los tamaños de los genomas siendo aproximadamente 4,6 a 5,0 Mb y valores de N50 entre 50 y 180 kb.

S. aureus

- **Tamaño del genoma:** 2.740.697 pb a 2.817.702 pb (referencia: 2.900.000 pb)
- Valor del N50: 118.674 pb a 316.180 pb.
- Comparación: Coincide con Smith *et al.* (2021), quienes informaron tamaños de genoma de aproximadamente 2,7 a 2,8 Mb y valores de N50 que oscilaban entre 77 y 1011 kb dentro de la investigación que realizaron.



3.2 Comparativa de genes de resistencia encontrados

3.2.1 Comparación de Métodos para la Identificación de Genes en Escherichia coli

Se encontró un total de 14 genes de resistencia con StarAMR (Resfinder) además de dos genes que no presentaron ninguna resistencia, y 356 genes de resistencia con ABRIcate (CARD), en donde destacan genes como: tet(A), acrF, evgS, que confieren resistencia a la estreptomicina, fluoroquinolona, tetraciclina. Tal como se observa en la Tabla 2. En el Anexo 1. Genomas de *Escherichia coli* con StarAMR y en el Anexo 2. Genomas de *Escherichia coli* con ABRIcate se encuentran las tablas con todos los genes encontrados y los antibióticos que son resistentes en *E.coli*.

Accesion	StarAMR (Resfinder)		ABRIcate (CARD)		
Numbers	Genes	Resistencias	Genes	Resistencias	
SRX22934506	aph(6)-Id aph(3")-Ib sul2	estreptomicina estreptomicina sulfametoxazol	aph(6)-Id aph(3")-Ib sul2	Tetraciclina aminoglucósido aminoglucósido	
SRX22934411	aadA1 aph(3")-Ib aph(6)-Id	estreptomicina emrY estreptomicina emrK estreptomicina evgA		Tetraciclina Tetraciclina fluoroquinolona	
SRX22932831	0	Ninguna	yojI pmrF Escherichia_coli_acrA	Péptido péptido cefalosporina	
SRX22920367	qnrB19	ciprofloxacina	marA msbA mdtG	Nitroimidazol fosfomicina fluoroquinolona	
SRX22920172	0	Ninguna	mdtN eptA msbA	Péptido nitroimidazol aminocumarina	

Tabla 2. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en E.coli

- Como se puede observar en el
- -
- Gráfico 1, la herramienta ABRIcate (Base de datos de CARD) logró identificar
 33 genes de resistencia en total, por otra parte, StarAMR identificó 14 genes de resistencia (Base de datos de Resfinder). Demostrando que en la base de datos



de CARD obtuvo mayor precisión en la obtención de resistencias que en la base



de datos de Resfinder en E.coli.

Gráfico 1. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en E.coli

Análisis de Varianza (ANOVA) de los genes identificados de E.coli

Caso	F. V	SC	gl	СМ	F	p-valor
1	Modelo	2924	1	2924	508,54	0
2	Base de Datos	2924	1	2924	508,54	0
3	Error	46	8	5,75		
4	Total	2970	9			

Tabla 3. Datos obtenidos del ANOVA en E.coli

Modelo y Base de Datos: Ambos tienen un valor F de 508,54 y un p-valor de 0.
 Esto indica que la variabilidad entre las medias de los grupos (base de datos) es significativa y no se debe al azar.

- **Error:** La suma de cuadrados del error es 46, con un cuadrado medio de 5,75.


- **Total:** La suma de cuadrados total es 2970, que es la suma de las sumas de cuadrados del modelo y del error.

Caso	Base de Datos	Medias	n	E.E		
1	StarAMR (Resfinder)	2,2	5	1,97	Α	
2	ABRIcate (CARD)	36,4	5	1,07		В

- **StaRAMR (Resfinder):** La media de genes identificados es 2,2 con un error estándar de 1,97.
- **ABRIcate** (CARD): La media es 36,4 con un error estándar de 1,07.
- Las medias indican que ABRIcate (CARD) identifica muchos más genes de resistencia en comparación con StaRAMR (RESFINDER). El error estándar muestra la precisión de la estimación de la media, siendo menor para ABRIcate, lo que sugiere una menor variabilidad en sus resultados en *E.coli*, los datos estadísticos fueron proporcionados en el Anexo 9. Análisis de Varianza con Infostat en *Escherichia coli*.

3.2.2 Comparación de Métodos para la Identificación de Genes en Salmonella enterica

- Se encontró un total de 8 genes de resistencia con StarAMR (Resfinder) y 86 genes de resistencia con ABRIcate (CARD), en donde destacan genes como: qacE, golS, mdsC, que confieren resistencia a carbapenem, cefalosporina, cefamicina. Tal como se observa en la Tabla 5. En el Anexo 3. Genomas de *Salmonella enterica* con StarAMR y en el Anexo 4. Genomas de *Salmonella enterica* con ABRIcate se encuentran las tablas con todos los genes encontrados y los antibióticos que son resistentes en *S.enterica*.

Tabla 5. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en S. enterica

Accesion	StarAM	IR (Resfinder)	ABRIcate (CARD)		
Numbers	Genes	Resistencias	Genes	Resistencias	



SRX23098497	0	Ninguna	golS mdsA mdsB	carbapenem, cefalosporina, cefamicina carbapenem, cefalosporina, cefamicina carbapenem, cefalosporina, cefamicina
SRX22688550	ant(3")-Ia floR sul1	estreptomicina cloranfenicol, florfenicol bromuro de etidio	ant(3")-IIa floR sul1	Aminoglucósido fenicol sulfonamida
SRX22870922	0	Ninguna	mdtK sdiA mdsC	Fluoroquinolona fluoroquinolona, glicilciclina carbapenem,cefamicina
SRX22948137	0	Ninguna	mdsB mdsA golS	carbapenem, cefalosporina, cefamicina carbapenem, cefalosporina, cefamicina carbapenem, cefalosporina, cefamicina
SRX22948109	0	Ninguna	AAC (6')-Iy golS mdsA	Aminoglucósido carbapenem,cefalosporina,cefamicina carbapenem,cefalosporina,cefamicina

- En el

-

Gráfico 2 se observa que la herramienta ABRIcate (Base de datos CARD) logró identificar 23 genes de resistencia en total, mientras que StarAMR (Base de datos Resfinder) identificó 8 genes de resistencia. Demostrando que en la base de datos de CARD obtuvo mayor precisión en la obtención de resistencias que en la base de datos de Resfinder en *S.enterica*.





Gráfico 2. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en S. entérica

Análisis de Varianza (ANOVA) de los genes identificados de S.enterica

Caso	F.V	SC	gl	CM	\mathbf{F}	p-valor
1	Modelo	96,1	1	96,1	24,96	0
2	Base de Datos	96,1	1	96,1	24,96	0
3	Error	30,8	8	3,85		
4	Total	126,9	9			

Tabla 6. Datos obtenidos del ANOVA en S. enterica

- Modelo y Base de Datos: Con un valor F de 24,96 y un p-valor de

0, la diferencia entre las bases de datos es estadísticamente significativa, indicando que ABRIcate identifica significativamente más genes de resistencia que StarAMR.

- Error: La suma de cuadrados del error es 30,8 con un cuadrado medio de 3,85. Esto refleja la variabilidad no explicada por el modelo.
- **Total:** La suma de cuadrados total es 126,9, que es la suma de la variabilidad explicada por el modelo y la variabilidad del error.

Caso	Base de Datos	Medias	n	E.E		
1	StarAMR (Resfinder)	1	5	0,88	Α	
2	ABRIcate (CARD)	7,2	5	0,88		В

Tabla 7. Medias y Error Estándar en S. enterica

0,88.

- ABRIcate (CARD): La media es 7,2 con el mismo error estándar de 0,88.
- Las medias tienen el mismo error estándar, indicando que la

⁻ StaRAMR (RESFINDER): La media es 1 con un error estándar de



precisión de la estimación es comparable, pero la media para ABRIcate es mucho más alta, reflejando una mayor capacidad para identificar genes de resistencia en *S.enterica*, los datos estadísticos fueron proporcionados en el Anexo 10. Análisis de Varianza con Infostat en *Salmonella enterica*.

3.2.3 Comparación de Métodos para la Identificación de Genes en Salmonella infantis

Se encontró un total de 17 genes de resistencia con StarAMR (Resfinder) y 89 genes de resistencia con ABRIcate (CARD), en donde destacan genes como: aph (3')-Ia, sdiA, mdtK que confieren resistencia a cefalosporina, fluoroquinolona, glicilciclina. Tal como se observa en la Tabla 8. En el Anexo 5. Genomas de *Salmonella infantis* con StarAMR y en el Anexo 6. Genomas de *Salmonella infantis* con StarAMR y en el Anexo 6. Genomas de *Salmonella infantis* con ABRIcate se encuentran las tablas con todos los genes encontrados y los antibióticos que son resistentes en *S.infantis*.

Accesion	StaRAMR	StaRAMR (Resfinder)		ABRIcate (CARD)		
Numbers	Genes	Resistencias	Genes	Resistencias		
			golS	carbapenem,cefalosporina,cefamicina		
SRX22095099	0	Ninguna	mdsA	carbapenem,cefalosporina,cefamicina		
			mdsB	carbapenem, cefalosporina, cefamicina		
			mdsC	carbapenem,cefalosporina,cefamicina		
SRX22094976	0	Ninguna	mdtK	carbapenem,cefalosporina,cefamicina		
		-	sdiA	carbapenem,cefalosporina,cefamicina		
	aac (3)-IV	Gentamicina,	golS	Tetraciclina		
	ant (3")-Ia	Tobramicina	tet(A)	fluoroquinolona		
SRX22094963	aph (3')-Ia	Esteptomicina	mdtK	cefalosporina, fluoroquinolona		
-		Neomicina, Kanamicina				
			mdtK	Fluoroquinolona		
SRX22094843 -	0	Ninguna	golS mdsA	carbapenem,cefalosporina,cefamicina carbapenem,cefalosporina,cefamicina		
			mdtK	Fluoroquinolona		
SRX22094822	0	Ninguna	sdiA	cefalosporina, fluoroquinolona		
			golS	glicilciclina		

Tabla 8. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en S.infantis

- El Gráfico 3 muestra que con la herramienta ABRIcate (Base de datos

CARD) se identificaron 22 genes de resistencia a los antimicrobianos,



mientras que StarAMR logró identificar 17 genes de resistencia. Demostrando que en la base de datos de CARD obtuvo mayor precisión en la obtención de resistencias que en la base de datos de Resfinder en *S.infantis*.



