



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

TESIS

**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEL GÉNERO *SALMONELLA* MEDIANTE LA
SECUENCIACIÓN DE ADN DE NUEVA GENERACIÓN**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA DE ALIMENTOS**

PRESENTA

GABRIELA ESTRADA HERNÁNDEZ



MÉXICO, D.F.

2014



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: M.E. Olga del Carmen Velázquez Madrazo.

VOCAL: Profesor: Q.F.B. Aurora Irma Ortegón Ávila.

SECRETARIO: Profesor: M.C. Abraham Itzcoatl Acatzi Silva.

1er. SUPLENTE: Profesor: Dra. Martha Giles Gómez.

2º SUPLENTE: Profesor: M.C. Norma Angélica Camacho de la Rosa.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA EN DETECCIÓN DE ORGANISMOS GENÉTICAMENTE MODIFICADOS (CNRDOGM), SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD, INOCUIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA (SENASICA). KM 37.5 CARRETERA FEDERAL MÉXICO-PACHUCA, COLONIA CENTRO, TECÁMAC DE FELIPE VILLANUEVA, ESTADO DE MÉXICO, C.P. 55740.

ASESOR DEL TEMA:

M.C. Abraham Itzcoatl Acatzi Silva.

SUPERVISOR TÉCNICO:

M.C. Felipe de Jesús Arguijo Pérez.

SUSTENTANTE:

Gabriela Estrada Hernández.

Índice.

Resumen.	i
Introducción.	ii
1. Marco teórico.	1
1.1. Enfermedades transmitidas por alimentos.	1
1.1.1. Epidemiología de las enfermedades transmitidas por alimentos en México.	1
1.2. Género <i>Salmonella</i> .	5
1.3. Clasificación de los organismos.	9
1.4. Métodos de identificación de microorganismos.	10
1.4.1. Métodos fenotípicos.	10
1.4.2. Métodos genotípicos.	12
1.4.2.1. Secuenciación de nueva generación.	13
1.4.2.1.1. Pirosecuenciación.	14
1.4.2.1.1.1. Creación de la biblioteca.	14
1.4.2.1.1.2. Cuantificación de la biblioteca.	15
1.4.2.1.1.3. Amplificación clonal de la biblioteca.	15
1.4.2.1.1.4. Enriquecimiento de la biblioteca.	16
1.4.2.1.1.5. Secuenciación de la biblioteca.	17
1.4.2.2. Bioinformática.	20
1.4.2.3. Secuenciación del gen ARN ribosomal 16S.	22
1.4.2.4. Tipificación de secuencias multilocus.	23
2. Objetivo.	27
2.1. Objetivo general.	27
2.2. Objetivos particulares.	27
3. Metodología.	28
3.1. Estrategia experimental.	28
3.2. Materiales y métodos.	28
3.2.1. Selección de bacterias del género <i>Salmonella</i> .	28
3.2.2. Extracción y evaluación del ADN.	29
3.2.3. Secuenciación del ADN.	30
3.2.3.1. Elaboración y valoración de las bibliotecas de secuenciación.	30
3.2.3.2. Cuantificación de las bibliotecas de secuenciación.	31
3.2.3.3. PCR en emulsión.	33
3.2.3.4. Rompimiento de la emulsión.	35
3.2.3.5. Enriquecimiento directo.	37
3.2.3.6. Valoración de la PCR en emulsión.	37
3.2.3.7. Corrida de secuenciación.	38

3.2.3.8. Evaluación de la corrida de secuenciación.	39
3.2.4. Análisis bioinformático.	40
3.2.4.1. Procesamiento de las secuencias de ADN.	40
3.2.4.2. Análisis del gen ARN ribosomal 16S y esquema de tipificación de secuencias multilocus.	40
4. Resultados y discusión.	41
4.1. Evaluación de las características de los parámetros iniciales.	41
4.1.1. Bibliotecas de secuenciación.	41
4.1.2. Cuantificación de las bibliotecas de secuenciación.	43
4.1.3. PCR en emulsión.	44
4.2. Corrida de secuenciación.	45
4.2.1. Evaluación del proceso de secuenciación del ADN.	45
4.3. Análisis del gen ARN ribosomal 16S.	50
4.4. Análisis de la tipificación de secuencias multilocus.	54
4.4.1. <i>Salmonella</i> 318.	55
4.4.2. <i>Salmonella</i> 375.	57
4.4.3. <i>Salmonella</i> 389.	59
4.4.4. <i>Salmonella</i> 384.	61
4.4.5. <i>Salmonella</i> Enteritidis.	63
4.5. Asignación de género y serovariedad.	65
5. Conclusiones.	66
6. Perspectiva.	67
Referencias.	iv
Apéndice.	viii

Siglas y abreviaturas.

ADN	Ácido Desoxirribonucleico.
ARNr	Ácido Ribonucleico ribosomal.
ATP	Trifosfato de adenosina (Adenosine Triphosphate).
BLAST	Herramienta de búsqueda de alineación local básica (Basic Local Alignment Search Tool).
CNRDOGM	Centro Nacional de Referencia en Detección de Organismos Genéticamente Modificados.
CPB	Copias por perla (Copies Per Bead).
DGE	Dirección General de Epidemiología.
DIF	Desarrollo Integral de la Familia.
dNTP	Desoxirribonucleótido Trifosfato (Deoxyribonucleotide Triphosphate).
eBG	Agrupamientos de aislamientos relacionados genéticamente (eBurstGroups).
emPCR	Reacción en cadena de la polimerasa en emulsión (Emulsion Polymerase Chain Reaction).
ETA	Enfermedades Transmitidas por Alimentos.
FU	Unidades de fluorescencia (Fluorescence Units).
g	Gramo.
<i>g</i>	Aceleración centrífuga.
Gb	Gigabyte.
h	Hora.
H	Antígeno flagelar.
Hz	Hertz.
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social.
ISSSTE	Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado.
LDDOP	Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos Patógenos.
LPS	Lipopolisacárido.
MID	Identificador de múltiplex (Multiplex Identifier).
mL	Mililitro.
MLEE	Electroforesis enzimática multilocus (Multilocus Enzyme Electrophoresis).
MLST	Tipificación de secuencias multilocus (Multilocus Sequence Typing).
MPC	Concentrador de partículas magnéticas (Magnetic Particle Concentrator).
N ₂	Nitrógeno.
NaOH	Hidróxido de sodio.
NCBI	Centro Nacional de Información Biotecnológica (National Center for Biotechnology Information).
ng	Nanogramo.
NGS	Secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing).
nm	Nanómetro.
NSRL	Laboratorio Nacional de Referencia de Salmonella (National Salmonella Reference Laboratory).

O	Antígeno somático.
pb	Pares de bases.
PBS	Buffer fosfato salino (Phosphate Buffered Saline).
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa (Polimerase Chain Reaction).
PEMEX	Petróleos Mexicanos.
PFGE	Electroforesis en gel de campo pulsado (Pulsed Field Gel Electrophoresis).
PPi	Pirofosfato inorgánico (Inorganic Pyrophosphate).
psi	Libras fuerza por pulgada cuadrada (Pounds force per square inch).
qPCR	Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa o en tiempo real (Quantitative Polimerase Chain Reaction).
rpm	Revoluciones por minuto.
S	Svedberg.
SEDENA	Secretaría de Defensa Nacional.
SEMAR	Secretaría de Marina Armada de México.
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad y Calidad Agroalimentaria.
ser	Serotipo/Serovar.
SINAVE	Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica.
SSA	Secretaría de Salud.
ST	Tipo de secuencia (Sequence Type).
subsp	Subespecie.
TE	Buffer Tris-EDTA.
UV	Ultravioleta.
Vi	Antígeno polisacárido capsular de virulencia.
WHO	Organización Mundial de la Salud (World Health Organization).
μL	Microlitro.
°C	Grado Celsius.

Resumen.

Salmonella es uno de los géneros de bacterias de mayor importancia como agente causal de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) cuyo control depende en gran medida del método analítico que las instituciones de diagnóstico epidemiológico empleen para su identificación.

El presente estudio utiliza la secuenciación del ADN de muestras de bacterias del género *Salmonella* por medio de la técnica de secuenciación de nueva generación (NGS) a través de la plataforma Roche 454 GS FLX Titanium y el subsecuente análisis bioinformático de las secuencias obtenidas. Se generó el mapeo del gen ARN ribosomal (ARNr) 16S para determinar el género de las bacterias y se estableció un esquema de tipificación de secuencias multilocus (MLST) directamente en las secuencias nucleotídicas de fragmentos de genes constitutivos para la obtención de la serovariedad de las bacterias.

La identificación de las bacterias del género *Salmonella* mediante la NGS de ADN del genoma completo en conjunto con herramientas de bioinformática direccionadas al análisis de un esquema MLST proporciona un enfoque con ventajas superiores a los métodos convencionales.

Introducción.

Los microorganismos están ampliamente distribuidos en todo el planeta, algunos son benéficos, o al menos no producen ningún daño, otros son dañinos y producen enfermedades al hombre, los animales y las plantas. En relación con los alimentos hay microorganismos que ayudan en la elaboración de diferentes tipos de productos, no obstante existen microorganismos patógenos capaces de producir enfermedades al ser ingeridos con el alimento.

A este respecto, las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) constituyen un importante problema de salud pública, recientemente y en todo el mundo se ha constatado el aumento de su frecuencia, cambios en las causas predominantes y en la dinámica epidemiológica (WHO, 2013).

Las enfermedades transmitidas por alimentos obedecen a diversas causas, aquellas de origen bacteriano son las que con mayor frecuencia se reportan a nivel mundial. Debido a esta razón el estudio y control de los microorganismos causantes de las ETA es primordial.

Con el propósito de identificar oportunamente microorganismos patógenos, se han desarrollado una serie de metodologías para poder diferenciar un microorganismo de otro. Aquellas técnicas moleculares basadas en el análisis de los ácidos nucleicos tienen un avance trascendente en la actualidad debido a la especificidad, la sensibilidad, la rapidez y a que pueden ser automatizadas. La demanda de tecnologías revolucionarias que provean información de los ácidos nucleicos ha permitido el desarrollo de las plataformas de secuenciación de nueva generación (NGS).

Salmonella es uno de los géneros más estudiados entre los patógenos que pueden ser aislados de los alimentos. La principal forma de contagio es la vía oral, se puede transmitir de manera directa a través del contacto con las heces o materia fecal de personas enfermas o por medio de alimentos y agua contaminada.

Para reducir la incidencia y las consecuencias económicas de las ETA, las instancias de inocuidad de los alimentos asisten, establecen y fortalecen sus

programas y herramientas para asegurar la seguridad de los alimentos desde la producción al consumo final. Un componente esencial de la vigilancia epidemiológica, es la identificación de los agentes infecciosos asociados a las enfermedades que representan riesgos a la población.

Es en este sentido de suma importancia contar con métodos y nuevas tecnologías que garanticen el estudio y el control de los agentes biológicos promotores de las ETA, no sólo con el fin de identificar al microorganismos en cuestión sino llevar la identificación a nivel de cepas para determinar el causante del brote infeccioso, detectar la transmisión cruzada de patógenos, determinar la fuente de infección y reconocer cepas particularmente virulentas de los microorganismos (Olive y Bean, 2009).

Debido a este motivo se estudia la implementación de un método basado en la secuenciación del ADN de genoma completo para la identificación de microorganismos, para proporcionar mayor precisión respecto de los métodos convencionales. Este hecho coadyuva a las actividades de identificación de bacterias patógenas que realiza el Centro Nacional de Referencia en Detección de Organismos Genéticamente Modificados (CNRDOGM) del Servicio Nacional de Sanidad e Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA) para lograr la identificación y asignación de la serovariedad dentro de la especie *Salmonella* con el objetivo de construir una base de datos genética que permita realizar la trazabilidad en casos de alerta sanitaria.

1. Marco teórico.

1.1. Enfermedades transmitidas por alimentos.

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son el resultado de la ingestión de alimentos contaminados por agentes químicos y agentes biológicos. La contaminación de los alimentos puede ocurrir en cualquier etapa del proceso de producción de alimentos para consumo y puede resultar de la contaminación ambiental, incluyendo la contaminación del agua, tierra o aire.

La Organización Mundial de la Salud (WHO) plantea que la mayoría de las enfermedades por alimentos son de origen biológico, aquellas de etiología bacteriana resultan ser las que ocupan el primer lugar en frecuencia, es por lo tanto este factor el responsable de altos niveles de morbilidad y mortalidad en la población general, pero particularmente para grupos vulnerables, como los niños, los jóvenes, los ancianos y los inmunodeprimidos.

La presentación clínica más común de las enfermedades transmitidas por los alimentos toma la forma de síntomas gastrointestinales. No obstante, estas enfermedades también pueden tener síntomas neurológicos, ginecológicos e inmunológicos. Fallo multiorgánico e incluso cáncer pueden resultar de la ingestión de alimentos contaminados, lo que representa una considerable carga de discapacidad, así como de mortalidad (WHO, 2014).

1.1.1. Epidemiología de las enfermedades transmitidas por alimentos en México.

En México, los principales factores asociados a un riesgo de presentar ETA son la higiene personal deficiente, la limpieza en la preparación y consumo de alimentos y la contaminación fecal del agua y de los alimentos. Para la población infantil se añaden factores como la desnutrición, ausencia o prácticas inapropiadas de lactancia materna, peso bajo al nacer y un esquema de vacunación incompleto (SSA, DGE y SINAVE, 2012).

Las enfermedades que potencialmente pueden ser transmitidas por alimentos en México, están asociadas de manera predominante a una manifestación clínica diarreica (Romero, 2002), lo cual constituye una amplia gama de padecimientos causados por diversos agentes etiológicos, para los cuales es necesario establecer los procedimientos de vigilancia epidemiológica en aquellos que representan mayores riesgos para la salud de la población (SSA, DGE y SINAVE, 2012).

Dentro de un panorama general, los principales casos nuevos de enfermedades notificados a nivel nacional a la SSA, el IMSS, el ISSSTE, el DIF, PEMEX, la SEDENA y la SEMAR reportados por el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) se presentan en la Figura 1.1. En particular, se muestra el impacto de las enfermedades transmitidas por los alimentos como una de las causas de enfermedad en México con mayor incidencia, 14% sobre el total de los casos notificados en todo el país.

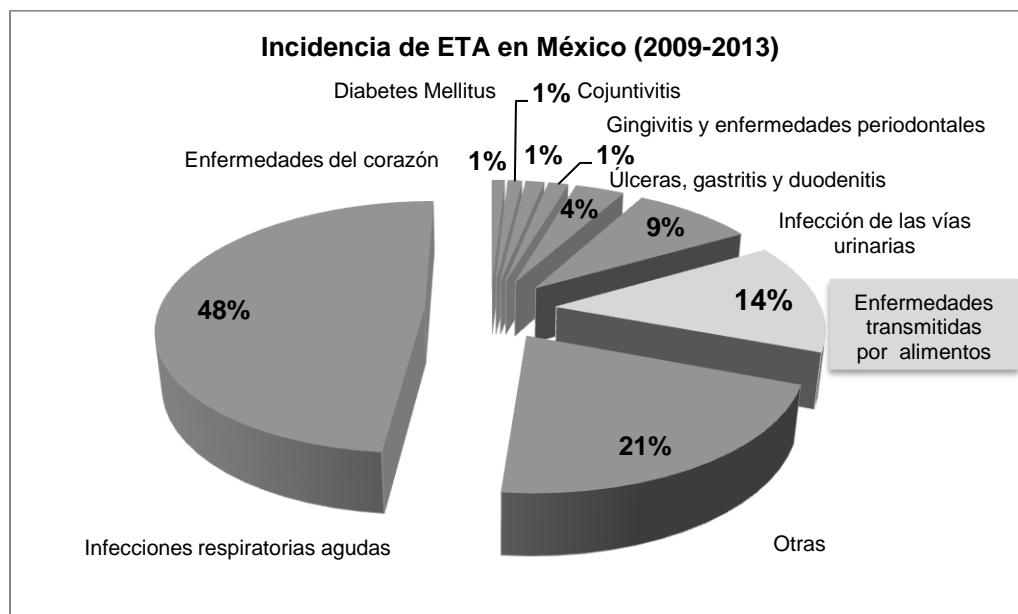


Figura 1.1. Distribución de los casos de enfermedades de mayor incidencia en México (SINAVE, 2009-2013).

Los casos de enfermedades gastrointestinales reportadas por el SINAVE se han agrupado dependiendo del agente etiológico al que están asociados:

- ETA debidas a agentes químicos:
 1. Casos provocados por plaguicidas y clenbuterol (0.1%).
- ETA debidas a agentes biológicos:
 2. Casos provocados por géneros de bacterias definidas y de frecuente incidencia: *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli* (3.5%).
 3. Casos provocados por microorganismos de tipo no bacteriano definidos y de frecuente incidencia: protozoarios, virus y helmintos (14.9%).
 4. Casos provocados por otros microorganismos de menor frecuencia y aquellos casos cuya causa ha sido mal definida (81.5%).

La distribución porcentual de cada una de las categorías sobre el total de los casos de ETA está representada en la Figura 1.2.

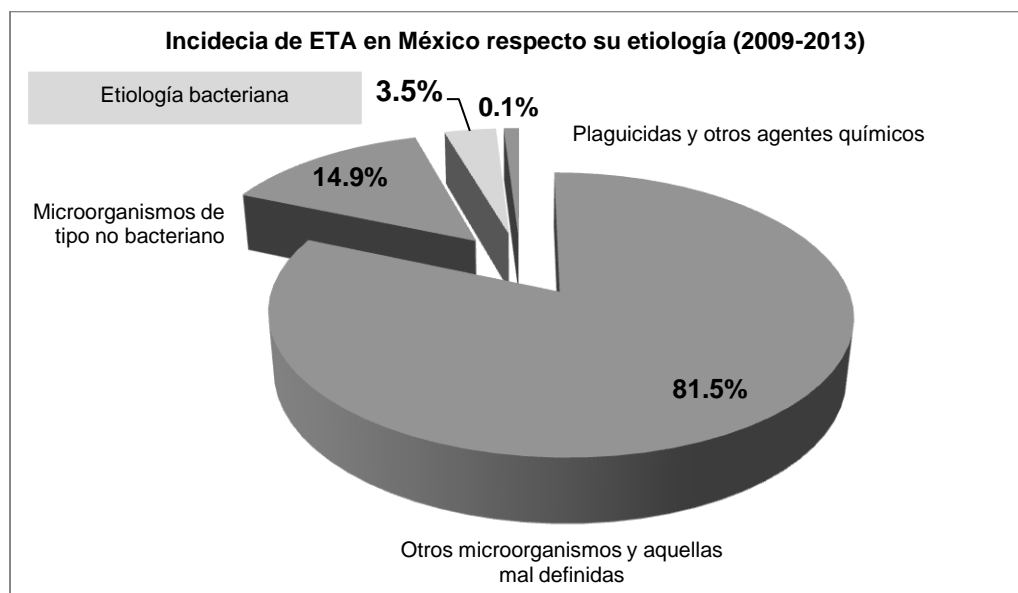


Figura 1.2. Distribución de las principales causas de enfermedades de transmisión por alimentos (SINAVE, 2009-2013).

Finalmente bajo el mismo contexto, del 3.5% total de casos provocados por bacterias, son tres aquellas que se manifiestan con mayor frecuencia entre la población, de estas aquellas del género *Salmonella* son responsables de la mayoría de los casos nuevos de ETA en el país (Figura 1.3).

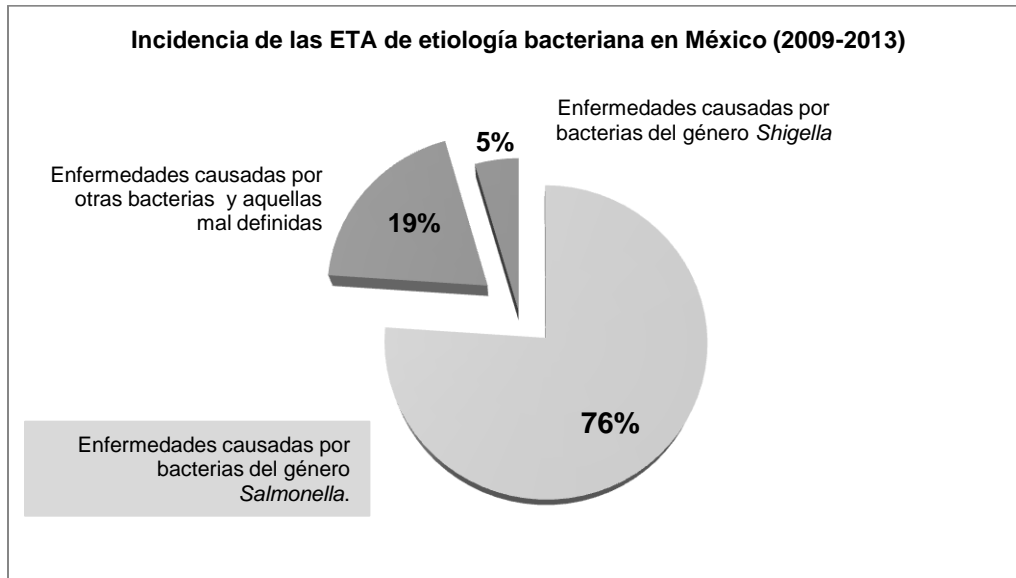


Figura 1.3. Distribución de las principales causas de origen bacteriano de enfermedades de transmisión por alimentos (SINAVE, 2009-2013).

La vigilancia epidemiológica de las ETA cuyos agentes etiológicos son de origen microbiológico se complica por varios factores:

- Muchos organismos patógenos transmitidos por el agua y los alimentos son contagiados de persona a persona lo que dificulta la relación de lo consumido con el padecimiento.
- Una proporción de las ETA que son causadas por microorganismos patógenos no se han identificado y no pueden ser diagnosticados (Cedillo *et al.*, 2010).

1.2. Género *Salmonella*.

El género *Salmonella* pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son bacilos gram negativo, no formadores de esporas, anaerobios facultativos, provistos de flagelos y móviles (excepto *Salmonella enterica* serovar Gallinarum y *Salmonella enterica* serovar Pullorum) (Jurado *et al.*, 2010). Las bacterias de este género son ubicuas y resistentes, pueden sobrevivir varias semanas en ambientes secos y muchos meses en agua (NSRL, 2010). Por esta razón son una causa importante de enfermedades transmitidas por alimentos en humanos.

La clasificación más reciente de *Salmonella* considera dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (Uribarren, 2014), subdivididas en subespecies y en cepas diferentes llamadas serotipos o serovares (ser) (NSRL, 2010). En la Figura 1.4 se observa la organización de las subespecies definidas para *Salmonella enterica*; la división en tifoidea y no tifoidea está basada en el síndrome de la enfermedad mientras que la diferenciación de los serovares depende de reacciones de aglutinación con antisueros específicos para los epítomos dentro de cualquier antígeno. Varias combinaciones de antígenos han provocado 1500 serovariedades dentro de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* y 1000 en las subespecies de *Salmonella enterica* restantes.

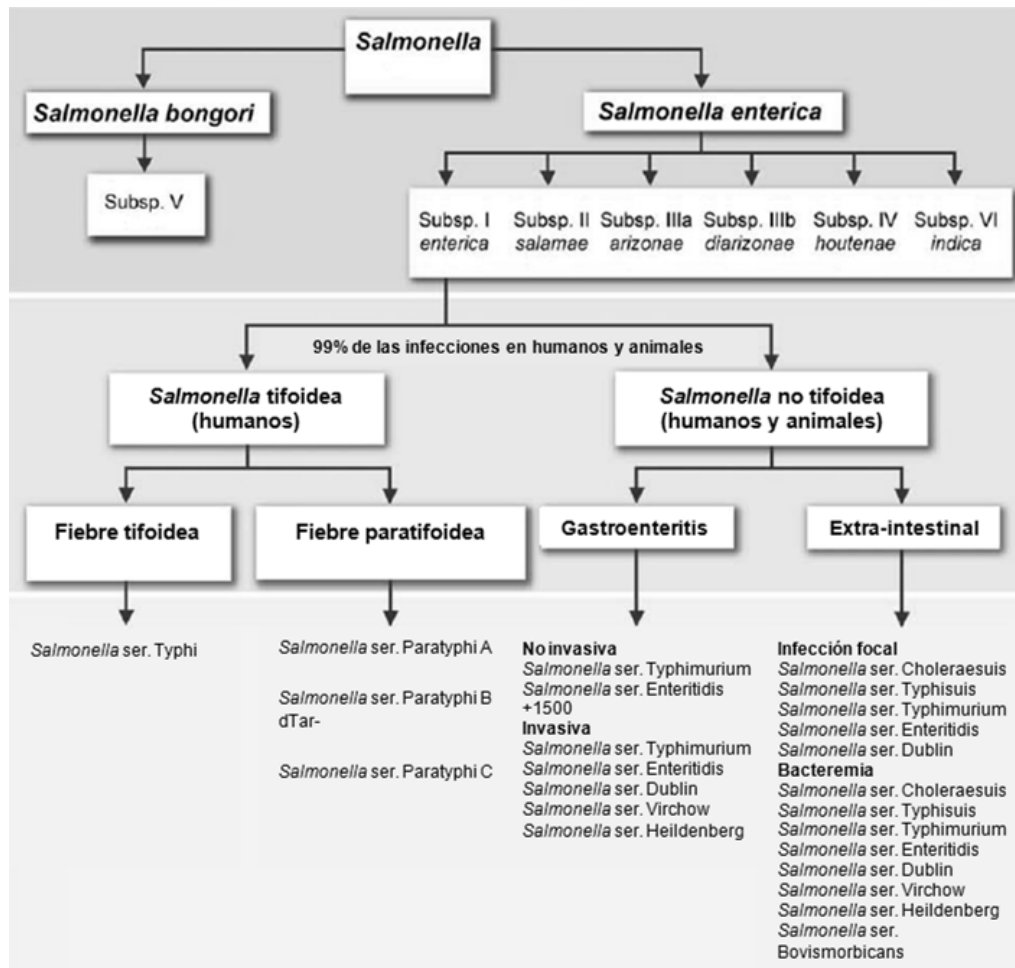


Figura 1.4. Clasificación de *Salmonella enterica* (editado de Achtman *et al.*, 2012).

Se conoce como salmonelosis al grupo de infecciones producidas por bacterias del género *Salmonella*, las cuales se adquieren por la ingesta de alimentos o bebidas contaminados (Uribarren, 2014).

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por alimentos más común a nivel mundial. Los serotipos causantes de enfermedades en humanos, a menudo lo hacen de forma invasiva y puede ser mortal sino se cuenta con el tratamiento adecuado (WHO, 2013). Se conocen tres formas clínicas de salmonelosis en el humano: gastroenteritis (causada por *Salmonella enterica* ser. Typhimurium, *Salmonella enterica* ser. Enteritidis, etc.), fiebre entérica (causada por *Salmonella enterica* ser. Typhi y *Salmonella enterica* ser. Paratyphi) y una

enfermedad invasiva sistémica (ocasionada por *Salmonella enterica* ser. Cholerasuis) (Caballero *et al.*, 2008).

Las bacterias del género *Salmonella* en humanos pasan por el estómago y después al intestino. Es generalmente contraída a través del consumo de alimentos contaminados de origen animal (principalmente huevos, carne, aves de corral y leche), aunque otros alimentos, incluyendo las verduras contaminadas por abono y agua, se han implicado en su transmisión. También puede producirse la transmisión de persona a persona a través de la ruta fecal-oral (Hernández *et al.*, 2011).

Típicamente, estas cepas causan gastroenteritis, lo cual a menudo no provoca complicaciones y no necesitan tratamiento, pero pueden ser graves en los niños, ancianos y pacientes con inmunidad debilitada. Las bacterias del género *Salmonella* pueden pasar a través de toda la cadena alimenticia, la producción primaria hasta llegar a los hogares o establecimientos de servicio de alimentos (WHO, 2013).

La salmonelosis es usualmente caracterizada por fiebre, dolor abdominal, diarrea, náusea y algunas veces vómito. El inicio de los síntomas ocurre de 6-72 horas (frecuentemente entre 12-36 horas) después de la ingestión de la bacteria, y la enfermedad de 2 a 7 días (Uribarren, 2014).

Las dos serovariedades más frecuentes de *Salmonella enterica* en México son Typhimurium (22.2%) y Enteritidis (14.5%) (Benavides *et al.*, 2012). Otros serotipos aislados de alta frecuencia son: Derby, Agona y Anatum. Los diversos serotipos tienen diferentes grados de adaptación y patogenicidad (Hernández *et al.*, 2011).

Una forma particular de infección por *Salmonella* en el humano es la fiebre tifoidea, la cual es causada por la ingestión e invasión intestinal de *Salmonella enterica* ser. Typhi, el cual produce infección sistémica (Benavides *et al.*, 2012). La fiebre tifoidea es la causa más común de fiebre entérica, que también incluye a la fiebre paratifoidea, ocasionada por *Salmonella enterica* ser. Paratyphi A, B y C. Los serotipos de *Salmonella enterica* Typhi y Paratyphi son patógenos comunes en países en desarrollo. *Salmonella* se caracteriza por su antígeno flagelar (H), su

antígeno O (lipopolisacárido) y un antígeno polisacárido capsular de virulencia (Vi) (Uribarren, 2014).

Anualmente, en el mundo hay al menos 16 millones de casos de fiebre tifoidea, resultando en 600 000 muertes (WHO, 2013). En los últimos cinco años en México se han reportado alrededor de 50 mil casos al año en de fiebre tifoidea (Figura 1.5). Es relevante insistir, como se mencionó con anterioridad, que esta incidencia se basa primordialmente en una valoración clínica, sin que se hayan aplicado métodos confiables de diagnóstico. Esto implica, por tanto, un grado de incertidumbre en la estadística.

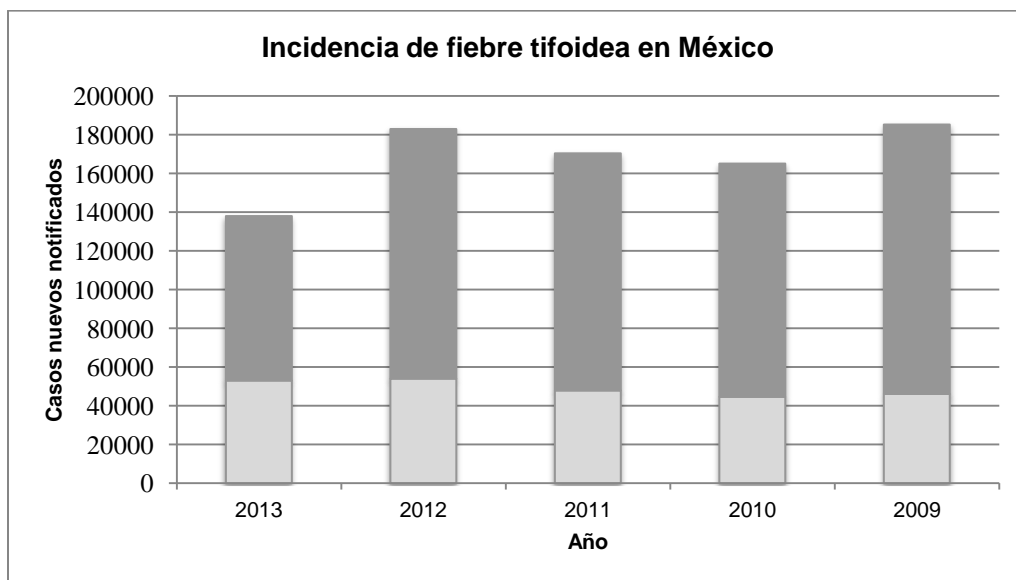


Figura 1.5. Distribución de los casos de fiebre tifoidea respecto a la totalidad de los casos provocados por bacterias del género *Salmonella* (SINAVE, 2009-2013).

Desde principios de la década de 1990, las cepas de *Salmonella* resistentes a una amplia gama de antimicrobianos han surgido y actualmente son un problema grave de salud pública (WHO, 2013).

1.3. Clasificación de los organismos.

La taxonomía trata la organización de los organismos dentro de categorías o taxones para mostrar el grado de similitud entre ellos. Estas similitudes son debidas al parentesco existente, ya que todos los organismos están relacionados a través de la evolución (Tortora *et al.*, 2013). La clasificación de los organismos es primordial, brinda un lenguaje universal para la obtención de información y permite la identificación de los organismos en diversos estudios.

La relación evolutiva de los organismos se puede establecer por medio de cronómetros biológicos como lo son las macromoléculas ribosómicas, en especial los ARN ribosómicos (ARNr). Este tipo de moléculas se pueden usar para construir un árbol filogenético para todas las formas de vida. Carl Woese, fue el primero en advertir la posibilidad de emplear el ARNr como instrumento idóneo para establecer relaciones filogenéticas.

Se han identificado tres líneas celulares filogenéticamente distintas a partir de la comparación de las secuencias del ARN ribosómico. Estas líneas evolutivas, conocidas como dominios evolutivos son Bacteria, Archea y Eukarya (Figura 1.6). Se basa en la suposición que estos dominios surgieron por divergencia a partir de un organismo antecesor común. El árbol filogenético universal determinado por comparación de secuencias del ARNr muestra dentro de cada dominio sólo algunos organismos clave de cada linaje (Madigan *et al.*, 2003).

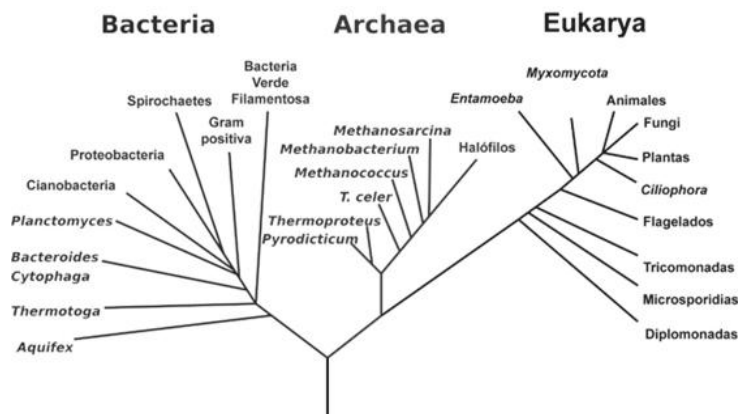


Figura 1.6. Árbol filogenético de la vida.

La capacidad de secuenciar ácidos nucleicos, incluso genomas completos, ha dado lugar a nuevos conocimientos sobre la clasificación y la evolución. La taxonomía también proporciona una referencia común para la identificación de organismos ya clasificados (Tortora *et al.*, 2013).

1.4. Métodos de identificación de microorganismos.

A lo largo de los años se han desarrollado y empleado de manera sistemática métodos basados en las características fenotípicas de los microorganismos, ejemplo de éstos son los métodos fisiológicos, bioquímicos y serológicos. Recientemente han alcanzado un crecimiento notable métodos basados en las características genotípicas para la identificación y clasificación de los microorganismos (Sauer *et al.*, 2008).

1.4.1. Métodos fenotípicos.

Los métodos fenotípicos para la identificación de microorganismos se han basado tradicionalmente en la observación macro o microscópica de la morfología del microorganismo; en la tinción producida al aplicar algunos colorantes sobre el tejido infectado o sobre el microorganismo; en la determinación mediante pruebas bioquímicas del metabolismo celular; en el desarrollo del microorganismo en un medio de cultivo específico; en el caso de microorganismos patógenos, en la observación de los síntomas que presentan los hospederos; y en la reacción de un anticuerpo a la presencia de un antígeno (Rodríguez *et al.*, 2009).

Gracias al poder de resolución alcanzado en el campo de la microscopía es posible la identificación de las partes estructurales características de una célula individual, aislar los componentes celulares y analizar su composición química (Montoya, 2008).

Las características de la pared celular son ampliamente usadas como parte de un esquema de clasificación bacteriana, puede visualizarse mediante una técnica de tinción de tipo diferencial, la cual se conoce popularmente como tinción

de Gram. Esta coloración se basa en la capacidad de las bacterias de retener el colorante primario (cristal violeta), aun después de haber sido decoloradas con alcohol acetona. Esta situación se presenta por causa de las diferencias estructurales de la pared celular de las bacterias (Montoya, 2008). La tinción de Gram, distingue dos grupos de bacterias: bacterias Gram positivas y Gram negativas (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Características de las bacterias Gram positivas y Gram negativas (Montoya, 2008).

Característica	Gram positivas	Gram negativas
Estructura de la pared celular	Monocapa gruesa de peptidoglucano.	Multicapa delgada de peptidoglucano.
Composición de la pared celular	Baja en lípidos (1-4%). El peptidoglucano presente supone 50% del peso seco de algunas bacterias. Presencia de ácidos teicoicos.	Alta en lípidos (11-22%). El peptidoglucano presente supone 10% del peso seco. No hay ácidos teicoicos.
Requerimientos nutrimentales	Relativamente complejos en muchas especies.	Relativamente sencillos.
Resistencia a la rotura mecánica	Más resistentes.	Menos resistentes.

La pared celular de los microorganismos contiene además proteínas y lipopolisacáridos (LPS), para algunos de estos componentes de la pared celular pueden ocurrir variaciones en la estructura molecular. Cada estructura diferente puede ser llamada antígeno. Un antígeno es una molécula que reacciona con un anticuerpo (NSRL, 2010). La diferenciación de cepas de microorganismos toma en cuenta tres tipos de antígenos: el antígeno somático (O), las dos fases de los antígenos flagelares (H1 y H2) y un antígeno capsular (Vi) (Achtman *et al.*, 2012).

La serotipificación depende de una prueba de reacción a los microorganismos con diferentes anticuerpos para determinar cuáles antígenos están presentes. Basados en la detección de antígenos una sola especie puede ser dividida en cientos de miles de diferentes serotipos (NSRL, 2010).

Como referencia, para el caso puntual del género *Salmonella*, el propósito de la serotipificación es determinar, a cuáles de los más de 2500 serotipos de *Salmonella* pertenece un aislamiento específico.

Los serotipos de *Salmonella* son definidos basados en la estructura de los antígenos O y los antígenos H. Estos antígenos son detectados usando reacciones de aglutinación con antisueros generados de forma comercial, el antígeno O usa una suspensión de crecimiento a partir de una placa de agar mientras que los antígenos H usan una suspensión a partir de medios líquidos de cultivo. El serotipo es definido desde el patrón específico de las reacciones de aglutinación usando el esquema de clasificación de Kauffmann-White (NSRL, 2010).

Estos métodos son útiles para el reconocimiento de una fuente común de microorganismos de un brote aislado, pero inapropiados para una asignación confiable de aislamientos de uno de 2500 serovares de *Salmonella enterica* (Achtman *et al.*, 2012).

1.4.2. Métodos genotípicos.

Los métodos genotípicos tienen múltiples ventajas, ya que permiten la discriminación del género, de las especies y de las subespecies de los microorganismos con precisión (Sauer *et al.*, 2008).

Altos niveles de diferenciación bacteriana pueden lograrse de dos maneras diferentes. En un primer enfoque, son identificadas regiones del genoma no caracterizadas, altamente variables dentro de la población bacteriana. Para patógenos bacterianos, son populares varios métodos basados en este enfoque, por ejemplo, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) y la ribotipificación. En estos métodos, las enzimas de restricción o los cebadores de PCR elegidos, son aquellos que proporcionan máxima discriminación dentro de la población.

El segundo enfoque usa la variación que está acumulada lentamente en la población bacteriana. Un método característico de este enfoque es la

electroforesis enzimática multilocus (MLEE). Aunque sólo un pequeño número de alelos puede ser identificado dentro de la población mediante el uso de este tipo de estudio, se alcanzan altos niveles de discriminación mediante el análisis de diversas regiones del genoma (Maiden *et al.*, 1998).

No obstante, ha surgido un nuevo planteamiento, la tipificación de secuencias multilocus (MLST). MLST tiene ventajas superiores sobre MLEE debido a que se lleva a cabo la identificación de alelos directamente en las secuencias nucleotídicas de fragmentos de genes constitutivos en lugar de comparar las movilidades electroforéticas de las enzimas que codifican (Maiden *et al.*, 1998).

En la actualidad se ha demostrado que la distancia evolutiva, así como la diferenciación entre dos microorganismos puede determinarse por las variaciones en la secuencia de nucleótidos de ADN aisladas de cada uno de ellos. Esto se debe a que el número de diferencias en la secuencia es proporcional al número de cambios mutacionales estables fijados en el ADN que codifica esa molécula en ambos microorganismos.

Los métodos para obtener secuencias de ácidos nucleicos implican una combinación de biología molecular y de bioinformática.

1.4.2.1. Secuenciación de nueva generación.

La identificación de microorganismos basadas en la determinación de la secuencia de nucleótidos a través de un segmento de ADN extraído de los microorganismos en forma directa o bien de una muestra que contenga el microorganismo en cuestión recientemente está teniendo un avance muy importante debido a: la especificidad (pueden detectar sólo la molécula o microorganismo de interés), la sensibilidad (son capaces de detectar la presencia de un solo microorganismo), la rapidez (se puede identificar un microorganismo en menos de 24 horas) y que pueden ser automatizadas (permiten tener un diagnóstico en un menor tiempo y reducir los costos) de los ácidos nucleicos (Rodríguez *et al.*, 2009).

La identificación basada en la secuenciación del genoma de una bacteria es objetiva y posee mayor precisión que los métodos convencionales, especialmente para la clasificación de microorganismos inusuales (Petti, 2007).

La demanda de tecnologías revolucionarias que provean información del genoma puntual, rápida y a costos menores es cada vez más grande, esto ha permitido el desarrollo de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS). La principal ventaja de la NGS sobre los métodos convencionales es la capacidad de generar un enorme volumen de datos a costos reducidos. Esto amplía el panorama de la experimentación más allá de sólo determinar el orden de los nucleótidos. En términos generales las tecnologías de secuenciación incluyen un número de métodos que son agrupados dependiendo de cómo son preparados los ácidos nucleicos, la secuenciación de los mismos y de qué manera son analizados los datos (Metzker, 2010).

El flujo de trabajo para estas nuevas tecnologías procede de la siguiente manera: creación de la biblioteca; cuantificación de la biblioteca; amplificación mediante PCR de las moléculas de la biblioteca y la secuenciación de las mismas (White *et al.*, 2009).

1.4.2.1.1. Pirosecuenciación.

Una de las plataformas de NGS existentes en el mercado es la plataforma Roche 454 GS FLX Titanium, cuya química base se sustenta en la pirosecuenciación. La pirosecuenciación es un método no electroforético bioluminiscente que mide la liberación de pirofosfato inorgánico (PPi) proporcionalmente convirtiéndolo en luz visible usando una serie de reacciones enzimáticas. El proceso que envuelve este método se explica a la brevedad.

1.4.2.1.1.1. Creación de la biblioteca.

La preparación del ADN comienza con la fragmentación del ADN genómico por medio de una nebulización con gas nitrógeno (N₂). Posteriormente son ligadas

secuencias nucleotídicas (44 pb) específicas llamadas adaptadores a los extremos de cada fragmento de ADN generado (el adaptador “A” al extremo 3’ y el adaptador “B” en el extremo 5’) que contienen cebadores universales (40 pb), además de una secuencia clave de reconocimiento (4 pb); las secuencias adaptadoras están diseñadas para cumplir funciones en los pasos de selección, amplificación y secuenciación del ADN. Una vez realizada la ligación de adaptadores, son seleccionados sólo aquellos fragmentos de ADN a los cuales fue unido correctamente cada uno de los adaptadores, a este conjunto se le denomina biblioteca.

1.4.2.1.1.2. Cuantificación de la biblioteca.

Una de las técnicas empleadas frecuentemente para la cuantificación de ADN es la Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR). La qPCR está basada en la detección y cuantificación de un reportero fluorescente, cuya señal aumenta en proporción directa a la cantidad de producto de PCR en la reacción. La cuantificación del ADN se debe gracias al empleo de un termociclador que tiene acoplado un sistema de detección que es capaz de adquirir y cuantificar la señal emitida por el reportero al final de cada ciclo. La química de detección es variable, una de las más comunes es por agentes intercalantes fluorescentes, uno de ellos es SYBR greenTM el cual se une al ADN de doble cadena dando un incremento de la fluorescencia a medida que aumenta la cantidad de producto de PCR (Cortázar y Silva, 2004).

1.4.2.1.1.3. Amplificación de la biblioteca.

Un número específico de fragmentos de ADN son unidos desde el extremo 3’ del adaptador A en perlas de captura, las cuales contienen un cebador complementario al adaptador A, estas se introducen en una emulsión de agua y aceite bajo condiciones que se favorezca una molécula de ADN por cada perla en un microambiente con todos los reactivos y enzimas necesarios para llevar a cabo

la PCR (Rothberg y Leamon, 2008). El resultado será que cada perla tendrá un gran número de secuencias de la biblioteca idénticas y repetidas. Finalizada la amplificación de la biblioteca la emulsión es desecha con disolventes orgánicos, lo que permiten la liberación y purificación de las perlas de captura que contendrán finalmente cadenas sencillas de la biblioteca unidas por el extremo 5' (Figura 1.7).

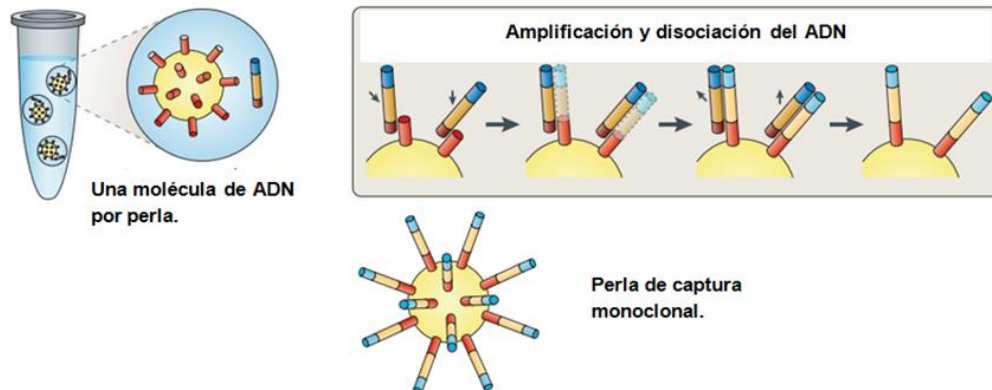


Figura 1.7. Amplificación clonal de la biblioteca en microrreactores en una emulsión (editado de Metzker, 2010).

Para realizar la estimación del número de perlas de captura se emplean a menudo equipos que tienen su fundamento en el principio de impedancia en el conteo de partículas, éste se sustenta en el aumento de la resistencia producida cuando una partícula con baja conductividad pasa a través de un campo eléctrico. El número de intermitencias indica la cifra de partículas y la amplitud de cada intermitencia es proporcional al volumen de la partícula.

1.4.2.1.1.4. Enriquecimiento de la biblioteca.

Para que la ADN polimerasa ejecute la síntesis de la cadena complementaria al ADN de la biblioteca unido a las perlas de captura en el proceso de pirosecuenciación se añaden cebadores complementarios al extremo 3', el cual se encuentra libre. Sólo aquellas perlas a las que el cebador se haya unido de forma óptima serán empleadas.

1.4.2.1.1.5. Secuenciación de la biblioteca.

La pirosecuenciación se basa en la síntesis de la cadena complementaria a cada uno de los fragmentos de la biblioteca unidos a las perlas haciendo uso de la ADN polimerasa para la adición de un solo desoxirribonucleótido trifosfato (dNTP) a la vez a la cadena base en cantidades limitadas. En la incorporación del dNTP complementario, la ADN polimerasa extiende el cebador y pausa, la síntesis de ADN es reiniciada siguiendo la adición del siguiente dNTP complementario en el ciclo en turno; la integración de cada dNTP resulta en la formación de un enlace fosfodiéster y la subsecuente liberación de pirofosfato inorgánico el cual es convertido por la enzima sulfurilasa en ATP, la enzima luciferasa entonces lo puede emplear para convertir luciferina en oxiluciferina y generar luz (Figura 1.8). Ambas enzimas, la sulfurilasa y la luciferasa se encuentran disponibles para ser usadas en la superficie de perlas de menor tamaño que las perlas de captura que contienen los fragmentos de ADN de la biblioteca.

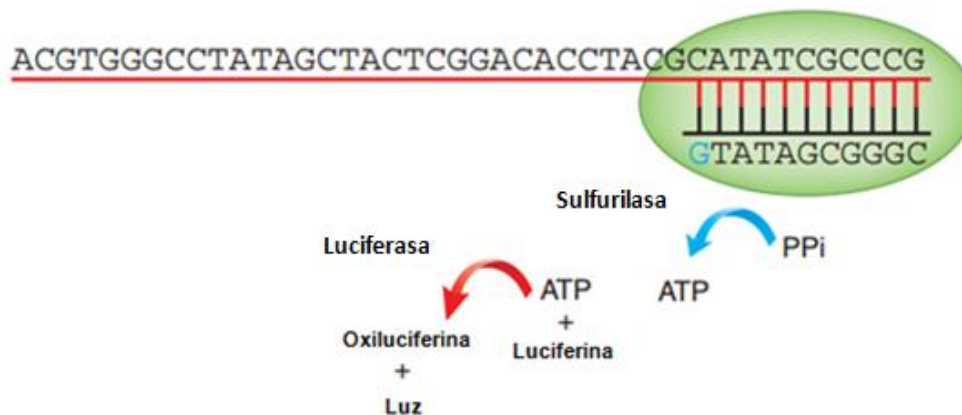


Figura 1.8. Diagrama del proceso de pirosecuenciación (editado de Metzker, 2010).

Las reacciones involucradas en la pirosecuenciación, se llevan a cabo en un dispositivo conocido como PicoTiter Plate (PTP), el cual consiste en una placa con más de dos millones de pozos. Cada pozo tiene un diámetro de 44 micras. Las enzimas empleadas en la reacción, la sulfurilasa y la luciferasa, están unidas a perlas más pequeñas, que las perlas que contienen los amplicones clonales, de

tal forma que, sólo una perla de este tipo es capaz de prevalecer, no obstante varias más de aquellas que poseen las enzimas pueden ser depositadas en cada pozo. Los dNTP individuales son entonces agregados a los pozos en un flujo continuo y dispensados en ciclos determinados de forma secuencial a lo largo de todo el PTP. La ADN polimerasa añadirá uno o más dNTP dependiendo de la secuencia que actúa como molde y se emitirá luz con una intensidad proporcional al número de nucleótidos incorporados a la nueva cadena. El secuenciador consta de un sistema óptico especial que recoge el patrón de destellos luminosos que se emiten. Mediante el software del equipo de cómputo del secuenciador se interpretan estos patrones de luz y se generan unas gráficas que indican si ha habido incorporación o no de nucleótidos y su número (pirograma). El análisis bioinformático de la información resultante revela la secuencia final del ADN (Figura 1.9) (Metzker, 2010).

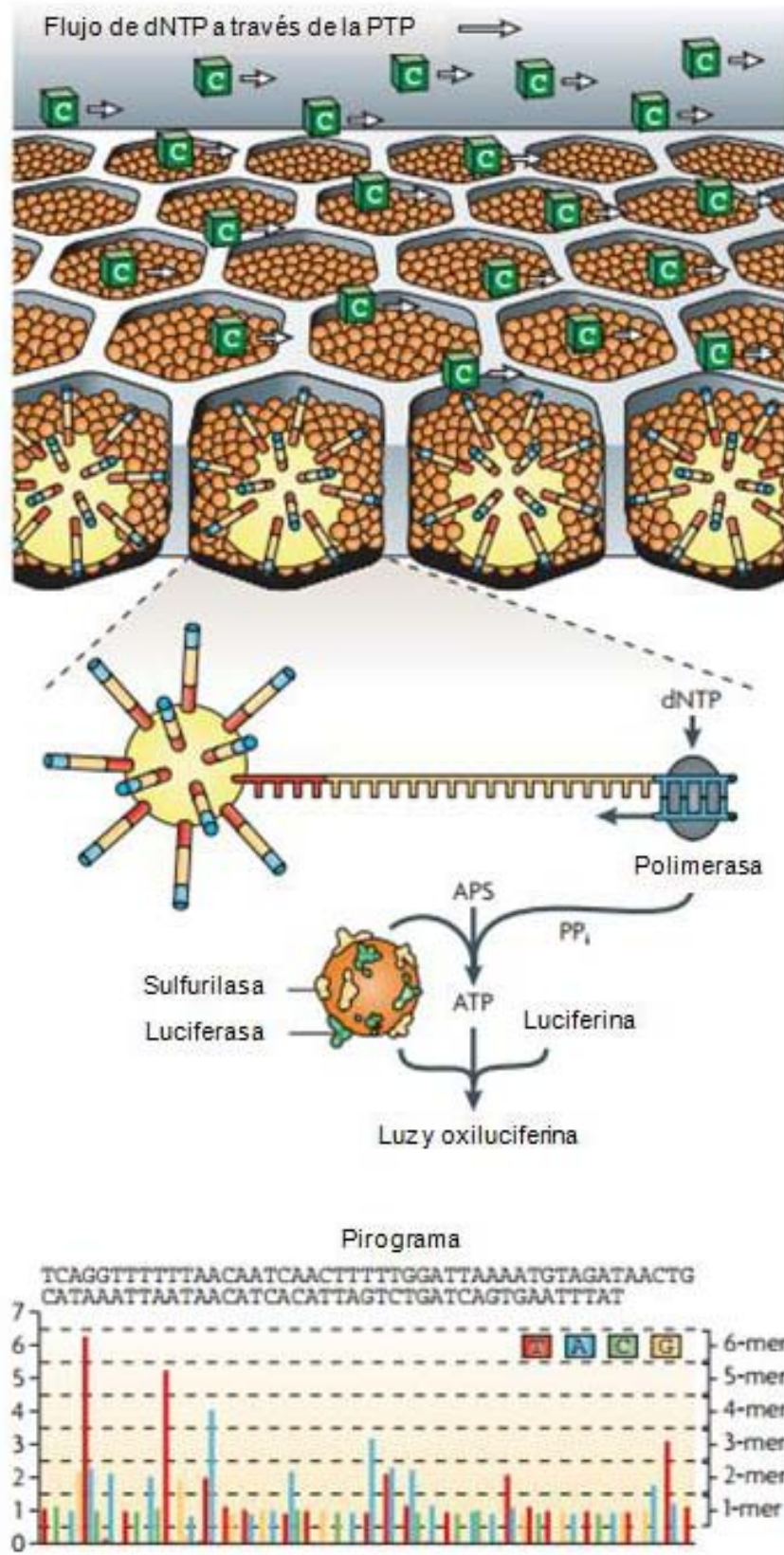


Figura 1.8. Pirosecuenciación Roche 454 GS FLX Titanium (editado de Metzker, 2010).

Muchas veces con la finalidad de maximizar el rendimiento de una sola corrida de secuenciación, múltiples bibliotecas diferentes de ADN pueden ser secuenciadas juntas en una sola región de la PTP empleando un conjunto de adaptadores diferentes (MID). Estos adaptadores poseen en su secuencia además de los cebadores universales (A o B) y la secuencia clave, una secuencia adicional única no repetida para cada uno de ellos (11 pb) lo cual determina la identidad entre una y otra biblioteca durante el análisis bioinformático posterior.

1.4.2.2. Bioinformática.

La Bioinformática es, en un sentido general, la disciplina que resulta de la aplicación de la computación, así como las teorías, métodos y procedimientos que le son propios, al ámbito de las Ciencias de la Vida. No obstante, no parece haber un consenso general entre los profesionales de la Bioinformática. Existen tres enfoques que representan hoy en día el objetivo de esta disciplina: el enfoque clásico dirigido a la simulación de inteligencia y vida artificial; el enfoque instrumental, derivado de la gestión eficiente de la información biológica; y el enfoque estructural, el cual define a la Bioinformática como la aplicación de los sistemas computacionales en la recolección, almacenamiento y análisis de la información biológica. Este último, el enfoque con mayor aceptación (Lahoz, 2004).

En el estudio exclusivo de las secuencias de ADN, se realiza el análisis con la ayuda de software especializado de las secuencias de nucleótidos que constituyen el genoma de los seres vivos (Lahoz, 2004). La primera fase es la deducción de la secuencia de nucleótidos, para ello se realiza el ensamblaje o mapeo de los fragmentos secuenciados. En el primer caso se aplica en la secuenciación de *novó*, el mapeo se utiliza una vez conocido el genoma o la secuencia de un gen y se compara en diferentes individuos (Lesk, 2002). Para ambos casos previamente se procede con la limpieza y el alineamiento de las lecturas (secuencias) generadas en las plataformas de secuenciación.

Los secuenciadores devuelven secuencias crudas y es necesario eliminar regiones con mala calidad de lectura, nucleótidos que pertenezcan a adaptadores y nucleótidos que se encuentren altamente repetidos para evitar interferencias en el análisis. Todos los sistemas de secuenciación valoran la calidad de sus lecturas asignando un valor a cada posición, esta estimación del error es específica de cada tecnología y es calculada por el software del equipo. Para facilitar el análisis y la interpretación de los resultados, estos valores se suelen cambiar de escala a una escala normalizada y utilizable para todas las tecnologías de secuenciación. Una de las más utilizadas es la escala de error basada en el programa Phred, que es un programa utilizado para la limpieza de secuencias (Lesk, 2002).

La escala Phred se define como $-10 \log$ (probabilidad de error). De esta forma una calificación de 20 en la escala Phred indica que existe 1 error por cada 100 lecturas, bajo la misma línea, una calificación de 30 exhibe 1 error por cada 1000 lecturas.

En el alineamiento para el ensamblaje todas las secuencias, éstas son alineadas dos a dos para identificar cuáles solapan entre sí e identificar pares o grupos de secuencias comunes, estos son llamados contigs (Lesk, 2002). Finalmente el proceso de ensamblaje resulta en una única secuencia consenso definida a partir de todos los contigs formados. En el caso del alineamiento para el mapeo las secuencias son alineadas con secuencias de referencia, estas pueden ser genomas o genes particulares.

El análisis de las secuencias puede tener diversos objetivos más allá de conocer el orden de los nucleótidos, la identificación de homologías en secuencias de nucleótidos específicas es uno de ellos.

Las secuencias de ADN marcan la función de las proteínas en los seres vivos. Cuando más similares sean dos secuencias más similares tenderán a ser las funciones de las proteínas codificadas por ellas. Las secuencias de un mismo gen en un conjunto de especies serán más distintas cuando más alejadas filogenéticamente estén las especies comparadas (Andreas *et al.*, 2004). Para contribuir al análisis de secuencias, existen bases de datos biológicos que incluyen recopilaciones de secuencias de nucleótidos, proteínas, genomas,

expresión genética, taxonomía, metabolismo, factores de transcripción, etc (Lesk, 2002).

1.4.2.3. Secuenciación del gen ARN ribosomal 16S.

Se han evaluado muchas moléculas como cronómetros moleculares y con ellas se han realizado estudios de comparación de secuencias con el fin de generar árboles filogenéticos. Debido a la probable antigüedad de la maquinaria sintetizadora de proteínas, los ARN ribosomales son moléculas excelentes para discernir las relaciones evolutivas entre los seres vivos (Madigan *et al.*, 2003).

Hay tres moléculas de ARNr que en procariotas tienen tamaños de 5S, 16S y 23S. Los ARNr bacterianos contienen varias regiones de secuencia altamente conservada que resulta útil para obtener alineamientos de secuencia apropiados, pero, al mismo tiempo, la variabilidad de secuencia suficiente en otras regiones de la molécula para servir como cronómetros filogenéticos (Madigan *et al.*, 2003).

El uso de la secuencia del gen ARNr 16S para estudiar la filogenia y taxonomía bacteriana ha sido el gen constitutivo más usado comúnmente por un gran número de razones. Estas razones incluyen su presencia en todas las bacterias, a menudo existen como una familia multigenes u operones; la función del gen ARNr 16S no ha cambiado con el tiempo, sugiriendo que cambios aleatorios en la secuencia son una medida más precisa de la evolución (Janda y Abbott, 2007).

Uno de los usos potenciales más atractivos de la información de la secuenciación del gen ARNr 16S es proporcionar el género y la identificación de especies de los aislamientos que no pueden ser reconocidos con perfiles bioquímicos o por taxones que son extrañamente asociadas con enfermedades infecciosas humanas.

Muchos resultados a la fecha sugieren que la secuenciación del gen ARNr 16S provee la identificación del género en más del 90% de los casos, pero menos al respecto de la especie: 65-83% con menos del 1-14% de los aislamientos restantes no identificados después del ensayo. Esto es debido al desconocimiento

de nuevos taxones o especies que comparten secuencias del gen ARNr 16S similares o casi idénticas. Por lo tanto, otros estudios de parentesco de ADN son necesarios para proporcionar absoluta resolución de estos problemas taxonómicos (Janda y Abbott, 2007).

1.4.2.4. Tipificación de Secuencias Multilocus.

La tipificación de secuencias multilocus (MLST) es una herramienta empleada para la identificación de grupos de aislamientos de microorganismos que están relacionados genéticamente. Se trata de un enfoque basado en las secuencias de nucleótidos de múltiples fragmentos de genes constitutivos (Picó, 2012).

Se sugiere que MLST correlaciona con un serovar, salvo algunas excepciones. Los esquemas de MLST son esfuerzos comunitarios, ya que la información está disponible públicamente en línea y nuevos datos pueden ser incluidos desde fuentes descentralizadas.

El esquema MLST para *Salmonella enterica* envuelve siete fragmentos de genes constitutivos (Tabla 1.2) que fueron desarrollados mediante el análisis del serovar Typhi y subsecuentemente probado con 110 aislamientos de 25 serovares de *Salmonella enterica* subespecie *enterica*. Los análisis fueron usados posteriormente en la asignación de los serovares Newport y Typhimurium, aislamientos de varios serovares de animales salvajes en Australia, incluso para evaluar las propiedades genéticas de aislamientos resistentes a antibióticos (Achtman *et al.*, 2012).

Tabla 1.2. Genes involucrados en el esquema MLST de bacterias *Salmonella enterica* (NCBI Gene database, 2014).

Gen	Proteína que codifica	Función de la proteína
<i>aroC</i>	Corismato sintasa	Cataliza la reacción para obtener corismato, un importante intermediario en la vía del ácido siquímico, una ruta común de biosíntesis de compuestos aromáticos (Bolívar <i>et al.</i> , 2013).
<i>dnaN</i>	ADN polimerasa subunidad beta III	Implicada en la síntesis de ADN.
<i>hemD</i>	Uroporfirinógeno III sintasa	Cataliza la síntesis de uroporfirinógeno, intermediario en la biosíntesis de hemo.
<i>hisD</i>	Histidinol deshidrogenasa	Cataliza los últimos pasos en la vía de biosíntesis de la L-histidina.
<i>purE</i>	Fosforribosil aminoimidazol carboxilasa	Implicada en la síntesis de nucleótidos purínicos (Devlin, 2006).
<i>sucA</i>	2-oxoglucatarato descarboxilasa	Cataliza la descarboxilación oxidativa del 2-oxoglucatarato a succinil CoA y dióxido de carbono, una reacción clave en el ciclo de Krebs.
<i>thrA</i>	Aspartoquinasa bifuncional I/Homoserina deshidrogenasa.	Involucradas en la catálisis de la vía biosintética de la familia de aspartatos de los aminoácidos.

Para lograr la caracterización de un asilamiento de *Salmonella enterica*, Achtman *et al.* refiere que los aislamientos de *Salmonella enterica* que poseen alelos idénticos para todos los fragmentos de genes son asignados a un Tipo de Secuencia (ST) común y ST que comparten todos los alelos a excepción de uno o dos (seis o cinco alelos idénticos) son agrupados en complejos de ST, designados como eBurstGroups (eBG) para especificar el algoritmo de agrupamiento. Además, muchos ST que contienen múltiples aislamientos, diez o más, también son considerados como un eBG. Los eBG entonces, son grupos de aislamientos relacionados genéticamente, algunos eBG exhiben una única relación con un serovar, en contraste con otros eBG que contienen múltiples serovares (o alineamientos cuyo serovar es desconocido).

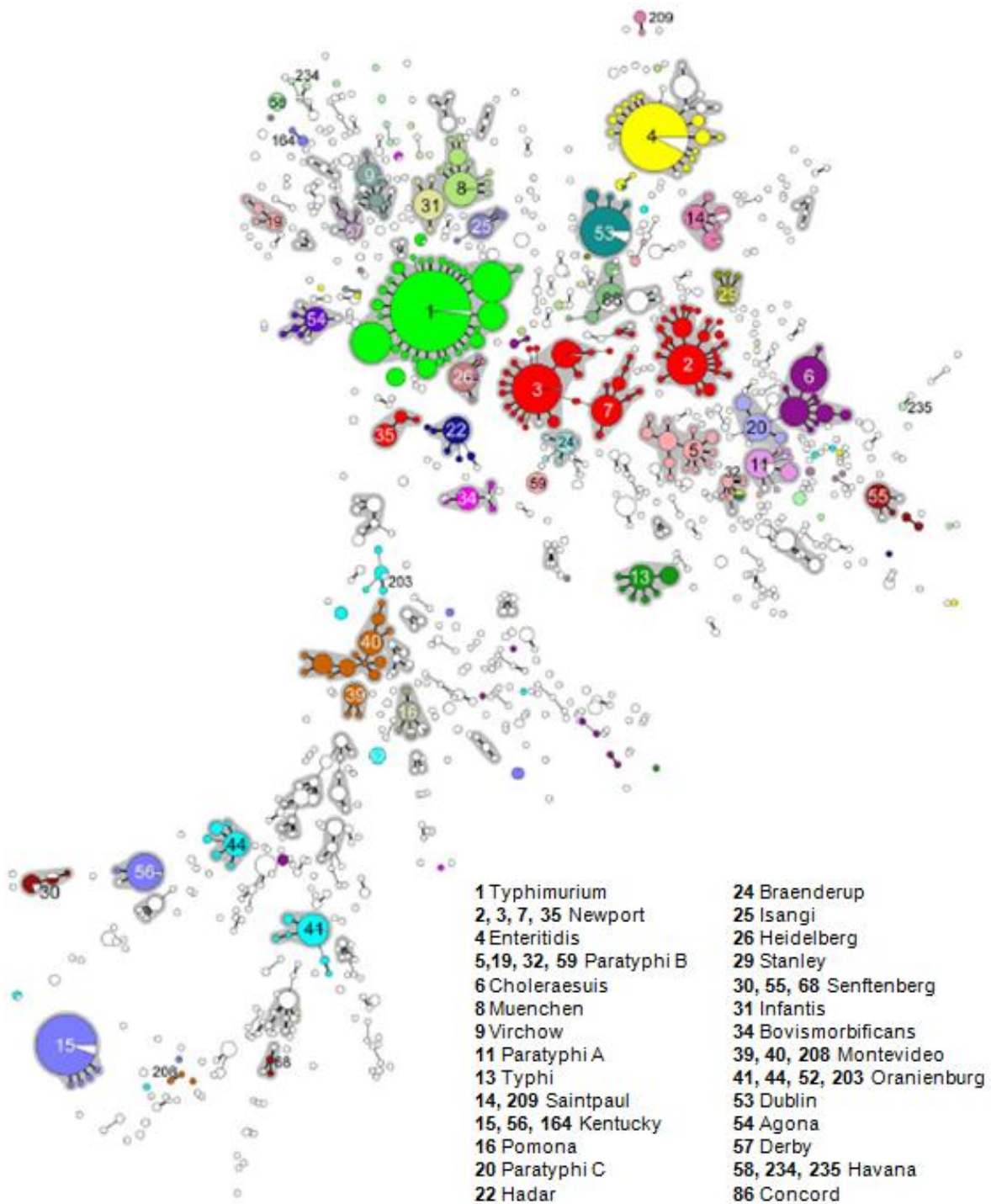


Figura 3.9. Árbol de MLST de aislamientos de *Salmonella enterica* subespecie *enterica* (Achtman *et al.*, 2012).

Se reconoce la existencia de eBG inicialmente, mediante árboles de ST conectados por el número de alelos compartidos (Figura 1.10). Cada círculo corresponde a un ST, cuyo tamaño es proporcional al número de aislamientos. La topología del árbol es dictada por un algoritmo que identifica la distancia que vincula a cada ST tomando en cuenta los alelos compartidos, cuyo origen se localiza en el centro con aquel de mayor contenido de aislamientos. Los vínculos de seis alelos idénticos compartidos se presentan con una línea gruesa; aquellos con cinco alelos compartidos se muestran con una línea delgada. Los eBG se indican sombreados y el serovar asociado se ha marcado para los 28 serovares más frecuentes. Dentro de cada ST, los aislamientos de diferentes serovares o para los cuales la información es insuficiente se muestran en blanco.

La base para sustentar la existencia de eBG es la fuerte correlación ente la serotipificación y las asignaciones de eBG para múltiples eBG. Sin embargo, existen discrepancias entre serovares y eBG, que en principio, podrían reflejar errores en la serotipificación o en la secuenciación de nucleótidos para MLST o en ambos. Debido al potencial discriminatorio de MLST, muchas de las discrepancias se han resuelto con nuevas asignaciones de serovar que deberán ser implementadas de forma gradual. Dada esta inferencia, puede ser viable reemplazar la serotipificación por MLST para propósitos epidemiológicos de rutina (Achtman *et al.*, 2012).

2. Objetivo.

2.1. Objetivo general.

Verificar el género y la asignación de serovariedad a muestras de bacterias del género *Salmonella* por medio de la secuenciación de su genoma, a través de la utilización de la secuenciación de nueva generación y el uso de la herramienta de análisis de tipificación de secuencias multilocus.

2.2. Objetivos particulares.

- A. Realizar la extracción de ADN íntegro de células bacterianas.
- B. Generar y cuantificar las bibliotecas de secuenciación óptimas para la plataforma Roche 454 GS FLX Titanium.
- C. Llevar a cabo la amplificación clonal de las bibliotecas de secuenciación a fin de establecer las condiciones adecuadas de ADN en el proceso de secuenciación.
- D. Ejecutar la corrida de secuenciación de ADN bajo los estándares que el protocolo determina.
- E. Efectuar el análisis bioinformático de las secuencias generadas en la corrida con el propósito de asignar el género y la serovariedad a las muestras de bacterias *Salmonella*.

3. Metodología.

3.1. Estrategia experimental.

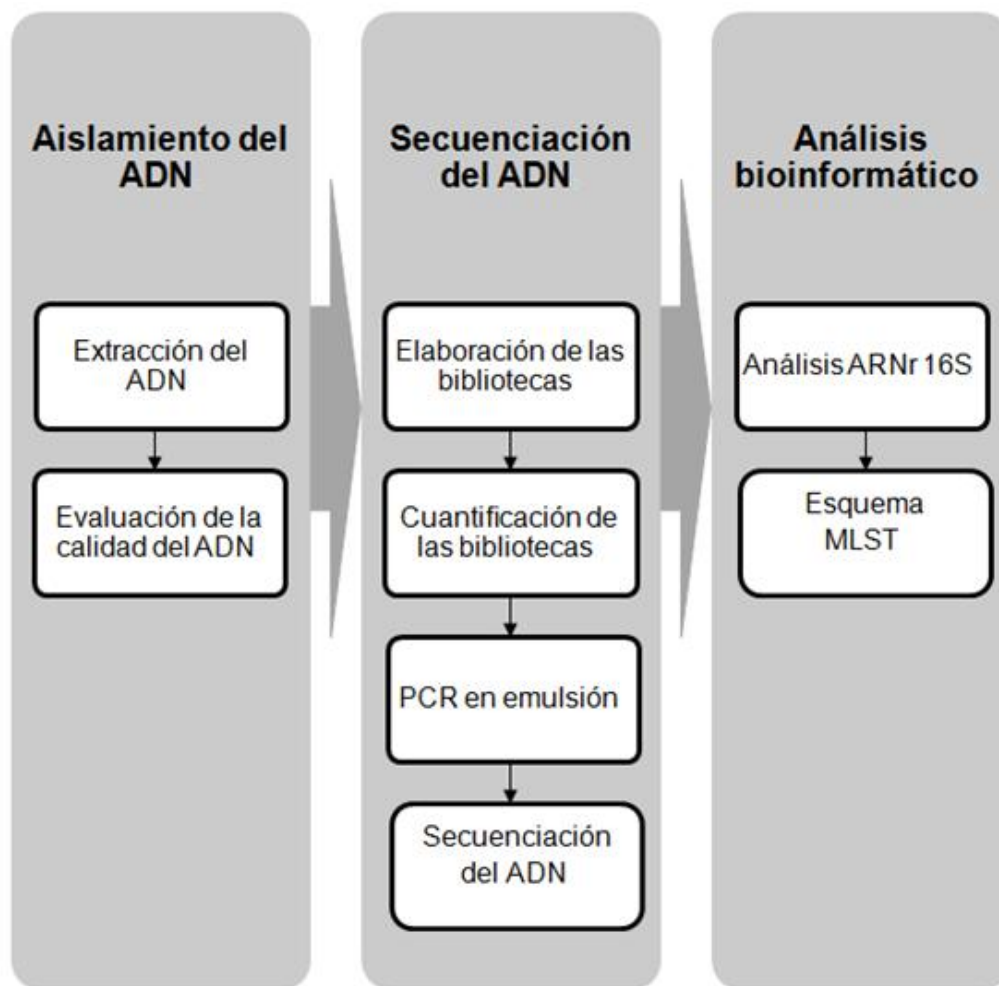


Figura 3.1. Diagrama de estrategia experimental.

3.2. Materiales y métodos.

3.2.1. Selección de bacterias del género *Salmonella*.

Se analizaron 5 muestras de bacterias del género *Salmonella* provenientes del cepario del Laboratorio de Diagnóstico para la Detección de Organismos

Patógenos (LDDOP) organismo perteneciente al SENASICA. De cada una de éstas se recibieron 5 alícuotas en microtubos de 1.7 mL en forma de células (resuspendidas en 200 µL de buffer PBS con una concentración aproximada de 1×10^9 células/µL) o el ADN previamente extraído (Tabla 3.1). Una alícuota de cada muestra fue empleada para el proceso de secuenciación en la plataforma Roche 454 GS FLX Titanium.

Tabla 3.1. Muestras recibidas de bacterias del género *Salmonella* (LDDOP).

Nombre de la muestra	Estatus de la muestra
<i>Salmonella</i> 318	ADN
<i>Salmonella</i> 375	
<i>Salmonella</i> 384	Células
<i>Salmonella</i> 389	
<i>Salmonella</i> Enteritidis	

3.2.2. Extracción y evaluación del ADN.

Para la extracción del ADN de las células bacterianas, se empleó el kit Roche High Pure PCR Template Preparation, el cual se basa en la lisis de la célula por medio de actividad enzimática y la posterior purificación a través de la unión específica del ADN a columnas de sílica. Se agregaron 200 µL de binding buffer y 40 µL de proteinasa K a cada alícuota de células. Las mezclas se homogenizaron en un vortex y se incubaron durante 10 minutos a 70 °C. Se agregaron 100 µL de isopropanol y se transfirió el volumen a columnas de purificación. Las columnas fueron centrifugadas 1 minuto a 8000 g. El sobrenadante generado fue desechado. Se añadieron 500 µL de inhibitor removal buffer a cada columna, se homogenizaron y se centrifugaron 1 minuto a 8000 g. A continuación se realizaron dos lavados con 500 µL de wash buffer cada uno. Finalmente se recuperó el ADN de las muestras, por medio de la elución con buffer Tris-HCl en un tubo de 1.7 mL.

La cantidad y calidad del ADN se evaluó en un espectrofotómetro (NanoDrop 2000) a 260 y 280 nm para determinar la concentración de ADN y de

proteínas, respectivamente; la relación A260/A280 fue calculada con el fin de expresar la pureza del ADN. La concentración se obtuvo en ng/ μ L.

3.2.3. Secuenciación del ADN.

La secuenciación del ADN bacteriano se realizó en la plataforma Roche 454 GS FLX Titanium, se aplicó el flujo de trabajo desarrollado por la compañía.

3.2.3.1. Elaboración y valoración de las bibliotecas de secuenciación.

Se elaboraron las bibliotecas del ADN de las bacterias con el kit Roche GS FLX Titanium Rapid Library Preparation basado en la técnica shotgun de fragmentación aleatoria de moléculas de ADN.

La técnica de nebulización con N₂ fue empleada para fragmentar el ADN, la presión de salida fue ajustada a 30 psi con el propósito de obtener fragmentos promedio de 700-850 nucleótidos. La cantidad de ADN necesaria de cada muestra fue 500 ng en un volumen final de 100 μ L de buffer Tris HCl-EDTA (TE).

La purificación del nebulizado se llevó a cabo con el kit QIAquick PCR Purification. El nebulizado fue transvasado a un tubo falcon de 15 mL con 2500 μ L de buffer PB y eluído a través de una columna de unión con 750 μ L de buffer PE. Para recuperar los fragmentos de ADN obtenidos se agregaron 18 μ L de buffer TE a la columna. Posteriormente se realizó la reparación de extremos romos, para ello se empleó la mezcla de reacción End Repair Mix incluida en el kit Roche GS FLX Titanium Rapid Library Preparation y el termociclador ABI 9700 bajo las siguientes condiciones de trabajo: 1 ciclo a 25 °C por 20 minutos, 1 ciclo a 72 °C por 20 minutos y 1 ciclo a 4 °C.

Para purificar los fragmentos de la biblioteca se prepararon las perlas a las cuales éstos se unieron. Por cada una de las muestras se tomaron 125 μ L de perlas y se colocaron en un microtubo de 1.7 mL, que a su vez se dispuso sobre un concentrador de partículas magnéticas (MPC). Una vez aglomeradas las perlas, se desechó el sobrenadante y se adicionaron 73 μ L de buffer TE, se

homogenizó y se agregaron 500 μL de Sizing solution del kit Roche GS FLX Rapid Library Buffers. Las perlas permanecieron en hielo hasta el momento de ser usadas.

Finalizado el tiempo de termociclado, se añadió 1 μL de un MID diferente a cada uno de los 5 tubos y 1 μL de enzima ligasa, se colocaron dentro del termociclador ABI 9700 a 25 °C durante 10 minutos. A continuación, el ADN se agregó a los tubos con perlas AMPure, y se dejó reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos. Los tubos se colocaron sobre el MPC y se esperó hasta la aglomeración de las perlas. Se desechó el sobrenadante y se adicionaron 100 μL de buffer TE y 500 μL de Sizing solution (por duplicado). El sobrenadante fue desechado y sin quitar los tubos de la MPC se adicionó 1 mL de etanol al 70%, éste se retiró de inmediato y se desechó. El excedente de etanol se eliminó por medio de evaporación. Los tubos sin etanol se retiraron de la MPC y se adicionaron 53 μL de buffer TE para eluir y preservar las bibliotecas.

La valoración de los fragmentos de las bibliotecas se realizó mediante una electroforesis en el equipo Bioanalyzer 2100, se empleó el kit High Sensitivity DNA Analysis. Las bibliotecas se aceptaron bajo el siguiente parámetro: pico promedio de la curva 700-850 nucleótidos.

3.2.3.2. Cuantificación de las bibliotecas de secuenciación.

Se cuantificó el número de moléculas de las bibliotecas por medio de la técnica PCR en tiempo real en el equipo LightCycler[®] 480 Roche AppliedScience[®]; se empleó el kit KAPA SYBR[®] Fast qPCR. La química del kit se basa en el empleo de un agente intercalante (SYBR green[™]) y cuenta con seis estándares de concentración conocida (Tabla 3.2); este hecho permitió elaborar una curva estándar: unidades de fluorescencia en función de la concentración (moléculas/ μL). Con esta herramienta fue posible estimar la concentración de las bibliotecas generadas.

Tabla 3.2. Concentración de los estándares del kit KapaBiosystems.

Estándares	ADN (copias/ μ L)
Estándar 1	100,000,000
Estándar 2	10,000,000
Estándar 3	1,000,000
Estándar 4	100,000
Estándar 5	10,000
Estándar 6	1,100

Se llevó a cabo la dilución serial de cada una de las bibliotecas generadas como se presenta en la Figura 3.2.

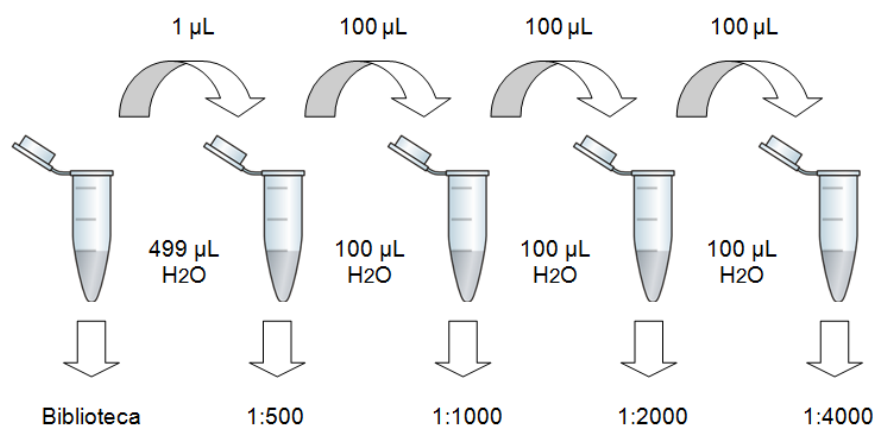


Figura 3.2. Diluciones seriales de la biblioteca de secuenciación.

Se tomó el volumen correspondiente de cada dilución para generar la mezcla de reacción y se llevó a cabo el termociclado como lo muestra la Tabla 3.3. La cuantificación se aceptó si al menos tres puntos de las diluciones de la biblioteca amplificaron dentro de la curva.

Tabla 3.3. Mezcla de reacción y condiciones de termociclado para la cuantificación de las bibliotecas de secuenciación por qPCR.

Reactivo	Volumen (μ L)	Condiciones de termociclado
KAPA SYBR FAST Master Mix	6	Pre calentamiento: 95 °C 5 minutos. 35 ciclos de 95 °C durante 30 segundos y 60 °C por 45 segundos.
ADN biblioteca o ADN estándar	4	

La concentración final de cada biblioteca se calculó por medio de la ecuación de la recta generada a partir de la curva estándar; esta se ajustó con el tamaño de cada biblioteca en relación con el tamaño de los estándares (460 nucleótidos).

3.2.3.3. PCR en emulsión.

Dos emulsiones fueron elaboradas: la emulsión “A”, se destinó a la secuenciación de las bacterias *Salmonella* 318 y 375; y la emulsión “B” para la secuenciación de las bacterias *Salmonella* 384, 389 y *Enteritidis*.

Se hizo uso del kit emPCR Kit Reagent (Lib-L) para preparar las mezclas de reacción correspondientes a la emulsión A y la emulsión B con los componentes necesarios para realizar la PCR de las bibliotecas, de igual forma se preparó el buffer para el lavado de las perlas de captura.

Con base en la metodología establecida, se preparó una solución de trabajo estándar con una concentración de 1×10^6 moléculas de la biblioteca/ μL . El cálculo empleado se muestra a continuación:

$$\text{Volumen de la biblioteca } (\mu\text{L}) = \frac{\left[\text{Concentración de la solución de trabajo } \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} \right) \cdot 100 \right]}{\text{Concentración de la biblioteca } \left(\frac{\text{ng}}{\mu\text{L}} \right)}$$

Se efectuó la preparación de las perlas de captura de ADN (35 millones de perlas contenidas por tubo) para cada una de las emulsiones: se centrifugó un tubo de perlas de captura durante 1 minuto a 13000 rpm; se retiró el sobrenadante y se adicionó a cada uno 1 mL del buffer de lavado, se homogenizaron y se centrifugaron durante 1 minuto a 13000 rpm. Este paso se repitió y el sobrenadante se retiró. Las perlas permanecieron en hielo hasta el momento de ser utilizadas.

En un tubo de 0.2 mL se colocó el volumen necesario de las soluciones de trabajo de las bibliotecas para lograr en cada emulsión un valor de 0.4 copias de

ADN por perla (CPB). El valor de CPB ha sido determinado previamente por medio de una serie de ensayos y depende de la naturaleza del ADN en estudio, en el caso particular de ADN de bacterias se estableció 0.4; el CPB refiere la cantidad requerida de ADN para obtener un enriquecimiento final de las perlas de captura del 3 al 20%. El cálculo empleado fue el siguiente:

$$\text{Volumen de la solución de trabajo } (\mu\text{L}) = \frac{\text{CPB} \cdot 35 \times 10^6 \text{ perlas de captura}}{\text{Concentración de la solución de trabajo}}$$

El ADN de las bibliotecas se desnaturalizó en el termociclador ABI 9700 durante 1 ciclo a 95 °C durante 2 minutos.