Gráfico 3. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en S.infantis

Análisis de Varianza (ANOVA) de los genes identificados de S.infantis

Caso	F.V	SC	gl	СМ	F	p-valor
1	Modelo	84,1	1	84,1	4,65	0,06
2	Base de Datos	84,1	1	84,1	4,65	0,06
3	Error	144,8	8	18,1		
4	Total	228,9	9			

Tabla 9. Datos obtenidos del ANOVA en S.infantis

- Modelo y Base de Datos: Con un valor F de 4,65 y un p-valor de 0,06, la diferencia entre las bases de datos no es estadísticamente significativa al nivel de significancia comúnmente utilizado (p < 0,05), aunque está cerca de serlo. Esto sugiere que podría haber una diferencia en el número de genes.
- Error: La suma de cuadrados del error es 144,8 con un cuadrado medio de 18,1. Esto refleja la variabilidad no explicada por el modelo.



- **Total:** La suma de cuadrados total es 228,9, que es la suma de la variabilidad explicada por el modelo y la variabilidad del error.

Caso	Base de Datos	Medias	n	Е. Е		
1	StarAMR (Resfinder)	2	5	1,9	Α	
2	ABRIcate (CARD)	7,8	5	1,9		В

- StarAMR (RESFINDER): La media es 2 con un error estándar de 1,9.
- **ABRIcate (CARD):** La media es 7,8 con el mismo error estándar de 1,9.
- Las medias tienen el mismo error estándar, indicando que la precisión de la estimación es comparable, pero la media para ABRIcate es mucho más alta, reflejando una mayor capacidad para identificar genes de resistencia en S.*infantis*, todos los datos estadísticos fueron proporcionados en el Anexo 11. Análisis de Varianza con Infostat en Salmonella infantis.

3.2.4 Comparación de Métodos para Identificación de Genes en Staphylococcus aureus

Se encontró un total de 35 genes de resistencia con StarAMR (Resfinder) y 269 genes de resistencia con ABRIcate (CARD), en donde destacan genes como: blaZ, mgrA, ErmA, que confieren resistencia a tinte acridina, cefalosporina, fluoroquinolona. Tal como se observa en la Tabla 11. En el Anexo 7. Genomas de *Staphylococcus aureus* con StarAMR y en el Anexo 8. Genomas de *Staphylococcus aureus* con ABRIcate se encuentran las tablas con todos los genes encontrados y los antibióticos que son resistentes en *S.aureus*.

Accession StarAMR(Resfinder)		ABRIcate (CARD)		
Numbers	Genes	Resistencias	Genes	Resistencias
			arlR	tinte_acridina,fluoroquinolona tetraciclina
SRX22917086	blaZ	amoxicilina, ampicilina,	tet(38)	glicilciclina, tetraciclina
		penicilina, piperacilina	mepA	

Tabla 11. Muestras y Resistencias de los pipelines bioinformáticos en S.aureus



SRX22788443	ant (9)-Ia erm (A) mecA	espectinomicina eritromicina, lincomicina, clindamicina amoxicilina, amoxicilina+clavulánico	tet(38) mepR mepA	Tetraciclina glicilciclina, tetraciclina glicilciclina, tetraciclina
	aadD	amikacina, tobramicina	arlS	tinte_acridina,fluoroquinolona
	blaZ	amoxicilina, ampicilina,	arlR	tinte_acridina,fluoroquinolona glicilciclina,
SRX22582017	bleO	penicilina	mepA	tetraciclina
		bleomicina		
	aac(6')-	gentamicina, tobramicina,	mgrA	tinte_acridina, cefalosporina glicilciclina,
SRX22582012	aph(2")	netilmicina	mepA	tetraciclina glicilciclina, tetraciclina
	blaZ	gmoxicilina, ampicilina,	mepR	
		penicilina	_	
	ant(9)-Ia	espectinomicina	arlS	tinte_acridina,fluoroquinolona
SRX23072338	erm(A)	eritromicina, lincomicina,	arlR	tinte_acridina,fluoroquinolona glicilciclina,
	mecA	clindamicina	mepA	tetraciclina
		amoxicilina+ácido clavulánico		

-En el

Gráfico *4* se observa que en las muestras de la herramienta StarAMR se obtuvo un mayor número de genes, siendo 35 en total comparando con los 25 genes obtenidos en ABRIcate. Demostrando que la base de datos de Resfinder se obtivieron más alineamientos de genes de resistencias que en la base de datos CARD para *S.aureus*.





Gráfico 4. Genes de StarAMR vs Genes de ABRIcate en S.aureus.

Análisis de Varianza (ANOVA) de los genes identificados de S.aureus

Caso	F.V	SC	gl	СМ	F	p-valor
1	Modelo	160	1	160	46,38	0
	Base de					
2	Datos	160	1	160	46,38	0
3	Error	27,6	8	3,45		
4	Total	187,6	9			

Tabla 12. Datos obtenidos del ANOVA en S.aureus

Modelo y Base de Datos: Con un valor F de 46,38 y un p-valor de 0, la diferencia entre las bases de datos es estadísticamente significativa, indicando que ABRIcate identifica significativamente más genes de resistencia que StarAMR.

- Error: La suma de cuadrados del error es 27,6 con un cuadrado medio de



3,45. Esto refleja la variabilidad no explicada por el modelo.

- **Total:** La suma de cuadrados total es 187,6, que es la suma de la variabilidad

explicada por el modelo y la variabilidad del error.

Caso	Base de Datos	Medias	n	E.E		
1	StarAMR (Resfinder)	2,8	5	0,83	Α	
2	ABRIcate (CARD)	10,8	5	0,83		В

Tabla 13.	Medias y	Error	Estándar	en	S.aureus
-----------	----------	-------	----------	----	----------

- StaRAMR (RESFINDER): La media es 2,8 con un error estándar de 0,83.

- **ABRIcate (CARD):** La media es 10,8 con el mismo error estándar de 0,83.

Las medias tienen el mismo error estándar, indicando que la precisión de la estimación es comparable, pero la media para ABRIcate es mucho más alta, reflejando una mayor capacidad para identificar genes de resistencia en *S.aureus*, los datos estadísticos fueron proporcionados en el Anexo 12. Análisis de Varianza realizado con Infostat en *Staphylococcus aureus*.

CAPITULO 4. DISCUSIÓN

4.1 Evaluación de los conjuntos de genomas bacterianos: Comparación del tamaño del genoma y el N50 de las muestras bacterianas

El ensamblaje del genoma *de Novo* es esencial para construir genomas bacterianos a partir de lecturas de secuenciación cortas sin referencia. El valor N50, que representa la longitud a la que el 50% del ensamblaje total está contenido en contigs o andamios de esa longitud o más, es una métrica clave para evaluar la calidad del ensamblaje (Thrash *et al.*, 2020). Los valores más altos de N50 indican ensamblajes más contiguos y completos, lo cual es particularmente importante para los genomas bacterianos que normalmente oscilan entre 1 y 10 megabases (Mb) (Alhakami *et al.*, 2017). La comparación del N50 y el tamaño del genoma ensamblado con el genoma de referencia de diferentes especies



bacterianas proporciona información sobre la calidad del ensamblaje. Por ejemplo, un ensamblaje *de Novo* con un N50 de 100.000 pares de bases (pb) y un tamaño de genoma de 5 Mb en comparación con un genoma de referencia con un N50 de 200.000 pb y un tamaño de 5,1 Mb puede resaltar diferencias (Wissel *et al.*, 2022). Un tamaño de genoma similar sugiere un ensamblaje casi completo, mientras que un N50 más bajo puede indicar fragmentación o errores. Esta comparación es crucial para garantizar la confiabilidad y la integridad de los ensamblajes del genoma bacteriano (Moss *et al.*, 2020).

Al utilizar la herramienta QUAST para el ensamblaje e información de los genomas bacterianos de las bacterias seleccionadas del grupo ESKAPE, se presentan los datos obtenidos de los genomas bacterianos ensamblados y los valores del N50 en comparación con sus genomas de referencia:

- *E. coli*: Todos los tamaños de ensamblaje exceden el genoma de referencia, lo que indica posibles secuencias adicionales o errores. Los valores de N50 varían ampliamente, y la contigüidad más alta observada en el ensamblaje alcanza los 210.265 pb (Zürcher *et al.*, 2023).
- S. enterica: Si bien un conjunto supera el genoma de referencia, otros son ligeramente más pequeños. La considerable variabilidad en los valores de N50 sugiere diferencias en la contigüidad del ensamblaje, con un solo ensamblaje logrando un N50 de 440.391 pb, lo que significa una contigüidad excepcional (Dickey et al., 2024).
- S. infantis: Un conjunto excede el genoma de referencia, mientras que otros son ligeramente más pequeños. La variabilidad en los valores de N50 refleja diferencias en la contigüidad del ensamblaje, y el N50 más alto alcanza 175.864 pb (García-Soto *et al.*, 2020).
- S. aureus: Todos los tamaños de ensamblaje son ligeramente más pequeños que



el genoma de referencia, lo que indica ensamblajes casi completos. El valor que más destaco del N50 fue el de 316.180 pb (Namoune *et al.*, 2023).

Impacto en la detección de genes de resistencia:

Mayor contigüidad (N50 más alto): los ensamblajes con valores de N50 más altos, como los observados en algunas muestras de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli*, probablemente den como resultado reconstrucciones del genoma más contiguas y completas. Esto mejora la precisión de la identificación de genes de resistencia ubicados en contigs más grandes, minimizando los errores de ensamblaje y mejorando la calidad general del ensamblaje (Reale *et al.*, 2018).

Contigüidad más baja (N50 más bajo): los ensamblajes con valores de N50 más bajos, como se observa en algunas muestras de *Salmonella infantis*, pueden indicar genomas más fragmentados. Esta fragmentación podría afectar potencialmente la detección de genes de resistencia que abarcan múltiples contigs, lo que daría lugar a anotaciones incompletas o inexactas (Pernille Gymoese *et al.*, 2019).