Para efectuar la emulsión, se tomaron dos copas de aceite del kit emPCR Kit Emulsion Oil LV y se colocaron en el aparato TissueLyser para homogenizar el aceite durante 2 minutos a 28 Hz. Una vez terminó el programa se adicionó a cada copa las mezclas de reacción PCR y se colocaron nuevamente en el Tissue Lyser durante 5 minutos a 28 Hz. Posteriormente, el ADN desnaturalizado fue integrado a los tubos de perlas de captura (A o B). A cada copa de aceite se adicionó el contenido de cada tubo, las copas se homogenizaron por inversión y se colocaron en el Tissue Lyser por 5 minutos a 12 Hz.

Cada copa de emulsión se distribuyó en 2 placas de 96 pozos de fondo redondo para el termociclador ABI 9700. En cada pozo de la placa se dispensaron 100 μL de la emulsión, las placas se sellaron con papel óptico y se introdujeron individualmente en un termociclador bajo las siguientes condiciones: 1 ciclo de 4 minutos a 94°C, 50 ciclos de 30 segundos a 94°C, 4:30 minutos a 58°C, 30 segundos a 68 °C y 10°C para mantener.

Concluido el tiempo de termociclado se observó el aspecto de la emulsión, que fue homogéneo y no evidenció separación de las fases (Figura 3.3).

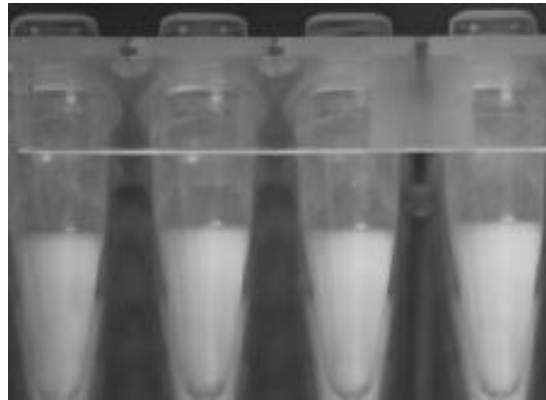


Figura 3.3. El aspecto de la emulsión debe ser homogéneo y no ser visibles las fases de la misma (Roche AppliedScience®, 2011).

3.2.3.4. Rompimiento de la emulsión.

Se montó el sistema de vacío para romper las emulsiones y recuperar el contenido de las mismas en tubos falcon de 50 mL (Figura 3.4).



Figura 3.4. Montaje del sistema de vacío para el rompimiento y recuperación de la emulsión (Roche AppliedScience®, 2011).

A las placas se aplicaron dos lavados con isopropanol para evitar posibles pérdidas de perlas. Al final se obtuvieron dos tubos falcon correspondientes a la emulsión A y dos tubos falcon correspondientes a la emulsión B. Los tubos se homogenizaron y los de mayor volumen de cada emulsión se colocaron en una centrifuga Beckman Allegra X-12 durante 5 minutos a 2000 rpm. Terminado el

tiempo, se retiró el sobrenadante y se transfirió el volumen de los tubos restantes con la finalidad de tener sólo un tubo de la emulsión A y uno de la emulsión B. Se homogenizaron y se centrifugaron aproximadamente 5 minutos a 2000 rpm, el sobrenadante generado fue desechado.

A cada tubo A y B se agregaron 35 mL de buffer Enhancing (kit emPCR Bead Recovery Rgt), se homogenizaron, se centrifugaron y se retiró el sobrenadante. Dos lavados más se hicieron con 35 mL de isopropanol y posteriormente con 35 mL de buffer Enhancing. En el último lavado, se retiró el sobrenadante de tal forma que quedaran aproximadamente 2 mL de éste en el tubo. Éstos se transfirieron a tubos individuales de 1.7 mL y se colocó 1 mL en cada uno, de esta forma se obtuvieron dos microtubos correspondientes a la emulsión A y dos para la emulsión B. Los tubos se centrifugaron durante 1 minuto a 14000 rpm y se desechó el sobrenadante.

Se adicionó a los tubos 1 mL de hidróxido de sodio (NaOH) diluido (por duplicado) con el fin de eliminar las cadenas complementarias sintetizadas durante la amplificación clonal y dejar en las perlas de captura sólo la cadena unida por el extremo 5'. Los tubos se incubaron 2 minutos a temperatura ambiente, después se centrifugaron y se retiró el sobrenadante. Posteriormente se realizaron dos lavados con 1 mL de buffer Annealing. Se agregó 1 mL del mismo buffer para resuspender las perlas.

Los tubos fueron pesados en una balanza analítica. Se hizo una estimación del volumen al considerar la densidad del buffer 1 mL/g y una aproximación del número de perlas recuperadas mediante el contador de partículas Roche Casy.

Se tomaron 320 μ L de perlas de enriquecimiento (80 μ L por cada tubo de trabajo) del kit emPCR Bead Recovery Rgt, se trasvasaron a un tubo de 1.7 mL y se realizaron tres lavados con 1 mL de Enhancing cada uno, el sobrenadante se desechó y fueron resuspendidas en 320 μ L de buffer Enhancing.

3.2.3.5. Enriquecimiento directo.

Después de ser pesados, se descartó el sobrenadante de los tubos y a cada uno se agregaron 45 μL de Annealing y 25 μL del cebador de enriquecimiento del kit emPCR Reagents. Se homogenizaron y se incubaron a 65 $^{\circ}\text{C}$ durante 5 minutos con agitación continua a 350 rpm. Una vez transcurrido el tiempo anterior se colocaron los tubos en hielo 2 minutos y se adicionaron 800 μL de Enhancing a cada uno. Se homogenizaron y se desechó el sobrenadante. Dos lavados fueron realizados con 1 mL de Enhancing. Finalmente se añadieron 800 μL de Enhancing y 80 μL de perlas de enriquecimiento. Todos los tubos se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos en un aparato que permitió su homogenización e inversión de manera constante, el Labquake.

Posteriormente se colocaron los tubos en el MPC, se dejaron aglomerar las perlas a las que se unió de forma correcta el primer de enriquecimiento y se retiró el sobrenadante con aquellas perlas de captura sin ADN o a las cuales no se unió el primer. Se realizaron 10 lavados con Enhancing para tal fin.

A cada uno de los tubos se adicionaron 700 μL de NaOH diluido (por duplicado) lo cual indujo la liberación y la consecuente recuperación de las perlas de captura unidas a las perlas de enriquecimiento en el MPC. El sobrenadante de las muestras de la emulsión A y la emulsión B se recuperó por separado en un tubo de punta de delfín, ambos tubos fueron centrifugados y se desechó el sobrenadante. Se agregó 1 mL de Annealing, se homogenizaron y se centrifugaron para retirar el sobrenadante; una vez más se realizó este paso y se agregaron 200 μL del mismo buffer para resuspender las perlas.

Los tubos se pesaron en una balanza analítica. Se estimó del número de perlas enriquecidas con el contador de partículas Roche Casy.

3.2.3.6. Valoración de la PCR en emulsión.

El análisis y evaluación de la emPCR se llevó a cabo con una estimación del porcentaje de enriquecimiento final de las perlas de captura. El porcentaje de

enriquecimiento adecuado para realizar la secuenciación de las bibliotecas es de 3-20%

3.2.3.7. Corrida de secuenciación.

La corrida de secuenciación se realizó en el equipo GS FLX, se ejecutó el programa GS Sequencer. Se utilizó el kit de secuenciación GS FLX Titanium Sequencing Kit XLR7A.

Previo a la corrida se realizó un lavado de mantenimiento al equipo, además, un pre lavado. Se empleó el kit GS FLX Maintenance Wash y el buffer de prelavado Pre-wash respectivamente.

El buffer Titanium Bead fue enriquecido con 1.2 mL del Titanium Supplement CB y 34 μ L de enzima apirasa, se mezcló por inversión y se etiquetó como buffer "BB2". Este buffer se mantuvo frío durante todo el procedimiento.

Las perlas que contienen las enzimas necesarias para que ocurra la pirosecuenciación, así como aquellas que ayudan al empaquetamiento de las perlas de captura en cada uno de los pocillos de la PTP, fueron lavadas y resuspendidas con BB2.

En el caso de las perlas de captura, se trabajó con dos regiones de la PTP, una para las perlas resultantes de la emulsión A y otra para las de la emulsión B, de tal manera que se realizó el cálculo para tomar el volumen de las muestras requerido para disponer 2 millones de perlas por cada región; el volumen resultante se transfirió a tubos de 1.7 mL (A y B) y se agregaron 20 μ L de perlas control. Se centrifugó el tubo y fue retirado el sobrenadante, se dejaron sólo 50 μ L de éste. De una mezcla elaborada con 1570 μ L de BB2, 150 μ L de cofactor de la polimerasa y 300 μ L de polimerasa, se agregaron 950 μ L a los tubos de las perlas de captura y se dejó incubar 15 minutos en el LabQuake.

El procedimiento para cargar la PTP consistió en cuatro capas: en la primera y en la tercera se colocaron las perlas con las enzimas; en la segunda las perlas de captura con las perlas de empaquetamiento; en la cuarta perlas de ppiasa. De cada una de las capas se dispensaron 1860 μ L de forma constante y

homogénea en la región correspondiente de la PTP, se empleó para ello un dispositivo de soporte (Figura 3.5). Entre cada capa se centrifugó la PTP con el fin de depositar las perlas en los pocillos y retirar el sobrenadante generado.

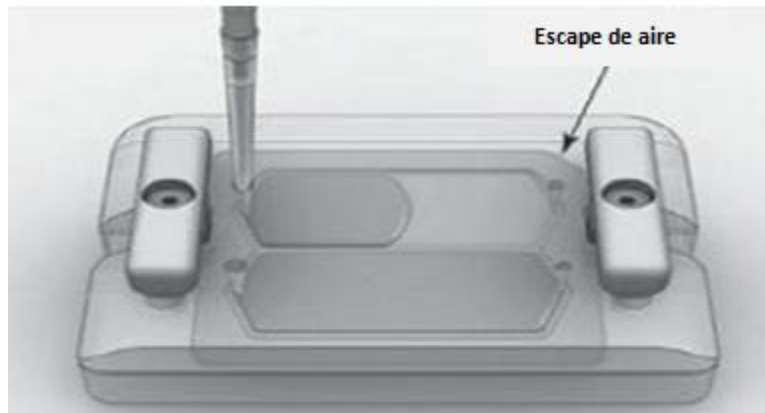


Figura 3.5. Esquema de la forma de cargado de la PTP (editado de Roche AppliedScience®, 2011).

Concluido el pre lavado se retiraron los aditamentos y desechos del proceso. Nuevos aditamentos, así como los reactivos correspondientes a la corrida de secuenciación fueron colocados (buffers de lavado, dNTPs, enzimas, etc). Se especificó la información de las muestras de trabajo en el programa GS Sequencer y se dio inicio a la corrida de secuenciación.

3.2.3.8. Evaluación de la corrida de secuenciación.

La evaluación de la corrida de secuenciación se ejecutó con el software GS Processor. Se consideró el número total de lecturas realizadas por el secuenciador, es decir, el número de fragmentos de ADN que fueron secuenciados, tanto de la muestra problema como de la secuencia control; así mismo, la calidad de las lecturas. Se valoró la congruencia de la secuencia clave de los adaptadores y la señal emitida en el pirograma. Una vez que se estableció la validez de las lecturas producidas, los archivos correspondientes fueron guardados para realizar los subsecuentes análisis bioinformáticos de las secuencias.

3.2.4. Análisis bioinformático.

3.2.4.1. Procesamiento de las secuencias de ADN.

Para realizar el análisis bioinformático se empleó el software CLC Sequence Viewer, el cual permitió llevar a cabo la selección de las lecturas generadas en la corrida, para emplear sólo aquellas de mejor calidad; el ensamblaje de las secuencias consenso de cada muestra; y la elaboración de alineamientos para el mapeo de las secuencias consenso.

3.2.4.2. Análisis del gen ARN ribosomal 16S y esquema de tipificación de secuencias multilocus.

El mapeo del gen del ARNr 16S y de los siete genes que componen el esquema MLST para bacterias del género *Salmonella* se realizó en las secuencias consenso de cada una de las muestras vía CLC mediante una serie de cebadores que fueron diseñados previamente.

En el caso del gen ARNr 16S se obtuvieron las secuencias y se compararon con secuencias de referencia en la base de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information) mediante el uso de BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) para identificar el género del microorganismo en cuestión.

Para el esquema MLST, una vez localizadas las siete secuencias génicas de una muestra, cada una de ellas fue introducida en la base de datos MLST para *Salmonella enterica* (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Senterica>) donde le fue asignado un número, éste corresponde a la ST para ese alelo. Una vez se tienen las siete ST para cada alelo de la muestra. Se introdujeron en conjunto para la asignación del eBG y por tanto, la serovariedad con la cual se identificó a la bacteria.

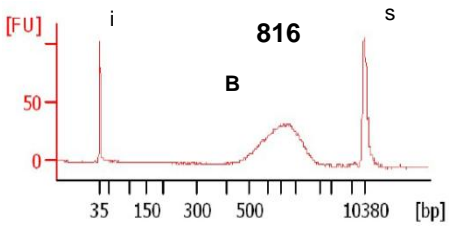
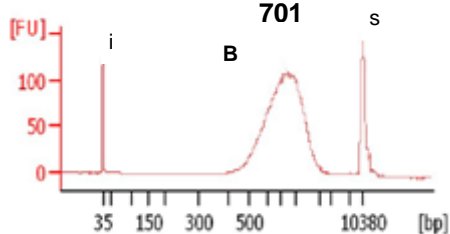
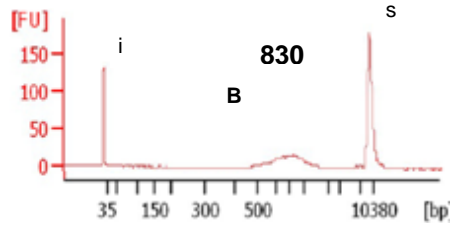
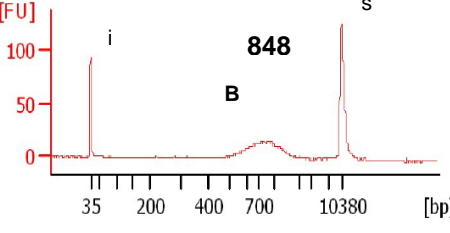
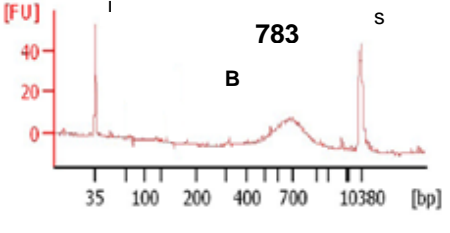
4. Resultados y discusión.

4.1. Evaluación de las características de los parámetros iniciales.

4.1.1. Bibliotecas de secuenciación.

El estudio cualitativo y cuantitativo sobre el ADN de las muestras sirve como preámbulo para la determinación de los aspectos críticos clave que afecta directamente el rendimiento del proceso de secuenciación. El tamaño promedio de cada una de las bibliotecas de ADN generadas y la concentración obtenida por medio de la técnica de PCR en tiempo real, se asumen como dos características importantes. Los resultados logrados al respecto se presentan en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1. Caracterización de las bibliotecas de secuenciación de bacterias del género *Salmonella*.

Nombre de la muestra	Tamaño promedio de los fragmentos de la biblioteca (pb)	Concentración (moléculas/ μ L)
<i>Salmonella</i> 318		1.17x10 ⁷
<i>Salmonella</i> 375		2.17x10 ⁷
<i>Salmonella</i> 384		2.74x10 ⁶
<i>Salmonella</i> 389		3.26 x10 ⁶
<i>Salmonella</i> Enteritidis		3.74 x10 ⁶

Se muestra la construcción gráfica obtenida a partir de la relación de la fluorescencia emitida (FU) y la longitud de los fragmentos de ADN (pb). El tamaño de cada biblioteca de secuenciación se estimó con base en una serie de marcadores de tamaño conocido; en cada gráfica se observa el marcador inferior (i) de 35 pb, el marcador superior (s) de 10380 pb y la biblioteca de cada muestra (B). La biblioteca resulta una curva debido a la fragmentación del ADN que en principio se realiza de manera aleatoria, por lo tanto, los fragmentos obtenidos se dispersan en un intervalo de tamaño con un pico promedio (indicado en la parte superior del mismo). El tamaño esperado de las bibliotecas de secuenciación para el flujo de trabajo en la plataforma Roche 454 GS FLX Titanium es de 700-850 pb (Roche AppliedScience®, 2011); todas las bibliotecas cumplieron con el rango establecido. La importancia de este parámetro es fundamental, de tal manera que repercute directamente sobre el tamaño y la calidad de las lecturas generadas en el proceso de secuenciación, al respecto se profundiza más adelante en el punto 4.2.1 de este apartado.

4.1.2. Cuantificación de las bibliotecas de secuenciación.

En relación a la concentración de las bibliotecas se buscó que fuera mayor a 1 millón de moléculas/ μL , este valor es definido con base en la concentración necesaria para realizar la solución de trabajo empleada en la emPCR, así se favorece la cantidad precisa de moléculas de la biblioteca que son integradas. Todas las concentraciones estimadas por medio de qPCR cumplieron con el parámetro establecido y permitió la preparación de las emulsiones correspondientes.

Una de las ventajas de utilizar qPCR sobre los protocolos de cuantificación por masa (electroforesis capilar en gel o espectrofotometría UV) es que estos pueden requerir más moléculas de la biblioteca de las que son necesarias para la secuenciación. Por otro lado el uso de PCR reduce la cantidad inicial necesaria de ADN debido a que es posible amplificar los materiales de entrada.

4.1.3. PCR en emulsión.

Un tercer aspecto crítico durante el proceso de secuenciación es el porcentaje de perlas enriquecidas (Tabla 4.2). La cantidad de perlas enriquecidas se obtuvo a partir de la concentración calculada por el contador de partículas respecto el volumen estimado a partir del peso en gramos, con ello se definió el total de perlas enriquecidas recuperadas, el cual se relaciona directamente con la cantidad inicial de perlas empleadas (35 millones de perlas) para obtener el porcentaje final. El rango esperado de recuperación de perlas enriquecidas establecido para la plataforma de secuenciación empleado es de 3-20% (Roche AppliedScience[®], 2011). Los valores de la emulsión A y la emulsión B se encontraron dentro del rango óptimo de trabajo.

Tabla 4.2. Resultado de la recuperación de perlas enriquecidas.

Nombre de la muestra	Copias por perla	Concentración de perlas enriquecidas (perlas/mL)	Volumen de perlas enriquecidas (µL)	Total de perlas enriquecidas	Porcentaje de perlas enriquecidas
Emulsión A	0.4	4789333	1084.1	5192116	14.8
Emulsión B		6331000	1109.7	7025510	20

El intervalo de recuperación de perlas enriquecidas se define 3-20% y no con tendencia al 100% debido que se ha delimitado un equilibrio entre la calidad y cantidad de los fragmentos de ADN cuando estos son secuenciados (Roche AppliedScience[®], 2011). Este hecho se ve relacionado estrechamente al CPB seleccionado, ya que el número óptimo de copias de ADN que se integran a la emPCR reduce la posibilidad de tener perlas policlonales, es decir, con dos o más copias diferentes de ADN de la biblioteca que disminuyan la eficiencia del proceso de secuenciación.

Por lo anterior fue importante hacer énfasis en la cuantificación del número de moléculas de la biblioteca ya que es esencial para alcanzar alto rendimiento y calidad en el proceso de secuenciación. A este respecto White *et al.* establece que la subestimación de la concentración de la biblioteca resulta finalmente en señales

mezcladas debido a más de una secuencia integrada por perla lo que reduce el número de lecturas de alta calidad; por otro lado la sobreestimación de la concentración de la biblioteca resulta en menos ADN, en cuyo caso la plena capacidad del secuenciador no puede realizarse.

4.2. Corrida de secuenciación.

Con base en el protocolo Roche AppliedScience® para la secuenciación de ADN, se empleó un volumen de 417.6 μL de la emulsión A y 316 μL de la emulsión B para depositar aproximadamente 2 millones de perlas en las regiones respectivas de la PTP.

El tiempo de duración del proceso de secuenciación fue de 9 h. El mecanismo de trabajo consistió en un flujo de nucleótidos de 200 ciclos seguido por un lavado con la enzima apirasa para degradar los nucleótidos que no fueron incorporados.

La luz generada como resultado de las reacciones de pirosecuenciación en los pozos de la PTP fue registrada en el equipo por una cámara de forma masiva y simultánea.

Posteriormente se produjo la fase de procesamiento de datos que incluyó la adquisición de las imágenes crudas captadas por el equipo, se obtuvieron ~28 Gb de información. Las imágenes fueron procesadas para generar señales que se tradujeron a un lenguaje binario. El procesamiento completo de las imágenes crudas alcanzó un volumen de ~37 Gb de información. El resultado final fue una serie de archivos que contuvieron los pirogramas para lecturas individuales, el número de lecturas y las puntuaciones de calidad asociadas a las mismas.

4.2.1. Evaluación del proceso de secuenciación de ADN.

Las lecturas resultado del procesamiento de la información generada por la secuenciación de las bibliotecas, fueron evaluadas para eliminar regiones con mala calidad de lectura, nucleótidos que pertenezcan a adaptadores y nucleótidos

que se encuentren altamente repetidos para evitar interferencias en el análisis (trimming). La Figura 4.1 representa la distribución de las lecturas antes y después de la supresión de las regiones mencionadas; el eje de abscisas establece la longitud de las lecturas y el eje de ordenadas, el número de lecturas.

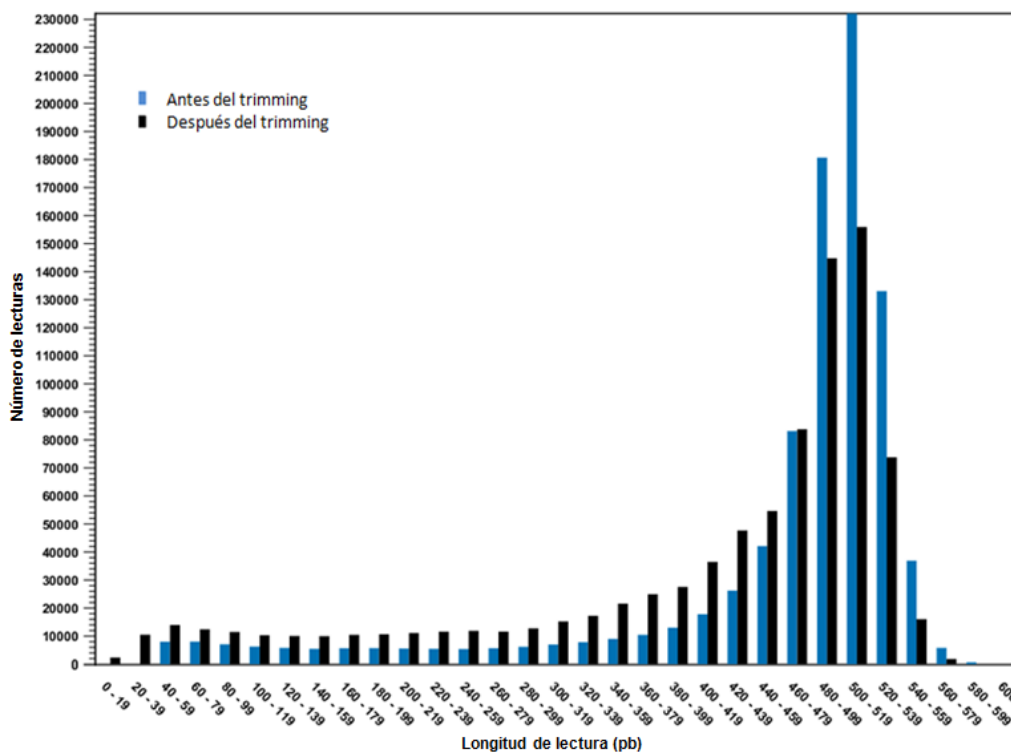


Figura 4.1. Distribución de las lecturas en función de su longitud.

Una vez realizada la depuración de las lecturas, se observa el incremento en el número de las mismas en los intervalos de longitud de 1 hasta 459 pb; ocurre lo contrario a partir de los intervalos de 480 hasta 600 pb, el número de lecturas disminuye respecto la cantidad inicial. Este comportamiento sucede cuando al ser descartados nucleótidos de una secuencia en un rango específico de tamaño, la longitud disminuye, en consecuencia puede permanecer o cambiar su intervalo de tamaño; por otro lado se sugiere que las secuencias de mayor longitud son susceptibles a un mayor número de errores, de esta manera generan regiones con baja calidad, por lo tanto, más nucleótidos de las secuencias son

descartados por lo que disminuyen su tamaño y resultan en un incremento de las secuencias en los intervalos de menor longitud.

Se ha encontrado además que el cambio en el número de lecturas en el rango de 460 a 479 permanece semejante en ambas distribuciones aunado a la depuración de las secuencias. Este hecho es debido principalmente al decaimiento de la enzima polimerasa durante la síntesis de la cadena complementaria de ADN de la biblioteca, lo cual podría significar la longitud óptima promedio de nucleótidos que la enzima es capaz de integrar con el mínimo de errores.

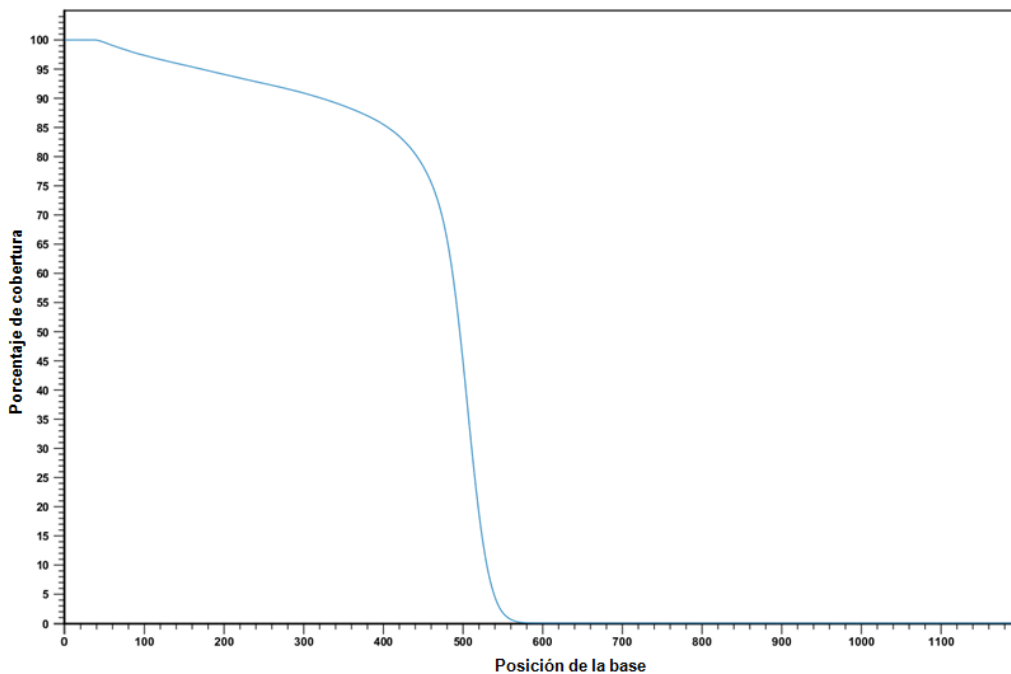


Figura 4.2. Representación gráfica de la cobertura de secuenciación de las lecturas.

Al respecto, la Figura 4.2 muestra la cobertura alcanzada en la secuenciación de los fragmentos de ADN de las bibliotecas; en el eje de abscisas se muestra la posición de los nucleótidos en la secuencia y en el eje de ordenadas, el porcentaje de cobertura. El gráfico expone el declive de la secuenciación de los nucleótidos a medida que el tamaño de la secuencia

incrementa, aproximadamente a partir de 440 nucleótidos secuenciados ocurre el decremento máximo.

El total de lecturas procesadas se presentan en la Figura 4.3. En el eje de abscisas se observa la longitud de las secuencias y en el eje de ordenadas, la frecuencia. El mayor número de lecturas, 26% respecto del total se encuentra en un intervalo de 500 a 519 pb.

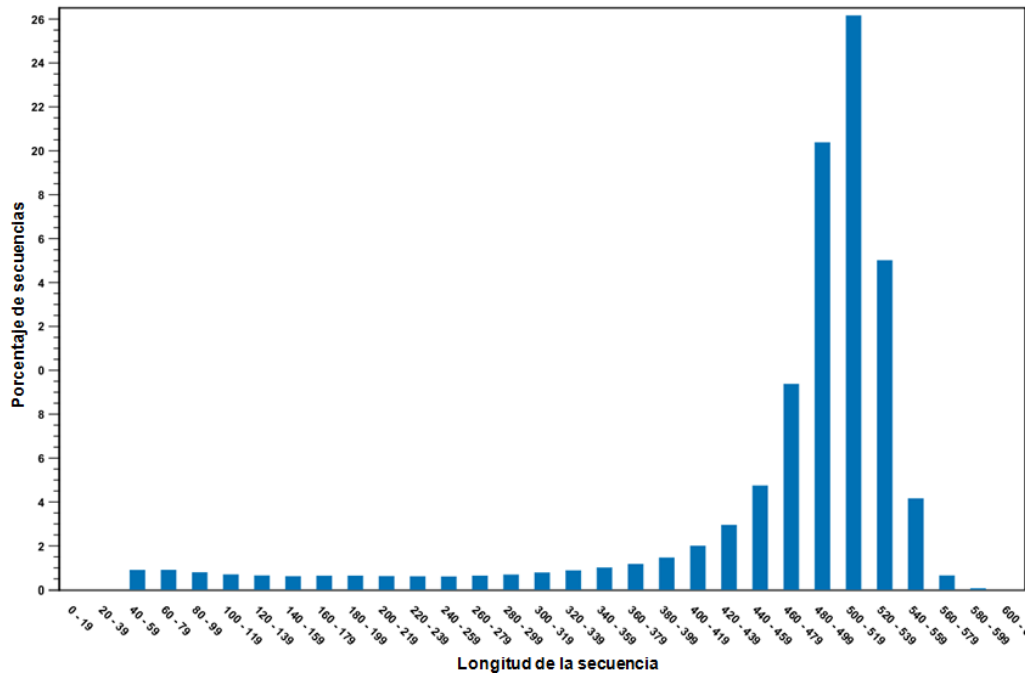


Figura 4.3. Distribución de las lecturas en función de su longitud.

La escala Phred mostrada en la Figura 4.4 representa una escala normalizada de la calidad de las lecturas generadas. En el eje de abscisas se muestra el valor de la calidad promedio de cada lectura y en el eje de ordenadas la frecuencia.

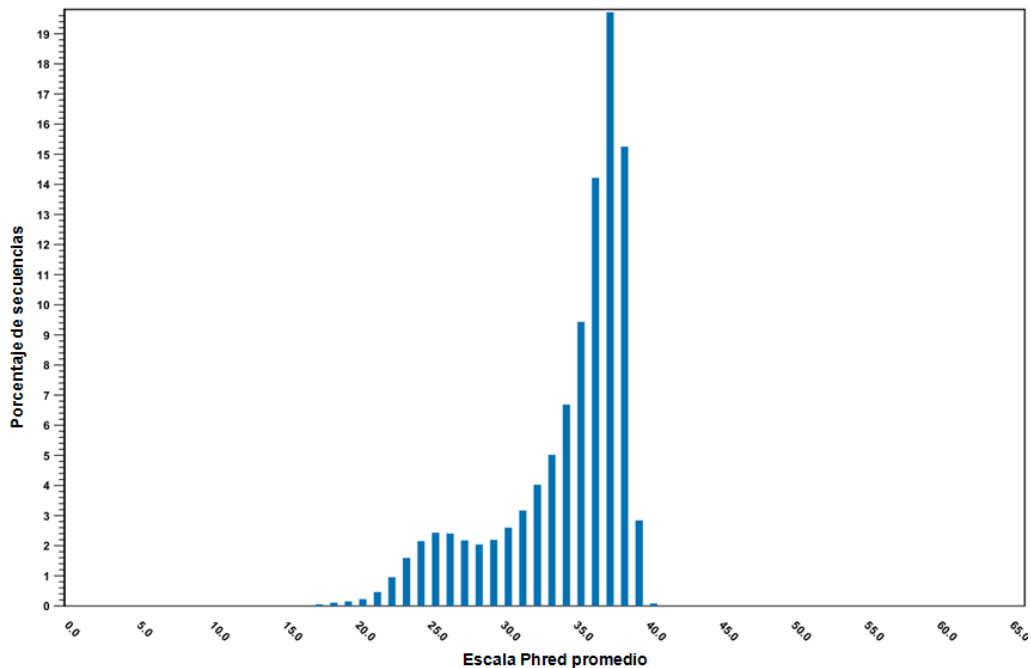


Figura 4.4. Distribución de la calidad de las lecturas.

Aproximadamente el 60% de las lecturas posee una calidad superior a 35; 19% de las lecturas, porcentaje máximo de lecturas observado, posee calidad 37, esto significa 1 error por cada 5012 pares de bases secuenciadas. La calidad máxima observada es 40 y corresponde a menos del 1% de las lecturas, 1 error por cada 10000 pares de bases.

Se determinó el número de lecturas para cada una de la muestras y la longitud promedio de las mismas (Tabla 4.3). A continuación se realizó el mapeo de cada muestra para obtener la secuencia consenso y se prosiguió con el análisis del gen ARNr 16S y el esquema MLST.

Tabla 4.3. Características de las lecturas de las muestras de bacterias *Salmonella*.

Muestra	Número de lecturas	Longitud promedio
<i>Salmonella</i> 318	76268	411
<i>Salmonella</i> 375	59587	
<i>Salmonella</i> 389	103865	408
<i>Salmonella</i> 384	127483	
<i>Salmonella</i> Enteritidis	55193	

4.3. Análisis del gen ARNr 16S.

Se reconoció *in silico* la secuencia del gen ARNr 16S en cada una de las secuencias consenso de la muestras (las secuencias del gen ARN 16S pueden ser consultadas en el **Apéndice IA** de este documento) y de esta manera fue posible realizar el alineamiento con secuencias de microorganismos depositadas en la base de datos de genes del NCBI mediante el uso de BLAST.

Como resultado se obtuvo una serie de alineamientos significativos, es decir, una serie de secuencias altamente semejantes a la de la muestra en cuestión; cada una de esas secuencias corresponde a un microorganismo particular, la similitud que presenten los alineamientos respecto la secuencia de la muestra problema posibilita determinar la identidad de las mismas.

El procedimiento efectuado para realizar los alineamientos con el empleo de BLAST se señala en la Figura 4.5.



NCBI/BLAST Home

BLAST finds regions of similarity between biological sequences. [more...](#)

New DELTA-BLAST, a more sensitive protein-protein search

BLAST Assembled RefSeq Genomes

Choose a species genome to search, or [list all genomic BLAST databases.](#)

- [Human](#)
- [Dog](#)
- [Fruit fly](#)
- [Arabidopsis](#)
- [Mouse](#)
- [Rabbit](#)
- [Honey bee](#)
- [Rice](#)
- [Rat](#)
- [Chimp](#)
- [Chicken](#)
- [Yeast](#)
- [Cow](#)
- [Guinea pig](#)
- [Zebrafish](#)
- [Neurospora crassa](#)
- [Pig](#)
- [Sheep](#)
- [Clawed frog](#)
- [Microbes](#)

A

Microbial Nucleotide BLAST

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), g(i), or FASTA sequence(s)

Or, upload file

Job title

Choose Search Set

Database: Representative genomes only All genomes

Organism:

Entrez Query:

Program Selection

Optimize for

- Highly similar sequences (megablast)
- More dissimilar sequences (discontiguous megablast)
- Somewhat similar sequences (blastn)

B

Sequences producing significant alignments

Select: **All** None Selected 0

Alignments

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. ATCC 9150 chromosome, complete genome	3574	23521	99%	0.0	95%	NC_086511.1
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium str. 172 chromosome, complete genome	3511	22734	98%	0.0	94%	NC_082197.1
Salmonella bongori NC1012419, complete genome	3507	22440	99%	0.0	96%	NC_015761.1
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium CT16, complete genome	3382	23024	96%	0.0	95%	NC_082196.1
Citrobacter rodentium CD200 chromosome, complete genome	3073	21650	99%	0.0	97%	NC_013716.1
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium Ty2 chromosome, complete genome	3375	23002	96%	0.0	95%	NC_084631.1

C

Download sort by: **E value**

Salmonella enterica subsp. enterica serovar Paratyphi A str. ATCC 9150 chromosome, complete genome
Sequence ID: [BNINC_U05511.1](#) Length: 4555229 Number of Matches: 7

Range: 1-293215 in 293200

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
3574 bits(1935)	0.0	1976/1996(99%)	2/1996(1%)	Plus/Plus

Features: rRNA-16S ribosomal RNA

```

Query 2      CCTGAATTCAGGGTTCAGCTCTGAAAGAGGAGAGAGGATATACGGCAGCTCCGACGGT 61
            |||||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 299055  CUIAGAAATLCAAGGATGALICUGAAAGAGGAGAGGATATATATAGGACUUSGAGUAG 299154
Query 62      CAGCTCAGAAAGGCGGCTCCGACGCTCCCTTTAGCAATTCACAGGAGATCTCTCCGAC 121
            |||||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 293155  GAGCTGAAAGCGGCTCCGACGCTCCCTTTAGCAATTCACAGGAGATCTCTCTCCGAC 293214
Query 122     TCGAAGATACGGATTCTTAGCTCCGACGAGAAAGATGAAATACCAAGTCTC 100
            |||||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||  |||
Sbjct 293215  TCGAAGATACGGATTCTTAGCTCCGACGAGAAAGATGAAATACCAAGTCTC 293274
    
```

Related Information
[Genome - genomic sequence](#)

Figura 4.5. Ejecución de BLAST para la búsqueda de alineamientos (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>).

La consulta del gen ARNr de las muestras se efectuó en la base de datos específica para microorganismos (A); la secuencia fue integrada de forma directa

para su análisis y se optó por alineamientos sólo con genomas representativos y secuencias altamente similares (B); el informe que desplegó el análisis constó de una lista detallada con el nombre de los microorganismos a los cuales la secuencia de consulta se asemeja y se proporcionó el alineamiento para todos los casos encontrados (C).

El objetivo del alineamiento fue conseguir alinear las posiciones homólogas, el alineamiento con mejor porcentaje de coincidencias es en teoría el más razonable, se toma en cuenta la cobertura de las secuencias alineadas, así como los gaps empleados. Un gap existe cuando ha ocurrido una delección o inserción de un nucleótido, debido a esto los alineamientos no son una trivialidad. Se espera encontrar muchos alineamientos al azar con puntuaciones bajas, pero muy pocos con puntuaciones altas. Para puntuaciones muy altas se espera encontrar un número insignificante de alineamientos por simple azar.

Los microorganismos con las secuencias del gen ARNr 16S contenidas en la base de datos del NCBI de mayor semejanza a la secuencia del gen ARNr 16S de cada una de las muestras y cuyos alineamientos fueron los de mejor puntuación se presentan en la Tabla 4.4 (los alineamientos pueden ser consultados en el **Apéndice IB** de este documento). Para cada una de las bacterias que fueron secuenciadas se expone en porcentaje, el número de nucleótidos de la secuencia de la base de datos que son homólogos respecto el número de nucleótidos de la secuencia de la muestra; los gaps en la secuencia de estudio requeridos para obtener el mayor alineamiento de los nucleótidos; finalmente se indica la identidad del microorganismo al cual pertenece presuntamente la secuencia en cuestión.

Tabla 4.4. Asignación de identidad mediante el análisis del gen ARNr 16S.

Muestra	Alineamiento	Gaps	Identidad
<i>Salmonella</i> 318	1894/1917 (98.8%)	5/1917	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhimurium
<i>Salmonella</i> 375	1950/1993 (97.8%)	10/1993	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Paratyphi A
<i>Salmonella</i> 389	1944/1994 (97.5%)	8/1994	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Paratyphi A
<i>Salmonella</i> 384	1976/1996 (99%)	2/1996	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Paratyphi A
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1982/2001 (99.1%)	1/2001	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhi

Janda y Abbott describen que la secuenciación del gen ARNr 16S provee la identificación del género y la especie en más del 90% y 65% de los casos respectivamente. Con base en los resultados obtenidos fue posible confirmar el género en todas las muestras, bacterias del género *Salmonella*; se estableció además, la especie de las mismas como *enterica* y la subespecie como *enterica*.

Sin embargo, el uso de este gen en estudios de diversidad bacteriana presenta ciertas desventajas debido a que se encuentra conservado y por ende, no permite distinguir con precisión entre algunas especies y muchas subespecies bacterianas (Le Borgne, 2005).

Por lo tanto, la serovariedad asignada a las muestras, en particular a *Salmonella* 375, *Salmonella* 389 y *Salmonella* 384 las cuales presentan un único patrón de identidad, no sugiere una determinación confiable debido a que el análisis del gen ARNr 16S pierde su poder resolutorio en niveles de agrupación inferiores y como consecuencia del desconocimiento de nuevos taxones que comparten secuencias del gen ARNr 16S similares o casi idénticas.

Este hecho es primordial ante el reconocimiento de un microorganismo causal de un brote infeccioso y las medidas de control que debieran asumirse; en el caso puntual de las ETA del total causado por agentes biológicos, el mayor

porcentaje de incidentes reportados sugiere aquellas enfermedades cuya causa ha sido mal definida.

4.4. Análisis de la tipificación de secuencias multilocus.

La tipificación de secuencias multilocus para bacterias del género *Salmonella* envuelve siete genes, las secuencias de éstos fueron identificadas en cada una de la secuencia consenso de las muestras problema (las secuencias de los siete alelos pueden ser consultadas en el **Apéndice IIA** de este documento). El conjunto de alelos para cada muestra se refirió a la base de datos MLST con el fin de realizar un alineamiento y conocer la semejanza con aquellos alelos registrados. Posteriormente el patrón de todos lo alelos identificados en conjunto dio lugar a un tipo de secuencia (ST) específico, el cual refirió a un eBG particular, y por tanto el serovar al cual corresponde cada una de las muestras (Figura 4.6). La asignación del tipo de alelo es aquella que refiere el mayor número de posiciones homólogas en el alineamiento (los alineamientos pueden ser consultados en el **Apéndice IIB** de este documento).