Calidad de montaje:

Integridad versus fragmentación: los tamaños del genoma que exceden ligeramente o coinciden con los tamaños de referencia indican ensamblajes casi completos, que son cruciales para la detección precisa de genes de resistencia. Los valores más altos de N50 refuerzan aún más la integridad del ensamblaje, lo que garantiza que los genes, incluidos los que confieren resistencia a los antibióticos, estén representados y anotados adecuadamente (Zhang *et al.*, 2022).

Contexto comparativo:

Evaluación comparativa con genomas de referencia: la comparación de los valores de N50 y los tamaños de los genomas con los genomas de referencia proporciona un punto de referencia para evaluar la calidad del ensamblaje. Las desviaciones en los valores de N50 pueden indicar errores de ensamblaje o variaciones en la estructura del



genoma, lo que influye en la confiabilidad de las predicciones de los genes de resistencia (Uelze *et al.*, 2020). Si bien los valores más altos de N50 generalmente se correlacionan con una mejor calidad del ensamblaje y una mayor detección de genes de resistencia, la variabilidad entre diferentes ensamblajes subraya la necesidad de una evaluación y validación cuidadosas. El uso de herramientas como Quast junto con Shovill facilita una evaluación integral, lo que garantiza solidez en los estudios genómicos centrados en la resistencia a los antibióticos (Boostrom *et al.*, 2022).

4.2 Análisis comparativo de la detección de genes de resistencia: ABRIcate vs. StarAMR

La evaluación de la detección de genes de resistencia a los antimicrobianos utilizando StarAMR (Resfinder) y ABRIcate (CARD) reveló diferencias significativas en sus capacidades y las implicaciones biológicas para *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Salmonella infantis* y *Staphylococcus aureus*. Estas diferencias se aclararon aún más mediante análisis ANOVA, que proporcionaron una base estadística sólida para comprender las variaciones en la detección de genes entre las dos bases de datos.

En la comparación de genes de resistencia identificados mediante StarAMR (Resfinder) y ABRIcate (CARD) para varias especies bacterianas, se observaron diferencias significativas en las capacidades de detección de estas bases de datos. Para *Escherichia coli*, StarAMR identificó 14 genes de resistencia, junto con dos genes no resistentes, mientras que ABRIcate identificó un conjunto mucho mayor de 356 genes de resistencia. Se detectaron genes notables como tet(A), acrF y evgS, que confieren resistencia a la estreptomicina, fluoroquinolona y tetraciclina. Esta discrepancia sugiere que la base de datos CARD en ABRIcate tiene una mayor sensibilidad y una gama más amplia de genes de resistencia detectables para *E. coli* en comparación con Resfinder, lo que destaca la precisión superior de CARD en este contexto podría atribuirse a su naturaleza integral, que abarca varios mecanismos de resistencia (Martelli *et al.*, 2021).



El análisis ANOVA para E. coli muestra resultados significativos que resaltan las diferencias entre las bases de datos StarAMR (Resfinder) y ABRIcate (CARD). El valor F de 508,54 y el valor p de 0,00 indican diferencias muy significativas en el número de genes de resistencia identificados por las dos bases de datos. Está marcada diferencia subraya la sensibilidad superior y el rango más amplio de detección de genes de resistencia mediante ABRIcate (CARD) en comparación con StarAMR (Resfinder). La suma de errores de los cuadrados fue 46, con un error cuadrático medio de 5,75, lo que refleja la variabilidad en la identificación de genes no explicada por el modelo. La suma total de cuadrados fue 2970, lo que abarca tanto la variabilidad explicada por las bases de datos CARD de ABRIcate proporciona un perfil de detección más completo de genes de resistencia en *E. coli*, lo que la convierte en una herramienta más eficaz para identificar una amplia gama de mecanismos de resistencia.

En el caso de *Salmonella enterica* se observó un patrón similar. StarAMR detectó 8 genes de resistencia, mientras que ABRIcate identificó 86 genes de resistencia. Los genes que más destacaron fueron qacE, golS y mdsC, que están asociados con resistencia a carbapenem, cefalosporina y cefamicina. La capacidad de ABRIcate para detectar una mayor cantidad de genes, incluidos cuatro que no fueron encontrados por StarAMR, indica que CARD proporciona un perfil de resistencia más completo para *S. enterica*. Esta mayor capacidad de detección puede ser crucial para comprender todo el potencial de resistencia y adaptar las estrategias de tratamiento adecuadas (Nguyen *et al.*, 2023). En el caso de Salmonella enterica, los resultados de ANOVA muestran un valor F de 46,38 con un valor p de 0,00, lo que indica diferencias estadísticamente significativas entre StarAMR (Resfinder) y ABRIcate (CARD). El valor p significativo sugiere que ABRIcate (CARD) es más eficaz para detectar genes de resistencia en comparación con



StarAMR (Resfinder). La suma de errores de los cuadrados fue de 27,6, con un error cuadrático medio de 3,45, lo que refleja una variabilidad en la identificación de genes no explicada por el modelo. La suma total de cuadrados fue 187,6, incluyendo tanto la variabilidad explicada por las bases de datos como la variabilidad inexplicable. Este análisis confirma que la base de datos CARD de ABRIcate es superior a la hora de identificar una gama más amplia de genes de resistencia en Salmonella enterica, lo cual es crucial para comprender el perfil de resistencia completo y adaptar las estrategias de tratamiento adecuadas.

Para Salmonella infantis, StarAMR identificó 17 genes de resistencia, mientras que ABRIcate encontró 89 genes de resistencia. Se destacaron genes como aph(3')-Ia, sdiA y mdtK, que confieren resistencia a cefalosporinas, fluoroquinolonas y glicilciclina. La base de datos CARD volvió a demostrar su rango de detección superior al identificar más genes de resistencia, incluidos cuatro que StarAMR pasó por alto. Esto enfatiza la importancia de utilizar una base de datos más amplia como CARD para la detección integral de genes de resistencia en S. infantis, proporcionando información fundamental para una terapia antimicrobiana eficaz (Alba et al., 2023). El análisis ANOVA para Salmonella infantis revela información interesante sobre el desempeño de StarAMR (Resfinder) y ABRIcate (CARD) en la identificación de genes. El valor F de 4,65 y el valor p de 0,06 indican que, si bien las diferencias entre las bases de datos no son estadísticamente significativas en el umbral convencional de 0,05, existe una tendencia que sugiere que ABRIcate (CARD) puede identificar más genes de resistencia que StarAMR (Resfinder). Este resultado apunta hacia una posible ventaja de CARD en la detección de una gama más amplia de genes de resistencia. La suma de errores de los cuadrados fue 144,8, con un error cuadrático medio de 18,1, lo que refleja la variabilidad en la identificación de genes no explicada por el modelo. La suma total de cuadrados, 228,9, incluye tanto la variabilidad explicada por las bases de datos como la



variabilidad no explicada. A pesar de la falta de significación estadística, los datos sugieren que ABRIcate (CARD) podría ofrecer capacidades de detección mejoradas, como lo demuestra el mayor número medio de genes identificados en comparación con StarAMR (Resfinder).

Por el contrario, para Staphylococcus aureus, StarAMR (Resfinder) superó a ABRIcate (CARD) en términos de número de genes de resistencia identificados. StarAMR detectó 35 genes de resistencia, mientras que ABRIcate identificó 269 genes. Sin embargo, el número de muestras en StarAMR fue mayor, con 35 muestras en comparación con 25 en ABRIcate. Se detectaron genes como blaZ, mgrA y ErmA, asociados con resistencia al colorante acridina, cefalosporina y fluoroquinolona. Esto sugiere que para S. aureus, Resfinder puede proporcionar una identificación más precisa de genes de resistencia, posiblemente debido a que su base de datos está más adaptada a esta especie en particular (Pennone *et al.*, 2022). El análisis ANOVA arrojó un valor F de 24,96 con un valor p de 0,00, lo que demuestra diferencias significativas entre StarAMR (Resfinder) y ABRIcate (CARD). El valor p significativo indica que ABRIcate (CARD) detecta más genes de resistencia en comparación con StarAMR (Resfinder). La suma de errores de los cuadrados fue de 30,8, con un error cuadrático medio de 3,85, lo que representa una variabilidad en la detección de genes no explicada por el modelo. La suma total de cuadrados fue 126,9, abarcando tanto la variabilidad explicada por las bases de datos como la variabilidad no explicada. Estos resultados sugieren que, si bien la base de datos CARD de ABRIcate detecta una mayor cantidad de genes de resistencia, Resfinder de StarAMR podría ofrecer una identificación más precisa de genes de resistencia específicos, destacando las ventajas y desventajas entre la detección integral y la precisión específica.

La comparación entre StarAMR y ABRIcate reveló que ABRIcate, utilizando la



base de datos CARD, identificó más genes de resistencia en *Escherichia coli*, *Salmonella enterica, Salmonella infantis* y *Staphylococcus aureus* que StarAMR, que utiliza la base de datos Resfinder. La gama más amplia y completa de mecanismos de resistencia de CARD explica este rendimiento superior. ResFinder está diseñado específicamente para detectar genes adquiridos de resistencia a los antimicrobianos y ofrece resultados precisos y enfocados. Su naturaleza especializada lo hace muy eficaz para identificar genes de resistencia específicos (Florensa *et al.*, 2022). CARD, por otro lado, proporciona un alcance más amplio y abarca varios mecanismos de resistencia, como bombas de eflujo, mutaciones y genes adquiridos. Este enfoque integral permite a CARD detectar una gama más amplia de elementos de resistencia, aunque a veces puede carecer de la precisión específica de ResFinder (Alcock *et al.*, 2022).

Sensibilidad y especificidad

ABRIcate (CARD) muestra una mayor sensibilidad a la hora de identificar una gama más amplia de genes de resistencia en comparación con StarAMR (Resfinder), que tiende a centrarse más en la precisión específica de ciertos genes. Esta diferencia resalta la importancia de utilizar una base de datos como CARD cuando se necesita un perfil de resistencia completo (Li *et al.*, 2020).

Diversidad de mecanismos de resistencia

La capacidad de CARD para detectar bombas de eflujo, mutaciones y genes adquiridos proporciona un contexto más amplio y detallado sobre los mecanismos de resistencia presentes en las bacterias estudiadas. Esta detección integral es crucial para comprender el alcance completo de la resistencia a los antimicrobianos y desarrollar estrategias de tratamiento efectivas (Nielsen *et al.*, 2022).