Figura 4.6. Empleo de la base de datos MLST de *Salmonella enterica* para la búsqueda de alineamientos (<http://mlst.warwick.ac.uk/mlst/dbs/Senterica>).

Sin embargo, como se demuestra a continuación, no todos los alineamientos dieron lugar a un ST específico.

4.4.1. *Salmonella* 318.

Los genes de estudio y el tipo de alelo asignado en la base de datos para la muestra *Salmonella* 318 se presentan en la Tabla 4.5.

Tabla 4.5. Asignación alélica para la muestra *Salmonella* 318.

Gen	Alelo MLST
<i>aroC</i>	<i>aroC</i> 71
<i>dnaN</i>	<i>dnaN</i> 65
<i>hemD</i>	<i>hemD</i> 67
<i>hisD</i>	<i>hisD</i> 16
<i>purE</i>	<i>purE</i> 61
<i>sucA</i>	<i>sucA</i> 9
<i>thrA</i>	<i>thrA</i> 64

En el caso del alelo del gen *aroC* se determinó la semejanza con el alelo *aroC* 71 a partir de la posición 165 sobre un total de 501 nucleótidos, lo que significa 67% de alineamiento de las secuencias; el alelo *dnaN* resultó ser similar a partir de la posición 192 en un total de 501 nucleótidos con el alelo *dnaN* 65 (62%); para el alelo *hemD* cuya longitud es de 432 nucleótidos, la semejanza con el alelo *hemD* 67 se dio a partir del nucleótido 6 (98%); el alelo *hisD* con 501 nucleótidos de longitud fue homólogo a partir de la posición 151 con el alelo *hisD* 16 (70%); el alelo *purE* tiene una longitud de 399 nucleótidos y se estableció semejanza con el alelo *purE* 61 desde la posición 137 (66%); el alelo *thrA*, por su parte, contiene 501 nucleótidos en su secuencia, se asignó al alelo *thrA* 64 con homología a partir del nucleótido 49 (90%); el alelo *sucA* cuya longitud es de 501 nucleótidos, fue referido al alelo *sucA* 9 por su semejanza a partir del nucleótido 46 hasta la posición 500 (91%). Las secuencias de los alelos de las muestras no incluyeron ningún gap para su alineamiento.

El patrón de los siete alelos para la muestra *Salmonella* 318 no se encontró en la base de datos, se estableció como un ST desconocido. En la Figura 4.7 se muestran los ST más cercanos al patrón generado.

ST	<i>aroC</i>	<i>dnaN</i>	<i>hemD</i>	<i>hisD</i>	<i>purE</i>	<i>sucA</i>	<i>thrA</i>	ST Complex
unknown ST	71	65	67	16	61	9	64	No ST Complex
<u>ST185</u>	71	65	67	75	61	9	64	30
<u>ST217</u>	71	65	67	75	73	9	64	30
<u>ST767</u>	71	65	67	75	73	206	64	30
<u>ST1751</u>	71	65	143	75	73	9	64	
<u>ST833</u>	84	65	3	241	64	9	110	

Figura 4.7. Asignación de eBG para la muestra *Salmonella* 318 (*Salmonella enterica* MLST Database).

Similar en 6 alelos de 7 al ST 185, en 5 alelos de 7 al ST 217 y en 4 alelos de 7 al ST 767. El ST 185 difiere en el alelo *hisD* 16, el cual fue asignado con 70% de alineamiento sobre la secuencia de la muestra. Sin embargo, todos los ST corresponden al eBG 30 y la relación se establece con el serovar Senftenberg, en su mayoría los registros hallados en la base de datos para este serovar provienen de Alemania. El ST 1751 no se relaciona con ningún eBG, incluso con ningún serovar específico; el ST 833 por su parte, discrepa en 5 de los 7 alelos de la muestra, lo cual reduce la probabilidad de cercanía genética.

4.4.2. *Salmonella* 375.

El tipo de alelo establecido a los alelos de la muestra *Salmonella* 375 se muestran a continuación en la Tabla 4.6.

Tabla 4.6. Asignación alélica para la muestra *Salmonella* 375.

Gen	Alelo MLST
<i>aroC</i>	<i>aroC</i> 319
<i>dnaN</i>	<i>dnaN</i> 47
<i>hemD</i>	<i>hemD</i> 49
<i>hisD</i>	<i>hisD</i> 42
<i>purE</i>	<i>purE</i> 12
<i>sucA</i>	<i>sucA</i> 58
<i>thrA</i>	<i>thrA</i> 3

El alelo *aroC* cuya longitud es de 501 nucleótidos, es semejante al alelo *aroC* 319 a partir de la primera posición y hasta la posición 438 (87%); el alelo *dnaN* y el alelo *thrA* cuya longitud es de 501 nucleótidos resultaron ser similares al alelo *dnaN* 47 a partir del nucleótido 52 (90%) y al alelo *thrA* 3 a partir del nucleótido 78 (84%) respectivamente; el alelo *hemD* fue referido al tipo de alelo *hemD* 49 por su homología desde la posición 127 en una secuencia de 432 nucleótidos (70%); el alelo *hisD* posee semejanza con el alelo *hisD* 42, la cual inicia en el nucleótido 120 hasta la posición 383 de un total de 501 nucleótidos que componen la secuencia (52%); en cuanto al alelo *sucA* con una longitud de 498 nucleótidos, se encontró similitud con el alelo *sucA* 58 desde la posición 75 (85%); el alelo *purE* cuya longitud es de 399 nucleótidos, es semejante al alelo *purE*12 a partir del nucleótido 38 (90%); Respecto el alineamiento, las secuencias de los alelos de las muestras no incluyeron ningún gap.

El conjunto de alelos determinados para la muestra *Salmonella* 375 estableció que no existe un ST conocido en la base de datos para las secuencias (Figura 4.8).

ST	<i>aroC</i>	<i>dnaN</i>	<i>hemD</i>	<i>hisD</i>	<i>purE</i>	<i>sucA</i>	<i>thrA</i>	ST Complex
unknown ST	319	47	49	42	12	58	3	No ST Complex
<u>ST654</u>	111	47	49	42	12	58	3	
<u>ST96</u>	43	47	49	49	41	15	3	33
<u>ST862</u>	125	63	208	62	12	58	3	163
<u>ST600</u>	192	11	49	42	161	13	3	
<u>ST594</u>	43	47	49	16	178	15	3	33

Figura 4.8. Asignación de eBG para la muestra *Salmonella* 375 (*Salmonella enterica* MLST Database).

Es el ST 654 con una sola discrepancia en el alelo asignado *aroC* 319 (alineamiento del 87%), aquel que más se asemeja al patrón de alelos de la muestra (6 de 7 alelos similares), no obstante, el ST 654 no corresponde a ningún eBG pero se encuentra asociado al serovar Give, los registros en la base de datos provienen en su mayoría de los Estados Unidos de América. El resto de los ST son similares al de la muestra en 3 de los 7 alelos, esto los hace candidatos menos probables para establecer una relación genética a la muestra *Salmonella* 375.

4.4.3. *Salmonella* 389.

Los alelos definidos a la muestra *Salmonella* 389 se pueden observar en la Tabla 4.7.

Tabla 4.7. Asignación alélica para la muestra *Salmonella* 389.

Gen	Alelo MLST
<i>aroC</i>	<i>aroC</i> 11
<i>dnaN</i>	<i>dnaN</i> 10
<i>hemD</i>	<i>hemD</i> 13
<i>hisD</i>	<i>hisD</i> 32
<i>purE</i>	<i>purE</i> 10
<i>sucA</i>	<i>sucA</i> 13
<i>thrA</i>	<i>thrA</i> 4

La longitud de los alelos de los genes *aroC*, *dnaN*, *hisD*, *sucA* y *thrA* es de 501 nucleótidos, en el caso de *aroC* se obtuvo un alineamiento de 65% con el alelo *aroC* 11 pues presentó homología a partir de la posición 173 de la secuencia; por su parte, el alelo *dnaN* es semejante desde la secuencia 189 con el alelo *dnaN* 10 (62%); el alelo *hisD* encontró semejanza con el alelo *hisD* 32 desde el nucleótido 166 (66%); el alelo *sucA* 13 fue similar desde la posición 73 con la secuencia del alelo *sucA* de la muestra en cuestión; con 66% de homología el alelo *thrA* 4 fue designado al alelo *thrA* de *Salmonella* 389. En el caso del alelo *hemD* 13 se asignó al alelo *hemD* de la muestra por su similitud a partir del nucleótido 130 respecto 432 nucleótidos que conforman su secuencia (69%); finalmente el alelo *purE* de la muestra alineó 65% respecto el alelo *purE* 10 a partir de la posición 139 de 399 nucleótidos. Los alineamientos de las secuencias no requirieron ningún gap para determinarse.

La información obtenida de la secuencia de los siete alelos identificados en la muestra *Salmonella* 389 corresponde al ST 65, tipo de secuencia que forma parte del eBG 12 (Figura 4.9), el cual correlaciona directamente con el serovar

Brandenburg cuyos registros en la base de datos tiene origen con mayor frecuencia en Estados Unidos de América.

ST	<i>aroC</i>	<i>dnaN</i>	<i>hemD</i>	<i>hisD</i>	<i>purE</i>	<i>sucA</i>	<i>thrA</i>	ST Complex
ST65	11	10	13	32	10	13	4	12
<u>ST65</u>	11	10	13	32	10	13	4	12
<u>ST873</u>	11	10	13	264	10	13	4	12
<u>ST334</u>	11	10	13	32	10	13	112	12
<u>ST249</u>	11	10	13	32	10	13	3	12
<u>ST20</u>	11	10	13	13	10	13	4	12

Figura 4.9. Asignación de eBG para la muestra *Salmonella* 389 (*Salmonella enterica* MLST Database).

4.4.4. *Salmonella* 384.

La identificación de los alelos correspondientes a la muestra *Salmonella* 384 se observan en la Tabla 4.8.

Tabla 4.6. Asignación alélica para la muestra *Salmonella* 384.

Gen	Alelo MLST
<i>aroC</i>	<i>aroC</i> 230
<i>dnaN</i>	<i>dnaN</i> 38
<i>hemD</i>	<i>hemD</i> 252
<i>hisD</i>	<i>hisD</i> 427
<i>purE</i>	<i>purE</i> 236
<i>sucA</i>	<i>sucA</i> 216
<i>thrA</i>	<i>thrA</i> 209

El primer alelo asignado es *aroC* 230 referente al alelo *aroC* de la muestra, se determinó la semejanza a partir de la posición 174 de un total de 501 nucleótidos, lo que significa 65% de alineamiento de las secuencias; el alelo *dnaN* resultó ser similar a partir de la posición 178 sobre un total de 501 nucleótidos con el alelo *dnaN* 38 (64%); respecto el alelo *hemD* cuya longitud es de 432 nucleótidos, la semejanza con el alelo *hemD* 251 se dio a partir del nucleótido 134 (69%); el alelo *hisD* con 501 nucleótidos de longitud fue homólogo a partir de la posición 164 hasta la posición 497 con el alelo *hisD* 427 (67%); el alelo *purE* tiene una longitud de 399 nucleótidos y se estableció semejanza con el alelo *purE* 236 desde la posición 143 (64%); el alelo *sucA*, por su parte, contiene 501 nucleótidos en su secuencia, se asignó al alelo *sucA* 216 con homología a partir del nucleótido 131 hasta la posición 500 (74%); y el alelo *thrA* cuya longitud es de 501 nucleótidos, fue referido al alelo *thrA* 209 por su semejanza a partir del nucleótido 142 (72%). Ninguna de las secuencias requirió de gaps para su alineamiento.

Al ingresar los siete alelos asignados a cada una de las secuencias de la muestra *Salmonella* 384 no se obtuvo correspondencia con un ST conocido, tal y como se muestra en la Figura 4.10.

ST	<i>aroC</i>	<i>dnaN</i>	<i>hemD</i>	<i>hisD</i>	<i>purE</i>	<i>sucA</i>	<i>thrA</i>	ST Complex
unknown ST	230	38	252	427	236	216	209	No ST Complex
<u>ST1090</u>	230	38	252	427	236	341	209	
<u>ST1086</u>	230	38	228	416	236	216	209	
<u>ST785</u>	231	38	158	261	236	216	209	
<u>ST784</u>	230	38	158	260	236	215	209	
<u>ST1100</u>	231	38	264	363	236	216	209	231

Figura 4.10. Asignación de eBG para la muestra *Salmonella* 384 (*Salmonella enterica* MLST Database).

En consecuencia los alelos tampoco se asociaron directamente con un eBG específico. El ST 1090 con una semejanza en 6 de 7 alelos es aquel que representa mayor cercanía con la muestra en cuestión, la diferencia radica en alelo del gen *sucA*, el cual alineó con el alelo *sucA* 216 en 74% de su secuencia. El ST 1090 está asociado al serovar Arapahoe, el único registro existente en la base de datos lo refiere los Estados Unidos de América. El ST 1086 el cual discrepa en dos de los alelos de la muestra, *hemD* e *hisD* posee un solo registro también referido por los Estado Unidos de América, el cual indica relación con el serovar Maricopa. Los ST adicionales pierden cercanía genética con la muestra al diferir en 3 de los 7 alelos.

4.4.5. *Salmonella* Enteritidis.

Los alelos específicos de la muestra *Salmonella* Enteritidis se muestran en la Tabla 4.9.

Tabla 4.6. Asignación alélica para la muestra *Salmonella* Enteritidis.

Gen	Alelo MLST
<i>aroC</i>	<i>aroC</i> 5
<i>dnaN</i>	<i>dnaN</i> 2
<i>hemD</i>	<i>hemD</i> 3
<i>hisD</i>	<i>hisD</i> 7
<i>purE</i>	<i>purE</i> 6
<i>sucA</i>	<i>sucA</i> 6
<i>thrA</i>	<i>thrA</i> 11

Referente al alelo *aroC* cuya longitud es de 501 nucleótidos se obtuvo un alineamiento de 66% con el alelo *aroC* 5 pues presentó homología a partir de la posición 169 de la secuencia; por su parte, el alelo *dnaN* es semejante desde la secuencia 184 con el alelo *dnaN* 2 (63%); el alelo *hemD* fue referido al alelo *hemD* 3 por su semejanza a partir de la posición 88 sobre un total de 432 nucleótidos (80%); el alelo *hisD* encontró semejanza con el alelo *hisD* 7 desde el nucleótido 134 hasta el nucleótido 501 sobre una secuencia de 502 nucleótidos (73%); el alelo *purE* se asemejó al alelo *purE* 6 en 66% de su secuencia, a partir de la posición 134 respecto una secuencia de 399 nucleotidos; el alelo *sucA* 6 fue similar desde la posición 118 a la posición 501 del alelo *sucA* sobre un total de 504 nucleótidos (76%); finalmente el alelo *thrA* 11 fue designado al alelo *thrA* de *Salmonella* Enteritidis. Los alineamientos de las secuencias no requirieron ningún gap para ser determinados.

El resultado para el patrón de alelos generado por la muestra *Samonella* Enteritidis se muestra en la Figura 4.11.

ST	<i>aroC</i>	<i>dnaN</i>	<i>hemD</i>	<i>hisD</i>	<i>purE</i>	<i>sucA</i>	<i>thrA</i>	ST Complex
ST11	5	2	3	7	6	6	11	4
<u>ST11</u>	5	2	3	7	6	6	11	4
<u>ST814</u>	233	2	3	7	6	6	11	4
<u>ST745</u>	214	2	3	7	6	6	11	4
<u>ST640</u>	5	2	3	7	6	11	11	4
<u>ST616</u>	5	2	130	7	6	6	11	4

Figura 4.11. Asignación de eBG para la muestra *Salmonella* Enteritidis (*Salmonella enterica* MLST Database).

El ST 11 obtenido corresponde al eBG 4 cuyo serovar directamente relacionado es Enteritidis. Esto representa la confirmación del serovar para la muestra. Los ST adicionales difieren en un solo alelo respecto los 7 alelos de la muestra, debido a la estrecha semejanza genética integran el mismo eBG 4.

En resumen, el conjunto de alelos para el esquema MLST de las muestras *Salmonella* 318, *Salmonella* 375 y *Salmonella* 384 presentó un tipo de secuencia no registrada en la base de datos. Para lograr la caracterización de las bacterias se recurrió al ST que posee el mayor número de alelos idénticos para todos los fragmentos de genes asignados, tal y como refiere Achtman *et al.*, la probabilidad que la muestra problema esté genéticamente relacionada al ST propuesto parte de la premisa que los ST que integran un eBG poseen una íntima relación genética; es preciso recordar que los eBG congregan ST que comparten todos los alelos a excepción de uno e incluso en algunos casos hasta dos. Los ST que contienen múltiples aislamientos son considerados como un eBG, este es el caso de *Salmonella* 375 y *Salmonella* 389. Los alelos de la muestra *Salmonella* 389 correlacionaron en su totalidad con el ST 65, eBG 12, el cual se relaciona directamente con el serovar Brandenburg. Respecto la muestra *Salmonella* Enteritidis el esquema de alelos proporcionó de manera directa el ST 11, eBG 4, asociado al serovar Enteritidis.

4.5. Asignación de género y serovariedad.

Los resultados que se presentan en el análisis del gen ARNr 16S comparados con los que se establecen mediante MLST, sugirieron que el segundo método es aquel que determina notables ventajas para la identificación de microorganismos incluso a un nivel de serovariedad.

El análisis por MLST logró identificar alelos directamente en las secuencias nucleotídicas de fragmentos de genes constitutivos y mostró el amplio potencial que supone la NGS para el estudio de genomas completos consecuencia del salto de varios órdenes de magnitud que ha tenido el proceso de secuenciación en la longitud de los fragmentos secuenciados y la rapidez que para ello supone esta tecnología (Jiménez *et al.*, 2012). Este hecho amplió el panorama más allá de sólo examinar genes específicos.

La Tabla 4.10 presenta la confirmación del género de las muestras y la asignación de la especie, la subespecie y la serovariedad, en el caso de *Salmonella* Enteritidis la confirmación de ésta.

Tabla 4.10. Identificación de bacterias del género *Salmonella*.

Muestra	Identidad de las muestras de estudio
<i>Salmonella</i> 318	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Senftenberg
<i>Salmonella</i> 375	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Give
<i>Salmonella</i> 389	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Brandenburg
<i>Salmonella</i> 384	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Arapahoe
<i>Salmonella</i> Enteritidis	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Enteritidis

5. Conclusiones.

Se obtuvo ADN con una adecuada valoración cualitativa y cuantitativa para la realización de las bibliotecas de secuenciación a partir de la extracción de ADN de células bacterianas.

Las bibliotecas de secuenciación elaboradas cumplieron con los parámetros de trabajo establecidos.

La técnica de qPCR sugirió mayor ventaja respecto métodos basados en masa para cuantificar las bibliotecas de secuenciación.

La evaluación de la PCR en emulsión, determinó porcentajes apropiados de perlas enriquecidas para llevar a cabo la secuenciación.

El tamaño de la biblioteca de secuenciación, la precisa cuantificación de las moléculas de ADN de la biblioteca y el porcentaje de perlas enriquecidas, son factores primordiales para el óptimo proceso de secuenciación de ADN.

La corrida de secuenciación se efectuó y proporcionó datos útiles para el análisis bioinformático.

Se realizó el análisis *in silico* del gen ARNr 16S y los siete genes que componen el esquema MLST.

Los resultados obtenidos demostraron que la identificación de bacterias del género *Salmonella* a un nivel de asignación de serovar basada en la secuenciación de nueva generación de ADN del genoma completo y bajo un esquema MLST, proporciona un enfoque con ventajas superiores a los métodos convencionales.

6. Perspectiva.

Para fortalecer la capacidad del Centro Nacional de Referencia y Detección de Organismos Genéticamente Modificados, se incorporan nuevas estrategias, herramientas y procedimientos. La información resultante de este estudio apoyará la validación de un método basado en el ADN para facilitar el reconocimiento eficaz en un brote epidemiológico y asistir las respuestas de alertas sanitarias. Servirá además, para proponer nuevos métodos de identificación y generar esquemas de tipificación bacteriana en México.

Referencias.

- Achtman M., Wain J., Weill FX., Nair S., *et al.* (2012). Multilocus Sequence Typing as a replacement for serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathogens*. 8 (6): 1-19.
- Andreas D., Baxevanis B., Quellette F y Wiley I. (2004). *Bioinformatics: A practical guide to the analysis of genes and proteins*. 2nd Edition. United States of America. Wiley Interscience publications. 28, 35-37.
- Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) [En línea]. Microbial Nucleotide BLAST. Disponible en: <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov> [Último acceso: 2014 Mayo 09].
- Benavides A., Quintos M y Esteban M. (2012). Salmonelosis, enfermedad transmitida por alimentos. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional U. Durango, Instituto Politécnico Nacional. México.
- Bolívar F., Carmona S y Escalante A. (2013). Efecto de la clonación del gen *zwf* sobre la producción de shikimato en la cepa de *Escherichia coli* PB12.SA22. *BioTecnología*. Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. 17 (3): 66. Disponible en: http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2013_3/clonacion_del_gen_zwf.pdf
- Caballero AE., Martino TK., Leyva V., Puig Y., *et al.* (2008). Temas de higiene de los alimentos. La Habana. Editorial Ciencias Médicas. 29-32.
- Cedillo JR., Cisneros T., Correa L., Fuentes F., *et al.* (2010). Bacterias en alimentos. *Concurso Universitario de las Ciencias, la Tecnología y la Innovación XVII*. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 10-16.
- Cortázar A y Silva E. (2004). Métodos físico-químicos en biotecnología: PCR. Instituto de Biotecnología, Universidad Autónoma de México. 17-22.
- Devlin T. (2006). Bioquímica. 4^a edición. Editorial Reverté España. 835.
- Hernández C., Aguilera MG y Castro G. (2011). Situación de las enfermedades gastrointestinales en México. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología*.

- Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica. 31 (4): 137-151. Disponible en: http://www.amimc.org.mx/revista/2011/31_4/situacion.pdf
- Janda M y Abbott S. (2007). 16S rRNA Sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: pluses, perils and pitfalls. *Journal of Clinical Microbiology*. 45 (9): 2761-2764. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2045242/>
- Jurado R., Arenas C., Doblaz A., Rivero A y Torre J. (2010). Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas. *Medicine*. 10 (52): 3497-3501.
- Lahoz R. (2004). *Bioinformática. Simulación, vida artificial e inteligencia artificial*. España. Ediciones Diaz de Santos. xxiv-xxvi y xxxi.
- Le Borgne S. (2005). Marcadores filogenéticos alternativos al gene 16S rDNA en estudios de diversidad bacteriana. *Instituto Mexicano del Petróleo. XI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería*.
- Lesk A. (2002). *Introduction to bioinformatics*. United Kingdom. Oxford University Press. 64.
- Madigan M., Martinko J., Parker J. (2003). *Brock Biology of microorganisms*. Southern Illinois University Carbondale. Prentice Hall Pearson Education. 10th Edition. 22, 24, 25, 330, 332, 335, 336, 341.
- Maiden M., Bygraves JA., Edward F., Morelli G., *et al.* (1998). Multilocus sequence typing: a portable approach to the identification of clones within populations of pathogenic microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. 95 (6): 3140-3145. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC19708/>
- Metzker M. (2010). Sequencing technologies the next generation. *Nature*. (11): 31-46.
- Montoya H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines*. 2^a Edición. Colombia. Editorial Universidad de Antioquia. 31-42
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). [En línea] Gene database. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene> [Último acceso: 2014 Abril 15].

- National Salmonella Reference Laboratory (NSRL) [En línea]. (2010). *Serotyping*. Disponible en: http://www.nuigalway.ie/salmonella_lab/serotyping.html [Último acceso: 2014 Marzo 01].
- Olive M y Bean P. (2009). Principles and applications of methods for DNA-based typing of microbial organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. 37(6):1661-1669.
- Petti A. (2007). Detection and identification of microorganisms by gene amplification and sequencing. *Clinical Infectious Diseases*. 44 (8): 1108-1114. Disponible en: <http://cid.oxfordjournals.org/content/44/8/1108.full.pdf+html>
- Picó Y. (2012). *Chemical Analysis of food: Techniques and applications*. USA. Elsevier. 430-432
- Roche AppliedScience® (2008). LightCycler® 480 System Performance Data.
- Roche AppliedScience® (2011). 454 Sequencing. emPCR LV GS FLX Method Manual.
- Roche AppliedScience® (2011). 454 Sequencing. Rapid Library Preparation GS FLX Method Manual.
- Roche AppliedScience® (2011). 454 Sequencing. Sequencing GS FLX Method Manual.
- Rodríguez R., Aguilar CN., Ayala LA., Padilla V., *et al.* (2009). Detección de microorganismos mediante métodos moleculares. *Acta Química Mexicana*. Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila. 1(1). Disponible en: <http://www.postgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/AQMmicroorganismos.html>
- Romero R. (2002). *Síndrome diarreico infeccioso*. 3ª edición. México. Editorial Médica Panamericana. 36-38.
- Rothberg J y Leamon J. (2008). The development and impact of 454 sequencing. *Nature*. 26 (10): 1117-1122.
- Sauer S., Freiwald A., Maier T., Kube M., *et al.* (2008). Classification and identification of bacteria by mass spectrometry and computational analysis.

- PLoS ONE*. 3(7): e2843. Disponible en <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0002843&representation=PDF> Secretaría de Salud, Secretaría de Salud (SSA), Dirección General de Epidemiología (DGE) y Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE). (2012). Enfermedad Diarreica Aguda. *Manual de procedimientos estandarizados para la vigilancia epidemiológica*. México. 1-21.
- Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE) [En línea]. (2009-2013). *Notificación semanal de los casos nuevos de enfermedad en México*. Disponible en: <http://www.sinave.gob.mx/> [Último acceso: 2014 Marzo 01].
- Tortora G., Funke B y Case C. (2013). *Microbiology. An introduction*. 11th Edition United States of America. Pearson Education. 272-274.
- Uribarren T. (2014). *Salmonellosis*. Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/salmonellosis.html>
- White R., Blainey P y Fan C. (2009). Digital PCR provides sensitive and absolute calibration for high throughput sequencing. *BioMed Central*.10:116.
- World Health Organization (WHO) [En línea]. (2013). *Salmonella*. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs139/en/> [Último acceso: 2014 Marzo 01].
- World Health Organization (WHO) [En línea]. (2014). *Foodborne Disease*. Disponible en: <http://www.who.int/topics/foodbornediseases/en/> [Último acceso: 2014 Febrero 15].

Apéndice.

Apéndice IA. Secuencias correspondientes al gen ARNr 16S para las muestras de bacterias *Salmonella*.

Muestra	Secuencia del gen ARNr 16S
<p>Salmonella 318</p>	<p>NNNNNNNATTACAGGTTGACTCTGAAACAGGAAAGCGTAATATACGCCACCTCGCGACGGTGAGAAAAAGCCAAGCGGCACTGCTCTT TAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACCTCGAAGATACGGATTCTTGACGTCCTCGGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCAAGAGTG AACACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATCTTTGAGCATCAAACCTTTAAATTTGAAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCA GGCCTAACACATGCAAGTGAACGGTAACAGGAAGCAGCTTGTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAAC TGCCATGATGGAGGGGGATAAATACTGAAACCGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTT GCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTTGTTGGTAGGTAACGGCTACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATTGAC CAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGACGAGTGGGGAATATTGCACAATGGCGGCAAGCCTGATGCGAG CCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTACGGGGGAGGAAGGTGTTGTGTTAATAACCGCAGCAATTGA CGTTACCCGAGAAAGCACCAGGCTAAGTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGGTTAATCGGAATTCGGAATTCAGGCT GTAAGCGCACGACGAGCGGCTGTCAAGTCCGATGTGAATCCCGGGGCTCAACCTGGGAATGCAATTCGAAACTGGCAGGCTTGAGT CTTGAGAGGGGGGTAGAATCCAGGTGACGGTGAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACAGCATGCTACTGGAG GTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCGGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGAGTAGCGGCGCAAGGTTAAAACCTCAATGAAT TGACGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAAGTT TCCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGGAAGTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGCTGCTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTC CCGCAACCGAGCGCAACCCCTTACCTTTGTTGCCAGCGGTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAAGTGGGAAAGGTTG GGGATGACGTCAGTCAATCATGAGCCCTTACGACACAGGCTACACACGCTGCTACAATGGCGCATACAAGAGAAAGCGACCTCGCGAGAG CAAGCGGACCTATAAAGTGCCTGATGTCGGATTGGAAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCCGAAATCGCTGAATCGTGGATCA GAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAGTAGGTAGCTTAAC CTTCGGGAGGGCGCTTACCACCTTTGATTGATGACTGGGTGAAGTCTGAACAGGTAACCGTAGGGAACTGCGGTTGGATCACC CTCTTACCTGAAAGAAGCGTACTTTGACGCTCACACAGATTGCTGATGAAAAGTGAATAGCAAGGCGCTTTCGATTGAGACTTCA GTGTCCTTCTGCTAGAGGCCAGGACACCGCCCTTACGGCGGTAACAGGGTTTCAATCCCTCAGGCCGACCCGATTCGCTC CCGTGCTTTGTTGGCAAAGCTCGCATACTTCAATGCTTCCGTTACCACGCGCGCCCGGAAACGAATC</p>
<p>Salmonella 375</p>	<p>NNNNNNNTAAACGCTTGACTCTGAAACGGGAAAGCGTAATATACGCCACCTCGCGACGCTGAGCAAAAAGCGAAGCGGCACTGCTCT TTAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACCTCGAAGATACGGATTCTTGACGTCGCAAGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCAAGAGT GAACACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATCTTTCAGGATCAAACCTTTAAATTTGAAGAGTTTGATCATGGCTGAGATTGAACGCTGGCGG AGGCTAACACATGCAAGTGAACGGTAACAGGAAGCAGCTTGTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAAC CTGCTGATGGAGGGGGATAAATACTGAAACCGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTT GCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTTGTTGGTAGGTAACGGCTACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATTGAC CAGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGACGAGTGGGGAATATTGCACAATGGCGGCAAGCCTGATGCGAG CCATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTACGGGGGAGGAAGGTGTTGTGTTAATAACCGCAGCAATTGA CGTTACCCGAGAAAGCACCAGGCTAAGTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGGTTAATCGGAATTCAGGCTTACTGGG GTAAGCGCACGACGAGCGGCTGTCAAGTCCGATGTGAATCCCGGGGCTCAACCTGGGAATGCAATTCGAAACTGGCAGGCTTGAGT CTTGAGAGGGGGGTAGAATCCAGGTGACGGTGAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGAC AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACAGCATGCTACTGGAG GTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCGGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGAGTAGCGGCGCAAGGTTAAAACCTCAATGAAT TGACGGGGGCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTT TTCAGAGATGGATTGTGCCTTCGGGAAACCGTGAACAGGCTGCTGCATGGCTGCTGCTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCC CGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTCGGCGGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAAGTGGAGGAAGGTTG GGGATGACGTCAGTCAATCATGAGCCCTTACGACACAGGCTACACACGCTGCTACAATGGCGCATACAAGAGAAAGCGACCTCGCGAGAG CAAGCGGACCTATAAAGTGCCTGATGTCGGATTGGAAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCCGAAATCGCTGAATCGTGGATCA GAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAGTAGGTAGCTTAAC CTTCGGGAGGGCGCTTACCACCTTTGATTGATGACTGGGTGAAGTCTGAACAGGTAACCGTAGGGAACTGCGGTTGGATCACC TCCTTACCTTAAAGAAGCGTACTTTGACGCTCACACAGATTGCTGATGAAAAGTGAATAGCAAGGCGCTTACAGGCTTGTAGCTCAC GTCGCTAGAGCGCACCCCTGATAAGGTTGAGGACAGGGTTCAATCCCTCAGGCCACCAATTTGCTCCGATGCTGTTGGTGTG AAAAAGCTCACATACTTAAATGATGCTTCCGATATACCACGCGGTGTCACAGAAAACGAATC</p>
<p>Salmonella 389</p>	<p>ACCGAAAAATAACGCTTGACTCTGAAAGCGGAAAGCGTAATATACCCACCTCGCGACGGTGAGCTAAAAGCCAAGCCGCACTGCTCTT AACAAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACCTCGAAGATACGGATTCTAACGTCCTCGGACGAAAAACGAATACCAAGTCTCTGAGTGA ACACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATTCACGAGCATCAAACCTTAAATTTGAAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAAGG CTAACACATGCAAGTGAACGGTAACAGGAAGCAGCTTGTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGTCTGGGAAACTGC CTGATGGAGGGGGATAAATACTGAAACCGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACCAAAGAGGGGGACCTTCGGGCCTCTTGCC ATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTGGTAGTGGGTAACGGCTACCTAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATTACCA GCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGCGCAAGCCTGATGCAAGCC ATGCCGCGTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAGTACTTTACGGGGGAGGAAGGTGTTGTGTTAATAACCGCAGCAATTGACG TTACCCGAGAAAGCACCAGGCTAAGTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGGTGAAGGTTAATCGGAATTCAGGCTTACTGGGCGT AAAGCGCACGAGCGGCTGTCAAGTCCGATGTGAATCCCGGGGCTCAACCTGGGAATGCAATTCGAAACTGGCAGGCTTGAGTCT TGTAGAGGGGGGTAGAATCCAGGTTAGCGGTGAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAA AGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACAGCATGCTACTTTGAGGCG TGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCGGGAGCTAACGCGTTAAGTAGACCGCCTGGGAGTAGCGGCGCAAGGTTAAAACCTCAATGAATTTG ACGGGGCCCCGACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGGTTCT CAGAGATGAGACTGTGCCTTCGGGAGCGTGAACAGGCTGCTGCATGGCTGCTGCTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCC GCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAAGTGGAGGAAGGTTG GGATGACGTCAGTCAATCATGAGCCCTTACGACACAGGCTACACACGCTGCTACAATGGCGCATACAAGAGAAAGCGACCTCGCGAGAG AAGCGGACCTATAAAGTGCCTGATGTCGGATTGGAAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCCGAAATCGCTGAATCGTGGATCAG AATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCGCCCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAGTAGGTAGCTTAAC CTTCGGGAGGGCGCTTACCACCTTTGATTGATGACTGGGTGAAGTCTGAACAGGTAACCGTAGGGAACTGCGGTTGGATCACC CTTACCTGAAAGAAGCGTACTTTGACGCTCACACAGATTGCTGATGAAAAGTGAATAGCAAGGCGCTTACAGGCTTGTAGCTCAC GTCGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGGTTGAGGACAGGGTTCAATCCCTCAGGCCACCAATTTGCTCCGATGCTGTTGGTGTG AAAGCTGCATACCTCAGTATGCTTCCGTTACCACGCGCGCCCGGAAACGAATC</p>

<p>Salmonella 384</p>	<p>ACCTGAAATTCAGGGTTGACTCTGAAAGAGGAAAGCGTAATATACGCCACCTCGCGACGGTGAGCTGAAAGCCGCGTGCACCTGCTC TTTAAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACTCGAAGATACGGATTCTTGACGTCGCAAGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCTGAGT GAACACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATTCACGAGCATCAAACTTTTAAATTTGAAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGC AGGCCTAACACATGCAAGTCAAGCGTAACAGGAAGCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGCTGGGAAA CTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACAAAGAGGGGGACCTTGGGGCCTCTT GCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTTGTTGGTAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGAC CAGCCACACTGGAAGTGAAGACCGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCGAG CCATGGCCGCTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGAAAAGTACTTTACGGGGGAGGAAGGTGTTGGTTAATAACCCGACGAAATGA CGTTACCCGCGAGAAGACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAAGGTGCAAGCGTTAATCGGAATTAAGTGGGC GTAAGCGCACGCGAGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTCGAAACTGGCAGGCTTGAAT CTTGTAGAGGGGGTGGAAATCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCCGTGGCGAAGGCGCCCTGGAC AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACACGATGCTACTTGGAG GTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAAT TGACGGGGGCGCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTGATGCAACCGCAAGAACTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAAGTT TTCAGAGATGAGAATGTGCCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTC CCGCAACGAGCGCAACCCCTTACCTTTGTTGCCAGCGATTAGGTGCGGAACTAAAGGAGACTGCCAGTGAATAACTGGAGGAAGGTG GGATGACGCTCAAGTCATCATGGCCCTTACGACAGGCTACACAGTGTCTACAATGGGCATACAAAGAGAAGCAGTACTCGCAGAG CAAGCGACCTCATAAAGTGGCTGTAGTCCGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTGGAAATCGTACTCGTGGATCA GAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCCTGTACACACCCGCCCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGAGTAGGTAGCTTAAC CTTCGGGAGGGCGCTTACCCTTTGTGATTGATCATGAGTGGGTTGAAGTCTGTAACAGGTAACCCGTAGGGGAACCTCGGGTTGGATCACC TCCTTACCTGAAAGAACCGTCTTTCGATGCTCACACAGATTGCTGATGAAAACGAGCAGTAAAACCTTACAGGCTTGTAGCTCAG GTGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGGGTGAGGTGCGGTGGTTCAAGTCCACTCAGGCTACCAAGATTCCGCTCCCTGCTTGTGGC AAAGCTGCGATACTCAGTATGCTTTGCTTCCACCACCGCCGCGCCGGAACGAATC</p>
<p>Salmonella Enteritidis</p>	<p>AGCGAAAATAAAGGCTTACTCTGAAAGAGGAAAGCGTAATATACGCCACCTCGCGACGGTGAGCTGAAAGCCGCGTGCACCTGCTC TTAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACTCGAAGATACGGATTCTTAAAGTCTCGGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCAAGAGT GAACACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATCTTTGAGCATCAAACTTTTAAATTTGAAGAGTTTGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGC AGGCCTAACACATGCAAGTCAAGCGTAACAGGAAGCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGCTGGGAAA CTGCCTGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAACGGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACAAAGAGGGGGACCTTGGGGCCTCTT GCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTGTGGTAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGAC CAGCCACACTGGAACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGACGAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCCTGATGCGAG CCATGCCCGCTGTATGAAGAAGGCCTTCGGGTTGAAAAGTACTTTACGGGGGAGGAAGGTGTTGGTTAATAACCCGACGAAATGA CGTTACCCGCGAGAAGACCCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGGAGGGTGAAGCGTTAATCGGAAATTAAGTGGGC GTAAGCGCACGCGAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCGGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTGCAAACTGGCAGGCTTGAAT CTTGTAGAGGGGGTGAATCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCCGTGGCGAAGGCGCCCTGGAC AAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCTGGTAGTCCACGCCGTAACACGATGCTACTTGGAG GTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAAT TGACGGGGGCGCCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACTTACCTGGTCTTGACATCCACAGAAGAA TCCAGAGATGGATTTGTCCCTTCGGGAAGTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGTCTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCC CGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCGGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGAATAACTGGAGGAAGGTGG GGATGACGTCGAAGTCATCATGGCCCTTACGACAGGCGTACACAGTGTCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCAGAGC AAGCGGACCTCATAAAGTCCGTGATGTCGGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAAGTGGAAATCGCTTAATCGTGGATCAG AATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGCTTGTACACACCGCCGTCACACCATGGAGTGGGTTGCAAAAGAGTAGGTAGCTTAACCT TTCGGGAGGGCGCTTACCCTTTGTGATTGATGACTGGGGTGAAGTGTGAAAGGTAACCGTAGGGGAACTCGGGTTGGATCAGCT CCTTACCTTAAAGAAGCGTACTTTGCAAGTGTACACAGATTGCTGATGAAAACGAGCAGTAAAACCTTACAGGCTTGTAGCTCAGG TGGTTAGAGCGCACCCCTGATAAGGGTGAGGTGCGGTGGTTCAATCCACTCAGGCTACCAAAATTTCCCTGAAATACTGCGTTGTGAAA TAACTCACATACTGATGATGCTTTCGTTATCCACGCTTGTCTCAGGAAAAATATC</p>

Apéndice IB. Alineamientos del gen ARNr 16S.

Muestra *Salmonella* 318.