Contexto clínico y terapéutico



La elección entre ABRIcate y StarAMR debe considerarse en función del contexto clínico y la necesidad de una detección exhaustiva o más específica y precisa de genes de resistencia. En escenarios donde es necesaria una detección amplia para cubrir múltiples mecanismos de resistencia, ABRIcate (CARD) sería la opción preferida. Sin embargo, para una identificación específica y precisa, particularmente en entornos clínicos que involucran *Staphylococcus aureus*, StarAMR (Resfinder) puede ofrecer mejores resultados (Karen Leth Nielsen *et al.*, 2021).

En una investigación similar los autores Kwak & Kim (2022), realizaron un enfoque en la detección de genes de resistencia a los antibióticos basados en cepas probióticas, incluidas las bacterias del ácido láctico. El estudio demostró 782 genomas de 19 especies de probióticos utilizando cuatro pipelines (AMRFinderPlus, StarAMR, RGI, ABRIcate) reveló discrepancias significativas en la detección de genes de resistencia, especialmente entre cepas de *Lactobacillales* y *Enterococcus*. Los resultados variaron ampliamente según la base de datos y los algoritmos utilizados, lo que complico la evaluación de los riesgos de resistencia a los antibióticos en los probióticos, pero los mejores resultados obtenidos en su investigación fueron demostrados por los pipelines AMRFinderPlus y ABRicate (Kwak & Kim, 2022). Estos hallazgos contrastan con nuestro análisis, donde ABRIcate generalmente identificó más genes de resistencia que StarAMR, lo que destaca la importancia de bases de datos completas y actualizadas periódicamente.

CAPITULO 5. CONCLUSIONES

 La descarga de archivos de secuenciación del genoma completo bacteriano sin procesar de la base de datos NCBI-SRA proporcionó los datos de alta calidad necesarios para el análisis posterior. Este paso aseguró que las secuencias utilizadas provinieron de fuentes confiables y mantuviera la integridad del estudio.



- El análisis de calidad de las lecturas de secuenciación reveló que los datos eran de alta calidad, con contaminación y errores de secuenciación mínimos. Las métricas de calidad, como la precisión de las bases, la distribución de la longitud de lectura y la profundidad de cobertura, se encontraban dentro de rangos aceptables, lo que garantiza un ensamblaje y análisis genómicos posteriores confiables.
- Los genomas ensamblados eran completos y precisos, lo que dio como resultado secuencias contiguas de alta calidad, proporcionando una base fiable para la posterior identificación de genes de resistencia a los antimicrobianos. El uso de algoritmos de ensamblaje avanzados minimizó las brechas y las regiones ambiguas.
- La aplicación de los pipelines bioinformáticos StarAMR y ABRIcate permitió la identificación de genes de resistencia a los antimicrobianos (AMR) dentro de los genomas ensamblados. Ambos programas demostraron eficacia en la detección de genes de resistencia conocidos. Sin embargo, ABRIcate con la base de datos CARD identificó un conjunto más completo de genes de resistencia en comparación con StarAMR con la base de datos Resfinder. Esto sugiere que la base de datos CARD tiene un catálogo más amplio y detallado de genes de resistencia, lo que mejora la sensibilidad y especificidad de ABRIcate en la detección de genes de RAM.

CAPITULO 6. RECOMENDACIONES

- Para futuras investigaciones se podría incluir una gama más amplia de bacterias del grupo ESKAPE para obtener una comprensión más completa de los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos.
- Se recomienda incluir lecturas de secuenciación de la tecnología de Oxford
 Nanopore en futuras investigaciones, para mejorar la calidad del ensamblaje del



genoma y detectar elementos extracromosomales con más precisión

CAPITULO 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afgan, E., Nekrutenko, A., Grüning, B. A., Blankenberg, D., Goecks, J., Schatz, M. C., Ostrovsky, A. E., Mahmoud, A., Lonie, A. J., Syme, A., Fouilloux, A., Bretaudeau, A., Nekrutenko, A., Kumar, A., Eschenlauer, A. C., DeSanto, A. D., Guerler, A., Serrano-Solano, B., Batut, B., & Grüning, B. A. (2022). The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2022 update. *Nucleic Acids Research*, *50*(W1). <u>https://doi.org/10.1093/nar/gkac247</u>
- Alba, P., Carfora, V., Feltrin, F., Diaconu, E. L., Sorbara, L., Dell'Aira, E., Cerci, T., Ianzano, A., Donati, V., Franco, A., & Battisti, A. (2023). Evidence of structural rearrangements in ESBL-positive pESI(like) megaplasmids of S.Infantis. *FEMS Microbiology Letters*, 370, fnad014. <u>https://doi.org/10.1093/femsle/fnad014</u>
- Alcock, B. P., Huynh, W., Chalil, R., Smith, K. W., Raphenya, A., Wlodarski, M. A.,

Edalatmand, A., Petkau, A., Syed, S. A., Tsang, K. K., Baker, S. J. C., Dave, M., McCarthy, M., Mukiri, K. M., Nasir, J. A., Golbon, B., Imtiaz, H., Jiang, X., Kaur, K., & Kwong, M. (2022). CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. *Nucleic Acids Research*, *51*(D1), D690–D699. <u>https://doi.org/10.1093/nar/gkac920</u>

- Alhakami, H., Mirebrahim, H., & Lonardi, S. (2017). A comparative evaluation of genome assembly reconciliation tools. *Genome Biology*, 18(1). <u>https://doi.org/10.1186/s13059-017-1213-3</u>
- Ali, O. S., Hozayen, W. G., Almutairi, A. S., Edris, S., Alaa Karkashan, Abulfaraj, A. A., Attar, R., Amged Ouf, Abbas, B. A., & Mahmoud, H. M. (2022). The Assessment



of the Risk Ranking and Mobility Potential Associated with Environmental Resistomes in Wastewater Using Metagenomic Assembly. *Sustainability*, *14*(21), 14292–14292. <u>https://doi.org/10.3390/su142114292</u>

- Aloke, C., & Achilonu, I. (2023). Coping with the ESKAPE pathogens: Evolving strategies, challenges and future prospects. *Microbial Pathogenesis*, 175, 105963. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105963
- Andrews, S. (2010). Babraham Bioinformatics FastQC a quality control tool for highthroughputsequencedata.Babraham.ac.uk.https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/
- Bitar, I., Mattioni Marchetti, V., Mercato, A., Nucleo, E., Anesi, A., Bracco, S., Rognoni,
 V., Hrabak, J., & Migliavacca, R. (2020). Complete Genome and Plasmids
 Sequences of a Clinical Proteus mirabilis Isolate Producing Plasmid Mediated
 NDM-1 From Italy. *Microorganisms*, 8(3), 339.
 <u>https://doi.org/10.3390/microorganisms8030339</u>
- Bojan Papić, Darja Kušar, Jasna Mićunović, Mateja Pirš, Ocepek, M., & Avberšek, J. (2022). Clonal Spread of pESI-Positive Multidrug-Resistant ST32 Salmonella enterica Serovar Infantis Isolates among Broilers and Humans in Slovenia. *Microbiology Spectrum*, 10(6). https://doi.org/10.1128/spectrum.02481-22
- Bolger, A. M., Lohse, M., & Usadel, B. (2014). Trimmomatic: a flexible trimmer for
 Illumina sequence data. *Bioinformatics*, 30(15), 2114–2120.
 <u>https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170</u>
- Boostrom, I., Portal, E. A. R., Spiller, O. B., Walsh, T. R., & Sands, K. (2022).
 Comparing Long-Read Assemblers to Explore the Potential of a Sustainable
 Low-Cost, Low-Infrastructure Approach to Sequence Antimicrobial Resistant
 Bacteria With Oxford Nanopore Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, *13*(1).
 https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.796465



- Boyer, F., Mercier, C., Bonin, A., Le Bras, Y., Taberlet, P., & Coissac, E. (2015). obitools: aunix-inspired software package for DNA metabarcoding. *Molecular Ecology Resources*, 16(1), 176–182. https://doi.org/10.1111/1755-0998.12428
- Burnett, E., Ishida, M., Sofia de Janon, Sohail Naushad, Marc-Olivier Duceppe, Gao,
 R., Jardim, A., Chen, J. C., Tagg, K. A., Dele Ogunremi, & Vinueza-Burgos, C.
 (2021). Whole-Genome Sequencing Reveals the Presence of the blaCTX-M-65
 Gene in Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing and Multi-Drug-Resistant
 Clones of Salmonella Serovar Infantis Isolated from Broiler Chicken
 Environments in the Galapagos Islands. *Antibiotics*, 10(3), 267–267.
 https://doi.org/10.3390/antibiotics10030267
- Calero-Cáceres, W., Ortuño-Gutiérrez, N., Sunyoto, T., Gomes-Dias, C.-A., Bastidas-Caldes, C., Ramírez, M. S., & Harries, A. D. (2023). Whole-genome sequencing for surveillance of antimicrobial resistance in Ecuador: present and future implications. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 47(1), e8. <u>https://doi.org/10.26633/rpsp.2023.8</u>
- Chen, S. (2023). Ultrafast one-pass FASTQ data preprocessing, quality control, and deduplication using fastp. *IMeta*, 2(2). <u>https://doi.org/10.1002/imt2.107</u>
- Cruz, H., Pinheiro, M., & Borges, V. (2024). ReporType: A Flexible Bioinformatics Tool for Targeted Loci Screening and Typing of Infectious Agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(6), 3172. https://doi.org/10.3390/ijms25063172
- Darwish, R. M., Matar, S. G., Snaineh, A. A. A., Alsharif, M. R., Yahia, A. B., Mustafa, H. N., & Hasabo, E. A. (2022). Impact of antimicrobial stewardship on antibiogram, consumption and incidence of multi drug resistance. *BMC Infectious Diseases*, 22(1). <u>https://doi.org/10.1186/s12879-022-07906-1</u>

Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance.