<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium.			
Query	8	ATTCAGGGTTGACTCTGAAAACAGGAAAGCGTAATATACGCCACCTCGCGACGGTGAG-AA	66
Sbjct	3572227	ATTCAGGGTTGACTCTGAAAAGGAAAGCGTAATATACGCCACCTCGCGACGGTGAGCTG	3572168
Query	67	AAAGCCAAAGCGGCA-CTGCTCTTTAAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACTCGAAG	125
Sbjct	3572167	CAAGCCGCGTCGCACTGCTCTTTAAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACTCGAAG	3572108
Query	126	ATACGGATTCTTGACGTCTCGGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCAAGAGTGAACACGT	185
Sbjct	3572107	ATACGGATTCTTAACGTCTAGGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCAAGAGTGAACACGT	3572048
Query	186	AATTCATTACGAAGTTTAAATCTTTGAGCATCAAATCTTTAAATTAAGAGGTTTGATCAI	245
Sbjct	3572047	AATTCATTACGAAGTTTAAATCTTTGAGCATCAAATCTTTAAATTAAGAGGTTTGATCAI	3571988
Query	246	GGCTCAGATTGAAOGCTGGCGGACGGCTAACACATGCAAGTGCAGCGTAAACGGAAAGC	305
Sbjct	3571987	GGCTCAGATTGAAOGCTGGCGGACGGCTAACACATGCAAGTGCAGCGTAAACGGAAAGC	3571928
Query	306	AGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAATAATGTCTGGGAAACTGCCTGAT	365
Sbjct	3571927	AGCTTGCTGCTTCGCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAATAATGTCTGGGAAACTGCCTGAT	3571868
Query	366	GGAGGGGATAACTACTGGAAAACGGTGGCTAATACCGCATAACCTCGCAAGACCAAGAG	425
Sbjct	3571867	GGAGGGGATAACTACTGGAAAACGGTGGCTAATACCGCATAACCTCGCAAGACCAAGAG	3571808
Query	426	GGGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTGTGGTGAGG	485
Sbjct	3571807	GGGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTTGTGGTGAGG	3571748
Query	486	TAAACGGCTACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAAGCCACTGGA	545
Sbjct	3571747	TAAACGGCTACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAAGCCACTGGA	3571688
Query	546	ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGAGGACGAGTGGGAAATATTGCAAAATGGGCG	605
Sbjct	3571687	ACTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGAGGACGAGTGGGAAATATTGCAAAATGGGCG	3571628
Query	606	CAAGCCTGATGCAAGCCTATGCCGCTGTATGAAAGAGGCTTCGGGTTGTAAGTACTTTTC	665
Sbjct	3571627	CAAGCCTGATGCAAGCCTATGCCGCTGTATGAAAGAGGCTTCGGGTTGTAAGTACTTTTC	3571568
Query	666	AGCGGGAGGAAAGTGTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTACCCCGCAGAAAG	725
Sbjct	3571567	AGCGGGAGGAAAGTGTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTACCCCGCAGAAAG	3571508
Query	726	CAACCGCTAACTCCGTCGCCAGCAGCCCGGTAAACGAGGGGTGCAAGCGTTAATCGGAA	785
Sbjct	3571507	CAACCGCTAACTCCGTCGCCAGCAGCCCGGTAAACGAGGGGTGCAAGCGTTAATCGGAA	3571448
Query	786	TTACTGGGCGTAAAGCGCACGACGGCGGTCTGTCAAATCGGATGTGAAATCCCGGGCTC	845
Sbjct	3571447	TTACTGGGCGTAAAGCGCACGACGGCGGTCTGTCAAATCGGATGTGAAATCCCGGGCTC	3571388
Query	846	AACTGGGAACTGCATTGAAAACGGCAGGCTTGAGTCTTTAGAGGGGGGTAGAAATCC	905
Sbjct	3571387	AACTGGGAACTGCATTGAAAACGGCAGGCTTGAGTCTTTAGAGGGGGGTAGAAATCC	3571328
Query	906	AGGTGTAGCGGTGAAATGCCTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGCGGGCCCT	965
Sbjct	3571327	AGGTGTAGCGGTGAAATGCCTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGCGGGCCCT	3571268
Query	966	GGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGG	1025
Sbjct	3571267	GGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACCCCTGG	3571208
Query	1026	TAGTCCACGCGCTAAACGATGTCTACTTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTCCGGA	1085
Sbjct	3571207	TAGTCCACGCGCTAAACGATGTCTACTTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTCCGGA	3571148
Query	1086	GCTAACGCGTTAAGTAGACCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAAT	1145
Sbjct	3571147	GCTAACGCGTTAAGTAGACCCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAACCTCAAATGAAT	3571088
Query	1146	TGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGATGCAACGCAAGAAC	1205
Sbjct	3571087	TGACGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGATGCAACGCAAGAAC	3571028
Query	1206	TTACTGGTCTTGACATCCACAGAACTTCCAGAGATGGAAT-GTGCCTTCGGGAACTG	1264
Sbjct	3571027	TTACTGGTCTTGACATCCACAGAACTTCCAGAGATG-GATTGGTGCCTTCGGGAACTG	3570969
Query	1265	TGAGACAGGTGCTGCAATGGCTGTCTGAGCTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCG	1324
Sbjct	3570968	TGAGACAGGTGCTGCAATGGCTGTCTGAGCTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCG	3570909
Query	1325	CAACGAGCGCAACCCCTATCCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACT	1384
Sbjct	3570908	CAACGAGCGCAACCCCTATCCCTTTGTTGCCAGCGGTTAGGTCGGGAACTCAAAGGAGACT	3570849
Query	1385	GCCAGTGAATAACTGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAGTCAATCATGAGCCCTTACGACCA	1444
Sbjct	3570848	GCCAGTGAATAACTGGAGGAAGTGGGGATGACGTCAAGTCAATCATGAGCCCTTACGACCA	3570789
Query	1445	GGCTACACAGTGTCTACAATGGCGCATAACAAGAGAAAGCGACCTCGCGAGACCAAGCGG	1504
Sbjct	3570788	GGCTACACAGTGTCTACAATGGCGCATAACAAGAGAAAGCGACCTCGCGAGACCAAGCGG	3570729
Query	1505	ACCTCATAAAGTGCCTGTAAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCCGA	1564
Sbjct	3570728	ACCTCATAAAGTGCCTGTAAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTCCGA	3570669
Query	1565	ATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACAC	1624
Sbjct	3570668	ATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACACAC	3570609
Query	1625	CGCCCGTCAACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGTAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGG	1684
Sbjct	3570608	CGCCCGTCAACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGTAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGG	3570549
Query	1685	CGCTTACCACTTTGTGATTCAATGACTGGGGTGAAGTCTAACAGGTAAACGTAAGGGAA	1744
Sbjct	3570548	CGCTTACCACTTTGTGATTCAATGACTGGGGTGAAGTCTAACAGGTAAACGTAAGGGAA	3570489
Query	1745	CCTGCGGTTGGATCACTCCTTACCTGAAAAGAGCGTACTTTGCAATGCTCACACAGATT	1804
Sbjct	3570488	CCTGCGGTTGGATCACTCCTTACCTTAAAAGAGCGTACTTTGCAATGCTCACACAGATT	3570429
Query	1805	GTCTGATGAAAAGTGAATAGCAAGGCGTCTTGCAGTTGAGACTTCAGTGTCCCTTCGTC	1864
Sbjct	3570428	GTCTGATGAAAAGTGAATAGCAAGGCGTCTTGCAGTTGAGACTTCAGTGTCCCTTCGTC	3570369
Query	1865	TAGAGGCCAGGACACCGCCCTTTCACGGCGGTAAACGGGGTTGCAATCCCTCAGG	1921
Sbjct	3570368	TAGAGGCCAGGACACCGCCCTTTCACGGCGGTAAACGGGGTTGCAATCCCTCAGG	3570313

Muestra *Salmonella* 375.

<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi A.			
Query 9	TAAACGCTTGACTCTGAAACGGGAAGCCTAATATACGC-CACCTCGCGACGCTGAGCAA	67	
Sbjct 4124664	TAAACGCTTGACTCTGAAACGGGAAGCCTAATAT--GCACACCCCGCGCCGCTGAG-AA	4124720	
Query 68	AAAGCGAAGCGGCACCTGCTCTTTAAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGCCACTCGAAGA	127	
Sbjct 4124721	AAAGCGAAGCGGCACCTGCTCTTTAAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGCCACTCGAAGA	4124780	
Query 128	TAACGATTCCTGACGTCGCAAGACGAAAATGAATACCAAGTCTCAGAGAGTGAACACGTA	187	
Sbjct 4124781	TAACGATTCCTGACGTCGCAAGACGAAAATGAATACCAAGTCTCAGAGAGTGAACACGTA	4124840	
Query 188	ATTCAATACGAAGTTTAAATTCATTGAGCATCAAACTTTTAAATTAAGAGATTGATCATG	247	
Sbjct 4124841	ATTCAATACGAAGTTTAAATTCATTGAGCATCAAACTTTTAAATTAAGAGATTGATCATG	4124900	
Query 248	GCTCAGATTGAACGCTGGCGCAGGCTAACACATGCAAGTGCAGACGTAACAGGAAACA	307	
Sbjct 4124901	GCTCAGATTGAACGCTGGCGCAGGCTAACACATGCAAGTGCAGACGTAACAGGAAACA	4124960	
Query 308	GCTTGTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGAGGCGGAGTAAATGCTGGGAAACTGCTGATG	367	
Sbjct 4124961	GCTTGTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGAGGCGGAGTAAATGCTGGGAAACTGCTGATG	4125020	
Query 368	GAGGGGGATAACTACTGGAACCGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACAAAGAGG	427	
Sbjct 4125021	GAGGGGGATAACTACTGGAACCGTGGCTAATACCGCATAACGTCGCAAGACAAAGAGG	4125080	
Query 428	GGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATAGCTTGTGGTGGG	487	
Sbjct 4125081	GGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATAGCTTGTGGTGGG	4125140	
Query 488	AAAGGCTCACCAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACACGACACACTGGAA	547	
Sbjct 4125141	AAAGGCTCACCAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACACGACACACTGGAA	4125200	
Query 548	CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGACGATGGGAAATATTGCACAATGGGCGC	607	
Sbjct 4125201	CTGAGACACGGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGACGATGGGAAATATTGCACAATGGGCGC	4125260	
Query 608	AAAGCTGATGCAAGCCTAGCCGCTGTATGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCA	667	
Sbjct 4125261	AAAGCTGATGCAAGCCTAGCCGCTGTATGAAGAAGGCTTCGGGTTGTAAAGTACTTTCA	4125320	
Query 668	GCAGGGAGGAAGGTGTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGACAGAAGAAGC	727	
Sbjct 4125321	GCAGGGAGGAAGGTGTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGACAGAAGAAGC	4125380	
Query 728	ACCAGCTAATCCGTCGACGACCCGCGTAAATACGGAGGTTGCAAGCGTTAATCGGAAT	787	
Sbjct 4125381	ACCAGCTAATCCGTCGACGACCCGCGTAAATACGGAGGTTGCAAGCGTTAATCGGAAT	4125440	
Query 788	TACTGGGCTAAAGCGCACGACGCGGCTGTCTCAAGTCGATGTGAAATCCCCGGGCTCA	847	
Sbjct 4125441	TACTGGGCTAAAGCGCACGACGCGGCTGTCTCAAGTCGATGTGAAATCCCCGGGCTCA	4125500	
Query 848	ACCTGGGAATGCATTGAAAATGGCAGGCTTGAATCTTGTAGAGGGGGGTAGAAATCCA	907	
Sbjct 4125501	ACCTGGGAATGCATTGAAAATGGCAGGCTTGAATCTTGTAGAGGGGGGTAGAAATCCA	4125560	
Query 908	GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGAAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTG	967	
Sbjct 4125561	GGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGAAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTG	4125620	
Query 968	GACAAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTTGGT	1027	
Sbjct 4125621	GACAAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAGCGTGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCTTGGT	4125680	
Query 1028	AGTCCACGCGCTAAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAG	1087	
Sbjct 4125681	AGTCCACGCGCTAAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAG	4125740	
Query 1088	CTAACGCGTTAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGCCGACAGGTTAAAACCTCAAATGAATT	1147	
Sbjct 4125741	CTAACGCGTTAAGTAGACCGCTGGGGAGTACGGCCGACAA-GTTAAAACCTCAAATGAATT	4125799	
Query 1148	GACGGGGCCCGCCACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGATGCAACGCGAAGAACT	1207	
Sbjct 4125800	GACGGGGCCCGCCACAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATCGATGCAACGCGAAGAACT	4125859	
Query 1208	TACTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATG-GATTGTGCCCTCGGGAAACCGTG	1266	
Sbjct 4125860	TACTGGTCTTGACATCCACGGAAGTTTTTCAGAGATGAGAAATGTGCCCTCGGGAAACCGTG	4125919	
Query 1267	AGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTGAGTCTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCA	1326	
Sbjct 4125920	AGACAGGTGCTGCATGGCTGTCTGCTGAGTCTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCA	4125979	
Query 1327	ACGAGGCGAACCCCTTATCCTTTGTTGCGCAGCGGTCCGGCCGGAACTCAAAGGAGATGC	1386	
Sbjct 4125980	ACGAGGCGAACCCCTTATCCTTTGTTGCGCAGCGGTCCGGCCGGAACTCAAAGGAGATGC	4126039	
Query 1387	CAGTGATAAATCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCAATCATGAGGCTTACGACAGG	1446	
Sbjct 4126040	CAGTGATAAATCGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAGTCAATCATGAGGCTTACGACAGG	4126099	
Query 1447	GCTACACACGCTGCTACAATGGCCCATACAAGAGAGCGCACTCCGAGAGCAACCGGAC	1506	
Sbjct 4126100	GCTACACACGCTGCTACAATGGCCCATACAAGAGAGCGCACTCCGAGAGCAACCGGAC	4126159	
Query 1507	CTCATAAAGTGGCTGATGTCGGGATGGGATCTGCAACTCGACTCCATGAAATCGGAAT	1566	
Sbjct 4126160	CTCATAAAGTGGCTGATGTCGGGATGGGATCTGCAACTCGACTCCATGAAATCGGAAT	4126219	
Query 1567	CGCTAGTAAATCGTGGATCAGAAATGCCAGGTAATAAGTTCGCCGGGCTTGTACACACCG	1626	
Sbjct 4126220	CGCTAGTAAATCGTGGATCAGAAATGCCAGGTAATAAGTTCGCCGGGCTTGTACACACCG	4126279	
Query 1627	CCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGATAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGGGCG	1686	
Sbjct 4126280	CCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGATAGGTAGCTTAACTTCGGGAGGGGCG	4126339	
Query 1687	CTTACCACCTTTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTGTAAACAGGTAACCGTAGGGGAACC	1746	
Sbjct 4126340	CTTACCACCTTTGTGATTCATGACTGGGGTGAAGTGTAAACAGGTAACCGTAGGGGAACC	4126399	
Query 1747	TGCGGTTGGATCACTCCTTACCTTAAAGAAGCGTACTTTGCAAGTGTACACAGATTGT	1806	
Sbjct 4126400	TGCGGTTGGATCACTCCTTACCTTAAAGAAGCGTACTTTGCAAGTGTACACAGATTGT	4126459	
Query 1807	CTGATGAAAAGTGAATAGCAAGGCTCTACAGGCTTGTAGTCTCACGCTCTAGAGCGCA	1866	
Sbjct 4126460	CTGATGAAAAGTGAATAGCAAGGCTCTACAGGCTTGTAGTCTCACGCTCTAGAGCGCA	4126518	
Query 1867	CCCTGATAAGGGTGAAGCAGGGGTTGGAATCCCTCAGGCTACCAAATTTGCTCCCG	1926	
Sbjct 4126519	CCCTGATAAGGGTGAAGCAGGGGTTGGAATCCCTCAGGCTACCAAATTTGCTCCCG	4126578	
Query 1927	ATGCTGTGTTGTAAGAAAGCTCACATACTTAAATGATGCTTCGATATACCAAGCGGTGTCA	1986	
Sbjct 4126579	-TGCTTGTGTTGTAAGAAAGCTCACATACTTAAATGATGCTTCGATATACCAAGCGGTGTCA	4126636	
Query 1987	CAGAAAACGAAATC 1999		
Sbjct 4126637	CGAAA-CGAAATC 4126648		

Muestra *Salmonella* 389.

<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi A.			
Query 3	CGAAAATAAACGCTTGACTCTGAAGCGGGAAAGCGTAATATAC--CCACTCTCGCGACGGTG	61	
Sbjct 3974065	CGAAAATAAACGCTTGACTCTGAAGCGGGAAAGCGTAATATACGCCACTCTCGCAACGGTG	3974124	
Query 62	AGCTAAAAGCCAAAGCCGCACTGCTCTTTAACAAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACCTC	121	
Sbjct 3974125	AGC-GAAAGCCGCGTTGCACCTGCTCTTTAACAAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCACCTC	3974183	
Query 122	GAAGATACGGATTCTTAACGCTCTCGAGCAGAAAAAGAAATACCGAGTCTC-TGAGTGAAC	180	
Sbjct 3974184	GAAGATACGGCTTCTTAACGCTCGCAAGCAGAAAAAGAAATACCAAGTCTCAAGAGTGAAC	3974243	
Query 181	ACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATCA-CGAGCATCAAC--TTAAATTTGAAGATTGGA	237	
Sbjct 3974244	ACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATTCATTGAGCATCAACCTTTTAAATTTGAAGATTGGA	3974303	
Query 238	TCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAAACGG	297	
Sbjct 3974304	TCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGCAGGCTAACACATGCAAGTCGAACGGTAAACGG	3974363	
Query 298	AAGCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGCAGGCTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCC	357	
Sbjct 3974364	AAGCAGCTTGCTGCTTTGCTGACGAGTGGCGGCAGGCTGAGTAATGTCTGGGAAACTGCC	3974423	
Query 358	TGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAAAGCGTGGCTAATACCGCATACAGTTCGCAAGACCAA	417	
Sbjct 3974424	TGATGGAGGGGGATAACTACTGGAAAAGCGTGGCTAATACCGCATACAGTTCGCAAGACCAA	3974483	
Query 418	AGAGGGGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTGGTAGGT	477	
Sbjct 3974484	AGAGGGGGACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATTAGCTGGTAGGT	3974543	
Query 478	GGGGTAACGGCTCACCTAGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAAGCCACAC	537	
Sbjct 3974544	GAGGTAACGGCTCACCAAGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAAGCCACAC	3974603	
Query 538	TGGAACTGAGACACGCTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGCACAATG	597	
Sbjct 3974604	TGGAACTGAGACACGCTCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGCACAATG	3974663	
Query 598	GGCGCAAGCCTGATGCAAGCCTGCGCGCTGTATGAAAGAGGCGCTTCGGGTTGTAAAGTAC	657	
Sbjct 3974664	GGCGCAAGCCTGATGCAAGCCTGCGCGCTGTATGAAAGAGGCGCTTCGGGTTGTAAAGTAC	3974723	
Query 658	TTTCAGCGGGGAGGAAGTGTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGACGAA	717	
Sbjct 3974724	TTTCAGCGGGGAGGAAGTGTGTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGACGAA	3974783	
Query 718	GAAACACCGGCTAACTCCGTCGCCAGCAGCCCGGTAAATACGGAGGGTGCACAGCGTTAATC	777	
Sbjct 3974784	GAAACACCGGCTAACTCCGTCGCCAGCAGCCCGGTAAATACGGAGGGTGCACAGCGTTAATC	3974843	
Query 778	GGAACTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAAGCCGCTGTCTCAAGTGGGATGTGAATCCCCGG	837	
Sbjct 3974844	GGAACTACTGGGCGTAAAGCGCACGCAAGCCGCTGTCTCAAGTGGGATGTGAATCCCCGG	3974903	
Query 838	GCTCAACCTGGGAAGTGCATTCGAAACTGGCAGGCTTGGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAA	897	
Sbjct 3974904	GCTCAACCTGGGAAGTGCATTCGAAACTGGCAGGCTTGGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAA	3974963	
Query 898	TTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGCGCGCC	957	
Sbjct 3974964	TTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGCGCGCC	3975023	
Query 958	CCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACC	1017	
Sbjct 3975024	CCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATACC	3975083	
Query 1018	CTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAGGCTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTC	1077	
Sbjct 3975084	CTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAGGCTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTC	3975143	
Query 1078	CGAGCTAACGGGTTAAGTAGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAATCAAAAT	1137	
Sbjct 3975144	CGAGCTAACGGGTTAAGTAGACCCGCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAATCAAAAT	3975203	
Query 1138	GAAATGACGGGGGCCCCGACAGCGGTTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAG	1197	
Sbjct 3975204	GAAATGACGGGGGCCCCGACAGCGGTTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAG	3975263	
Query 1198	AACCTTACTGGCTTGACATCCACGGAAAGTCTCAGAGATGGAGTGTGCCCTGGGGAG	1257	
Sbjct 3975264	AACCTTACTGGCTTGACATCCACGGAAAGTCTCAGAGATGGAGTGTGCCCTGGGGAG	3975323	
Query 1258	CCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGTGAAATTTGGGTTAAGTC	1317	
Sbjct 3975324	CCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGCTCAGCTCGTGTGTGAAATTTGGGTTAAGTC	3975383	
Query 1318	CCGCAACGAGCGCAACCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCGGCCGGGAACTCAAAGGAG	1377	
Sbjct 3975384	CCGCAACGAGCGCAACCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCGGCCGGGAACTCAAAGGAG	3975443	
Query 1378	ACTGCCAGTGATAAACTGGAGAAAGTGGGGATGACGTCAGTCAATGCGCCCTTACGA	1437	
Sbjct 3975444	ACTGCCAGTGATAAACTGGAGAAAGTGGGGATGACGTCAGTCAATGCGCCCTTACGA	3975503	
Query 1438	CCAGGGCTACACAGCTGCTCAATGGCGCATACAAAGAGAGCGGACTCGCGAGAGCAG	1497	
Sbjct 3975504	CCAGGGCTACACAGCTGCTCAATGGCGCATACAAAGAGAGCGGACTCGCGAGAGCAG	3975563	
Query 1498	CGGAACCTATAAAGTGGCTGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTC	1557	
Sbjct 3975564	CGGAACCTATAAAGTGGCTGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCCATGAAGTC	3975623	
Query 1558	GGAAATCGTAGTAATCGTGGATCAGAAATGCCAGGTTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACA	1617	
Sbjct 3975624	GGAAATCGTAGTAATCGTGGATCAGAAATGCCAGGTTGAATACGTTCCCGGGCTTGTACA	3975683	
Query 1618	CACCGCCCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGATAGGTAGCTTAACTTGGGGA	1677	
Sbjct 3975684	CACCGCCCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAAGATAGGTAGCTTAACTTGGGGA	3975743	
Query 1678	GGGCGCTTACCACCTTTGTGATTCACTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAGGTAAACGTAAGG	1737	
Sbjct 3975744	GGGCGCTTACCACCTTTGTGATTCACTGACTGGGGTGAAGTCGTAACAGGTAAACGTAAGG	3975803	
Query 1738	GAACTCGGGTTGGATCACTCTTACTGAAAGAACCTGCCTTTGTAGTGTCCACACAG	1797	
Sbjct 3975804	GAACTCGGGTTGGATCACTCTTACTGAAAGAACCTGCCTTTGTAGTGTCCACACAG	3975863	
Query 1798	ATTGCTGATAGATATA-GAGAGCAGGGCGCTCAGGCTTGTAGCTCAGGCTTAGA	1856	
Sbjct 3975864	ATTGCTGAT -GAAAAAGCAGCAGTAAACCTCTACAGGCTTGTAGCTCAGGCTTAGA	3975922	
Query 1857	GCGCACCCCTGATAAGGGTGAAGTGGTGGTTCAGTCCACTCAGGCTACCAAAATTCGC	1916	
Sbjct 3975923	GCGCACCCCTGATAAGGGTGAAGTGGTGGTTCAGTCCACTCAGGCTACCAAAATTCGC	3975982	
Query 1917	TCCCGTCTTTGTGTGGCAAAGCTCGCATACCTCAGTATGCTTGCCTCACCAGCGCCG	1976	
Sbjct 3975983	TCCCGTCTTTGTGTGGCAAAGCTCGCATACCTCAGTATGCTTGCCTCACCAGCGCCG	3976042	
Query 1977	GCCCGAAAACGAAAT 1990		
Sbjct 3976043	GCCCGAAAACGAAAT 3976056		

Muestra *Salmonella* 384.

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Paratyphi A.

Query 2	CCTGAAATTCAGGTTGACTCTGAAAGAGGAAAGCGTAATATACGCCAACCCTCGCGAOGST	61	Query 1020	CCCTGGTATCCACGCCGTAACAGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCT	1079
Sbjct 293095	CCTGAAATTCAGGTTGACTCTGAAAGAGGAAAGCGTAATATACGCCAACCCTCGCGAOGAT	293154	Sbjct 294115	CCCTGGTATCCACGCCGTAACAGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCT	294174
Query 62	GGCTGAAAGCCGCGTGCACCTGCTCTTTAAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCGAC	121	Query 1080	TCCGGAGCTAACCGGTTAAGTAGACCCGCTGGGGAGTAGCGCCGCAAGGTTAAAATCTCAA	1139
Sbjct 293155	GGCTGAAAGCCGCGTGCACCTGCTCTTTAAACAATTTATCAGACAATCTGTGTGGGCGAC	293214	Sbjct 294175	TCCGGAGCTAACCGGTTAAGTAGACCCGCTGGGGAGTAGCGCCGCAAGGTTAAAATCTCAA	294234
Query 122	TGAGATACGGATTCTTGACGTCGCAAGACGAAAAATGAATACCAAGTCTC-TGAGTGA	180	Query 1140	ATGAATTGACGGGGGCCCCGACAGCGGTGGAGCATGTGGTTAAATTCGATGCAACCGCA	1199
Sbjct 293215	TGAGATACGGATTCTTGACGTCGCAAGACGAAAAATGAATACCAAGTCTC-CAAGAGTGA	293274	Sbjct 294235	ATGAATTGACGGGGGCCCCGACAGCGGTGGAGCATGTGGTTAAATTCGATGCAACCGCA	294294
Query 181	ACACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATTC-ACGAGCATCAAACTTTTAAATGGAAGGTTT	239	Query 1200	AGAACCTTAACTGGCTTGCATCCACGGAATTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGG	1259
Sbjct 293275	ACACGTAATTCATTACGAAGTTTAAATTC-ACGAGCATCAAACTTTTAAATGGAAGGTTT	293334	Sbjct 294295	AGAACCTTAACTGGCTTGCATCCACGGAATTTTCAGAGATGAGAATGTGCCTTCGGG	294354
Query 240	GATCATGGCTCAGATTGAAAGCTGGCGGCGAGGCTTAACACATGCAAGTCGAAAGGTAACA	299	Query 1260	AACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAG	1319
Sbjct 293335	GATCATGGCTCAGATTGAAAGCTGGCGGCGAGGCTTAACACATGCAAGTCGAAAGGTAACA	293394	Sbjct 294355	AACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAG	294414
Query 300	GGAGACAGCTTCTGCTTTTCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGCTCGGGAAACTG	359	Query 1320	TCCCSCAAGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGATTAGGTCGGGAATCAAAGG	1379
Sbjct 293395	GGAGACAGCTTCTGCTTTTCTGACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAATGCTCGGGAAACTG	293454	Sbjct 294415	TCCCSCAAGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGATTAGGTCGGGAATCAAAGG	294474
Query 360	CCTGATGGAGGGGATAACTACTGAAACCGTGGCTAATACCGCATAAAGTCGCAAGACC	419	Query 1380	AGACTGCCAGTGAATAACTGGAGGAGGTGGGGATGACCTCAAGTCAATCATGGCCCTTAC	1439
Sbjct 293455	CCTGATGGAGGGGATAACTACTGAAACCGTGGCTAATACCGCATAAAGTCGCAAGACC	293514	Sbjct 294475	AGACTGCCAGTGAATAACTGGAGGAGGTGGGGATGACCTCAAGTCAATCATGGCCCTTAC	294534
Query 420	AAAAGGGGGACCTTCGGGCTCTTGCACATCAGATGTGCCAGATGGGATAGCTTGTG	479	Query 1440	GACACGGGCTACACAGTGTCAATGGCGCATACAAAGAGAGCGACTCGCGAGAGCA	1499
Sbjct 293515	AAAAGGGGGACCTTCGGGCTCTTGCACATCAGATGTGCCAGATGGGATAGCTTGTG	293574	Sbjct 294535	GACACGGGCTACACAGTGTCAATGGCGCATACAAAGAGAGCGACTCGCGAGAGCA	294594
Query 480	GTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACACGGCC	539	Query 1500	AGCGGAACCTCAATAAGTGGCTGATGTCGGGATTGGAGTCTGCAACTGCACTCCATGAAG	1559
Sbjct 293575	GTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACACGGCC	293634	Sbjct 294595	AGCGGAACCTCAATAAGTGGCTGATGTCGGGATTGGAGTCTGCAACTGCACTCCATGAAG	294654
Query 540	ACTGGAATCAGACAGGTCAGACTCTTACCGGAGGCGACAGTGGGGAAATATTGCAAA	599	Query 1560	TGGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAAATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGT	1619
Sbjct 293635	ACTGGAATCAGACAGGTCAGACTCTTACCGGAGGCGACAGTGGGGAAATATTGCAAA	293694	Sbjct 294655	TGGGAATCGCTAGTAATCGTGGATCAGAAATGCCAGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGT	294714
Query 600	TGGGCGAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGCCCTTCGGGTTGTAAGT	659	Query 1620	CACACCCCGCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAGTAGGTAGCTTAACCTTCGG	1679
Sbjct 293695	TGGGCGAAGCCTGATGCAGCCATGCCGCGTGTATGAAGAAGCCCTTCGGGTTGTAAGT	293754	Sbjct 294715	CACACCCCGCTCACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAGTAGGTAGCTTAACCTTCGG	294774
Query 660	ACTTTCAGCGGGGAGGAGGTTGTTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCGAG	719	Query 1680	GAGGGCGCTTACCCTTTGTGATTGATGACTGGGTTGAAGTCTGAACAGGTAACCGTAG	1739
Sbjct 293755	ACTTTCAGCGGGGAGGAGGTTGTTGGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCGAG	293814	Sbjct 294775	GAGGGCGCTTACCCTTTGTGATTGATGACTGGGTTGAAGTCTGAACAGGTAACCGTAG	294834
Query 720	AAAAGCACCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGATGCAAGCGTTAA	779	Query 1740	GGGAACCTGCGGTTGGATCACTCCTTACCTGAAGAAGCGGCTTTGCAAGTGTCCACAC	1799
Sbjct 293815	AAAAGCACCCGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGATGCAAGCGTTAA	293874	Sbjct 294835	GGGAACCTGCGGTTGGATCACTCCTTACCTGAAGAAGCGGCTTTGCAAGTGTCCACAC	294894
Query 780	TGGAATTAATCGGCGTAAAGCGCACGCGCGGCTGTCTCAAGTCGGATGTGAAATCCCC	839	Query 1800	AGATTGTCTGATGAAAAACGAGCAGTAAAACCTCTACAGGCTTGTAGCTCAGGTGGTTAG	1859
Sbjct 293875	TGGAATTAATCGGCGTAAAGCGCACGCGCGGCTGTCTCAAGTCGGATGTGAAATCCCC	293934	Sbjct 294895	AGATTGTCTGATGAAAAACGAGCAGTAAAACCTCTACAGGCTTGTAGCTCAGGTGGTTAG	294954
Query 840	GGGCTCAACTGGGAACTGCAATTGAAAATGGCAGGCTTGAGTCTTGTAGAGGGGGGTGG	899	Query 1860	AGCGCAACCCCTGATAGGGTGGGTCGGTGGTTCAAGTCCACTCAGGCTACCAGATTCC	1919
Sbjct 293935	GGGCTCAACTGGGAACTGCAATTGAAAATGGCAGGCTTGAGTCTTGTAGAGGGGGGTGG	293994	Sbjct 294955	AGCGCAACCCCTGATAGGGTGGGTCGGTGGTTCAAGTCCACTCAGGCTACCAGATTCC	295014
Query 900	AATTCAGGTTGATCGGTAAGATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGCGCG	959	Query 1920	CTCCCGTCTTTGTTGGCAAGCTCGCATACTTCAATGCTTTGCTTACACAGCGCG	1979
Sbjct 293995	AATTCAGGTTGATCGGTAAGATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGCGCG	294054	Sbjct 295015	CTCCCGTCTTTGTTGGCAAGCTCGCATACTTCAATGCTTTGCTTACACAGCGCG	295074
Query 960	CCCCGTGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATA	1019	Query 1980	CGCCCGAAACGAATC 1995	
Sbjct 294055	CCCCGTGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAACAGGATTAGATA	294114	Sbjct 295075	CGCCCGAAACGAATC 295090	

Muestra *Salmonella* Enteritidis.

Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Typhi.

Query 1	AGCGAAAATAAGGCTTGACTCTGAAAGGGAAGCGTAAATATACGCCACTCGCGACGG	60	Query 1020	ACCTTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGCGGTGGC	1079
Sbjct 3600295	AGCGAAAATAAGGCTTGACTCTGAAAGGGAAGCGTAAATATACGCCACTCGCGACGG	3600296	Sbjct 3599275	ACCTTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCTACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGCGGTGGC	3599216
Query 61	TGAGCTGAAAGCCGCGTCCGAC-TGCTCTTTAACAAATTTATCAGACAATCTGTGTGGCA	119	Query 1080	TTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTAGACCCGCTGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAATCA	1139
Sbjct 3600235	TGAGCTGAAAGCCGCGTCCGACCTGCTCTTTAACAAATTTATCAGACAATCTGTGTGGCA	3600176	Sbjct 3599215	TTCCGGAGCTAACCGGTTAAGTAGACCCGCTGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAATCA	3599156
Query 120	CTCGAAGATACGGAITCTTAACGCTCTCGGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCAGAGTG	179	Query 1140	AATGAATTGACGGGGCCCGCACAGCGGTTGAGCATGTGGTTAATTCGATGCACGCG	1199
Sbjct 3600175	CTCGAAGATACGGAITCTTAACGCTCTCGGACGAAAAATGAATACCAAGTCTCAGAGTG	3600116	Sbjct 3599155	AATGAATTGACGGGGCCCGCACAGCGGTTGAGCATGTGGTTAATTCGATGCACGCG	3599096
Query 180	AACACGTAATTCATTACGAGTTTAACTCTTTGAGCATCAAACTTTTAAATGAAGAGTT	239	Query 1200	AAGAACCCTTACTGGTCTTGACATCCACAGAAGATCCAGAGATGGATTGTGCCITCGG	1259
Sbjct 3600115	AACACGTAATTCATTACGAGTTTAACTCTTTGAGCATCAAACTTTTAAATGAAGAGTT	3600056	Sbjct 3599095	AAGAACCCTTACTGGTCTTGACATCCACAGAACTTTCCAGAGATGGATTGTGCCITCGG	3599036
Query 240	TGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGACGGCTAACACATGCAAGTCGAAACGTAAC	299	Query 1260	GAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGCTGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAA	1319
Sbjct 3600055	TGATCATGGCTCAGATTGAACGCTGGCGGACGGCTAACACATGCAAGTCGAAACGTAAC	3599996	Sbjct 3599035	GAACTGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGCTGTCAGCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAA	3598976
Query 300	AGGAAACAGCTTCTGCTTTTGTGACGAGTGGCGACGGTGAATATGCTGGGAACT	359	Query 1320	GTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTGTCACGGGTTAGCCGGAACTCAAAG	1379
Sbjct 3599995	AGGAAACAGCTTCTGCTTTTGTGACGAGTGGCGACGGTGAATATGCTGGGAACT	3599936	Sbjct 3598975	GTCCCGCAACGAGCGCAACCCCTTATCCTTTGTGTCACGGGTTAGCCGGAACTCAAAG	3598916
Query 360	GCTGATGAGGGGGGATAACTACTGGAAACGGTGGCTAATACCGCATAAAGTCGCAAGAC	419	Query 1380	GAGACTGCCAGTGATAAATCGGAGGAAGGTTGGGATGACGTCAGTCATATGGCCCTTA	1439
Sbjct 3599935	GCTGATGAGGGGGGATAACTACTGGAAACGGTGGCTAATACCGCATAAAGTCGCAAGAC	3599876	Sbjct 3598915	GAGACTGCCAGTGATAAATCGGAGGAAGGTTGGGATGACGTCAGTCATATGGCCCTTA	3598856
Query 420	CAAAGAGGGGGAACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATAGCTTGT	479	Query 1440	CGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGC	1499
Sbjct 3599875	CAAAGAGGGGGAACCTTCGGGCTCTTGCCATCAGATGTGCCAGATGGGATAGCTTGT	3599816	Sbjct 3598855	CGACCAGGGCTACACACGTGCTACAATGGCCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGC	3598796
Query 480	GGTGAAGTAAAGCTCACCAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAAGCA	539	Query 1500	AAGCGGACCTCATAAAGTGCSTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCACTCGACTCCATGAA	1559
Sbjct 3599815	GGTGAAGTAAAGCTCACCAGGCGACGATCCCTAGCTGGTCTGAGAGGATGACCAAGCA	3599756	Sbjct 3598795	AAGCGGACCTCATAAAGTGCSTGCTAGTCCGGATTGGAGTCTGCACTCGACTCCATGAA	3598736
Query 540	CACTGGAACTGAGACGCGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGACGTCGGGAAATATTGCACA	599	Query 1560	GTGGAATCGCTAGTAACTGCTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGT	1619
Sbjct 3599755	CACTGGAACTGAGACGCGTCCAGACTCCTACGGGAGGCGACGTCGGGAAATATTGCACA	3599696	Sbjct 3598735	GTGGAATCGCTAGTAACTGCTGGATCAGAATGCCACGGTGAATACGTTCCCGGGCTTGT	3598676
Query 600	ATGGGCGCAAGCCTGATGACGCCATGCCGCTGTATGAAAGAGGCTTCGGGTTGTAAAG	659	Query 1620	ACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAGTAGTAGCTTAACCTTCG	1679
Sbjct 3599695	ATGGGCGCAAGCCTGATGACGCCATGCCGCTGTATGAAAGAGGCTTCGGGTTGTAAAG	3599636	Sbjct 3598675	ACACACCGCCCGTACACCATGGGAGTGGGTTGCAAAAGAGTAGTAGCTTAACCTTCG	3598616
Query 660	TACTTTCAAGCGGGAGGAGGTTGTGTGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCA	719	Query 1680	GGAGGGCGCTTACCATTGTTGATTATGACTGGGGTGAAGTCTAACAAGGTAACCGTA	1739
Sbjct 3599635	TACTTTCAAGCGGGAGGAGGTTGTGTGTTAATAACCGCAGCAATTGACGTTACCCGCA	3599576	Sbjct 3598615	GGAGGGCGCTTACCATTGTTGATTATGACTGGGGTGAAGTCTAACAAGGTAACCGTA	3598556
Query 720	GAAAGACACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGTTGCAAGCGTTA	779	Query 1740	GGGGAACCTGCGGTTGGATCACCTCCCTTAAAGAGCGTACTTTGCAAGTCTCACA	1799
Sbjct 3599575	GAAAGACACCGGCTAACTCCGTGCCAGCAGCCGCGTAAATACGGAGGTTGCAAGCGTTA	3599516	Sbjct 3598555	GGGGAACCTGCGGTTGGATCACCTCCCTTAAAGAGCGTACTTTGCAAGTCTCACA	3598496
Query 780	ATCGGAATTAAGGCTAAAGCGCAGCAGCGGCTCTGTCAAGTCGGAATGTGAAATCCC	839	Query 1800	CAGATTGTCTGATGAAAAACGACGAGTAAACCTCTACAGGCTTGTAGCTCAGGTGGTTA	1859
Sbjct 3599515	ATCGGAATTAAGGCTAAAGCGCAGCAGCGGCTCTGTCAAGTCGGAATGTGAAATCCC	3599456	Sbjct 3598495	CAGATTGTCTGATGAAAAACGACGAGTAAACCTCTACAGGCTTGTAGCTCAGGTGGTTA	3598436
Query 840	CGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTGCAAACTGGCAGGCTTGAAGTCTTGTAGAGGGGGTA	899	Query 1860	GAGCGCACCCCTGATAAGGGTGAAGTCCGTTGGTTCAAAATCCACTCGAGGCTACCAATTT	1919
Sbjct 3599455	CGGGCTCAACCTGGGAAGTGCATTGCAAACTGGCAGGCTTGAAGTCTTGTAGAGGGGGTA	3599396	Sbjct 3598435	GAGCGCACCCCTGATAAGGGTGAAGTCCGTTGGTTCAAAATCCACTCGAGGCTACCAATTT	3598376
Query 900	GAAATCCAGGTTGACGGTGAATGCGTAGAGTCTGGAGGAATACCGGTTGCCAAGGCG	959	Query 1920	TCCCGAATCTGCGTTGTGAAATTAACACATACACTGATGATGCTTCGTTATTCCAGCG	1979
Sbjct 3599395	GAAATCCAGGTTGACGGTGAATGCGTAGAGTCTGGAGGAATACCGGTTGCCAAGGCG	3599336	Sbjct 3598375	TCCCGAATCTGCGTTGTGAAATTAACACATACACTGATGATGCTTCGTTATTCCAGCG	3598316
Query 960	GCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT	1019	Query 1980	CTTGCTCAGGAAAAATTATC 2000	
Sbjct 3599335	GCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGAT	3599276	Sbjct 3598315	CTTGCTCAGGAAAAATTATC 3598295	

Apéndice II.A. Secuencias alélicas correspondientes al esquema MLST para las muestras de bacterias *Salmonella*.

Muestra *Salmonella* 318.