Microbiology and Molecular Biology Reviews, 74(3), 417–433. https://doi.org/10.1128/mmbr.00016-10

- De Oliveira, D. M. P., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., Paterson, D. L., & Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3). https://doi.org/10.1128/cmr.00181-19
- Dickey, A. M., Schmidt, J. W., Bono, J. L., & Guragain, M. (2024). The GEA pipeline for characterizing Escherichia coli and Salmonella genomes. *Scientific Reports*, 14(1), 13257. <u>https://doi.org/10.1038/s41598-024-63832-z</u>
- Ducarmon, Q. R., Hornung, B. V. H., Geelen, A. R., Kuijper, E. J., & Zwittink, R. D. (2020). Toward Standards in Clinical Microbiota Studies: Comparison of Three DNA Extraction Methods and Two Bioinformatic Pipelines. *MSystems*, 5(1). <u>https://doi.org/10.1128/msystems.00547-19</u>
- Feretzakis, G., Sakagianni, A., Loupelis, E., Kalles, D., Skarmoutsou, N., Martsoukou, M., Christopoulos, C., Lada, M., Petropoulou, S., Velentza, A., Michelidou, S., Chatzikyriakou, R., & Dimitrellos, E. (2021). Machine Learning for Antibiotic Resistance Prediction: A Prototype Using Off-the-Shelf Techniques and Entry-Level Data to Guide Empiric Antimicrobial Therapy. *Healthcare Informatics Research*, 27(3), 214–221. https://doi.org/10.4258/hir.2021.27.3.214
- Florensa, A. F., Kaas, R. S., Clausen, P. T. L. C., Aytan-Aktug, D., & Aarestrup, F. M. (2022). ResFinder an open online resource for identification of antimicrobial resistance genes in next-generation sequencing data and prediction of phenotypes from genotypes. *Microbial Genomics*, 8(1). https://doi.org/10.1099/mgen.0.000748
- Frieri, M., Kumar, K., & Boutin, A. (2017). Antibiotic resistance. *Journal of Infection and Public Health*, *10*(4), 369–378. ScienceDirect.



https://doi.org/10.1016/j.jiph.2016.08.007

- García-Soto, S., Abdel-Glil, M. Y., Tomaso, H., Linde, J., & Methner, U. (2020). Emergence of Multidrug-Resistant Salmonella enterica Subspecies enterica Serovar Infantis of Multilocus Sequence Type 2283 in German Broiler Farms. *Frontiers in Microbiology*, 11(1). <u>https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01741</u>
- Grant, J. R., Enns, E., Marinier, E., Mandal, A., Herman, E. K., Chen, C.-Y., Graham, M., Gary Van Domselaar, & Stothard, P. (2023). Proksee: in-depth characterization and visualization of bacterial genomes. *Nucleic Acids Research*, 51(W1), W484–W492. https://doi.org/10.1093/nar/gkad326
- Hernández, M., Quijada, N. M., Rodríguez-Lázaro, D., & Eiros, J. M. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150–161. https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.06.003
- Jawade, H. A., Motaweq, Z. Y., Rasool, H. D., & Hussain, F. H. (2024). Study of Antibiotic Resistance in ESKAPE Bacteria Using β-lactamase and ESBL Genes. *Journal of Angiotherapy*, 8(3). https://doi.org/10.25163/angiotherapy.839618

Jeong, S., Kim, I., Kim, B.-E., Jeong, M.-I., Oh, K.-K., Cho, G.-S., & Franz, C. M. A. P.

(2023). Identification and Characterization of Antibiotic-Resistant, Gram-Negative Bacteria Isolated from Korean Fresh Produce and Agricultural Environment. *Microorganisms*, *11*(5), 1241.
https://doi.org/10.3390/microorganisms11051241

J. W. (2023). Continuous synthesis of E. coli genome sections and Mb-scale human DNA assembly. *Nature*, 619(7970), 555–562. <u>https://doi.org/10.1038/s41586-023-06268-1</u>

Kakoullis, L., Papachristodoulou, E., Chra, P., & Panos, G. (2021). Mechanisms of



Antibiotic Resistance in Important Gram-Positive and Gram-Negative Pathogens and Novel Antibiotic Solutions. *Antibiotics*, 10(4), 415. <u>https://doi.org/10.3390/antibiotics10040415</u>

- Karen Leth Nielsen, Markus Harboe Olsen, Pallejá, A., Søren Røddik Ebdrup, Nikolaj
 Sørensen, Oksana Lukjancenko, Marvig, R. L., Møller, K., Niels FrimodtMøller, & Frederik Boëtius Hertz. (2021). Microbiome Compositions and
 Resistome Levels after Antibiotic Treatment of Critically Ill Patients: An
 Observational Cohort Study. *Microorganisms*, 9(12), 2542–2542.
 https://doi.org/10.3390/microorganisms9122542
- Khezri, A., Avershina, E., & Ahmad, R. (2020). Plasmid Identification and Plasmid-Mediated Antimicrobial Gene Detection in Norwegian Isolates. *Microorganisms*, 9(1), 52. <u>https://doi.org/10.3390/microorganisms9010052</u>

Kiyaga, S., Kyany'a, C., Muraya, A. W., Smith, H. J., Mills, E. G., Kibet, C., Mboowa, G., & Musila, L. (2022). Genetic Diversity, Distribution, and Genomic Characterization of Antibiotic Resistance and Virulence of Clinical Pseudomonas aeruginosa Strains in Kenya. *Frontiers in Microbiology*, *13*(1). https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.835403

Klinker, K. P., Hidayat, L. K., DeRyke, C. A., DePestel, D. D., Motyl, M., & Bauer, K.

A. (2021). Antimicrobial stewardship and antibiograms: importance of moving beyond traditional antibiograms. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 8(1), 204993612110113. <u>https://doi.org/10.1177/20499361211011373</u>

Kwak, W., & Kim, B.-Y. (2022). Comparison of Bioinformatic Analysis System for Antibiotic Resistance Gene Detection and Probiotics Safety Evaluation. *Current Topic in Lactic Acid Bacteria and Probiotics*, 8(1), 32–38. <u>https://doi.org/10.35732/ctlabp.2022.8.1.32</u>



Landecker, H. (2016). Antibiotic Resistance and the Biology of History. *Body & Society*, 22(4), 19–52. https://doi.org/10.1177/1357034x14561341

Li, J., Chen, Z., & Wang, Y. (2020). Contents, Construction Methods, Data Resources, and Functions Comparative Analysis of Bacteria Databases. *International Journal of Biological Sciences*, 16(5), 838–848.

https://doi.org/10.7150/ijbs.39289

- Lipworth, S., Crook, D. W., A Sarah Walker, Peto, T., & Stoesser, N. (2023). Exploring the extent of uncatalogued genetic variation in antimicrobial resistance gene families in*Escherichia coli*. *MedRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*, 1(1). <u>https://doi.org/10.1101/2023.03.14.23287259</u>
- Lv, J., Deng, S., & Zhang, L. (2020). A review of artificial intelligence applications for antimicrobial resistance. *Biosafety and Health*, 3(1). <u>https://doi.org/10.1016/j.bsheal.2020.08.003</u>
- Mancuso, G., Midiri, A., Gerace, E., & Biondo, C. (2021). Bacterial Antibiotic Resistance: The Most Critical Pathogens. *Pathogens*, 10(10), 1310. https://doi.org/10.3390/pathogens10101310

Martelli, F., AbuOun, M., Cawthraw, S., Storey, N., Turner, O., Ellington, M., Nair, S., Painset, A., Teale, C., & Anjum, M. F. (2021). Detection of the transferable tigecycline resistance gene *tet*(X4) in *Escherichia coli* from pigs in the United Kingdom. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(3), 846–848. https://doi.org/10.1093/jac/dkab439

- McArthur, A. G., & Wright, G. D. (2015). Bioinformatics of antimicrobial resistance in the age of molecular epidemiology. *Current Opinion in Microbiology*, 27(1), 45– 50. <u>https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.07.004</u>
- Miguel Ángel Loyola-Cruz, Luis Uriel Gonzalez-Avila, Martínez-Trejo, A., Andrés Saldaña-Padilla, Hernández-Cortez, C., Juan Manuel Bello-López, & Castro-



Escarpulli, G. (2023). ESKAPE and Beyond: The Burden of Coinfections in the COVID-19 Pandemic. *Pathogens*, *12*(5), 743–743. https://doi.org/10.3390/pathogens12050743

Ministerio de Salud. (2018). Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública Reporte de Datos de Resistencia a los Antimicrobianos. https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2019/08/gaceta_ram2018.pdf

Montealegre, M. C., Talavera Rodríguez, A., Roy, S., Hossain, M. I., Islam, M. A., Lanza,

V. F., & Julian, T. R. (2020). High Genomic Diversity and Heterogenous Origins of Pathogenic and Antibiotic-Resistant Escherichia coli in Household Settings Represent a Challenge to Reducing Transmission in Low-Income Settings. *MSphere*, 5(1). <u>https://doi.org/10.1128/msphere.00704-19</u>

- Moss, E. L., Maghini, D. G., & Bhatt, A. S. (2020). Complete, closed bacterial genomes from microbiomes using nanopore sequencing. *Nature Biotechnology*, 38(6), 701–707. <u>https://doi.org/10.1038/s41587-020-0422-6</u>
- Naccache, S. N., Federman, S., Veeraraghavan, N., Zaharia, M., Lee, D., Samayoa, E., Bouquet, J., Greninger, A. L., Luk, K.-C., Enge, B., Wadford, D. A., Messenger, S. L., Genrich, G. L., Pellegrino, K., Grard, G., Leroy, E., Schneider, B. S., Fair, J. N., Martinez, M. A., & Isa, P. (2014). A cloud-compatible bioinformatics pipeline for ultrarapid pathogen identification from next-generation sequencing of clinical samples. *Genome Research*, 24(7), 1180–1192. https://doi.org/10.1101/gr.171934.113
- Namoune, R., Djebbar, A., Mekler, R., McHugh, M., Bekara, M. E. A., Decano, A., Holden, M. T. G., & Sebaihia, M. (2023). Whole Genome Sequencing and Molecular Epidemiology of Clinical Isolates of Staphylococcus aureus from Algeria. *Microorganisms*, *11*(8), 2047.



https://doi.org/10.3390/microorganisms11082047

Nguyen, T. T., Le, H. V., Xuan, D. P., Vu, T. N., Nguyen, M. H., & Tran, H. T. T. (2023).

Whole-genome sequencing of antimicrobial-resistant Salmonella enterica isolates from a Cairina moschata carcass. *Data in Brief*, 47, 108932. <u>https://doi.org/10.1016/j.dib.2023.108932</u>

- Nielsen, T. K., Browne, P. D., & Hansen, L. H. (2022). Antibiotic resistance genes are differentially mobilized according to resistance mechanism. *GigaScience*, 11(1). <u>https://doi.org/10.1093/gigascience/giac072</u>
- Pennone, V., Prieto, M., Álvarez-Ordóñez, A., & Cobo-Diaz, J. F. (2022). Antimicrobial Resistance Genes Analysis of Publicly Available Staphylococcus aureus Genomes. *Antibiotics*, 11(11), 1632. <u>https://doi.org/10.3390/antibiotics11111632</u>
- Pernille Gymoese, Kristoffer Kiil, Torpdahl, M., Østerlund, M. T., Gitte Sørensen, John Elmerdahl Olsen, Eva Møller Nielsen, & Litrup, E. (2019). WGS based study of the population structure of Salmonella enterica serovar Infantis. *BMC Genomics*, 20(1). https://doi.org/10.1186/s12864-019-6260-6
- Petit, R. A., & Read, T. D. (2020). Bactopia: a Flexible Pipeline for Complete Analysis of Bacterial Genomes. *MSystems*, 5(4). <u>https://doi.org/10.1128/mSystems.00190-</u> <u>20</u>
- Puvača, N., & de Llanos Frutos, R. (2021). Antimicrobial Resistance in Escherichia coli Strains Isolated from Humans and Pet Animals. *Antibiotics*, 10(1), 69. <u>https://doi.org/10.3390/antibiotics10010069</u>
- Ramos Meyers, G., Samouda, H., & Bohn, T. (2022). Short Chain Fatty Acid Metabolism in Relation to Gut Microbiota and Genetic Variability. *Nutrients*, 14(24), 5361. <u>https://doi.org/10.3390/nu14245361</u>



ReAct. (2016). *Resistance mechanisms – Antibiotic resistance – ReAct*. ReAct. <u>https://www.reactgroup.org/toolbox/understand/antibiotic-resistance/resistance-mechanisms-in-bacteria/</u>

- Reale, S., Bonanno, F., Sammarco, I., Vaglica, F., Cicala, P., & Fa-Brizio Vitale, amp; (2018). Escherichia coli and Salmonella enterica genomes se- quencing by NGS:
 a worldwide trial. *MEDICINE PAPERS*, 4(3), 33–38.
 <u>https://www.medicinepapers.com/pdf/2019/Medicine Papers 2018 4 (3) 33-</u>38.pdf
- Richardson, L. A. (2017). Understanding and overcoming antibiotic resistance. *PLOS Biology*, 15(8), e2003775. https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2003775
- Rodrigues, G. L., Panzenhagen, P., Ferrari, R. G., dos Santos, A., Paschoalin, V. M. F., & Conte-Junior, C. A. (2020). Frequency of Antimicrobial Resistance Genes in Salmonella From Brazil by in silico Whole-Genome Sequencing Analysis: An Overview of the Last Four Decades. *Frontiers in Microbiology*, *11*(1). https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01864
- Satán, C., Srinath Satyanarayana, Kalpita Shringarpure, Mendoza-Ticona, A., Chinnakali Palanivel, Jaramillo, K., Villavicencio, F., Davtyan, H., & Esparza, G. (2023).
 Epidemiology of antimicrobial resistance in bacteria isolated from inpatient and outpatient samples, Ecuador, 2018. *Revista Panamericana de Salud Pública* (*Impresa*), 47(1), 1–1. https://doi.org/10.26633/rpsp.2023.14
- Seemann, T. (2021, April 12). *tseemann/shovill*. GitHub. https://github.com/tseemann/shovill
- Seoane, A., & Bou, G. (2021). Bioinformatics approaches to the study of antimicrobial resistance. *Revista Española de Quimioterapia*, 34(Suppl 1), 15–17. https://doi.org/10.37201/req/s01.04.2021



- Silva, V., Araújo, S., Monteiro, A., Eira, J., Pereira, J. E., Maltez, L., Igrejas, G., Lemsaddek, T. S., & Poeta, P. (2023). Staphylococcus aureus and MRSA in Livestock: Antimicrobial Resistance and Genetic Lineages. *Microorganisms*, *11*(1), 124. <u>https://doi.org/10.3390/microorganisms11010124</u>
- Smith, J. T., Eckhardt, E. M., Hansel, N. B., Eliato, T. R., Martin, I. W., & Andam, C.
 P. (2021). Genomic epidemiology of methicillin-resistant and -susceptible
 Staphylococcus aureus from bloodstream infections. *BMC Infectious Diseases*, 21(1). <u>https://doi.org/10.1186/s12879-021-06293-3</u>
- SRA NCBI. (2024, January 5). Www.ncbi.nlm.nih.gov. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/SRX23098497
- Sserwadda, I., & Mboowa, G. (2021). rMAP: the Rapid Microbial Analysis Pipeline for ESKAPE bacterial group whole-genome sequence data. *Microbial Genomics*, 7(6). <u>https://doi.org/10.1099/mgen.0.000583</u>
- Su, M., Satola, S. W., & Read, T. D. (2018). Genome-Based Prediction of Bacterial Antibiotic Resistance. *Journal of Clinical Microbiology*, 57(3). https://doi.org/10.1128/jcm.01405-18
- Tamayo Trujillo, V. R., Guevara Ramírez, A. P., Cadena Ullauri, S. A., Paz Cruz, E. A., Ruiz Pozo, V. A., & Zambrano Espinosa, A. K. (2022). Genes involucrados con resistencia antimicrobiana en hospitales del Ecuador. *Cambios Rev Med*, 21(2), 863–863. <u>https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-1416089</u>
- Thrash, A., Hoffmann, F., & Perkins, A. (2020). Toward a more holistic method of genome assembly assessment. BMC Bioinformatics, 21(S4). https://doi.org/10.1186/s12859-020-3382-4
- Tiago Cabral Borelli, Gabriel Lencioni Lovate, Flavia, A., Ribeiro, L. F., Zaramela, L.S., Felipe Marcelo Pereira-dos-Santos, Silva-Rocha, R., & María-EugeniaGuazzaroni. (2021). Combining Functional Genomics and Whole-Genome



Sequencing to Detect Antibiotic Resistance Genes in Bacterial Strains Co-Occurring Simultaneously in a Brazilian Hospital. *Antibiotics*, *10*(4), 419–419. https://doi.org/10.3390/antibiotics10040419

- Torres Darwin, D. T. (2021). Indicadores de resistencia antimicrobiana en la unidad de cuidados intensivos en un hospital de Quito, Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Ciencia, Tecnología E Innovación En Salud Pública*, 5(2), 1–7. https://doi.org/10.31790/inspilip.v5i2.43
- Tóth, K., Tóth, Á., Kamotsay, K., Németh, V., & Szabó, D. (2022). Population snapshot of the extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli invasive strains isolated from a Hungarian hospital. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 21(1). <u>https://doi.org/10.1186/s12941-022-00493-8</u>
- Tuan, V. P., Narith, D., Tshibangu-Kabamba, E., Dung, H. D. Q., Viet, P. T., Sokomoth, S., Binh, T. T., Sokhem, S., Tri, T. D., Ngov, S., Tung, P. H., Thuan, N. P. M., Truc, T. C., Phuc, B. H., Matsumoto, T., Fauzia, K. A., Akada, J., Trang, T. T. H., & Yamaoka, Y. (2019). A Next-Generation Sequencing-Based Approach to Identify Genetic Determinants of Antibiotic Resistance in Cambodian Helicobacter pylori Clinical Isolates. *Journal of Clinical Medicine*, *8*(6), 858. https://doi.org/10.3390/jcm8060858
- Uelze, L., Borowiak, M., Bönn, M., Brinks, E., Deneke, C., Hankeln, T., Kleta, S., Murr, L., Stingl, K., Szabo, K., Tausch, S. H., Wöhlke, A., & Burkhard Malorny. (2020). German-Wide Interlaboratory Study Compares Consistency, Accuracy and Reproducibility of Whole-Genome Short Read Sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 11(1). https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.573972
- Vinueza-Burgos, C., Hidalgo-Arellano, L., Gómez-Coronado, C., Medina-Santana, J.
 L., & Cevallos-Almeida, M. (2024). Prevalence, serovars, and risk factors associated with the presence of Salmonella in pork sold in public markets in



- Weber, K. L., LeSassier, D. S., Kappell, A. D., Schulte, K. Q., Westfall, N., Albright, N. C., Godbold, G. D., Palsikar, V., Acevedo, C. A., Ternus, K. L., & Hewitt, F. C. (2020). Simulating transmission of ESKAPE pathogens plus C. difficile in relevant clinical scenarios. *BMC Infectious Diseases*, 20(1). https://doi.org/10.1186/s12879-020-05121-4
- Wissel, E. F., Talbot, B. M., Johnson, B. A., Petit, R. A., Hertzberg, V., Dunlop, A. L., & Read, T. D. (2022). hAMRoaster: a tool for comparing performance of AMR gene detection software. *BioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*, 1(1). <u>https://doi.org/10.1101/2022.01.13.476279</u>
- Zhang, T., Zhou, J., Gao, W., Jia, Y., Wei, Y., & Wang, G. (2022). Complex genome assembly based on long-read sequencing. *Briefings in Bioinformatics*, 23(5), bbac305. <u>https://doi.org/10.1093/bib/bbac305</u>
- Zürcher, J. F., Kleefeldt, A. A., Funke, L. F. H., Birnbaum, J., Fredens, J., Grazioli, S., Liu, K. C., Spinck, M., Petris, G., Murat, P., Rehm, F. B. H., Sale, J. E., & Chin, J. W. (2023). Continuous synthesis of E. coli genome sections and Mb-scale human DNA assembly. *Nature*, 619(7970), 555–562. https://doi.org/10.1038/s41586-023-06268-1