Gen	Secuencia del alelo de la muestra
<i>aroC</i>	GGATCGTGGCGCCCTTTGGTGATCATCTCGACTTCTTCAACCATCCGGTTGATCGTACGTCCCGGCACGGTAATGCTGGAGGTAGGCTTCAGC GCCATATGCGCCACAATGTGTTGCCCACTACTGATGCCACCGAGGATGCCGCCAGCGTGGTTGCTCTGAAAACCCCTGCGCCGTGATTTTCATCG CGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCACGTAAATCCTTCGCCGATCTCCACGCCCTTTCACCGCATTGATGCTCATCAGCGCATGGCGGATG TCCGCATCCAGTCCGTTCAACACCCGGTTCGCCAAGCCCTGCCGGCAGCCGCTCGCTATACCCGTCACCTTCGCGCCGATGGAGTCGCCCTCT TTTTTACGCGCGCATCAGTTTCGTCAGCGCGTCAAGTTTTCGCCATCGGGACAAAAGAACGGATTAAGCTCAACCTGACGCCAGTCTTTAA TCTCCAGCGGAATGTCGCCCATCTGGGTGAGCGAGCCGGGATTTGATACCGAACTTTCCGCCAGGATTTCTTGGCGATCGCCCTGCCG CTACGCGCATCGCGTTTTCACGCGCGGAAGAACGTCCACCGCCACGGTAATCGCGCAGGCCGATTTCTGCTCATAGGTGAATCCGCGTGCC CCGGACGAAAGACATCTTTAATCGCGCTGATGCTCGGAGCGCTGATCGGTGTTTTCAATCAGCAGGCCAATGCTGTTGCCGGCTCGTAC
<i>dnaN</i>	ACGCCGCGGAATTTCTCATTGAGAGGATTGCCGCGGGGCAACGCCTGCTTGAAGATATCGCAGCCCGCTTCCAGATGTTATCCGGATTC TTCGGCAGAACCGGACGGTAATCCGGGAAGCGACCATCCACAGCTTCGAGGTAAGATAAAGTCGCCGACGTGCGCGGGATATTTACTG CCGATCTGCACGCGCAGCGGGTTTTGCGCCCGCTCGAGCATAACGATCAGTTCAATCACGCCTTTCACGCGCAACAATCCAGAGTGGCTGGT AAAGACGCTTCCAGCGGCATTGAGCACACCGCCAGACGGTGGCCGTCGCTCGCGACAGTGCAGCTTCGCTACCTTCCGTTTCAAACAGCATA CCGTTTAAAGTAGTAGCGCACATCCTGATGAGCCATCGAAAATGGGTGCTTCAATCAGGCGCTTTCATCGTGGCTGCGGCAGCGTAAATTCAA CTTCGCTTTCGACGTCGTAAGATTCCGGAAATCGCGGCAGGCAGCGTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGGCCAGAACGCACCAACATCCGA TCGCCCTTCCAACCTGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGGCAGGCCGCGGAGATATCAAAGAAATTTCCGCGCCGCGCAGGTAAGTGGCACCCGG CTCATGCGGCTGAGAAAGCGTAACGCGCGCGACCATCTCCATTTCAAGATCGGTGCCGCTCAGAGAAAGCGTACCCGTCGCTACCTGGAGGA GCAGGTTACCGAGAATCGCGAGCGTAGGACGACCGCCAGCGGGCCGCTGACCTGCTGAAGCGTTTTAATAAATGTTACGTTCAACGGTA
<i>hemD</i>	AGCCGTTGCAACATCTCGCCGCTGGTAACAACAAGCGTTGTTACGCCGCGAGTATGCCAGCGCATCGCTTCTCCGCGCCATCGTAATGTTTCG CACATCGTTGATAACATTACAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTAGGGTTTCGCCAGCAGTTCGCGGCCGCAATGGCACGAAAAAT CAGCGCGCTTTGCCCGCAATATTTGTAATTCAGGTAATGTAGCAAGGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGC TAACGGTATGAAGGGCGAGCGCGTGGTGGCGCAATCGCGAAATAGCGCGGCGACGCGAGGCCAGTTTCGACCATCCCGCTGGAGCTGGGC GTGAGCAAAGGCGACGCGCTGCTGTGAAAGGGCAAAAACTAGATCGTTTTCCGTCAGCGTCCGACGCGGTCGGCCAGGGTGGGTAGCTCCC GGCCGCGCAAAATTCATCAGTGGAAAACT
<i>hisD</i>	GCGCAGACGCTACCGCTGTAGATGTGAAACCAGCCAGCGTGCCTTGCACGAGGTTACGCGTCCCGTCCGCTGTGCGGTGTATAT CCCGCGGCTCGGCTCCGCTCTTCTCAACGGTGTGATGCTGGCGACGCCGGCGCGCATTGCGGGATGCCAGAACGTTGTTCTGTGCTCGCC CGCGCCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGCGGCACAACCTGTGTGGCGTGCAGGAAATCTTAAACGTGCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTC GGCCTTCGGCAGCGAGTCCGTACCGAAAGTGGATAAAATTTTGGCCCGCGCAACGCCTTTGTAACCGAAGCCAGCGTCAAGGTACGCCAACG CCTCGACGGCGCGGCTATCGATATGCCAGCGCGGCGTCTGAAGTACTGGTGTGATCGCGCACAGCGGCCAACACCGGATTTCTGCTGCTTCTG ACCTGCTCTCCAGGCTGAGCAGGTTCCGGATTGCGAGGTGATCCTGCTGACGCCCTGATGCTGACATTGCCCGCAAGGTGGCGGAGCGGTA GAACGTCAAATTTGAGAACTGCCGCGCGGACACCGCCCGCAGGCCCTGAGCGCCAGTCTGATTGTGACCAAAGATTAGCGCAAGT CGTCCCATCTCTAATCAGTATGGCGCGAACACTTAATCATCCAGACGCGCAATGCGCGGATTTGGTGGATGTGATTACCAGCGCAGGCTC GGTATTTCTCGGCGACTG
<i>purE</i>	ACGGCGATACCCAGCGTTTCGCCCGCTGCGCAGCATTGCGCCAGTTGTCCGTTGCCGAGAACGCAAACTGCTTCATAGCTCCCCCG GGATCGGGATTTCCAGAATTCATCGGTTTGCCTTTGCGCCAGTCCGCAATGCGCTGATGCAGTTCGCGCTCGTGTGCGCCAGAATCTGC GCGGCGAGCAGGGCGCGGTTAGCGGCACCGGCTTACCAGTCCGACGCTACCCACCGAATGCCGCGCGCATCTGCACGATGGAGTAA GGCTATCCACGCGCTGAGCGCAGCGCTTTGACCGGCAGCCGAGTACCGGGACCGCGTTTTTGGCGCAATATCCCGGCGAGGTGTCG GCGCGCCCGCGCGGCAATAATCACTTGATATCCGTTCTTCCGCGTTTTCCGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTGCGATGGCGCGA AACCCTTCTACATGGTGGCGGACATCCAGAATTTAAAAATTTCCGGCGCGAATTCATGGTAGCCAGTTCGCTTTGGACCCATCACGATG GCGACACGCGCGGATTTTGGCGGAAGACATCGCTTAAAA
<i>sucA</i>	CAGCGCATCGAATCCGGTCTGCGGCCCTTACGCGTGCAGAGAAAAACGCTTCTGAAACGAACTGACCCCGCTGAAGGGCTGAAACGTTAT CTGGGCGCCAAATCCCGGGTGCAGAACGTTTCTCGCTCGAGGGGAGATGCGCTGATACCCATGCTGAAAGAGATGGTTCCGCATGCGGGT AACAGCGCACTCGGAAGTGGTGTGGGGATGGCGCACCGCGGTGCGCTGAACGTGCTGATCAACGTAAGTGGTAAAAAACCGCAGGATCT GTTCCAGCAATTTGCCGGTAAGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGCAGCTGAAATATCACATGGGCTTCTGCTCAGATATCGAAACCGAAGGC GGTCTGGTTCACTGGCGCTGGCGTTTAAACCATCGCATCTGAAATTTGAGCCCGGTTGATGGGCTCCCGTCCGCGCCCGCTCGGACAG ACTGGACGAACCGAGCAGCAACAAGTGTGGCGTCACTATTACGCGCAGCGCGGTTGACCGCCAGGGCGTGGTTACAGAAACCCCTGA ACATGTCGAAAGCGCGGTTACGAAGTGGCGGTACGGTACG
<i>thrA</i>	ATCCTGATGGCGGCTTTACCGCGGTAATGAAAAGGGTGAACGTTGGTGGTGGTGGCGGTAATGGTTCCGACTATTCGCGCGCGTGGCTGGC CGCTGTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGACTGACGTGATGGCGTGTATACCTGTGACCCGCGTACGGTCCGCGACGCCAGGCTGCT GAAATCGATGCTACCAGGAAGCGATGGAACCTCTTACTTCCGCGCAAAGTCTTACCCTCGCACCATACGCCCATCGCCAGTTCAG ATCCCTGTCTGATTAAAAATACCGGTAATCCGACGGCGCCAGGAACGCTGATCGCGCGTCCAGCGACGATGATAACCTACCAGTTAAAGGG ATCTTAACCTTAAACAATGGCGATGTTAGCGTCTCCGCGCCGGGAATGAAAGGGATGATTGGGATGGCGCGCGTGTTCGCGCCCATG TCTCGCGCGGGATCTCGGTGGTCTATTACCAGTCTCTCTGAGTACAGCATCAGTTTCTGTGTCGCGCAGAGTACTGCGCGCGTGGC CCCGTGGATGCAGGATGAGTTCTATCTGGA

Muestra *Salmonella* 375.

Gen	Secuencia del alelo de la muestra
<i>aroC</i>	ATCCTTCGCCGATCTCCACGCCTTTACCGCATTAACTGCTCATCAGCGCATGGCGATGTCGCCATCCAGTCGGTCAAATACCGTTCCGCCAAG CCCTGCCGCGCACGCCGCTCGCCATCACCGTCACTTTCCGCCGATGGAGTCAACCTCTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCCGTCAGCGCGT AAGTTTGTCCGCATCGGGACAAAAACGGATTAAGCTCAACCTGACGCCAGTCTTTAATCTCCAGCGGAATATCGCCATCTGGTCAGGCAG CCGCGGATTTTCGATGCCGAACTTTTCCGCCAGTATTTCTGGCAATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGGTTTTCAGCGCGGAAGAACGT CCACCGCCACGGTAATCGCGCAGGCCGATTTCTGCTCATAGGTGAATCCGCGTGCCTCCGGACGAAAAACATCTTTAATCGCGCTGTAGTCT GCGAGCGCTGATCGGTGTTTTCAATCAGCAGGCCAATGCTGGT
<i>dnaN</i>	CGAGGTAAGATAAAGTCGCCGACGTGCGCGCGGATATTACTGCGCATCTGCACGCGCAGCGGGTTTTGCCACCCTGAAGCATACGCAT CAGTTCAATCACGCCCTTACGCGGCACAATCACCGAGTGGCTGGGTAAGACGCCCTCCAGCGCATTGAGCACACCGCCAGACGGTGGCCGT CGGTCCGCAACAGTGCAGTTCGCTGCTTCCGTTTTCAACAGCATACCGTTTTAAGTAGTAGCGCACATCCTGATGAGCCATCGAAAACTGGGT CGTTCAATCAGCGCTTCATCGTGGCTGCGGCAGCGTAAATCACTTTCGCTTTCGCGAGTCTCAAGATTCCGGAAATCGCGGCAGGCAG TGTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGCGCCAGAACGCCAGCATCCGATCGCCTTCAACTGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGGCAGGCCG GGCAGATATCAAGAATTTCCGCGCCGGCAGGTAGTGGCGCTGATCGCGCTGAGAAAGCGTAACGCGCGCAGCCATCTCCATTTCAA GATCGGTGCCGGTCAGAGAAGCGTACCGTCCGCTACTGG
<i>hemD</i>	AGCGACCTTAATATCTTGGCCAGCCAGTTCGCCGGGCGAGGTGCGCCAGAGCCTACTGACGACCAATAGCCGACAGCGTAGTAACCACTGCTC ACGATACCACTGGGGAGTCAGCGACCAGAGCCGTTGCAACATCTCGCCGCTGGTAACAACAAGTGTGTTACGCCCGGAGATGCCAGCGCAT CGCTTCTCCGCGCCATCGTAATGTTTGGCAGCATCGTTGATAACATTCACAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTAGAGGTTTCCGCCAGC AGTTCCGGCGCCGCTTGCACGCAAAATCAGCGCGCTTTGCCGCAATATTTGTAATCAGGTAATGTAGCAAGGCTTCGCTGATTTCCC GATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGTAACGGTATGAAGGGCAGCGCCGCTGGTGCGCCAATCGCGAAATAGCGCGGCAGCCAGGC CAGTTTCCACCATCCGCTGGAGCTGGGCGTAGCAAAAGCGCAGCGCGTGTGTGAAAGGGCAAAAAACAGATGTTTTCCGTCAGAGTCCG CAGGCGGTGCCAGGGTGGTAGCTCCCGACCGCGCAAAATCAATCAGTGAAAACTCCAGGCCACCT
<i>hisD</i>	CCCAGCCAGGCGTGGTGGCAGCAGGTTACGCGTCCCGTCCGCTCGTGGTCTGTATATCCCGCGGCTCGGCTCCGCTCTTCTCAACG GTGCTGATGCTGGCGACGCCGCGCGCATTGCGGGATGCCAGAACGTTGGTCTGTGCTCGCCGCGCCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGC GGCGCAACTGTGTGGCGTGCAGGAAATCTTTAACGTGCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTTCGGCCTTCGGCAGCGAGTCCGTACCGAAAG TGGATAAAATTTTGGCCCCGCAACGCTTTGTAACCGAAGCAAGCGTCAAGTCAAGCAACGCTCGACGGCGCGGCTATCGATATGCCAG CCGGGCGCTGAAAGTGTGGTATCGCCGACAGCGCGCAACACCGGATTTCTGCTGCTTCTGACCTGCTCTCCAGGCAGAACACGGTCCG GATTCCAGGTGATTCTGCTGACGCTGATGCTGACATTGCGGAGCGGTAGAAGCTCAACTGGCGGAGCTGCCGCGCGCAGCCAGCCGCG GCAGGCCCTGAGCGCCAGTCTGATGTGACCAAAGATTTAGCGCAGTACGCTGCCATCTTAATCAGTATGGCCGGAACACTTAATCAT CCAGACGCGCAATGCGCGCGA
<i>purE</i>	GGTTTTCCAGAATTCATCGGTTTTCGCTTTCGCGCAGTCAAGCATGCGCTGATGCAAGTCCGCGCTGTTGCCGCAATCTGCGCGGCGA GCAGGGCGGCGTTAGCGGCACCGGCTTACCGATCGCGCAGCGTACCCACCGGAATGCCGCGCGGCATCTGCACAATGGAGTAAAGGCTATCC ACGCGCGTGAAGCGCAGCGCTTTGACCGGCACGCGGAGTACCGGGACAGCGTTTTTCCGCAATCATTCCGGCAGGTGCGCCGCGCGC CCGCGCGGCAATCACTTGAATCCGTTCTTCCGCGCTTTCCGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTGCGATGAGCGGAAACCACTT CTACATGTTGCGGGACATCCAGAAATTTCAAAAATTTCCGCGCGCAATTCATGTTAGGCCAGTCCGTTTTGGACCCCATC
<i>sucA</i>	CACCGAAGAGAAACGCTGGATCCAACAGCGCATCGAATCCGGTCTGCGGCCCTTACGCGTGAAGAAAAACGCTTCTGAACGAACTGA CCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGTGCCAAATTTCCCGGTGCGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATACCCATG CTGAAAGAGATGGTTCCGCATCGCGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGTGGTCTGGGGATGGCGCACCGCGGTGCGCTGAACGCTGCTGATCAA CGTACTGGGTAAAAAACCGCAGGATCTGTTGACGAATTTGCCGGTAAGCATAAAGAACATCTGGGTACCGGCAGCTGAAGTATCATAGGG CTTCTCGTCAAGATATCGAAACCGAAGCGGCTGTTTCACTGCGCGTGGCGTTTAAACCATCGCATCGAAATTTGAGCCCGGTGGTAT GGGCTCCGTGCGCGCCGCTGGAACAGACTGGACGAAACGAGCAGCAACAAGTGTGCCGATCACTATTACGGCGACCGCGCGGTGACCC GCCAGGGCGTGGTTTCAGGAAACCTGAACATGTCGAAAGCGCGGTTACGAAAGTGGCGGTACGGTACGTATCGTTATCAACAAACAGGTG GGCTTACCACC
<i>thrA</i>	CCGCCAGCCAGATCCAGCTGATCACATGATCTGATGGCGGGCTTACCGCCGTAATGAAAAGGGTGAACCTGGTGGTGTGGCCGTAATG GTTCCGACTATTTCCGCCGCGCTGCTGGCCGCTGTTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTGATGGCGTATACCTGTGACC CGCGCCAGGTGCCGACGCCAGGCTGCTGAAATCGATGCTTACCAGGAAGCGATGGAACCTCTTACTTCCGCGCAAAAGTCTTACCCTC GCACCATAACGCCATCGCCAGTTCAGATCCCTGCTGATTAATAACCGCAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGATCGCGCATCCA GCGACGATGATAATCTGCCGTTAAAGGGATCTCAACCTTAACAACATGGCGATGTTAGCGTCTCCGGCCCGGAAATGAAAAGGATGATTGG GATGGCGCGCGTGTTCGCGCCATGCTCGCGCCGGATCTCGGTGGTCTCATTACCCAGTCTCTCTGAGTACAGCATCAGCTTCTG TGTGCCGAGAGTACTGCGCGGTGCCGACGTGCGATGACAGGATGAGTTCTATCTGGAGC

Muestra *Salmonella* 389.

Gen	Secuencia del alelo de la muestra
<i>aroC</i>	CCACACACGGATCGTGGCGCCCTTTGGTATCATCTCGACTTCTTACCCATCCGGTTGATCGTACGTCGCCGACGGTAATGCTGGAGGTAG GTTTCAGTGCCATATGCGCCACAATGTGTTGCCGCTACTGATGCCACCGAGGATGCCGCCAGCGTGGTTGCTCTGAAAACCTGCGCCGTGA TTTCATCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCACGTTAAATCCTTCCGCGATCTCCACGCTTTCCACCGCATTCGCTCATCCGCGCATG GCGGATGTCGCGATCCAGTCGGTCAAACACCGGTTCCGCAAGCCCTCCGCGCACGCGCTCGCCATACCGTCTTCCGCGCGATGGAGT CCGCCCTTTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCGTCAGCGCGTCAAGTTTGTCCGCATCGGGACAAAAGAACGGATTAAGCTCAACCTGACGCCA GTCTTAACTCCAGCGGAATGTCGCCCATCTGGCTCAGGACGCGCGGATTCGATACCGAACTTTCCGCCAGGTATTTCTGGCGATCGCC CCTGCCGCTACGCGCATCGCGTTTTACGCGCGGAAGAACGTCCACCGCACGGTAATCGCGCAGGCGGTATTTCTGCTCATAGGTGTAATCC GCGTGTCCCGGACGAAAAACATCTTAAATCGCGCTGTAGTCTCGTAGCGGCTGATCGGTGTTTTCAATCAGCAGGCCAATGCTGGTGCCGGTC GTCACGCC
<i>dnaN</i>	CCGCGGAATTTCTCATTGAGAGGATTGCCGCGCGGCAACGCCTGCTTGGAGGATATCGCAGCCCGCTTCCAGATGTTATCCGGATTCTTC GGCAGAACGCGACGGTAATCCGGGAAGCGACATCCACCAGCTTCGAGGTAAGATAAAGTCGCGGACGTGCCGCGGATATTACTGCCA ATCTGCAGCGCGACGGTTTTTCCGCGCGCTCGAGCATACGCATCAGTTCAATCAGCCCTTACGCGGCACAATACCCGAGTGGCTGGGTAAA GACGCTTCCAGCGCATTGAGCACACCGCCAGAGCGTGGCCGTCGGTCCGACAGTGCAGATTTCGCTACCTCCGTTTCAAACAGCATAACC GTTAAAGTAGTAGCGCACATCTGATGGGCCATCGAAAATGGGTGCTTCAATCAGCGCTTACGTCGGCTCGCGGACGTAATTTCAACT TCGCTTTGCCAGTCGTCAAGATTCCGGGAAATCCGCGGCAGGCGAGTGTAGACAGCGAGAAGCGGTACGGCCAGAACGACCCAGCATCCGATC GCCTTCAAAGTGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGCGAGGCGCGGACAGATATCAAAGAATTTCCGCGCGGCACGGTAGTGGCGCTGGCT CATGCGGCTGAGAAAGCGTAACGCGCGCACCATCTCCATTTCAAGATCGGTGCCGTCAGAGAAAGCGTACCCTCCGCTACCTGAGGAGGAC AGGTTACCAGAAATCGGCAGCGTAGGACGACACCCAGCGGCGCTGACCTGCTGAAGCGGTTTTAATAATGTTACAGTTCAACGGTAAAT TTCAT
<i>hemD</i>	ATCAGCGACCTTAATATCTTCCAGCCAGTTCGCCGGCGAGGTGCCGACAGCGCTCACTGACGACCAATAGCCGACAGCGTAGTAACCAAGT CTCACGATACCACTGGGGAGTCAGCGACCAAGCCGTTGCAACATCTCCGCGCTGGTAACAACAAGCGTTGTACGCGCGGAGTATGCCAGCG CATCGCTTCTCCGCGCCATCGTAATGTTTTGCACATCGTTGATAACATTCAAAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTAGGGTTTTGCCCA GCAGTTCCGCGCGCCATTGCCACGCAAAATCAGCGCGCTTTGCCCGCAATATTTGTAATTAGGTAATTGTAGCAAGGCTTCGCTGATTTCC CGATCCAATGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGTTAAGGCGGACGCGCGTGGTGCGGCCAATCGCGAAATGCGCGCAGCGACG GGCAGTTTTGACCATCCGCTGGAGCTGGGCGTGAGCAAAGGCGACGCGGTGCTGTAAAAGGGCAAAAACAGATCGTTTTCCGTCAGAGTC GCCAGGCGTCCGCGCAGGTTGGTAGCTCCCGACCGGCGCAAAATTCATCAGTGAAAACCTCCAGGCCACCTGCCCGAGTCCGCGCAGAC GGCTCACTAACGCTTCCCTGCGGGAGAGGGCGGGTATCAGAAT
<i>hisD</i>	GAAAGTTCCATTCCGCGCAGACGCTACCAGCCTGTAGATGTGAAACCCAGCCAGCGTGCCTTCCAGCAGGTTACGCGTCCCGTCCAGTCT GTCCGGTCTGATATTTCCGCGCGGCTCGGCTCCGCTCTTCTCAACGGTGCATGCTGGCGACGCCGCGCGCATTGCGGGATGTCAGAACGT AGTTCTGTGCTCGCCGCGCCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGCGCGCCAACTGTGGCGTGCAGGAAATCTTAACTGCGCGCGCGCA GCGGATTGCGCGCTCGGCCTTCCGCGAGCGAGTCCGTAACGAAAGTGATAAAATTTTTGCCCGCGCAACGCTTTGTAACCGAAGCCAAAGCG TCAGGTACGCAACGCTCGAGCGCGCGGCTATCGATATGCCTGCCGGGCGCTGAAAGTACTGGTATCGCCGACAGCGCGCAACACCGG ATTTTCGTCGCGCTGACCTACTCTCCAGGAGCAACAGCGTCCGGATTCCGAGGTGATCCTGCTGACGCGCTGATGCTGACATTGCCCGCAAGG TGCGGAGGCGGTGAAACGTAACGCGGAACTGCCGCGCGGACCCGCGCGAGGCCCTGAGCGCCAGTCTGATTTGACCAA AGATTTAGCGCAGTGCCTGCCATCTAATCAGTATGGGCGGAAACACTAATATCCAGACGCGCAATGCGCGCGATTGGTGGATGCGATT ACCAGCGCAGGCTCGGTATTTCCGCGGACTGCTCCCGGAAATCCCG
<i>purE</i>	AGACGGCGATACCAGCGGTTCCGCCGCTGGCGCAGCATTCGCGCCAGTTGCCCGTTGCCGAGAACGCAAATCTGCTTACATAGCGTACCCCG CGGGATCGGATTTCCAGAATTCATCGGTTTTGCGCTTTGCCGCTCGGCAATGCGCTGATGCAAGTTCCGCGTTCGCGGATGTCAGGATCT GCGCTGCCAGCAGTGGCGGTTAGCGCGACCGGCTTTACCAGTCCGCGAGCGTACCACCGGAAATGCCGCGCGCATCTGCACGATGGAGTA GAGGCTATCCACACCGCTTAGCGCAGCGCTTTGACCGGTACGCGGAGTACCAGGACCGGTTTTTCCGCAATATTCCCGGCGAGATGTGC CGCGCCGCGCGCGGCAATAACTTACTGATATCCGTTCTTCCGCGCTTCCGCGAAGCTGAAACGCTTATCGGGGTGCGATGGGCGG AAACCACTTACTACATGGTGGCGGACATCCAGAATTTCAAATAATTTGCCGCGGCAATGATGGTAGCCAGTCCGTTTTGACCCCATCAGAT GCGGACACGCGCGGATTATTGCGGGAAGACATGCGCTTAAAACTCTGTGGTGCGGGACACGCTGCTTTTGGAGGTGCA
<i>sucA</i>	AGCACCGAAGAGAAACGCTGGATCCAACAGCGCATGAAATCCGGTCCGCGCGCCTTTAGCGCTGACGAGAAAAACGCTTCTGAAACGAGCT GACCGCGCTGAAAGGCTGGAACGTTATCTGGTGCCAAATCCCGGTCGCAACGTTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCCA TGCTGAAAGAGATGGTTGCCATGCGGGTAACAGCGGCACTCGCAAGTGGTGCCTGGGATGGCGCACCGCGGTCGCTGAAACGCTGCTGATC AACGTAAGTGGTAAAAAACCGCAGGATCTGTTCCGACGAATTTGCCGGTAAGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGCAGTGAAGTATCACATGG GCTTCTGTCAGATATCGAAACCGAAGCGGCTGTTCCACCTGCGGCTGGCGTTTTAATCCATCGCATCTGGAAATGTGAGCCCGGTTGGTA TGGGCTCCGTCGCGCGCCGCTGGACAGACTGGACGAACCGAGCAGCAACAAAGTGTGGCGATCACTATTACGGCGCAGCCCGGTTGACC GCCAGGGCGTGGTTACGAAACCCTGAAACATGTGAAAGCGCGCGGTTACGAAGTGGGCGGTACGGTACGTATCGTTATCAACAACC
<i>thrA</i>	GTCACGGTGATTGATCCGGTAGAAAAATGTGCGGGTGGGCGATTACCTTGAATCTACCCTCGATATCGCGGAATGACTCGCGCTATCCGC CCGAGCAGATCCGCGGATCACATGATCCTGATGGCGGGCTTACCGCGGTAATGAAAAGGGTGAAGTGGTCTGGGCGCTAATGG TCCGACTATTCCCGCGCGTGTGGCCGCTGTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTCGATGGCGGTATACCTGTGACCC ACGTCAAGTGGCGGACGCCAGGCTGCTGAAATCGATGCTACCAGGAAGCGATGGAACCTCTTACTTCCGCGCAAAAGTCTTCCACCTCG CACCATTACGCTATCGCCAGTTCCAGATCCCTGTCTGATTAATAAACCAGCAATCGCAGGCGCCAGGAACGCTGATCGCGCATCCAG CGACGATGATAATCTGCCGTTAAAGGGATCTCAACCTTAAACATGCGGATGTTAGCGTCTCCGCGCCGGAAATGAAAGGGGATGTTGGG ATGGCGCGCGTGTTTCCCGCCATGCTCAGCGCGGGATCTCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCTCTCTGAGTACAGCATCAGCTTCTGT GTGCCGAGAGTACTGCGCGGCTGCCGACGTGCGATGAGGATGAGTTCTATCTGGAGTGAAGAGGGGCTGCTGGAGCCGCTGGCGG T

Muestra *Salmonella* 384.

Gen	Secuencia del alelo de la muestra
<i>aroC</i>	<p>CCTACACACGGATCGTGGCGCCCTTTGGTGATCATTTCGACTTCTTACCACATCCGGTTAATCGTACGTCCCGGTACGGTAATGCTGGAGGTAG GTTTTCAGCGCCATATGCGCCACAATGTGTTGCCCGCTACTGATGCCACCGGAGGATGCCCGCGCGTGGTTGCTCTGAAAACCCCTGCGCCGTGA TTTCATCGCGATTCTGGCTGCCCGCAGCGCCACCACGTTAAATCCTTCCCGGATCTCCACGCTTTTACCAGCATTGATGCTCATACGCGCATG GCGGATGTCGCGATCCAGTCCGTTCAAATACCGGTTCCGCAAGCCCTCCCGGACACCGCTCCCATACCGTCACTTTCCGCGCGATGGAGT CACCCCTTTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCGTCCAGCGCGTCAAGTTTGTCCGCATCGGGGCAAAAAGACGGATTAAGCTCAACCTGACGCCA GTCCTTAATCTCCAGCGGAATGTCGCCCATCTGGCTCAGGAACCCGCGGATTTTCATGCCGAACCTTTCCGCCAGGTAATTTTGGCGCATGCC CCTGCCGCTACCGCGCATCGCGTTTTCAGCGCGGAAGAACGTCACCGCCACGGTAATCGCGCAGGCGGATTTTCTGCTCATAGGTGTAATCC GCGTGTCCCGGACGAAAAACATCTTTAATCGCGCTATAGTCTGCGAGCGCTGATCGGTGTTTTCAATCAGCAGGCCAATGCTGGTCCGCGTCC GTCAC</p>
<i>dnaN</i>	<p>CTCATTGAGAGGATTGCGCGCGGGCAACGCGCTGCTTGGAGATATCGCAGCCCGCTTCCAGATGTTTTATCCGGATTCTTCCGCGAAGCGG ACGGTAATCCGGGAAGCGACATCCACCAGCTTCGAGGTAAGATAAAGTCGCGGACGTCGCGCGGGATATTACTGCCGATCTGCACGCG CAGCGGGTTTTCCGCCACCGTCGAGCATACGCATCAGTTCAATCAGCCTTTACGCGGCACAATACCGGAATGGCTGGGTAAGACGCTTCCAG AGCGCATCGCTTCTCCGCGCCATCGTAATGTTTCGCACGTCGTTGATAACATTCACAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGCAGGGTTTC GCCCAGTAGTTCCGCGCGCGCTTCCACGCAAAATCAGCGCGCGCTTCCCGCAATATTTGTAATTCAGGTAATGTAGCAAGGCTTCGCT GATTTCCCGATCCAAATGATAACGAATATCGAACCCCGCTAACGGTATGAAGGGCGAGCGCCGTGGTGGCGCCAAATCGCCAAATAGCGCGGCG ACGCAGGCCAGTTTTCCGCCATCCCGCTGGAGCTGGGCTGAGCAAAAGCGCAGCGCGTGTGTGAAAAGGGCAAAAACAGATCGTTTTCCGTC ACGCTGCCAGCGGCTGCCCGAGGTTGGTAGCTCCCGACCGCGCAAAATCAATCAGTGAAAACTCCAGGCCACCTGCCCGAGTCCGCG GCAGACGGCTACTAACGCTTCCCTGCCGGAGAGGGCGGGTGTACAGAA</p>
<i>hemD</i>	<p>CGTTATCAGCGACCTTAATATCTTCCAGCCAGTTCGCCGGCGAGGTGCGCCAGACGTTCACTGACGACCAATAGCCGACAGCGTAGTAACC AGTGCTCAGGATACCACCTCGGGAGTCAGCGACCCAGGCGTTGCAACATCTCCGCGCTGGTAACAACAAGCGTGTGTACGCCGCGAGTATGCC AGCGCATCGCTTCTCCGCGCCATCGTAATGTTTCGCACGTCGTTGATAACATTCACAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGCAGGGTTTC GCCCAGTAGTTCCGCGCGCGCTTCCACGCAAAATCAGCGCGCGCTTCCCGCAATATTTGTAATTCAGGTAATGTAGCAAGGCTTCGCT GATTTCCCGATCCAAATGATAACGAATATCGAACCCCGCTAACGGTATGAAGGGCGAGCGCCGTGGTGGCGCCAAATCGCCAAATAGCGCGGCG ACGCAGGCCAGTTTTCCGCCATCCCGCTGGAGCTGGGCTGAGCAAAAGCGCAGCGCGTGTGTGAAAAGGGCAAAAACAGATCGTTTTCCGTC ACGCTGCCAGCGGCTGCCCGAGGTTGGTAGCTCCCGACCGCGCAAAATCAATCAGTGAAAACTCCAGGCCACCTGCCCGAGTCCGCG GCAGACGGCTACTAACGCTTCCCTGCCGGAGAGGGCGGGTGTACAGAA</p>
<i>hisD</i>	<p>AACGTTCCATTACGCGCAGACGCTACCGCCTGTAGATGTGAAAACCCAGCCAGGCGTGCCTTCCAGCAGGTTACGCGTCCCGTCCGCTCTGT CGGTCTGTATATCCCGCGCGCTCCGCTCCGCTCTTCTCAACGCGTGTGTGTTGGCGCAGCGCGCGCGCATTGCGGGATGCCAGAAAGTGG TTCTGTGCTCCGCGCGCCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGCGCGCAACTGTGTGGCGTGAGGAAATCTTTAACGTCGCGCGGCGCGCAGG CGATTGCCGCTCTGGCTTCCGCGCAGCGAGTCCGTACCAGAAAGTGATGATAAAATTTTGGCCCGGCAACGCTTTGTAACCGAAGCACAAGCTC AGTCAAGCAGCGCCTTACGCGCGCGCTATCGATATCGCTGCCGGCGCTGTAAGTACTGTTGATCGCCGACAGCGCGCAACACCGGAT TTCGTCGCGTCTGACTGCTCTCCAGGCTGAGCAGGTTCCGATTCCAGGTTGATCCTGCTGACGCTGATGCTGACATTGCCCGCAAGGTG CGGAGGCGGTAGAACGTCAACTGGCGGAACCTGCCCGCGGCAACCGCCCGCAGGCCCTGAGCGCCACTGAGCGCCACTGTTGTACCAAAAG ATTTAGCGCAGTGTGTCGCCATCTCTAATCAGTATGGGCCAGAACCTTAATATCCAGACGCGCAATGCGCGGATTTGGTGGATGCGATTAC CAGCGCAGGCTCGGATTTCTCCGCGACTGGTCCCGGAATCTG</p>
<i>purE</i>	<p>GGCCAGACGGCGATACCCAGCGGTTCCGCCCTGGCGCAGCATTCCGCCAGTTGTCGCTTCCGAGAACGCAAACTTGTCTCATAGCGTC CCCCAGGATCGGGATTTTCCAGAACTTCATCGGTTTCCGCTTTCGCGCAGTCCGCGATGCGCTGATGCAAGTTCCGCGCTGTTGCGCCAGA ATTCGCGCGCTCGGCGCGCGCTTACGCGCAGCGGTTAGCCGACCGGCTTTACCAGTCCAGCGTACCACCGGAATGCCGCGCATTCGCAATGG AGTAAAGGCTATCCAGCGCGCTTAGCGCAGCGCTTGTACCGCGACCGGAGTACCGGGACCGAGCTTTTTGCGCGCAATCATTCCCGCAAGT GCGCCGCGCGCGCGCGCGCAATAACTCTGATATCCGTTCTTCCGCGGTTTCCGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGGTGGATGG GCGGAAACCACTTCGATATGGTGGCGGACATCCAGAAATTCAAAATTTCCGCGCGCAATGATGTTGAGCCCAATCGCTTTTGGACCCATCA CGATGGCGACACGCGCGGATTATTGCGGGAAGACATGCGTCTTAAACTCCTGTGGTGGCGGACAGCTGCT</p>
<i>sucA</i>	<p>CGACGCGCTAAACAGACCTACTGCGGCCGATTGGCGCTGAGTATATGCACATCACCAGCACCGAAGAAAAACGCTGGATCCAACAGCGCAT CGAATCCGGTCCGCGCGCTTTAGTGTGACGAGAAAAACGCTTCTGAACGAACTGACCGCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGCG CCAAAATCCCGGGTCCGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCTATGCTGAAAGAGATGGTTCGCCATGCGGGTAACAGCG GCACTCGCGAAGTGGTGTGGGGATGGCGCACCGCGGTGCGCTGAACGCTGCTGATCAACGTAAGGTAAAAAACCGCAGGATCTGTTCCGAC GAGTTTTGCGGGTAAACATAAAGAACATCTGGGTACCGCGCAGCTGAAGTATCACATGGGCTTCTCGTCAGATATCGAAACCGAAGCGCGTCTG GTTACCTAGCGCTGGCGTTAAACCCATCGCATCTGAAATTTGAGCCCGTGGTGTGGGCTCCGTGCGTCCGCTGCGAGACTGGAC GAACCGAGCAGCAACAAGTGTTCGCGATCACTATTACGGCGACCGCGGTTGACCGGCCAGGGCGTGGTTGAGGAACTCTGAACATGTC GAAAGCGCGGTTACGAAGTGGCGGTACGGTACGATATGTTATCAACAACCGAGTGGGCTTACCACCTCTAACCCACTGGATGCGCGTTC AACGCTTACTGCACCGATATCGGTAATGGTCCAGCGCGGATTTCCAC</p>
<i>thrA</i>	<p>CTGTTGGCGGTGGGCCATTACCTTGAATCTACCGCTGATATCGCGAATCGACTCGCGTATCGCGCCAGCCAGATCCCGCGGACCATG ATCCTGATGGCGGATTTACTGCTGGTAATGAAAAGGGTGAAGTGGTGGTGGTGGCGCTAATGGTTCCGACTATTCTGCCCGCTGCTGGCC GCCTGTTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGGACTGACCTGATGCGCTGATACCTGTGACCCGCGTCAAGTGGCCGACGCCAGGCTGCT GAAATCGATGCTTACAGGAAGCGATGGAATCTTACTTCCGTTCCGTTGCAAAAGTCTTACCCCTCGCACCAATACGCTATCGCCAGTTCCAG ATCCCTGTCTGATTAATAAACCGCAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGATCGCGCGTCCAGCGACGATGATAATGCGCGTTAAAGGG ATCTCTAACCTTAATAACATGGCGATGTTTAGCGTCTCCGCGCGGGAATGAAAGGGATGATGGGATGCGCGCGCGTGTGTTTTGCCGCAATG TCCGCGCGGGATCTCGGTGGTCTCAATACCCAGTCCCTTCTGAGTACGACATCAGTTTCTGTGTGCCGAGAGTGAATGCGCGCGTCC GCCGTGCGATGACGAGTGAAGTCTATCTGGAGTGAAGAGGGGCTGCTGGAGCCGCTGCCGTTACGGAGCGGTTGGCGATTATCTCTGTT GTCGCGACGGTATGCGCACGCTACCGCGCATTTACGCGAAATTTCTCCCGCGCTGGCGCGGGTAATA</p>

Muestra *Salmonella* Enteritidis.

Gen	Secuencia del alelo de la muestra
<i>aroC</i>	ACACGGATCGTGGCGCCCTTTGGTGATCATTTGCACTTCTTACCATCCGGTTGATCGTACGTCCCAGCCAGGTAATGCTGGAGGTAGGTTTC AGCGCCATATGCGCCACAATGTGTTGCCCGCTACTGATACCAACGAGGATGCGCCAGCGTGGTTGCTCTGAAAAACCCCTGCGCCGATTTTCA TCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCACGTTAAATCCTTCGCCGATCTCCACGCTTTTACCAGCATTGATGCTCATACGCGATGGGGG ATGTCCGCATCCAGTCCGGTCAAAAACCGGTTCCGCAAGCCCTCCGGCAGCCGCTCGCCATACCGTCACTTTCCGCGCGATGGATCGCC CTCTTTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCGTCAGCGCGTCAAGTTTGTCCGATCGGGACAAAAGAACGGATTAAGCTCAACCTGACGCCAGTCT TTAATCTCCAGCGGAATATCGCCATCTGGGTGAGGACGCGCGGATTTTCATGCGCAACTTTTCCGCGAGGATTTTCTGGCGATCGCCCTG CCGCTACGCGCATCGCGTTTTCAGCGCGGAAGAACCTCCACCGCACGGTAATCGCGCAGGCGTATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCCGCT GTCCCGGACGAAAAACTCTTAAATCGCGCTGTAGTCTCGGAGCGCTGATCGGTGTTTCAATCAGCAGGCCAATGCTGGTCCGCGTCC
<i>dnaN</i>	GAATTTCTATTCCGAGAGGATTGCTGCGCGGGCAACCGCTGCTTGGAGATATCGCAGCCCGCTTCCAGATGTTTATCCGGATTCTTCGGCAGA ACGCGACGGTAATCCGGGAAGCGACCATCCACCAGCTTCGAGGTGAAAGTAAAGTCGCAACGTCGCGCGGATATTACTGCGCATCTGC ACGCGCAGCGGGTTTTTACCAGCGCTCGAGCATACGATCAGTTCAATCAGCCCTTACGCGGCACAATCACCAGTGGCTGGTAAAGACGCT TCCAGCGGCAATTGAGCACACCGCCAGCGGTGGCCGTCGGTCCGACAGTGCAGTTCGCTACCTTCGGTTTCAAACAGCATACCGTTTAAAG TAGTAGCGCACATCCTGATGAGCCATCGAAAACCTGGGTGCTTCAATCAGGCGCTTCATCGTGGCTGCGGACGGTAAATTTCAACTTCGCTT GCCAGTCTCAAGATTCCGGAAATCGGCGCAGGCAGCGTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGGCCAGAACGACACGATCCGATCGCCTTCC AACTGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGGCAGGCGCGGACAGATCAAAGAAATTTCCGCGCCGGCAGGAGTGGCCCGCCGGCTCATGCGG CTGAGAAAAGCGTAACGCGCGCACCATCTCCATTTCAAGATCGGTGCGGTCAGAGAAAAGCGTACCCTCCGCTACCTGGAGGACGAGTTACC GAGAATCGCGCAGGCTAGGACGACCGCCAGCGGGCGCTGACTGCTGAAGCGGTTTTAATAATGTTACGTTCAACGGTAAATTTCC
<i>hemD</i>	GTGCGCCAGACGTTCACTGACGACCAATAGCCGACAGCGTAGTAACCAAGTCTCACGATACCACTCGGGAGTACGCGACCAGAGCCGTTGCAA CATCTCGCCGCTGGTAACAACAAGCGTTGTTACGCGCGAGTATGCCAGCGCATCGCTTCTCCGCGCCATCGTAATGTTTCCGCACATCGTTGA TAACATTACAAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTCAGGGTTTCCGCCAGCAGTTCGCGCGCCGCAATTGCCAGCAAAAATCAGCGCGCT TTGCCCGCAATATTTGTAATTGAGTAATTGTAGCAAGGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTATG AAGGGCAGCGCCGTTGGTGGCCCAATCGGAAAATAGCGCGCGCAGCGAGGCCAGTTTCCGCCATCCCGCTGGAGCTGGGCGTGGCAAAAG GCGACGGCGTGTGAAAGGGCAAAAACAGATCGTTTTCCGTCAGTGTGCGCAGGCGGTGCGCCAGGGTGGGTAGCTCCCGCCCGCGCA CAAATTCATCAGTGAAAACTCCAGGCCACCTGCCAGTGCAGCGCAGCGGCTCACTAACGCTTCCCTCGCGGAGAGG
<i>hisD</i>	TGTAGATGTGAAACCCAGCCAGCGTGCCTTCCAGCAGGTTACGCGTCCCGTCCGCTGTGCGTGTATATTTCCCGCGGCTCGGCTC CGCTCTTCAACGGTGTGATGCTGGCGACGCGCGCGCTATTGCGGGATGTCAGAACGTTGGTTCTGTGCTCGCCGCGCCCATCGCTGAT GAAATCCTCTATGCGCGCAACTGTGTGGCGTGCAGGAAATCTTAAAGTCCGCGCGCGCAGGCGATTCGCGCTCGGCTTCGGCAGCGA GTCCGTACCGAAAGTGGATAAAATTTTGGTCCCGCGCAACGCTTTGTAACCGAAGCAAACGTCAGGTACGCAACGCGCTCGACGGCGCGG CTATCGATATGCCAGCCGGCCGCTGTAAGTACTGGTGTGTCGCCAGCGCGGCAACACCGGATTTCTGCTGCTTCACTGCTCTCCAGG TGTAGCACGCGTCCGATTTCGAGGTGATTCTGCTGACCGCTGATGCTGACATTGCCTGCAAGGTGGCGGAGGCGGTAGAACGTCAACTGGCA GAACTGCCGCGCGGACACCGCCAGGACGGCCCTGAGCGCAAGTCTGCTGATTGTGACCAAGATTTAGCGCAGTGCCTCGCCATCTCTAA TCAGTATGGGCGGAACACTTAATTTATCCAGACGCGCAATGCGCGCATTTGGTGGATGCGATTACCAGCGCAGGTTCCGGTA
<i>purE</i>	GCGATACCCAGCGTTTCGCCCCCTGGCGCAGCATTGCGCCAGTTGTCGTTGCCGAGAACGCAAACTTGTTCATAGCGTCCCCCGCGGA TCGGGATTTTCCAGTACTTCACTGGTTTTCGCTTTCGCGCATCGGCAATGCGCTGATGCAAGTTCGCGCTGCTGTGCGCCAGAAATTCGCGG GCGGAGCAGGCGCGGTTAGCGCACCGGCTTTACCAGTCCGAGCTACCCACCGAATGCGCGCGGCAATGCGCGCGGCAATGCAAGTGAAGT TATCCACGCGCTTAGCGCAGCGCTTTGATCCGCGACGCGGAGTACCAGGACAGCGTTTTTTCGCGCAATCATTCCCGGAGGTGCGCCGCG CCGCCCCGCGCCGCAATAACTTCTGATATCCGTTCTTCCGCGTTCGCGCAAGCTGAAACAGTTTATCGGGGGTGCATGGGCGGAAACC ACTTCTACATGGTGGCGGACATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGCGGCAATGATGGTAGCCAGTGCCTTTTGGACCCCATCACGATGGCGA CACGCGCCGATTATTGCGGGAAGACATGCGTCTTAAAACCTCCTGTG
<i>sucA</i>	CAGACCTACTGCGGCCGATTGGCGCTGAGTATATGCACATCACCAGCACCGAAGAGAAACGCTGGATCCAACAGCGCATCGAATCCGGTCTG GCGGCTTTAGCGCTGACGAGAAAAACGCTTCTGAACGAACGACCCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGTGCCAAATCCCGGGT GCGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCCATGCTGAAAGAGATGGTTCCGCATCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGT GGTGTGGGATGGCGCACCGCGGTCGCTGAACTGCTGATCAACGTAAGGTAAAAAACCGCAGGATCTGTTGACGCAATTTGCCGGTA AGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGCAGCTGAAGTATCACATGGGCTTCTCGTCAGATATCGAAACCGAAGGCGGTCTGTTACCTGCGCC TGCGCTTTAACCCATCGCATCTGGAATTTGAGCCCGGTGTGATGGCTCCGTCGCGCCGCTGAGCAGACTGGACGTAACCGAGCAG CAACAAGTGTTCGCGCATCACTATTACGCGCAGCGCGGTGACCGGCGAGGGCGTGGTTAGGAAACCTGAACATGTCGAAAGCGCGC GTTACGAAGTGGGCGGTACGGTACGTATCGTTATCAACAACAGGTGGGCTTACCACCTTAACCCACTGGATGCGCGTTCAACGC
<i>thrA</i>	CAGACCTACTGCGGCCGATTGGCGCTGAGTATATGCACATCACCAGCACCGAAGAGAAACGCTGGATCCAACAGCGCATCGAATCCGGTCTG GCGGCTTTAGCGCTGACGAGAAAAACGCTTCTGAACGAACGACCCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGTGCCAAATCCCGGGT GCGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCCATGCTGAAAGAGATGGTTCCGCATGCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGT GGTGTGGGATGGCGCACCGCGGTCGCTGAACTGCTGATCAACGTAAGGTAAAAAACCGCAGGATCTGTTGACGCAATTTGCCGGTA AGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGCAGCTGAAGTATCACATGGGCTTCTCGTCAGATATCGAAACCGAAGGCGGTCTGTTACCTGCGCC TGCGCTTTAACCCATCGCATCTGGAATTTGAGCCCGGTGTGATGGCTCCGTCGCGCCGCTGAGCAGACTGGACGTAACCGAGCAG CAACAAGTGTTCGCGCATCACTATTACGCGCAGCGCGGTGACCGGCGAGGGCGTGGTTAGGAAACCTGAACATGTCGAAAGCGCGC GTTACGAAGTGGGCGGTACGGTACGTATCGTTATCAACAACAGGTGGGCTTACCACCTTAACCCACTGGATGCGCGTTCAACGC

Apéndice IIB. Alineamientos correspondientes al esquema MLST.