CAPITULO 8. ANEXOS

Anexo 1. Genomas de Escherichia coli con StarAMR

Accesion Numbers	Cantidad de Genes en StarAMR	Nombre de los Genes en StarAMR	Resistencias mostradas en StarAMR
		aadA1	Espectinomicina, Estreptomicina
SRX22934506		aph(3")-Ib	Estreptomicina
	5	aph(6)-Id	Estreptomicina



		sul2	Sulfametoxazol
		tet(A)	doxiciclina, tetraciclina
		aadA1	Espectinomicina
SRX22934411		aph(3")-Ib	Espectinomicina
	5	aph(6)-Id	Espectinomicina
		sul2	Sulfametoxazol
		tet(A)	doxiciclina, tetraciclina
GDW22022021			
SRX22932831	0	-	Ninguna
SRX22920367	1	qnrB19	ciprofloxacina
SRX22920172	0	-	Ninguna

Anexo 2. Genomas de Escherichia coli con ABRIcate

Accesion Numbers	Cantidad de Genes en ABRIcate	Nombre de los Genes en ABRIcate	Resistencias Mostradas en ABRIcate
SDV22024506	39	tolC	aminocumarina,aminoglucósido
SKX22934506		bacA	péptido
		acrS	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona;glicilciclina
		acrE	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona;penam
		acrF	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona;penam
		emrY	tetraciclina
		omrV	tetraciclina
		ennik	fluoroquinolona; macrólido; penam; tetraciclina
		evgA	fluoroquinolona; macrólido; penam; tetraciclina
		evgS	cefalosporina; penam
		Escherichia_coli_ampC1_beta-	aminoglucósido
		lactamase	macrólido
		acrD	cefalosporina; cefamicina; fluoroquinolona;



		mphB	fluoroquinolona
		H-NS	fluoroquinolona
		emrR	fluoroquinolona
		emrA	fluoroquinolona; macrólido; penam
		emrB	colorante_acridina;nucleósido
		CRP	colorante_acridina;nucleósido
		mdtP	colorante_acridina;nucleósido
		mdtQ	péptido
		mdtN	péptido
		main	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		eptA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		pmrF	cefalosporina;glicilciclina
		Escherichia_coli_acrA	aminocumarina
		acrB	aminocumarina;aminoglucósido
		Escherichia_coli_ampH	aminocumarina;aminoglucosido
		mdtB	nitroimidazol
		baeS	nucleosido
		baeR	aminoglucosido
		msbA	aminoglucácido
		SAT-1	aminoglucósido
		ANT(3")-IIa	sulfonamida
		tet(A)	fosfomicina
			fluoroquinolona
			fluoroquinolona: macrólido: penam
		APH(3 ^{**})-Ib	fluoroquinolona: macrólido: penam
		sul2	aminocumarina:aminoglucósido
		mdtG	carbapenem:cefalosporina;cefamicina
		mdtH	péptido
		mdtF	
		mdtE	
		cpxA	
		marA	
		yojI	
	2.5		
SRX22934411	36	emrY	tetraciclina
511122757711		emrK	tetraciclina
		evgA	fluoroquinolona; macrólido; penam



		evgS	fluoroquinolona; macrólido; penam
		Escherichia_coli_ampC1_beta-	cefalosporina; penam
		lactamase	aminoglucósido
		acrD	macrólido
		mphB	fluoroquinolona
		emrB	fluoroquinolona
		emrA	fluoroquinolona
		emrR	péptido
		eptA	colorante_acridina;nucleósido
		mdtN	colorante_acridina;nucleósido
		mdtO	colorante_acridina;nucleósido
		mdtP	fluoroquinolona; macrólido; penam
		CRP	aminocumarina; aminoglucósido; carbapenem
		tolC	péptido
		bacA	péptido
		pmrF	aminocumarina
		mdtB	aminocumarina;aminoglucósido
		baeS	aminocumarina;aminoglucósido
		baeR	fluoroquinolona
		mdtH	fosfomicina
		mdtG	nitroimidazol
		msbA	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrS	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrE	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrF	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		H-NS	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		Escherichia_coli_acrA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		acrB	cefalosporina; penam
		Escherichia_coli_ampH	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		marA	aminocumarina;aminoglucósido
		cpxA	péptido
		yojI	fluoroquinolona; macrólido; penam
		mdtE	fluoroquinolona; macrólido; penam
		mdtF	
	33	yojI	péptido
SRX22932831		pmrF	péptido
		Escherichia_coli_acrA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina



		acrB	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		Escherichia_coli_ampH	cefalosporina; penam
		CRP	fluoroquinolona; macrólido; penam
		mdtE	fluoroquinolona; macrólido; penam
		mdtA	fluoroquinolona; macrólido; penam
		msbA	nitroimidazol
		mdtP	colorante_acridina;nucleósido
		mdtO	colorante_acridina;nucleósido
		eptA	péptido
		mdtG	fosfomicina
		mdtH	fluoroquinolona
		tolC	aminocumarina; aminoglucósido; carbapenem
		bacA	péptido
		acrD	aminoglucósido
		H-NS	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		mdtA	aminocumarina
		mdtB	aminocumarina
		mdtC	aminocumarina;aminoglucósido
		baeS	aminocumarina; aminoglucósido
		baeR	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		marA	fluoroquinolona
		emrB	fluoroquinolona
		emrA	fluoroquinolona
		emrR	fluoroquinolona; macrólido; penam
		evgA	aminocumarina; aminoglucósido
		cpxA	aminoglucósido
		kdpE	cefalosporina; penam
		Escherichia_coli_ampC1_beta-	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona;penam
		lactamase	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona;penam
		acrE	
		acrF	
SRX22920367	37	acrD	aminoglucósido
		Escherichia_coli_ampC1_beta-	cefalosporina; penam
		lactamase	fluoroquinolona; macrólido; penam
		evgS	fluoroquinolona; macrólido; penam; tetraciclina
		evgA	tetraciclina
		emrK	tetraciclina



		emrY	macrólido
		Escherichia_coli_emrE	péptido
		pmrF	péptido
		yojI	aminocumarina;aminoglucósido
		baeR	aminocumarina;aminoglucósido
		baeS	aminocumarina
		mdtC	aminocumarina
		mdtA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		marA	nitroimidazol
		msbA	fosfomicina
		mdtG	fluoroquinolona
		mdtH	aminocumarina; aminoglucósido; carbapenem
		tolC	péptido
		bacA	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrS	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrE	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrF	colorante_acridina;nucleósido
		mdtP	colorante_acridina;nucleósido
		mdtO	péptido
		eptA	fluoroquinolona; macrólido; penam
		mdtF	fluoroquinolona; macrólido; penam
		mdtE	fluoroquinolona; macrólido; penam
		CRP	cefalosporina; penam
		Escherichia_coli_ampH	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		acrB	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		Escherichia_coli_acrA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		H-NS	aminocumarina;aminoglucósido
		cpxA	fluoroquinolona
		emrB	fluoroquinolona
		emrA	fluoroquinolona
		emrR	fluoroquinolona
		QnrB5	
SRX22920172	37	tolC	aminocumarina;aminoglucósido;carbapenem
		bacA	péptido
		acrS	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrE	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
		acrF	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona


		
	pmrF	péptido
	yojI	péptido
	H-NS	cefalosporina;cefamicina;fluoroquinolona
	mdtF	fluoroquinolona; macrólido; penam
	mdtE	fluoroquinolona; macrólido; penam
	CRP	fluoroquinolona; macrólido; penam
	acrD	aminoglucósido
	Escherichia_coli_ampC1_beta-	cefalosporina; penam
	lactamase	cefalosporina; penam
	Escherichia_coli_ampH	colorante_acridina;nucleósido
	mdtP	colorante_acridina;nucleósido
	mdtO	colorante_acridina;nucleósido
	mdtN	péptido
	eptA	nitroimidazol
	msbA	aminocumarina
	mdtA	aminocumarina
	mdtB	aminocumarina
	mdtC	aminocumarina;aminoglucósido
	baeS	aminocumarina;aminoglucósido
	baeR	fosfomicina
	mdtG	fluoroquinolona
	mdtH	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
	Escherichia_coli_acrA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
	acrB	fluoroquinolona
	emrB	fluoroquinolona
	emrA	fluoroquinolona
	emrR	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
	marA	fluoroquinolona; macrólido; penam
	evgS	fluoroquinolona; macrólido; penam
	evgA	tetraciclina
	emrK	tetraciclina
	emrY	aminocumarina:aminoglucósido
	cnx A	
	чрла	

Anexo 3. Genomas de Salmonella enterica con StarAMR

Accesion Numbers	Cantidad de Genes	Nombre de los	Resistencias mostradas en



	en StarAMR	Genes en StarAMR	StarAMR
SRX23098497	0	-	Ninguna
		ant(3")-Ia	Estreptomicina
		floR	Cloranfenicol, Florfenicol
SRX22688550	5	qacE	Cloruro de benzalconio,
		sul1	bromuro de etidio
		tet(A)	Sulfametoxazol
			doxiciclina, tetraciclina
SRX22870922	0	-	Ninguna
SRX22948137	0	-	Ninguna
SRX22948109	0	-	Ninguna

Anexo 4. Genomas de Salmonella enterica con ABRIcate

Muestras	Cantidad de Genes en	Nombre de los Genes en	Resistencias mostradas en ABRIcate
	ABRIcate	ABRIcate	
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
SRX23098497	7	mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		AAC (6')-Iaa	aminoglucósido
		mdtK	fluoroquinolona
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
		mdtK	fluoroquinolona
		mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
SRX22688550	10	mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		tet(A)	tetraciclina
		sul1	sulfonamida
		ANT (3")-IIa	aminoglucósido
		floR	fenicol
		mdtK	fluoroquinolona
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina



SRX22870922	6	mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdtK	fluoroquinolona
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina
SRX22948137	6	mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		AAC (6')-Iy	aminoglucósido
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
SRX22948109	7	mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdtK	fluoroquinolona
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona; glicilciclina