Muestra *Salmonella* 318.

<i>aroC</i> 71	<i>dnaN</i> 65
GGATCGTGGCGCCCTTGGTGAICATCTCGACTTCTTCAACCCATCCGGTGTGATCGTACGT GTCTTTCGTCCGGGGCACGCGGATTACACCTATGAGCAGAAATACGGCCTGCGCGATTAC CCGGCACGGTAATGCTGGAGGTAGGCTTACAGCCCATATGCGCCACAATGTGTGCCCA CGTGGCGGTGGACGTTCTTCCGCGGTGAAACCGCGATGCGCGTAGCGCGAGGGGCGATT CTACTGATGCCACCGAGGATGCCGCCAGCGTGGTGTCTGAAAAACCTGCGCCGCGTGAIT GCCAAGAAATACCTGGCGGAAAAAGTTCGGTATCGAAATCCGCGGACCTGCGCCGCGTGAIT TCATCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCACGTTAAATCCTTCCGCGATCTCCACG TCATCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCACGTTAAATCCTTCCGCGATCTCCACG CCTTTCACCGCATGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCCGCGATCCAGTCGGTCAAAC CCTTTCACCGCATGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCCGCGATCCAGTCGGTCAAAC ACCGGTTCGCGCAAGCCCTGCCGCGCAGCGCGTCCGCTATCACCGTCACTTTCGCGCCGATG ACCGGTTCGCGCAAGCCCTGCCGCGCAGCGCGTCCGCTATCACCGTCACTTTCGCGCCGATG GAGTCGCCCTCTTTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCTGTCAGCGCGTCAAGTTTTCGCGCA GAGTCGCCCTCTTTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCTGTCAGCGCGTCAAGTTTTCGCGCA TCGGGACAAAAGAACGGATTAAAGCTCAACCTGACGCGCAGTCTTTAATCTCCAGCGGAATG TCGGGACAAAAGAACGGATTAAAGCTCAACCTGACGCGCAGTCTTTAATCTCCAGCGGAATG TCGCCATCTGGGTGAGCGACCGCGGATTTGATACCGAACTTTTCCGCGAGGTATTTTC TCGCCATCTGGGTGAGCGACCGCGGATTTGATACCGAACTTTTCCGCGAGGTATTTTC TTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGGTTTTCAGCGCGGAAAGAACTCCACCG TTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGGTTTTCAGCGCGGAAAGAACTCCACCG CCACGGTAATCGCGCAGCCGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGCCTCCGCGACGA CCACGGTAATCGCGCAGCCGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGCCTCCGCGACGA AAGAC AAGAC	ACGCCGCGGAATTTCTCATTGAGAGGATTGCCGCGGGCAAACGCCTGCTTGGAGATA ATGGAGATGGTCCGCGCGTTACGCTTCTCAGCCCATGAGCCGGGTGCCACTACCGTG TCGACGCCCGCTTCCAGATGTTTATCCGGATTCTTCGGCAGAAACGCGAGGTAATCCGGG CCGGCGGAAATCTTTGATATCTGCCGCGCTGCCGAGGGGCGGGAGATTGCCGTT AAGCGACCATCCACCAGCTTCGAGGTAAGATAAAGTCCGCGAGCTGCGCGCGGATTA CAGTTGAAAGCGATCGGATGTTGGTCCGTTTCCGCGTAGCCGCTTCTCGCTGTCTACG TTACTGCCGATCTGACCGCGCAGCGGGTTTTTCCGCGCGTCCGAGCATACGCAICAGTTCA CTGCTGCCGCTGACCGCGCAGCGGGTTTTTCCGCGCGTCCGAGCATACGCAICAGTTCA ATCACGCTTTACCGCGCAATCACCGAGTGGTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGCATT ATCACGCTTTACCGCGCAATCACCGAGTGGTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGCATT GAGCACACCCGACAGCGGTGGCGTCCGTCGCGCAGTGCAGTTCGCTACCTTCCGTT GAGCACACCCGACAGCGGTGGCGTCCGTCGCGCAGTGCAGTTCGCTACCTTCCGTT TCAAACAGCATACCCTTAAAGTAGTAGCGCACATCTGATGAGCCATCGAAACTGGGTC TCAAACAGCATACCCTTAAAGTAGTAGCGCACATCTGATGAGCCATCGAAACTGGGTC GCTTCAATCAGCGCTTTCATCGTGGCTGCCGCGCAGCTAAATCAACTTCGCTTTGCCAG GCTTCAATCAGCGCTTTCATCGTGGCTGCCGCGCAGCTAAATCAACTTCGCTTTGCCAG TCGTCAAAGATTCCGGAAATCCGCGCGCAGCGCATAGACAGCGAAGCGGCTACGGCCA TCGTCAAAGATTCCGGAAATCCGCGCGCAGCGCATAGACAGCGAAGCGGCTACGGCCA GAACGCAACCAACATCCGATCGCTTCCAACTGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGGCAGG GAACGCAACCAACATCCGATCGCTTCCAACTGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGGCAGG CCCGCGCAGATATCAAAGAAATTTCCGCGCGGCGCAGGTAAGTGGCACCCTCCGCTCATCGGC CCCGCGCAGATATCAAAGAAATTTCCGCGCGGCGCAGGTAAGTGGCACCCTCCGCTCATCGGC TGAGAAAGCGTAACGCGCGCACCATCTCCAT TGAGAAAGCGTAACGCGCGCACCATCTCCAT
<i>hemD</i> 67	<i>hisD</i> 16
AGCGGTTGCAACATCTCCCGCTGGTAACAAACAGCGTGTGTTACGCGCGAGTATGCCAG GCGACTTGCACATCTCCCGCTGGTAACAAACAGCGTGTGTTACGCGCGAGTATGCCAG CGCATCGCTTCTTCCGCGCCATCGTAATGTTTCGCACATCGTTGATAACATTACAAAAA CGCATCGCTTCTTCCGCGCCATCGTAATGTTTCGCACATCGTTGATAACATTACAAAAA CTGACTTCGGCTCCCGAGCTGTCAAGGTTTCCGCCAGCAGTTCGCGGCGCCATTGCCA CTGACTTCGGCTCCCGAGCTGTCAAGGTTTCCGCCAGCAGTTCGCGGCGCCATTGCCA CGCAAAATCAGCGCGGTTTCCCGCAATATTTTGTAAATCAGGTAATGTAGCAAGGCT CGCAAAATCAGCGCGGTTTCCCGCAATATTTTGTAAATCAGGTAATGTAGCAAGGCT TCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTATGAAGGGCG TCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTATGAAGGGCG AGCGCGTGGTGGCGGCAATCGCAAAATAGCGCGGACGCGAGCCAGTTTCGACCATCC AGCGCGTGGTGGCGGCAATCGCAAAATAGCGCGGACGCGAGCCAGTTTCGACCATCC CGCTGGAGCTGGCGTGGCAAAAGCGAGCGGCTGTGTGAAAGGGCAAAAATAGATCG CGCTGGAGCTGGCGTGGCAAAAGCGAGCGGCTGTGTGAAAGGGCAAAAATAGATCG TTTTCCGTCAGCGTCG TTTTCCGTCAGCGTCG	CGCGCAGCGCTACCGCTGTAGATGTGGAAACCCAGCCAGCGTGGCTGCCACAGGTT ATTGGGGGATGCCGAACGTTGTTCTGTCTGCCGCGCCCATCTGCTGATGAAATCTCTC ACGCGTCCCGTCCGCTCTGTCCGTTCTGATATTTCCGCGCGCTCGGCTCCGCTCTCTCA TATGGGGCACAACCTGTGTGGCGTGCAGGAAATCTTTAACGTCGCGGCGCGCAGGCGATT ACGGTCTGATGCTGGCGACCGCGCGCGCAITTCGGGGATGCCAGAAGTGGTTCTGTGC GCGGCTCTGGCTTCCGCGAGTCCGTAATTCGGGGATGCCAGAAGTGGTTCTGTGC TCGCCCGCGCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGCGGCACAACCTGTGTGGCTGCAGGAA TCGCCCGCGCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGCGGCACAACCTGTGTGGCTGCAGGAA ATCTTTAACGTCGCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTTCCGCTTCCGCGAGCGAGTCCGTA ATCTTTAACGTCGCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTTCCGCTTCCGCGAGCGAGTCCGTA CCGAAAGTGGATAAAAATTTTTGGCCCCGCAACGCTTTGTAAACCGAAGCCAAAGCGTCAG CCGAAAGTGGATAAAAATTTTTGGCCCCGCAACGCTTTGTAAACCGAAGCCAAAGCGTCAG GTCAGCCAAACGCTCGACCGCGCGGCTATCGATATGCCAGCCGGGCGCTGTAAGTACTG GTCAGCCAAACGCTCGACCGCGCGGCTATCGATATGCCAGCCGGGCGCTGTAAGTACTG GTGATCGCCGACAGCGCGCAACCCGATTTCGCTGCTTCTGACCTGCTCTCCAGGCT GTGATCGCCGACAGCGCGCAACCCGATTTCGCTGCTTCTGACCTGCTCTCCAGGCT GAGCACGTCGGGATTTCGAGGTGATCCTGCTGACGCGCTGATGCTGACATTGCCCGCAAG GAGCACGTCGGGATTTCGAGGTGATCCTGCTGACGCGCTGATGCTGACATTGCCCGCAAG GTGGCGAGGGCGGTAGAACGTCAACTTCAGAACTGCCGCGCGGACACCGCCCGGCGAG GTGGCGAGGGCGGTAGAACGTCAACTTCAGAACTGCCGCGCGGACACCGCCCGGCGAG GCCCTGAGCGCCAGTCTGATTTGACCAAAAGATTAGCGCAGTGCCTC GCCCTGAGCGCCAGTCTGATTTGACCAAAAGATTAGCGCAGTGCCTC

<i>purE</i> 61	<i>sucA</i> 9
ACGGCGATACCCAGCGGTTCCGCCGCTGGCGCAGCATTCCGCCAGTTGTCGGTTGCCG AGCGACTGGGCTACCATGCAATTCCGCCCGCAAATTTTTGAAATTTCTGGATGTCGCCGAC	CAGCGCATCGAATCCGGTCGTGCGGCCITTAGCGCTGACGAGAAAAACGTTCCCTGAAC AAACGCTTCTCTGAACGAACTGACCCCGCTGAAGGGCTGGAACGTAACGCTTCCCTGAAC
AGAACGCAAACTTGCTTCATAGCTCCGCCGCGGATCGGGATTTTCCAGAACTTCATCGG CATGTAGAAGTGGTTTCCGCCCATCGCACCCCGGATAAGCTGTTCCAGCTTCCGCCGAAACG	GAACTGACCCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTAICTGGGCGCCAAATCCCGGGTGCAGAA GAACTGACCCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTAICTGGGCGCCAAATCCCGGGTGCAGAA
TTTGGCTTTGGCCAGTCGGCAATGCGCTGATGCAGTCCGCGTCTGTTGCGCCAGAA GCGGAAAGAAACGGATGTCGGCAATGCGCTGATGCAGTCCGCGTCTGTTGCGCCAGAA	CGTTTCTCGCTCGAGGGGG-AGATGCGCTGATACCAATGCTGAAAGAGATGTTCCGCCAT CGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCAATGCTGAAAGAGATGTTCCGCCAT
TCTGCGGGCGAGCAGGGCGGCTTAGCGGCACCGGCTTTACCGATCGCCAGCGTACCCA TCTGCGGGCGAGCAGGGCGGCTTAGCGGCACCGGCTTTACCGATCGCCAGCGTACCCA	GCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGTGGTCTGGGGATGGCGCACCCGCGTGCCTGAAC GCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGTGGTCTGGGGATGGCGCACCCGCGTGCCTGAAC
CCGGAATCCGCGCGGCACTCGCACGATGGAGTAAAGGCTATCCACGCCCTGAGCGCAG CCGGAATCCGCGCGGCACTCGCACGATGGAGTAAAGGCTATCCACGCCCTGAGCGCAG	GTGCTGATCAACGTAAGTGGTAAAAAACCCGAGGATCTGTTCCAGCAATTTGCCGGTAAG GTGCTGATCAACGTAAGTGGTAAAAAACCCGAGGATCTGTTCCAGCAATTTGCCGGTAAG
CGCTTTGTACCGGCACCGGAGTACCGGGACCGGCTTTTTGCGCAATCATTCCCGGCA CGCTTTGTACCGGCACCGGAGTACCGGGACCGGCTTTTTGCGCAATCATTCCCGGCA	CATAAAGAACATCTGGGTACCGGCAGCTGAAATATCACATGGGCTTCTCGTCAAGATATC CATAAAGAACATCTGGGTACCGGCAGCTGAAATATCACATGGGCTTCTCGTCAAGATATC
GGTGTGCCGCGCCCGCGCGCGCAATAATCACTTGATAICCGTCTCTCCCGCGTIT GGTGTGCCGCGCCCGCGCGCAATAATCACTTGATAICCGTCTCTCCCGCGTIT	GAAACCGAAGCGGTCTGGTTCACCTGGCGCTGGCGTTTAAACCCATCGCATCTGGAAAT GAAACCGAAGCGGTCTGGTTCACCTGGCGCTGGCGTTTAAACCCATCGCATCTGGAAAT
CGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTGCGATGGGCGGAAACCACTTCTACATGGTGGC CGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTGCGATGGGCGGAAACCACTTCTACATGGTGGC	GTGAGCCCGGTGGTGGTGGTCCGTGCGCGCCCGCTCTGGACAGACTGGACGAAACCGAGC GTGAGCCCGGTGGTGGTGGTCCGTGCGCGCCCGCTCTGGACAGACTGGACGAAACCGAGC
GGACATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGGCGAATTGCATGGTAGCCAGTCGCT GGACATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGGCGAATTGCATGGTAGCCAGTCGCT	AGCAACAAAGTGTGGCGATCACTATTACGCGGACGCGCCGCGTACCAGCCAGGGCGTG AGCAACAAAGTGTGGCGATCACTATTACGCGGACGCGCCGCGTACCAGCCAGGGCGTG
	GTTCAG GTTCAG
<i>thrA</i> 64	
ATCCTGATGGCGGGCTTACCGCGGTAATGAAAAGGGTGAACCTGGTGGTGGTGGCCGCT GTGCTGGGCGTAATGGTCCGACTATTCCGCCCGGCTGCTGGCCCGGCTGCTGGGCGCT	
AATGGTTCGACTATTCCGCCCGGCTGCTGGCCGCTGTTTACGCGTACTGCTGTGAA AATGGTTCGACTATTCCGCCCGGCTGCTGGCCGCTGTTTACGCGTACTGCTGTGAA	
ATCTGGACTGACGTCGATGGCGTGTATACCTGTGACCCGCGTCAAGTGCCGGACGCCAGG ATCTGGACTGACGTCGATGGCGTGTATACCTGTGACCCGCGTCAAGTGCCGGACGCCAGG	
CTGCTGAAATCGATGCTTACCAGGAAGCGATGGAATCTCTTACTTCGGCGCCAAAGTC CTGCTGAAATCGATGCTTACCAGGAAGCGATGGAATCTCTTACTTCGGCGCCAAAGTC	
CTTACCCCTCGCACCAITACGCCCATCGCCAGTCCAGATCCCTGTCTGATTAATAAT CTTACCCCTCGCACCAITACGCCCATCGCCAGTCCAGATCCCTGTCTGATTAATAAT	
ACCGGTAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGATCGGCGCGTCCAGCGACGATGATAACCTA ACCGGTAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGATCGGCGCGTCCAGCGACGATGATAACCTA	
CCAGTTAAAGGGATCTTAACCTTAACAACATGGCGATGTTTAGCGTCTCCGGCCCGGGA CCAGTTAAAGGGATCTTAACCTTAACAACATGGCGATGTTTAGCGTCTCCGGCCCGGGA	
ATGAAAGGGATGATGGGATGGCGGCGCTGTTTTCCGCCCATGCTCGCGCCGGGATC ATGAAAGGGATGATGGGATGGCGGCGCTGTTTTCCGCCCATGCTCGCGCCGGGATC	
TCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCTCTCTGAGTACAGCATCAGTTTCTGTGTCCGCGAG TCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCTCTCTGAGTACAGCATCAGTTTCTGTGTCCGCGAG	
AGTGACTGC AGTGACTGC	

Muestra *Salmonella* 375.

<p style="text-align: center;"><i>aroC</i> 319</p> <pre> ATCCTTCGCCGATCTCCACGCTTTACCCGATTAATGCTCATCAGCGCATGGCGATGT ATCCTTCGCCGATCTCCACGCTTTACCCGATTAATGCTCATCAGCGCATGGCGATGT CCGCATCCAGTCGGTCAAATACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGACAGCCGCTCGCCATCA CCGCATCCAGTCGGTCAAATACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGACAGCCGCTCGCCATCA CCGTCACCTTCGCGCCGATGGAGTCAACCTCTTTTTTCAGCGCGCATCAGTTCGTCCA CCGTCACCTTCGCGCCGATGGAGTCAACCTCTTTTTTCAGCGCGCATCAGTTCGTCCA GCGCGTCAAGTTTGTCCGCATCGGGACNNNNNNNCGGATTAAGCTCAACCTGACGCCAGT GCGCGTCAAGTTTGTCCGCATCGGGACAAAAGAACGGATTAAGCTCAACCTGACGCCAGT CTTTAATCTCCACGGAATATCGCCATCTGGGTGAGGAGCCGCGGATTCGATGCCGA CTTTAATCTCCACGGAATATCGCCATCTGGGTGAGGAGCCGCGGATTCGATGCCGA ACTTTTCGCCAGGTATTTCTGTGCAATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGGTTTCAC ACTTTTCGCCAGGTATTTCTGTGCAATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGGTTTCAC GCGCGAAGAACGTCACCCGCCAGTAAATCGCGCAGGCCGATTTCTGCTCATAGGTGT GCGCGAAGAACGTCACCCGCCAGTAAATCGCGCAGGCCGATTTCTGCTCATAGGTGT AATCCGCGTGTCCCGGACGAAAAAC AATCCGCGTGTCCCGGACGAAAAAC </pre>	<p style="text-align: center;"><i>dnaN</i> 47</p> <pre> CGAGGTAAAGATAAAGTCGCCGACGTGCGCGGGATATTATTACTGCCGATCTGCACGCG ***** ATGGAGATGGTCGCGCGCTTACGCTTTCTCAGCCGATGAGCCAGGCGCCCTGCACGCG CAGCGGTTTTTCGCCACCGTCAAGCATAAGCATCAGTTCATCAGCCCTTTACGCGGCAC CAGCGGTTTTTCGCCACCGTCAAGCATAAGCATCAGTTCATCAGCCCTTTACGCGGCAC AATCACCAGTGGCTGGTAAAGACGCCCTCCAGCGGATTGAGCACACCGCCAGAGGTTG AATCACCAGTGGCTGGTAAAGACGCCCTCCAGCGGATTGAGCACACCGCCAGAGGTTG GCCGTCGGTCGCAACAGTGGCGAGTTCGCTGCCCTCCGTTTCAAACAGCATAACCGTTTAA GCCGTCGGTCGCAACAGTGGCGAGTTCGCTGCCCTCCGTTTCAAACAGCATAACCGTTTAA GTAGTAGCGCACATCCTGATGAGCCATCGAAAATCGGTCGCTTCAATCAGGCGCTTCAT GTAGTAGCGCACATCCTGATGAGCCATCGAAAATCGGTCGCTTCAATCAGGCGCTTCAT CGTGGCTCGCGCAGCGTAAATCAACTTCGCTTTGCCAGTCGTCAGATTTCGGAAATC CGTGGCTCGCGCAGCGTAAATCAACTTCGCTTTGCCAGTCGTCAGATTTCGGAAATC GGCGGACAGGAGTGTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGGCCAGAACGCCACCGCATCCGATC GGCGGACAGGAGTGTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGGCCAGAACGCCACCGCATCCGATC GCCTTCCAATGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGCGAGCCGCGGAGATATCAAAGAA GCCTTCCAATGAACGGCAATCTCCGCGCCCTCCGCGAGCCGCGGAGATATCAAAGAA TTTCGCGCCGCGCAGGTAGTGGCGCTGGCTCATGCGGCTGAGAAAGCGTAAACGCGCGC TTTCGCGCCGCGCAGGTAGTGGCGCTGGCTCATGCGGCTGAGAAAGCGTAAACGCGCGC GACCATCTCCAT GACCATCTCCAT </pre>
<p style="text-align: center;"><i>hemD</i> 49</p> <pre> AGCGACCTTAATATCTTCCAGCCAGTCCCGGGGAGGTGCGCCAGACGCTCACTGAC GCGACTCTGACGGAAAACGATCTGGTTTTTGGCCCTTTCACAGCAGCCGCTCGCCTTTGCT GACCAATAGCCGACAGCGTAGTAACAGTGTCTCACGATACCACTGGGAGTCAGCGACCA CAGCCAGCTCCAGCGGGATGGTCAAACTGGCTGCGTCCGCGGCTATTTCCGCGATT GAGCGTTGCAACATCTCGCCGCTGGTAACAACAAGTGTGTTACGCCGCGAGTATGCCA ***** GGCCGCTTGCAACATCTCGCCGCTGGTAACAACAAGTGTGTTACGCCGCGAGTATGCCA GCGCATCGCTTCTTCGCGCCATCGTAATGTTTCGCACATCGTTGATAACATTACAAAA GCGCATCGCTTCTTCGCGCCATCGTAATGTTTCGCACATCGTTGATAACATTACAAAA ACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTTTCGCCAGCAGTTTCGCGCCGCAATTGCC ACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTTTCGCCAGCAGTTTCGCGCCGCAATTGCC ACGCAAAATCAGCGCGGTTTTGCCGCAATATTTTGAATCAGGTAATTTAGCAAGGC ACGCAAAATCAGCGCGGTTTTGCCGCAATATTTTGAATCAGGTAATTTAGCAAGGC TTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTATGAAGGGC TTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTATGAAGGGC GAGCGCGTGGTCCGGCAATCGGAAATAGCGCGGCGACGCGCCAGTTTCGACCATC GAGCGCGTGGTCCGGCAATCGGAAATAGCGCGGCGACGCGCCAGTTTCGACCATC CCGCTGGAGCTGGGCGTGAGCAAAGGCGACGCGTGTGTGAAAGGGCAAAAACAGATC CCGCTGGAGCTGGGCGTGAGCAAAGGCGACGCGTGTGTGAAAGGGCAAAAACAGATC GTTTTCCGTCAGAGTCGC GTTTTCCGTCAGAGTCGC </pre>	<p style="text-align: center;"><i>hisD</i> 42</p> <pre> CCCAGCCAGGCGTGGCTTCCAGCAGGTTACGCGTCCCGTCCGCTCCGTCGGTCTGTATA ATTGCGGGATGCCAGAACGTTCTGTGCTCGCCGCCGCCATCGCTGATGAAATCCTC TTCCCGCGCGCTCGGCTCCGCTCTTCTCAACGGTGTGATGCTGGCGACGCGCGCGCA TATCGCGGCAACTGTGTGGCGTGCAGAAATCTTTAACGTCGCGCGCGCGCAGCGGATA TTGCGGGATGCCAGAACGTTCTGTGCTCGCCGCCGCCATCGCTGATGAAATCCTCT TTGCGGGATGCCAGAACGTTCTGTGCTCGCCGCCGCCATCGCTGATGAAATCCTCT ATCGCGGCAACTGTGTGGCGTGCAGAAATCTTTAACGTCGCGCGCGCGCAGCGGATTG ATCGCGGCAACTGTGTGGCGTGCAGAAATCTTTAACGTCGCGCGCGCGCAGCGGATTG CCGCTTGGCTTCGCGCAGGAGTCCGTACCGAAAAGTGGATAAAAATTTTGGCCCGGCA CCGCTTGGCTTCGCGCAGGAGTCCGTACCGAAAAGTGGATAAAAATTTTGGCCCGGCA ACGCCCTTTGTAACCGAAGCCAGCGTCAGGTGAGCCAGCCCTCGACGCGCGGCTATCG ACGCCCTTTGTAACCGAAGCCAGCGTCAGGTGAGCCAGCCCTCGACGCGCGGCTATCG ATATGCCAGCCGCGCGCTGAAAGTGTGGTATCGCCGACAGCGCGCAACCCGAGT ATATGCCAGCCGCGCGCTGAAAGTGTGGTATCGCCGACAGCGCGCAACCCGAGT TCGTCGCTTCGACCTGCTCTCCAGGACAGAACCGGTCGCGATTCCAGGTGATTCGCG TCGTCGCTTCGACCTGCTCTCCAGGACAGAACCGGTCGCGATTCCAGGTGATTCGCG TGACGCTGATGCTGACATTGC TGACGCTGATGCTGACATTGC </pre>

purE 12

```

GGTTTTCCAGAACTTCATCGGTTTGCCTTTGCGCCAGTCAGCGATGCGCTGATGCAATT
*****
AGCGACTGGGCTACCAATGCAATTGCGCCGCGAAATTTGTGACGCGATGCGCTGATGCAATT

CCGCGTCGTGTTGCGCCAGAACTGCGCGGCGAGCAGGGCGGCGTTAGCGGCACCGGCTT
*****
CCGCGTCGTGTTGCGCCAGAACTGCGCGGCGAGCAGGGCGGCGTTAGCGGCACCGGCTT

TACCGATCGCCAGCGTACCCACCGGAATGCCGCGCGGCATCTGCACAATGGAGTAAAGGC
*****
TACCGATCGCCAGCGTACCCACCGGAATGCCGCGCGGCATCTGCACAATGGAGTAAAGGC

TATCCACGCGCTGAGCGCAGCGCTTTGTACCGGCAGCCGAGTACCGGACCGCGCTT
*****
TATCCACGCGCTTAGCGCAGCGCTTTGTACCGGCAGCCGAGTACCGGACCGCGCTT

TTGCCGCAATCATTCCCGCGAGGTGCGCGCGCGCCCGCGCGCGCAATAATCACTTGAT
*****
TTGCCGCAATCATTCCCGCGAGGTGCGCGCGCGCCCGCGCGCGCAATAATCACTTGAT

ATCCGTTCTCTTCCCGGTTTTGCGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTCGATGAGCGG
*****
ATCCGTTCTCTTCCCGGTTTTGCGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTCGATGAGCGG

AAACCACTTCTACATGGTGCGGGACATCCAGAATTTCAAAAATTTGCGCGCGAATTGCA
*****
AAACCACTTCTACATGGTGCGGGACATCCAGAATTTCAAAAATTTGCGCGCGAATTGCA

TGGTAGCCCACTCGCT
*****
TGGTAGCCCACTCGCT
    
```

thrA 3

```

CCGCCAGCCAGATCCCGCTGATCACATGATCCTGATGGCGGGCTTTACCGCCGGTAATG
*****
GTGCTGGGCGTAATGGTCCGACTATTCGCGCCGCTGCTGGCCGCTGTTTACGCGCT

AAAAGGTTGAACTGGTGGTCTGGGCGTAATGGTCCGACTATTCCGCGCCGCTGCTGG
*****
GACTGCTGAAATCTGGTCTGGGCGTAATGGTCCGACTATTCCGCGCCGCTGCTGG

CCGCTGTTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTCGATGGCGTGTATACCT
*****
CCGCTGTTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTCGATGGCGTGTATACCT

GTGACCCGCGCAGGTGCCGGACGCCAGGCTGCTGAAATCGATGTCCTACCAGGAAGCGA
*****
GTGACCCGCGCAGGTGCCGGACGCCAGGCTGCTGAAATCGATGTCCTACCAGGAAGCGA

TGGAACTCTCTTACTTCGGCGCCAAAGTCTTACCCTCGCACCATAAACGCTATCGCCC
*****
TGGAACTCTCTTACTTCGGCGCCAAAGTCTTACCCTCGCACCATAAACGCTATCGCCC

AGTTCCAGATCCCCTGCTGATTAATAACCGGCAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGA
*****
AGTTCCAGATCCCCTGCTGATTAATAACCGGCAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGA

TCGGCGCATCCAGCGACGATGATAATCTGCCGGTTAAAGGGATCTCTAACCTTAACAACA
*****
TCGGCGCATCCAGCGACGATGATAATCTGCCGGTTAAAGGGATCTCTAACCTTAACAACA

TGGCGATGTTTAGCGTCTCCGCGCCGGGAATGAAAGGGATGATTGGGATGGCGGCGCTG
*****
TGGCGATGTTTAGCGTCTCCGCGCCGGGAATGAAAGGGATGATTGGGATGGCGGCGCTG

TTTTCGCGCATGCTCGCGCCGGGATCTCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCTCTCTCG
*****
TTTTCGCGCATGCTCGCGCCGGGATCTCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCTCTCTCG

AGTACAGCATCAGCTTCTGTGTCCGCGAGTACTGC
*****
AGTACAGCATCAGCTTCTGTGTCCGCGAGTACTGC
    
```

sucA 58

```

CACCGAAGAGAAAACGCTGGATCCAAACAGCGCATCGAATCCGGTCTGCGGCCCTTAGCGC
*****
AAACGCTTCTCTGAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGTGCCAAA

TGACGAGAAAAAACGCTTCTCTGAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATC
*****
TTCCCGGTCGGAACGCTTCTCTGAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATC

TGGTGCCTAAATCCCGGTCGGAACGTTCTCTGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATAC
*****
TGGTGCCTAAATCCCGGTCGGAACGTTCTCTGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATAC

CCATGCTGAAAGAGATGGTTCGCCATGCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGTGGTCTGG
*****
CCATGCTGAAAGAGATGGTTCGCCATGCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGTGGTCTGG

GGATGGCGCACCGCGTCTGCTGAACTGCTGATCAACGTACTGGGTAAAAAACCGCAGG
*****
GGATGGCGCACCGCGTCTGCTGAACTGCTGATCAACGTACTGGGTAAAAAACCGCAGG

ATCTGTTGACGAAATTCGCCGTAAGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGCAGCTGAAAT
*****
ATCTGTTGACGAAATTCGCCGTAAGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGCAGCTGAAAT

ATCACATGGGCTTCTCTGATGATCGAAACCGAAGCGGCTGGTTCACCTGGCGCTGG
*****
ATCACATGGGCTTCTCTGATGATCGAAACCGAAGCGGCTGGTTCACCTGGCGCTGG

CGTTTAAACCCATCGCATCTGAAATTTGAGCCCGGTTGATGGGCTCCGTGCGCGCCC
*****
CGTTTAAACCCATCGCATCTGAAATTTGAGCCCGGTTGATGGGCTCCGTGCGCGCCC

GTCTGGACAGACTGGACGAAACCGAGCAGCAAAAGTGTTCGCCATCACTATTACGCGG
*****
GTCTGGACAGACTGGACGAAACCGAGCAGCAAAAGTGTTCGCCATCACTATTACGCGG

ACGCGCGGTCGACCGCCAGGGCGTGGTTCAG
*****
ACGCGCGGTCGACCGCCAGGGCGTGGTTCAG
    
```

Muestra *Salmonella* 389.

<i>aroC</i> 11	<i>dnaN</i> 10
<pre> CCACACACGGATCGTGGCCGCTTTGGTGTATCATCTCGACTTCTTACCCCATCCGGTTGA GTTTTTCGTCGGGACACCGGATACACCTATGAGCGAAATACGGCTGCGCGATTAC TCSTACTCCCGGACAGTAATGCTGGAGTAGTTTCAGTCCATATGCGCCACAATGT CGTGGCGGTGGACGTTCTTCCGCGGTGAAACCGCGATGCGGTAGCGGACGGGCGATC GTTGCCGCTACTGATGCCACCGAGGATGCCCGCAGCGTGGTTGCTCTGAAAACCCCTGCG GCCAAGAAATACCTGGCGAAAAGTTCGGTATCGAAATCCGCGGCTGCCTGAACCCCTGCG CCGTGATTTTCATCGCATCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCCAGTTAAATCCTTCCGCGA CCGTGATTTTCATCGCATCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCCAGTTAAATCCTTCCGCGA TCTCCACGCTTTACACGCAATGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCGCGATCCAGTC TCTCCACGCTTTACACGCAATGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCGCGATCCAGTC GGTCAAACACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGCGCAGCGCTCGCCATCACCGTTACTTTTCG GGTCAAACACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGCGCAGCGCTCGCCATCACCGTTACTTTTCG CGCGATGGAGTCCGCTCTTTTTTTCAGCGCGCATCAGTTCGTCAGCGCGTCAAGTT CGCGATGGAGTCCGCTCTTTTTTTCAGCGCGCATCAGTTCGTCAGCGCGTCAAGTT TGTCCGCTCGGACAAAAGAAAGGATTAAGCTCAACCTGACGCGCATCTTAATCTCCA TGTCCGCTCGGACAAAAGAAAGGATTAAGCTCAACCTGACGCGCATCTTAATCTCCA GGGAAATGTCGCCCATCTGGCTCAGGACGCGCGGATTCGATACCGAACTTTTCCGCGA GGGAAATGTCGCCCATCTGGCTCAGGACGCGCGGATTCGATACCGAACTTTTCCGCGA GGTATTTCTTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGGTTTCAGCGCGGAAAGAAC GGTATTTCTTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGGTTTCAGCGCGGAAAGAAC GTCCACCGCACGTAATCGCGCAGCGGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGTG GTCCACCGCACGTAATCGCGCAGCGGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGTG CCGACGAAAAAC CCGACGAAAAAC </pre>	<pre> CCGCGAAATTTCTCATTGAGAGGATTGCCGCGGGGCAACCGCTGCTTGGGATATCG ATGGAGATGTTCCGCGCGGTTACGCTTTCTCAGCGCATGAGCCAGGCGCCTACCCTG CAGCCGCTTCCAGATGTTTATCCGGATTCTTCCGCGAAGACGCGGATTAATCCGGAAAG CCGCGCGGAAATCTTTGATATCTGCGCGGCTGCCGAGGGCGCGGATTCGCCGTT CGACCATCCACCAGCTTCGAGGTAAGATAAAGTCGCGGACGTCGCGCGGATATAITTA CAGTTGGAAAGCGATCGGATGCTGGTGCCTTCTGGCCGTAGCCGCTTCTCGCTGTACACA CTGCCAATCTGCACGCGCAGCGGGTTTTCCGCGCCGCTCGAGCATAAGCATCAGTTCAATC CTGCCAATCTGCACGCGCAGCGGGTTTTCCGCGCCGCTCGAGCATAAGCATCAGTTCAATC TCGCTTGCCTGCACGCGCAGCGGGTTTTCCGCGCCGCTCGAGCATAAGCATCAGTTCAATC TCGCTTGCCTGCACGCGCAGCGGGTTTTCCGCGCCGCTCGAGCATAAGCATCAGTTCAATC ACGCGTTTACGCGGCACAATCACCGAGTGGCTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGATTTGAG ACGCGTTTACGCGGCACAATCACCGAGTGGCTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGATTTGAG CACACCGCCAGACGGTGGCGTGGTGGGACAGTGGCGAGTTTCGCTACCTTCCGTTTCA CACACCGCCAGACGGTGGCGTGGTGGGACAGTGGCGAGTTTCGCTACCTTCCGTTTCA AACAGCATACCGTTAAGTAGTAGCGCATCTGATGGGCCATCGAAAATCGGTCGCT AACAGCATACCGTTAAGTAGTAGCGCATCTGATGGGCCATCGAAAATCGGTCGCT TCAATCAGGCGCTTTCATCGTGGCTGCGGCGCAGCTAAATCAACTTCGCTTTCGCACTG TCAATCAGGCGCTTTCATCGTGGCTGCGGCGCAGCTAAATCAACTTCGCTTTCGCACTG TCAAGATTCCGGAATTCGCGCGCAGGCGAGTAGACAGCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG TCAAGATTCCGGAATTCGCGCGCAGGCGAGTAGACAGCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGG CGCACGATCCGATCGCTTCCAACTGAAAGGCAATCTCCGCGCCCTCCGCGCAGCGCG CGCACGATCCGATCGCTTCCAACTGAAAGGCAATCTCCGCGCCCTCCGCGCAGCGCG CGCACGATCCGATCGCTTCCAACTGAAAGGCAATCTCCGCGCCCTCCGCGCAGCGCG CGCACGATCCGATCGCTTCCAACTGAAAGGCAATCTCCGCGCCCTCCGCGCAGCGCG CGGAGATATCAAAGAAATTCGCGCGCGCAGGATGTCGCGCTGGCTCATCGGCTGA CGGAGATATCAAAGAAATTCGCGCGCGCAGGATGTCGCGCTGGCTCATCGGCTGA GAAAGCGTAAAGCGCGGACCATCTCCAT GAAAGCGTAAAGCGCGGACCATCTCCAT </pre>
<i>hemD</i> 13	<i>hisD</i> 32
<pre> ATCAGCGACCTTAATATCTTCCACCCAGTTCGCGGGCGAGGTCGCGCAGCGCTCACT GCGACTCTGACGGAAGAGATCTGGTTTTTTCGCTTTTCACAGCAGCGGCTCGCTTTGCT GACGACCAATAGCCGACGCGTAGTAACCAAGTGTCTCAGATACCACTGGGAGTCAGCGA CAGCGCAGCTCCAGCGGATGGTGGAACTGGCTGCGTCCGCGCGCTAATTCGCGATT CCAGAGCGGTGCAACATCTCGCCGCTGGTAAACCAAGCGTTGTTACGCGCGGATG GGCGCACCTTGCACATCTCGCCGCTGGTAAACCAAGCGTTGTTACGCGCGGATG CCAGCGCATCGCTTCTTCCGCGCATCGTAATGTTTTGACACATCGTTGATAACATTACA CCAGCGCATCGCTTCTTCCGCGCATCGTAATGTTTTGACACATCGTTGATAACATTACA AAAAGTACTTCGGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTTCCGCGCAGGTTCCGCGCGCCATT AAAAGTACTTCGGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTTCCGCGCAGGTTCCGCGCGCCATT GCCACGAAAATCAGCGCGGTTTTGCCCGCAATATTTGTAATTCAGGTAATGTAGCAA GCCACGAAAATCAGCGCGGTTTTGCCCGCAATATTTGTAATTCAGGTAATGTAGCAA GGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTATGAAG GGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTATGAAG GGCGAGCGCGTGGTGGGCAATCGCGAAATAGCGCGGCGCAGCGCAGGCGATTTCGACC GGCGAGCGCGTGGTGGGCAATCGCGAAATAGCGCGGCGCAGCGCAGGCGATTTCGACC ATCCCGTGGAGCTGGGCGTGGAGCAAGGCGCAGCGGCTGTGTGAAAGGGCAAAAACCGAG ATCCCGTGGAGCTGGGCGTGGAGCAAGGCGCAGCGGCTGTGTGAAAGGGCAAAAACCGAG ATCGTTTTCCGTCAGAGTCG ATCGTTTTCCGTCAGAGTCG </pre>	<pre> GAAAGCTTCCATTCGCGCAGACGCTACCGCTGTAGATGTGGAAACCCAGCCAGGCGTG ATTGCGGATGTCAGAACGTAGTTCTGTGCTCGCGCCGCCATCGCTGATGAAATCCTC CGTTCGCGCAGGTTACCGCTCCGCTCAGCTCTGTGGTCTGTATATCCGCGCGGCTCG TATGCGGCGCACTGTGTGGCGTGCAGGAAATCTTTAAGCTGCGCGGCGCGCAGGCGATT GCTCCGCTCTTCAACGGTGTGATGCTGCGGACGCGCGCGGCAATTCGCGGATGTGAG GCGGCTTGGGCTTCCGCGCAGGTCGCTACCGAAAGTGGATAAAATTCGCGGATGTGAG AACGTAGTTCTGTGCTCGCGCCGCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGCGGCGCAACTG AACGTAGTTCTGTGCTCGCGCCGCCATCGCTGATGAAATCCTCTATGCGGCGCAACTG TGTGGCGTGCAGGAAATCTTTAAGCTCGCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTTGGCCCTC TGTGGCGTGCAGGAAATCTTTAAGCTCGCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTTGGCCCTC GGCAGCGAGTCCGTACCGAAAGTGGATAAAATTTTGGCCCGCGCAACGCTTTGTAACC GGCAGCGAGTCCGTACCGAAAGTGGATAAAATTTTGGCCCGCGCAACGCTTTGTAACC GAAAGCAAGCGTCAAGTCAAGCAAGCGCTCGACGCGCGGCTATCGATATGCTGCGCGG GAAAGCAAGCGTCAAGTCAAGCAAGCGCTCGACGCGCGGCTATCGATATGCTGCGCGG CCGCTGAAAGTACTGGTATCGCGCAGCGCGGCAACACCGGATTTCTGCTGCTGCTGAC CCGCTGAAAGTACTGGTATCGCGCAGCGCGGCAACACCGGATTTCTGCTGCTGCTGAC CTACTCTCCAGGCAAGACCGGTCGCGGATTCGCGGATGATCCTGCTGACGCTGATGCT CTACTCTCCAGGCAAGACCGGTCGCGGATTCGCGGATGATCCTGCTGACGCTGATGCT GACATTGCCGCAAGGTTGGCGGAGCGGTAGAACGCTCAACTGGCGGAACTGCCGCGCGG GACATTGCCGCAAGGTTGGCGGAGCGGTAGAACGCTCAACTGGCGGAACTGCCGCGCGG GACACCGCCCGCAGGCGCTGAGCGCCAGTCTGATTGTGACCAAAGATTTAGCGCAG GACACCGCCCGCAGGCGCTGAGCGCCAGTCTGATTGTGACCAAAGATTTAGCGCAG TGGCTC TGGCTC </pre>

purE 10

```

AGACGGCGATACCAGCGGTTGCGCCGCTGGCGCAGCATTGCGCCAGTGGCCGTTGC
.....
AGCGACTGGGCTACCATGCAATTGCGCCGCCGAAATTTTTGAAATTTCTGGATGTCGCCAC
.....
CGAGAAGCGAAACTTGCTTCATAGCGTCCCCCGGGATCGGGATTTTCCAGAACTTATC
.....
CATGTAGAAGTGGTTTCCGCCCATCGCACCCCGGATAAGCTGTTCAGCTTCGCCGAAACG
.....
GGTTTGCAGCTTTGCGCCAGTTCGGCAATGCGCTGATGCAAGTTCCGCGTCTGTGTTGCGCCAG
.....
GCGGAAGAGAACGATATGTGCGCAATGCGCTGATGCAAGTTCCGCGTCTGTGTTGCGCCAG
.....
AATCTGCGCTGCCAGCAGTTCGGCGTTAGCGGCACCGGCTTTACCGATCGCCAGCGTACC
.....
AATCTGCGCTGCCAGCAGTTCGGCGTTAGCGGCACCGGCTTTACCGATCGCCAGCGTACC
.....
CACCGAATGCCCGCGGCATCTGCACGATGGAGTAGAGGCTATCCACACCGCTTAGCGC
.....
CACCGAATGCCCGCGGCATCTGCACGATGGAGTAGAGGCTATCCACACCGCTTAGCGC
.....
AGCGCTTTGTACCGGTACGCGGATACCGGACCCAGCGTTTTTCCGCAATCATTCCCGG
.....
AGCGCTTTGTACCGGTACGCGGATACCGGACCCAGCGTTTTTCCGCAATCATTCCCGG
.....
CAGATGTCCGCGCCCGCGCGCAATAACTCACTTGATATCCGTTCTCTCCGCGCT
.....
CAGATGTCCGCGCCCGCGCGCAATAACTCACTTGATATCCGTTCTCTCCGCGCT
.....
TTCGGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTGCGATGGGCGGAAACCACTTCTACATGGTG
.....
TTCGGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTGCGATGGGCGGAAACCACTTCTACATGGTG
.....
CGGGACATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGCGCAATGCAATGGTAGCCAGTCCGCT
.....
CGGGACATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGCGCAATGCAATGGTAGCCAGTCCGCT
.....