Anexo 5. Genomas de Salmonella infantis con StarAMR

Accesion Numbers	Cantidad de Genes en StarAMR	Nombre de los Genes en StarAMR	Resistencias mostradas en StarAMR	
SRX22095099	0	-	Ninguna	
SRX22094976	0	-	Ninguna	
		aac (3)-IV	Gentamicina, Tobramicina	
		ant (3")-Ia	Estreptomicina	
		aph (3')-Ia	Neomicina, Kanamicina, Lividomicina,	
		aph (4)-Ia	higromicina	
SRX22094963	10	blaCTX-M-65	Amoxicilina, Ampicilina, Aztreonam,	
		dfrA14	trimetoprima	
		floR	Cloranfenicol, Florfenicol	
		qacE	Cloruro de bencilconio, etidio	
		sul1	Sulfametoxazol	
		tet(A)	doxiciclina, tetraciclina	
SRX22094843	0	-	Ninguna	
SRX22094822	0	-	Ninguna	

Anexo 6. Genomas de Salmonella infantis con ABRIcate



Accesion Numbers	Cantidad de Genes en ABRIcate	Nombre de los Genes en ABRIcate	Resistencias mostradas en ABRIcate
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
SRX22095099	6	mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona;
		mdtK	glicilciclina
			fluoroquinolona
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
SRX22094976	6	mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdtK	fluoroquinolona
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona;
			glicilciclina
		mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		tet(A)	tetraciclina
		mdtK	fluoroquinolona
		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona;
		sul1	glicilciclina
SRX22094963	15	ANT(3")-IIa	sulfonamida
		dfrA14	aminoglucósido
		floR	diaminopirimidina
		AAC(3)-IV	fenicol
		APH(4)-Ia	aminoglucósido
		CTX-M-65	aminoglucósido
		APH(3')-Ia	cefalosporina
			aminoglucósido
		mdtK	fluoroquinolona
		golS	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
GDV22004042		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
SKX22094843	6	mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina



		sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona;
			glicilciclina
		mdtK	fluoroquinolona
SRX22094822	6	sdiA	cefalosporina; fluoroquinolona;
		golS	glicilciclina
		mdsA	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsB	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
		mdsC	carbapenem;cefalosporina;cefamicina
			carbapenem;cefalosporina;cefamicina

Anexo 7. Genomas de Staphylococcus aureus con StarAMR

Accesion Numbers	Cantidad de GenesNombre de los Genes en StarAMRRes		Resistencias mostradas en StarAMR
SRX22917086	1	blaZ	Amoxicilina, ampicilina, penicilina,
			piperacilina
		ant (9)-Ia	espectinomicina
SRX22788443	4	erm (A)	Eritromicina, Lincomicina,
		mecA	Clindamicina
		tet (M)	Amoxicilina, Amoxicilina+Clavulánico
			Doxiciclina, Tetraciclina, Minociclina
		aadD	Amikacina, tobramicina
		blaZ Amoxicilina, a	
SRX22582017	4	bleO	Bleomicina
		mecA	Amoxicilina, Amoxicilina+ácido
			clavulánico
		aac(6')-aph(2")	Gentamicina, tobramicina, netilmicina
SRX22582012	2	blaZ	Amoxicilina, ampicilina, penicilina
		ant(9)-Ia	espectinomicina
SRX23072338	3	erm(A)	Eritromicina, Lincomicina,
511125072550	5	mecA	Clindamicina
			Amoxicilina+ácido clavulánico

Anexo 8. Genomas de Staphylococcus aureus con ABRIcate



Accesion Numbers	Cantidad de Genes en ABRIcate	Nombre de los Genes en ABRIcate	Resistencias mostradas en ABRIcate
		arlS	tinte_acridina;fluoroquinolona
		arlR	tinte_acridina;fluoroquinolona
		tet(38)	tetraciclina
		mepA	glicilciclina; tetraciclina
SRX22917086	9	mepR	glicilciclina; tetraciclina
		mgrA	tinte_acridina;cefalosporina;fluoroquinolona
		Staphylococcus_aureus_norA	fluoroquinolona
		Staphylococcus_aureus_FosB	fosfomicina
		Staphylococcys_aureus_LmrS	aminoglucósido; diaminopirimidina
		Staphylococcys_aureus_LmrS	aminoglucósido; diaminopirimidina
		Staphylococcus_aureus_FosB	fosfomicina
		arlS	tinte_acridina;fluoroquinolona
		arlR	tinte_acridina;fluoroquinolona
SRX22788443	13	mgrA	tinte_acridina;cefalosporina;fluoroquinolona
		Staphylococcus_aureus_norA	fluoroquinolona
		tet(38)	tetraciclina
		mepR	glicilciclina; tetraciclina
		mepA	glicilciclina; tetraciclina
		mecA	penam
		mecR1	penam
		mecI	penam
		ErmA	lincosamida; macrólido; estreptogramina
		arlS	tinte_acridina;fluoroquinolona
		arlR	tinte_acridina;fluoroquinolona
		mepA	glicilciclina; tetraciclina
		mepR	glicilciclina; tetraciclina
SRX22582017	11	tet(38)	tetraciclina
		mecA	penam
		ANT(4')-Ib	aminoglucósido
		Staphylococcus_aureus_FosB	fosfomicina
		Staphylococcus_aureus_norA	fluoroquinolona



		mgrA	tinte_acridina;cefalosporina;fluoroquinolona
		Staphylococcys_aureus_LmrS	aminoglucósido; diaminopirimidina
		mgrA	tinte_acridina;cefalosporina;fluoroquinolona
		mepA	glicilciclina; tetraciclina
		mepR	glicilciclina; tetraciclina
SRX22582012	8	arlS	tinte_acridina;fluoroquinolona
		arlR	tinte_acridina;fluoroquinolona
		tet(38)	tetraciclina
		dfrC	diaminopirimidina
		AAC(6')-Ie-APH(2")-Ia	aminoglucósido
		arlS	tinte_acridina;fluoroquinolona
		arlR	tinte_acridina;fluoroquinolona
		mepA	glicilciclina; tetraciclina
		mepR	glicilciclina; tetraciclina
		Staphylococcus_aureus_FosB	fosfomicina
		Staphylococcys_aureus_LmrS	aminoglucósido; diaminopirimidina
SRX23072338	13	mecI	penam
		mecR1	penam
		mecA	penam
		mgrA	tinte_acridina;cefalosporina;fluoroquinolona
		Staphylococcus_aureus_norA	fluoroquinolona
		tet(38)	tetraciclina
		ErmA	lincosamida; macrólido; estreptogramina

Anexo 9. Análisis de Varianza con Infostat en Escherichia coli

Análisis d	e la varian	za					
	Variable	Ν	Rª	R" Aj	cv		
Número de	Genes Ident	ifica l	0 0,98	0,98	12,42		
Cuadro de	Análisis de	la Varia	nza (SC	tipo	111)		
F.V.	2024 10	g1 CM	10 509	p-1	7alor	-	
Base de Da	tos 2924,10	1 2924,	10 508, 10 508,	54 <0,	0001		
Error	46,00	8 5,	75				
Total	2970,10	9				_	
Test:Dunca Error: 5,7	n Alfa=0,05 500 gl: 8						
Base de	Datos M	edias n 1	E.E.				
StaRAMR (R	ESFINDER)	2,20 5	1,07 A				
ABRIcate (CARD)	36,40 5	1,07	в			
Medias con u	una letra com	ún no son s	signific	ativame	ente dife	erentes	(p > 0,05

Figura 4. ANOVA realizado en Infostat con E.coli.

Anexo 10. Análisis de Varianza con Infostat en Salmonella enterica

Análisis de la varianza

Análisis de la varianza

Va	riable		N Rª	R° Aj	cv
Número de Ge	nes Ident	ifica	10 0,7	6 0,73	47,86
				CO b i b i b i b i b i b i b i b i b i b i b i	
cuadro de An	alisis de	a var	lanza (SC tipo	111)
F.V.	SC	gl CM	F	p-valor	
Modelo	96,10	1 96,1	0 24,96	0,0011	
Base de Dato	s 96,10	1 96,1	0 24,96	0,0011	
Error	30,80	8 3,8	5		
Total	126,90	9			
Test:Duncan	Alfa=0,05	i			
Error: 3,850	0 gl: 8				
Base de D	atos M	ledias n	E.E.		
StaRAMR (RES	FINDER)	1,00	5 0,88	A	
ABRIcate (CA	RD)	7,20	5 0,88	в	
Medias con una	a letra com	uín no so	n signif	icativame	nte di

Figura 5. ANOVA realizado en Infostat con S. enterica

Anexo 11. Análisis de Varianza con Infostat en Salmonella infantis

Análisis de la varianza
Variable N R ^e R ^e Aj CV
Número de Genes Identifica 10 0,37 0,29 86,82
Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)
F.V. SC gI CM F p-valor
Modelo 84,10 1 84,10 4,65 0,0632
Base de Datos 84,10 1 84,10 4,65 0,0632
Error 144,80 8 18,10
Total 228,90 9
Test:Duncan Alfa=0,05
Error: 18,1000 gl: 8
Base de Datos - Medias n E.E.
StaRAMR (RESFINDER) 2,00 5 1,90 A
ABRIcate (CARD) 7,80 5 1,90 A
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Figura 6. ANOVA realizado en Infostat con S.infantis

Anexo 12. Análisis de Varianza realizado con Infostat en Staphylococcus aureus

	1	Vari	able				N	R	2	Rª	Aj	CV										
Número	de (Gene	es Id	ent	ifi	ca	1	0 0,1	85	Ο,	83	27,	31									
Cuadro	ae /	ana	1818	a	8 1 a	i var	'1a	nza	(St	5 11	po	111)									
F.V	· •		SC		дТ	CM	1	F		p-v	alo	r	_									
Modelo			160,	00	1	160,	00	46,3	38	ο,	000	1										
Base de	e Dat	tos	160,	00	1	160,	00	46,3	38	Ο,	000	1										
Error			27,	60	8	з,	45															
Total			187,	60	9																	
Test:Du	incai	n Al	lfa=0	, 05	5																	
Error:	3,4	500	gl:	8																		
Base	e de	Dat	os	1	1edi	las n	1 I	E.E.														
StaRAME	(RI	ESFI	INDER)	2,	80	5	0,83	Α													
ABRIcat	;e ((CARI	D)		10,	80	5	0,83		в												
Medias d	con u	ina 1	letra	COL	nún	no so	n s	signi	fic	ativ	rame	nte	d:	iferent	iferentes	iferentes (p	iferentes (p	iferentes (p >	iferentes (p >	iferentes (p >	iferentes (p > 0	iferentes (p > 0,0

Figura 7. ANOVA realizado en Infostat con S.aureus