```

thrA 4

```

GTACGGTGTGATGATCCGGTAGAAAAATGCTGGCGGTGGGCCATTACCTTGAATCTACC
.....
GTGCTGGGCGTAATGGTTCGACTATTCCGCCCGCTGCTGGCCGCTGTTACGCGCT
.....
GTGATATCGCGAATCGACTCGCCGATCGCCCGCAGCCAGATCCCAGCCGATCACATG
.....
GACTGCTGTGAAATCTGACTGACGTGATGGCGTGTATACCTGTGACCCAGCTCAGGTG
.....
ATCCTGATGGCGGGCTTTACCGCGTAATGAAAAGGGTGAAGTGGTGGTCTGGGCGCT
.....
CCGGACCCAGGCTGCTGAAATCGATGCTTACCAGGAAGCGATGGAAGTCTGGGCGCT
.....
AATGGTTCGACTATTCCGCCCGCTGCTGGCCGCTGTTACGCGCTGACTGCTGTGAA
.....
AATGGTTCGACTATTCCGCCCGCTGCTGGCCGCTGTTACGCGCTGACTGCTGTGAA
.....
ATCTGGACTGACGTGATGCGCTGTATACCTGTGACCCAGCTCAGGTGCCGACGCCAGG
.....
ATCTGGACTGACGTGATGCGCTGTATACCTGTGACCCAGCTCAGGTGCCGACGCCAGG
.....
CTGCTGAAATCGATGCTTACCAGGAAGCGATGGAATCTCTTACTTCGGCGCAAAGTC
.....
CTGCTGAAATCGATGCTTACCAGGAAGCGATGGAATCTCTTACTTCGGCGCAAAGTC
.....
CTTACCCCTCGCACCAATTACGCTATCGCCAGTTCAGATCCCTGTCTGATTAATAAT
.....
CTTACCCCTCGCACCAATTACGCTATCGCCAGTTCAGATCCCTGTCTGATTAATAAT
.....
ACCGCAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGATCGGCGCATCCAGCGACGATGATAATCTG
.....
ACCGCAATCCGAGGCGCCAGGAACGCTGATCGGCGCATCCAGCGACGATGATAATCTG
.....
CCGGTTAAAGGGATCTTAACCTTAACAACATGGCGATGTTAGCGCTCCCGCCCGGGA
.....
CCGGTTAAAGGGATCTTAACCTTAACAACATGGCGATGTTAGCGCTCCCGCCCGGGA
.....
ATGAAAGGGATGATGGGATGGCGCGCGTGTTCGCGCCATGCTCGCGCCGGGATC
.....
ATGAAAGGGATGATGGGATGGCGCGCGTGTTCGCGCCATGCTCGCGCCGGGATC
.....
TCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCCCTCTGAGTACAGCATCAGCTTCTGTGTCCGCGAG
.....
TCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCCCTCTGAGTACAGCATCAGCTTCTGTGTCCGCGAG
.....
AGTGACTGC
.....
AGTGACTGC
.....

```

sucA 13

```

AGCACCGAAGAGAAACGCTGGATCCAACAGCGCATCGAATCCGGTTCGCGCGCCCTTAGC
.....
AAACGCTTCCTGAACGAGCTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACTTATCTGGTGCCTAAA
.....
GCTGACGAGAAAAACGCTTCCTGAACGAGCTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACTTAT
.....
TTCCCGGCTGCGAAACGCTTCCTGAACGAGCTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACTTAT
.....
CTGGGTGCCAAATCCCGGCTGCGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATA
.....
CTGGGTGCCAAATCCCGGCTGCGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATA
.....
CCCATGCTGAAAGAGATGGTTCGCCATGCGGGTAAACAGCGGCATCGCGAAGTGGTCTG
.....
CCCATGCTGAAAGAGATGGTTCGCCATGCGGGTAAACAGCGGCATCGCGAAGTGGTCTG
.....
GGGATGGCGCACCGCGGTGCGCTGAACTGCTGATCAACTACTGGTAAAAAACCGCAG
.....
GGGATGGCGCACCGCGGTGCGCTGAACTGCTGATCAACTACTGGTAAAAAACCGCAG
.....
GATCTGTTGACGAATTTGCCGTAAGCATAAAGAACATCTGGTACCGCGACGTTAAG
.....
GATCTGTTGACGAATTTGCCGTAAGCATAAAGAACATCTGGTACCGCGACGTTAAG
.....
TATCAGTGGGCTTCTCGTCAAGATCGAAACCGAAGCGGCTGTTTACCTGCGCGCTG
.....
TATCAGTGGGCTTCTCGTCAAGATCGAAACCGAAGCGGCTGTTTACCTGCGCGCTG
.....
GCGTTAATCCATCGCATCTGAAATTTGAGCGCCGGTGGTGGTCTGGTCCGCGCC
.....
GCGTTAATCCATCGCATCTGAAATTTGAGCGCCGGTGGTGGTCTGGTCCGCGCC
.....
CGTCTGGACAGACTGGAACGAGCAGCAACAAGTGTGCGGATCACTATTACCGCC
.....
CGTCTGGACAGACTGGAACGAGCAGCAACAAGTGTGCGGATCACTATTACCGCC
.....
GACCGCGGCTGACCGCCAGGGCGTGGTTCAG
.....
GACCGCGGCTGACCGCCAGGGCGTGGTTCAG
.....

```


Muestra *Salmonella* 384.

<i>aroC</i> 230	<i>dnaN</i> 38
<p>CCTACACACGGATCGTGGCGCCCTTTGGTGATCATTTCGACTTCTTCAACCCATCCGGTTA GTTTTTCGTCGGGACACGGGATTACACCTATGAGCAGAAATACGGCTCGCGGATTAC ATCGTACGTCACGGTACGGTAAATGCTGGAGGTAGGTTTACGGCCATATGCGCCACAATG CGTGGCGGTGGACGTTCTTCCGCGGTGAAACCGCATGCGCGTAGCGGACGGGCGATC TGGTGCCTACTGATGCCACCCAGGATGCCCGCGCTGGTGTCTGAAAACCTG GCCAAGAAATACCTGGCGAAAAGTTGGGCATCGAAATCCGCGGTTGCCTGAGACCTG GCCGTGATTCATCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCACTAAATCCTTCGCGG GCCGTGATTCATCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCACTAAATCCTTCGCGG ATCTCCACGCTTTACCGCAITGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCGCGATCCAGT ATCTCCACGCTTTACCGCAITGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCGCGATCCAGT CGGTCAAATACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGACACCGCTCGCCATCAGCGTCACTTTC CGGTCAAATACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGACACCGCTCGCCATCAGCGTCACTTTC GCGCGATGGAGTCAACCTCTTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCGTCAGCGCGTCAAAT GCGCGATGGAGTCAACCTCTTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCGTCAGCGCGTCAAAT TTGTCGCGCATCGGGGCAAAAGAACGATTAAAGCTCAACCTGACGCGAGTCTTTAATCTCC TTGTCGCGCATCGGGGCAAAAGAACGATTAAAGCTCAACCTGACGCGAGTCTTTAATCTCC AGCGGAATGTCGCCACTCTGGCTCAGGCAACCGCGGATTTGATGCCGAATTTTCCGCC AGCGGAATGTCGCCACTCTGGCTCAGGCAACCGCGGATTTGATGCCGAATTTTCCGCC AGGTATTTCTTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGTTTTCAGCGCGGAAAGAA AGGTATTTCTTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGTTTTCAGCGCGGAAAGAA CGTCCACCGCCACGGTAATCGCGAGGCGGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGT CGTCCACCGCCACGGTAATCGCGAGGCGGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGT CCGGACGAAAAAC CCGGACGAAAAAC</p>	<p>CTCATTGAGAGGATTGCCGCGGGCAACGCCTGCTTGGAGATATCGCAGCCCGCTTC ATGGAGATGGTCCGCGCGTTACGCTTCTCAGCCCATGAGCCAGCGCCACTACCGTG CAGATGTTTATCCGGATTCTTCGGCAGACCGGATTAATCCGGGAAGCGACCATCCAC CCGGCGCGAAATTTCTTGTATCTGCCGCGCTGCCGAGGGCGCGAGATTGCCGTT CAGTTCGAGGTAAGATAAAGTCCGCGAGTGGCGCGGATATTATTACTGCCGATCTG CAGTGGAAAGCGATCGGATGCTGGTGGCTTCCGCGTAGCCGCTCTCCGCTGCTCTG CACGCGCAGCGGGTTTTCGCCACCGTCGAGCATACGATCAGTTCATCAGCGCTTACG CACGCGCAGCGGGTTTTCGCCACCGTCGAGCATACGATCAGTTCATCAGCGCTTACG CGGCACAATCACCGAATGGCTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGCAITGAGCACACCGCCAG CGGCACAATCACCGAATGGCTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGCAITGAGCACACCGCCAG ACGGTGGCCGTGGTTCGCAACAGTGGCGAGTTCGCTGCCCTCCGTTTCAAACAGCATACC ACGGTGGCCGTGGTTCGCAACAGTGGCGAGTTCGCTGCCCTCCGTTTCAAACAGCATACC GTTAAAGTAGTAGCGACATCCTGATGGGCCATCGAAACTGGGTCGCTTCAATCAGGCG GTTAAAGTAGTAGCGACATCCTGATGGGCCATCGAAACTGGGTCGCTTCAATCAGGCG CTTTCATCGTGGCTGGCGCAGCTAAATCAACTCGCTTTCGCCAGTCTCAAGATTCCG CTTTCATCGTGGCTGGCGCAGCTAAATCAACTCGCTTTCGCCAGTCTCAAGATTCCG GAAATCGGCGCAGCGAGCTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGCGCAGAAACGACCCAGCAT GAAATCGGCGCAGCGAGCTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGCGCAGAAACGACCCAGCAT CGGATCGCTTCCAACTGAAACGCAATCTCCGCGCCTCCGCGAGGCGCGGAGATATC CGGATCGCTTCCAACTGAAACGCAATCTCCGCGCCTCCGCGAGGCGCGGAGATATC AAAGAATTTCCGCGCGGCGAGTAGTGGCGCTGGCTCATCGCGCTGAGAAAGCGTAAC AAAGAATTTCCGCGCGGCGAGTAGTGGCGCTGGCTCATCGCGCTGAGAAAGCGTAAC GCGCGGACCATCTCCAT GCGCGGACCATCTCCAT</p>
<i>hemD</i> 252	<i>hisD</i> 427
<p>CGTTATCAGCGACCTTAATATCTTCCAGCCAGTTCCCGGGCGAGTGGCCAGACGTT GCGACGCTGACGGAAGCATCTGGTTTTTGCCTTTTACAGCACGCGCTCGCCTTTGCT CACTGACGACCAATAGCCGACAGCGTAGTAACCACTGCTCAGATACCACTCGGAGTCA CAGCCAGCTCCAGCGGGATGGCCGAAACTGGCCTGCTGCGCGGCTATTTCCGCGATT GCGACAGAGCGGTTGCAACATCTCGCCGCTGGTAACACAGCGTGTGTACGCGCCGAG GCGCGCACCAAGGTTGCAACATCTCGCCGCTGGTAACACAGCGTGTGTACGCGCCGAG TATGCCAGCGCATCGCTTCTTCCGCGCCATCGTAATGTTTCGACGCTGTTGATAACATT TATGCCAGCGCATCGCTTCTTCCGCGCCATCGTAATGTTTCGACGCTGTTGATAACATT CACAAAACTGACTTCGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTCCGCCAGTAGTTTCGCGGCCG CACAAAACTGACTTCGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTCCGCCAGTAGTTTCGCGGCCG CGTTCGACGCAAAATCAGCGCGCTTCCCGCAATATTTGTAATCAGGTAATGTGA CGTTCGACGCAAAATCAGCGCGCTTCCCGCAATATTTGTAATCAGGTAATGTGA GCAAGGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTAT GCAAGGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAACCCGCTAACGGTAT GAAGGGCAGCGCCGTTGGTGGCGCAATCGCGAAATAGCGCGGACGAGGCCAGTTTC GAAGGGCAGCGCCGTTGGTGGCGCAATCGCGAAATAGCGCGGACGAGGCCAGTTTC GGCCATCCCGCTGGAGCTGGGCGTGGCAAGGCGCAGCGCTGCTGTGAAAGGGCAAAAA GGCCATCCCGCTGGAGCTGGGCGTGGCAAGGCGCAGCGCTGCTGTGAAAGGGCAAAAA CCAGATCGTTTTCCGTCAGCGTCG CCAGATCGTTTTCCGTCAGCGTCG</p>	<p>AACGTTCCATTACGCGCAGACGCTACCGCTGTAGATGTGAAACCCAGCCAGCGGTGG ATTGGGGATGCGCAGAAAGTGGTCTGTGCTCGCCCGCCCATCGCTGATGAAATCCTC TTGCCAGCAGGTTACGCGTCCCGTCCGCTGCTGCGGCTGTATATTCCCGCGGCTCGGC TATGCGGCAACTGTGTGGCGTCCAGAAATCTTTAACGTCGGCGGCGCGAGGCGATT TCCGCTCTTCTCAACGGTGTGATGCTGGCGACCGCGCGCGCATTGGGGATGCCAGAA GCGCTCTGGCCTTCGCGAGCGAGTCCGTACCGAAAGTGGATAATGCGGGATGCCAGAA GGTGGTCTGTGCTCGCCGCCCATCGCTGATGAAATCTCTATGCGGCGCAACTGTG GGTGGTCTGTGCTCGCCGCCCATCGCTGATGAAATCTCTATGCGGCGCAACTGTG TGGCTGACAGAAATCTTTAAGCTCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTCTGGCCTTCGG TGGCTGACAGAAATCTTTAAGCTCGCGCGCGCAGGCGATTGCCGCTCTGGCCTTCGG CAGCGAGTCCGTACCGAAAGTGGATAAAATTTTTGGCCCCGCAACGCTTTGTAACCGA CAGCGAGTCCGTACCGAAAGTGGATAAAATTTTTGGCCCCGCAACGCTTTGTAACCGA AGCCAAGCTCAGGTCAGCCAGCGCTTACGGCGCGGCTATCGATATGCTGCCGGGCC AGCCAAGCTCAGGTCAGCCAGCGCTTACGGCGCGGCTATCGATATGCTGCCGGGCC GTCTGAAGTACTGGTATCGCCGACAGCGCGCAACACCGGATTTCGTGCGCTGTGACCT GTCTGAAGTACTGGTATCGCCGACAGCGCGCAACACCGGATTTCGTGCGCTGTGACCT GCTCTCCAGGCTGAGCACGGTCCGGATTCCAGGTTGATGCTGCTGACGCTGATGCTGA GCTCTCCAGGCTGAGCACGGTCCGGATTCCAGGTTGATGCTGCTGACGCTGATGCTGA CATTGCCGCAAGGTTGGCGGAGGCGGTGAAAGCTCAACTGGCGGAACTGCCGCGCGGGA CATTGCCGCAAGGTTGGCGGAGGCGGTGAAAGCTCAACTGGCGGAACTGCCGCGCGGGA CACCGCCCGCAGGCGCTGAGCGCCAGTCCGCTGATTGTGACCAAAAGATTAGCGCAGTG CACCGCCCGCAGGCGCTGAGCGCCAGTCCGCTGATTGTGACCAAAAGATTAGCGCAGTG</p>

purE 236

```

GGCCAGACGGGATACCCAGCGGTTGCCCCGCTGGCGCAGCATTGCGCCAGTTGTCCG
*****
AGCGACTGGGCTACCATGCAATTGCGCCGCCAAATTTTTGAAATTTCTGGATGTCCCGCAC
TTGCCGAGAACGCAAACTTGCTTCATAGCGTCCCCCGCGGATCGGGATTTTCCAGAACTT
*****
CATATCGAAGTGGTTTCCGCCCATCGCACCCCGGATAAGCTGTTCAGCTTCGCCGAAACG
CAICGGTTTGGCTTTGCGCCAGTCCGCGATGCGCTGATGCAAGTTCCGCGTCTGTTGGG
*****
GCGGAAGAGAACGGATATCAAGGTCGGCGATGCGCTGATGCAAGTTCCGCGTCTGTTGGG
CCAGAATCTGCGCGCGAGCAGGGCGCGGTTAGCCGACCCGGCTTTACCGATCGCCAGCG
*****
CCAGAATCTGCGCGCGAGCAGGGCGCGGTTAGCCGACCCGGCTTTACCGATCGCCAGCG
TACCCACCGGAATGCCGCGCGCATCTGCACAATGGAGTAAAGGCTATCCACGCCGCTTA
*****
TACCCACCGGAATGCCGCGCGCATCTGCACAATGGAGTAAAGGCTATCCACGCCGCTTA
GCGCAGCGCTTTGTACCGCGCAGCCGAGTACCGGGACCGAGCTTTTTCGCCCAATCAITC
*****
GCGCAGCGCTTTGTACCGCGCAGCCGAGTACCGGGACCGAGCTTTTTCGCCCAATCAITC
CCGGCAGGTGCGCGCGCGCCGCCGCGCGGCAATAACTCACTTGATATCCGTTCTCTTCCG
*****
CCGGCAGGTGCGCGCGCGCCGCCGCGCGGCAATAACTCACTTGATATCCGTTCTCTTCCG
CGGGCAGGTGCGCGCGCGCGCCGCCGCGCGGCAATAACTCACTTGATATCCGTTCTCTTCCG
CCGTTTCCGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTCGATGGCGGAAACCACTTCGATAT
*****
CCGTTTCCGCGAAGCTGAACAGCTTATCGGGGTCGATGGCGGAAACCACTTCGATAT
GGTGGCGGACATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGCGCAATTCATGGTAGCCAGTCGC
*****
GGTGGCGGACATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGCGCAATTCATGGTAGCCAGTCGC

```

T
|
T

thrA 209

```

CTGTTGGCGGTGGGCCATTACCTTGAATCTACCCTCGATATCGCGGAATCGACTCGCCGT
*****
GTGCTGGCCGTAATGGTTCCGACTAATCTGCGCGCTGCTGGCCGCTGTTTACGCGCT
ATCGCCGCGAGCCAGATCCCGGCCGACACATGATCCTGATGGCGGGATTTACTGCTGGT
*****
GACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTGATGGCGTGTATACCTGTGACCCCGCTCAGGTG
AATGAAAAGGGTGAATGGTGGTGGTGGCCGTAATGGTTCCGACTAATCTGCGCGCGTG
*****
CCGGACGCCAGGCTGCTGAAAAGTGGTGGCCGTAATGGTTCCGACTAATCTGCGCGCGTG
CTGGCCGCTGTTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTGATGGCGTGTAT
*****
CTGGCCGCTGTTTACGCGCTGACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTGATGGCGTGTAT
ACCTGTGACCCGCGTCAGGTGCCGCGACGCGAGGCTGTGAAATCGATGTCCTACCGAGAA
*****
ACCTGTGACCCGCGTCAGGTGCCGCGACGCGAGGCTGTGAAATCGATGTCCTACCGAGAA
GCGATGGAATCTCTTACTTCGGTGCCAAAGTCTTCAACCCTCGCACCAATTACGCCTATC
*****
GCGATGGAATCTCTTACTTCGGTGCCAAAGTCTTCAACCCTCGCACCAATTACGCCTATC
GCCAGTTCAGATCCCCTGTCTGATTAATAATACCGGCAATCCGCGAGGCCAGGAAAG
*****
GCCCAGTTCAGATCCCCTGTCTGATTAATAATACCGGCAATCCGCGAGGCCAGGAAAG
CTGATCGCGCGTCCAGCGAGATGATAATCTGCCGGTTAAAGGGATCTCTAACCTTAAT
*****
CTGATCGCGCGTCCAGCGAGATGATAATCTGCCGGTTAAAGGGATCTCTAACCTTAAT
AACATGGCGATGTTTAGCGTCTCCGGCCCGGAAATGAAAAGGGATGATTGGGATGGCGGCG
*****
AACATGGCGATGTTTAGCGTCTCCGGCCCGGAAATGAAAAGGGATGATTGGGATGGCGGCG
CGTGTGTTTCCGCCATGTCTCGCGCCGGGATCTCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCTCT
*****
CGTGTGTTTCCGCCATGTCTCGCGCCGGGATCTCGGTGGTGTCTATTACCCAGTCTCT
TCTGAGTACAGCATCAGTTTCTGTGTGCCGAGAGTGATTGC
*****
TCTGAGTACAGCATCAGTTTCTGTGTGCCGAGAGTGATTGC

```

sucA 216

```

CGACGCGCTCAAAACAGACCTACTGCGGCCCGATTGGCGCTGAGTATATGCACATCACCAG
*****
AAACGCTTCTGAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGCGCCAAA
CACCGAAGAAAAACGCTGGATCCAACAGCGCATCGAATCCGGTCCGCGCGCCCTTAGTGC
*****
TTCCCGGTTGCGAAACGTTTCTGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATACCTATCTGAAA
TGACGAGAAAAACGCTTCTGAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCT
*****
GAGATGGTTCAAACGCTTCTGAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCT
GGGCGCAAATCCCAGGTTGCGAAACGTTTCTGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATACC
*****
GGGCGCAAATCCCAGGTTGCGAAACGTTTCTGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATACC
GATGCTGAAAAGAGATGGTTCCGCTGCGGGTAAACAGCGGCTCGCGAAGTGGTGTGGG
*****
GATGCTGAAAAGAGATGGTTCCGCTGCGGGTAAACAGCGGCTCGCGAAGTGGTGTGGG
GATGGCGCACCGCGTCCGCTGAAACGTTTCTGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATACC
*****
GATGGCGCACCGCGTCCGCTGAAACGTTTCTGCTCGAGGGGGGAGATGCGCTGATACC
TCTGTTGACGAGTTTGGCGGTAACAATAAAGAACATCTGGGTACCGGCGACGTGAAGTA
*****
TCTGTTGACGAGTTTGGCGGTAACAATAAAGAACATCTGGGTACCGGCGACGTGAAGTA
TCACATGGGCTTCTGCTCAGATATCGAAAACCGAAGGGCGTCTGGTTCACTAGCGCTGGC
*****
TCACATGGGCTTCTGCTCAGATATCGAAAACCGAAGGGCGTCTGGTTCACTAGCGCTGGC
GTTTAAACCAATCGCATCTGGAATTTGTGAGCCCGGTTGGTGGGCTCCGTCGTCGCCG
*****
GTTTAAACCAATCGCATCTGGAATTTGTGAGCCCGGTTGGTGGGCTCCGTCGTCGCCG
TCTGGACAGACTGGACGAAACCGAGCAGCAAAAAGTGTGCGGATCACTATTACGGCGGA
*****
TCTGGACAGACTGGACGAAACCGAGCAGCAAAAAGTGTGCGGATCACTATTACGGCGGA
CGCCGCGGTGACCGGCCAGGGCGTGGTTCAG
*****
CGCCGCGGTGACCGGCCAGGGCGTGGTTCAG

```

Muestra *Salmonella* Enteritidis.

<i>aroC</i> 5	<i>dnaN</i> 5
ACACGGATCGTGGCGCCCTTTGGTGGATCAITTCGACTTCTTCAACCCATCCGGTTGATCGT GTTTTTCGTCCGSGACACCGGATTACACCTATGAGCAGAAATACGGCCTGCGCGATTAC ACGTCCCGGACGGTAATGCTGGAGGTAGGTTTACAGGCCATATGCGCCACAATGTGTG CGTGGCGGTGGACGTTCTTCCGCGGTGAAACCGCGATGCGCGTAGCGGACAGGGGCGATC CCCGCTACTGATACCACCGAGGATGCCGCCAGCGTGGTTGCTGTGAAAAACCTGCGCCGT GCCAAGAAATACCTGGCGGAAAAGTTCGGCATCGAAATCCGCGGCTGCACCTTCCGCGGT GATTCATCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCAGTTAAATCCTTCCGCGATCTC GATTCATCGCGATTCTGGCTGCCGCGCAGCGCCACCAGTTAAATCCTTCCGCGATCTC CAGCGCTTTCACCGCAITGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCGCGATCCAGTCGGTC CAGCGCTTTCACCGCAITGATGCTCATCAGCGCATGGGCGATGTCGCGATCCAGTCGGTC AAAAACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGCGCAGCGCCTGCCATCACCGTCACTTTCCGCGC AAAAACCGGTTCCGCAAGCCCTGCCGCGCAGCGCCTGCCATCACCGTCACTTTCCGCGC GATGGAGTCGCCCTCTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCGTCCAGCGCGTCAAATTTGTC GATGGAGTCGCCCTCTTTTTCAGCGCGCGCATCAGTTCGTCCAGCGCGTCAAATTTGTC CGCATCGGGACAAAAGAAGCGGATTAAGCTCAAACCTGACGCGCATCTTAAATCTCCAGCG CGCATCGGGACAAAAGAAGCGGATTAAGCTCAAACCTGACGCGCATCTTAAATCTCCAGCG AATATCGCCCATCTGGGTGACGCGCAGCGCGGATTTTCGATGCCGAACCTTTCCGCGAGGTA AATATCGCCCATCTGGGTGACGCGCAGCGCGGATTTTCGATGCCGAACCTTTCCGCGAGGTA TTTCTTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGTTTTCAGCGCGGAAAGAACGTCC TTTCTTGGCGATCGCCCTGCCGCTACGCGCATCGCGTTTTCAGCGCGGAAAGAACGTCC ACCGCCACGGTAATCGCGCAGGCGGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGTCCCGG ACCGCCACGGTAATCGCGCAGGCGGATTTCTGCTCATAGGTGTAATCCGCGTGTCCCGG ACGAAAAAC ACGAAAAAC	GAATTTCTCATTGAGAGGATTGCTGCGCGGCAACCGCTGCTTGGAGATATCGCAGCC ATGGAGATGGTGCAGCGCGTTACGCTTCTCAGCGCATGAGCCGGGCGCCACTACCCTG CGCTTCCAGATGTTTATCCGGATTCTTCCGCGAAGACGCGACGTAATCCGCGAAGCGACC CCGGCGCGGAAATCTTTGATATCTGCCGCGGCTGCCGAGGGCGCGGAGATTGCGCTT ATCCACAGCTTCGAGGTGAAGATAAAGTCCGCAACGTCGCGCGGATATTATTACTGCC CAGTGGAGGGGATCGGATGCTGGTGCCTTCCGCGTAGCCGCTTCTCCGCTGTCTACG GATCTGCAGCGCAGCGGGTTTTACCAGCGCTGAGCATAACGATCAGTTCAATCACGCC *** CTGCTGCAGCGCAGCGGGTTTTACCAGCGCTGAGCATAACGATCAGTTCAATCACGCC TTTACGCGGCACAATCACCGAGTGGCTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGATTGAGCACAC TTTACGCGGCACAATCACCGAGTGGCTGGGTAAGACGCTTCCAGCGGATTGAGCACAC CGCCAGGCGGTGGCCGTGGTGCAGCAGTGCAGCTTCCGCTTCCGTTCAAACAG CGCCAGGCGGTGGCCGTGGTGCAGCAGTGCAGCTTCCGCTTCCGTTCAAACAG CATACCGTTTAAAGTAGTAGCGCATCCTGATGAGCCATCGAAAACTGGGTCCGTTCAAT CATACCGTTTAAAGTAGTAGCGCATCCTGATGAGCCATCGAAAACTGGGTCCGTTCAAT CAGGCGCTTCATCGTGGCTGCCGCGCAGCGTAAATCAACTTCGCTTGGCAGTCCGTAAG CAGGCGCTTCATCGTGGCTGCCGCGCAGCGTAAATCAACTTCGCTTGGCAGTCCGTAAG ATTCCGGAAATCGGCGCAGGCGCGTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGCGCAGAACGCAC ATTCCGGAAATCGGCGCAGGCGCGTAGACAGCGAGAAGCGGCTACGCGCAGAACGCAC CAGCATCCGATCGCTTCCAATGAACGGAATCTCCGCGCCCTCCGCGAGGCGCGGCA CAGCATCCGATCGCTTCCAATGAACGGAATCTCCGCGCCCTCCGCGAGGCGCGGCA GATATCAAAGAAATTTCCGCGCGGCGACGGTAGTGGCGCCCGCTCATCGCGTGTGAAAG GATATCAAAGAAATTTCCGCGCGGCGACGGTAGTGGCGCCCGCTCATCGCGTGTGAAAG CGTAACGCGCGGACCATCTCCAT CGTAACGCGCGGACCATCTCCAT
<i>hemD</i> 3	<i>hisD</i> 7
GTGCGCCAGCGTTCTACTGACGACCAATAGCCGACAGCGTAGTAACAGTGTCTCACGATA GCGACACTGACGGAAGACGATCTGGTTTTTGGCCCTTTCACAGCAGCGGTCGCTTTGCT CCACTCGGGAGTCAGCGACAGAGCCGTTGCAACATCTCGCCCTGGTAACAACAAGCGT CAGCGCCAGCTCCAGCGGATGGCGATTGCAACATCTCGCCCTGGTAACAACAAGCGT TGTTACGCGCGAGTATGCGCAGCGCATCGCTTCTTCCGCGCAATCGTAATGTTTGCACAC TGTTACGCGCGAGTATGCGCAGCGCATCGCTTCTTCCGCGCAATCGTAATGTTTGCACAC TCGTTGATAACATTACAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTTCGCCAG TCGTTGATAACATTACAAAACTGACTTCGGCTCCGCGAGCTGTGAGGTTTTCGCCAG CAGTTCGCGCGCCATTGCCACGCAAAATCAGCGCGGTTTTGCCGCAATATTTGTAA CAGTTCGCGCGCCATTGCCACGCAAAATCAGCGCGGTTTTGCCGCAATATTTGTAA TTCAGGTAATGTAGCAAGGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAA TTCAGGTAATGTAGCAAGGCTTCGCTGATTTCCCGATCCAATGGATAACGAATATCGAA CCCGCTAACGGTATGAAGGGCGAGCGCGTGGTGCGCCAATCGCGAAATAGCGGGCGA CCCGCTAACGGTATGAAGGGCGAGCGCGTGGTGCGCCAATCGCGAAATAGCGGGCGA CGCAGGCCAGTTTCGGCCATCCCGCTGGAGCTGGGCGTGAGCAAAGGCGACGCGCTGCTG CGCAGGCCAGTTTCGGCCATCCCGCTGGAGCTGGGCGTGAGCAAAGGCGACGCGCTGCTG TGAAAGGGCAAAAACAGATCGTTTTCCGTCAGTGTCCG TGAAAGGGCAAAAACAGATCGTTTTCCGTCAGTGTCCG	TGTAGATGTTGAAACCCAGCAGCGGCTGGCTTGCAGCAGGTTACGCGTCCCGTCCGCTC ATTGCGGGATGTGAGAACGTGGTTCTGTGCTGCCGCGCCCATCGCTGATGAAATCCTC TGTGGTCTGTATATCCCGCGGCTCGGCTCCGCTCTTCTCAACGGTGTGATGCTGGC TATGCGCGCAACTGTGTGGCTGCAGAAATCTTAAAGTCCGCGCGCGCAGCGGAT GACGCGCGCGGCTATTGCGGGATGTGAGAACGTGGTTCTGTGCTGCCGCGCCCATCGC * GCGCTCTGGCCTATTGCGGGATGTGAGAACGTGGTTCTGTGCTGCCGCGCCCATCGC TGATGAAATCCTCTATGCGCGCAACTGTGTGGCTGCAGGAAATCTTAAAGTCCGCGG TGATGAAATCCTCTATGCGCGCAACTGTGTGGCTGCAGGAAATCTTAAAGTCCGCGG CGCGCAGCGGATTGCCGCTGTGGCTTCCGCGCAGGATCCGTACCAGAAATGGATAAAAT CGCGCAGCGGATTGCCGCTGTGGCTTCCGCGCAGGATCCGTACCAGAAATGGATAAAAT TTTTGGTCCCCGGCAACGCTTTGTAACCGAAGCAAAAGTCAAGTCAAGGCAAGCGCTCG TTTTGG-CCCCGGCAAGCGCTTTGTAACCGAAGCAAAAGTCAAGTCAAGGCAAGCGCTCG ACGGCGCGGCTATCGATATGCCAGCCGGCGCTGTAAGTACTGGTGTGATCGCGCAGCG ACGGCGCGGCTATCGATATGCCAGCCGGCGCTGTAAGTACTGGTGTGATCGCGCAGCG GCGCAACACCGGATTTGCTGCTTCTGACTGCTCTCCAGGCTGAGCACGGTCCGGATT GCGCAACACCGGATTTGCTGCTTCTGACTGCTCTCCAGGCTGAGCACGGTCCGGATT CGCAGGTGATTCTGCTGACGCTGATGCTGACATTGCCTGCAAGTGGCGGAGGCGGATG CGCAGGTGATTCTGCTGACGCTGATGCTGACATTGCCTGCAAGTGGCGGAGGCGGATG AACGTCAACTGGCAGAACTGCCGCGCGGACACCCGCGCAGGCGGCTGAGCGCCATC AACGTCAACTGGCAGAACTGCCGCGCGGACACCCGCGCAGGCGGCTGAGCGCCATC GTCGATTGTGACCAAGATTTAGCGCAGTGCCTC GTCGATTGTGACCAAGATTTAGCGCAGTGCCTC

purE 6

```

GCGATACCCAGCGSTTCGCCCGCCTGGCGCAGCATTGCGGCCAGTTGTCCGTTGCCGAGA
*****
AGCGACTGGGCTACCATGCAATTCGCGCCGAAATTTTTGAAATTTCTGGATGTCGCCGCAC
*****
ACGCAAACTTGCTTCATAGCGTCCCCCGGGATCGGGATTTTCCAGTACTTCATCGSTTT
*****
CATGTAGAAGTGGTTCCGCCCATCGCACCCCGGATAAACTGTTGAGCTTCGCCGAAACG
*****
GCGCTTTGCGCCAGTCGGCAATGCGCTGATGCAATTCGCCGTCGTGTTGCCGCAAACTC
*****
GCGAAGAGAACGCTCGGCAATGCGCTGATGCAATTCGCCGTCGTGTTGCCGCAAACTC
*****
GCGCGCGAGCAGGGCGGCTTAGCGGCACCGGCTTTACCGATCGCCAGCGTACCCACCG
*****
GCGCGCGAGCAGGGCGGCTTAGCGGCACCGGCTTTACCGATCGCCAGCGTACCCACCG
*****
GAATGCCGCGCGCATCTGCACAATGGAGTAGAGGCTAICACGCGCCTTAGCGCAGCGC
*****
GAATGCCGCGCGCATCTGCACAATGGAGTAGAGGCTAICACGCGCCTTAGCGCAGCGC
*****
TTTGTACCGGCAGCCGAGTACCGGGACCGAGCGTTTTTCCGCAATCATTCCCGCAGGT
*****
TTTGTACCGGCAGCCGAGTACCGGGACCGAGCGTTTTTCCGCAATCATTCCCGCAGGT
*****
GCGCCGCGCGCCCGCGCGGCAATAATCACTTGATATCCGTTCTTCCCGCGTTTCGG
*****
GCGCCGCGCGCCCGCGCGGCAATAATCACTTGATATCCGTTCTTCCCGCGTTTCGG
*****
CGAAGCTGAACAGTTTATCGGGGTGCGATGGGCGAAACCACTTCTACATGTTGCGGGA
*****
CGAAGCTGAACAGTTTATCGGGGTGCGATGGGCGAAACCACTTCTACATGTTGCGGGA
*****
CATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGCGCAATTCATGTTAGCCAGTCGCT
*****
CATCCAGAATTTCAAAAATTTCCGCGCGCAATTCATGTTAGCCAGTCGCT
*****

```

thrA 11

```

GTCACGGTGATTGATCCGGTAGAAAAATTTGCTGGCGGTGGGCCATTACCTTGAATCTACC
*****
GTGCTGGGCGGTAATGGTCCGACTATTCCGCCCGCTGCTGGCGCCTGTTACGCGCT
*****
GTCGATATCGCGAATCGACTCGCCGTATCGCCCGCAGCCAGATCCCGCGATCACATG
*****
GACTGCTGTGAAATCTGGACTGACGTGATGGCGTGTATACCTGTGACCCAGTCAGGTG
*****
ATCCTGATGGCGGGCTTTACCGCCGGTAATGAAAAGGTTGAATGGTGGTCTGGGCCGT
*****
CCGGACCGCAGGCTGCTGAAATCGATGTCCTACCGAAGCGATGGAAGTGTCTGGGCCGT
*****
AATGGTTCGACTATTCCGCCCGCTGCTGGCCGCTGTTACGCGCTGACTGCTGTGAA
*****
AATGGTTCGACTATTCCGCCCGCTGCTGGCCGCTGTTACGCGCTGACTGCTGTGAA
*****
ATCTGGACTGACGTGATGGCGTGTATACCTGTGACCCAGTCAGGTGCCGACGCCAGG
*****
ATCTGGACTGACGTGATGGCGTGTATACCTGTGACCCAGTCAGGTGCCGACGCCAGG
*****
CTGCTGAAATCGATGTCCTACCGAAGCGATGGAATCTCTTACTTCGGCCCAAAGTC
*****
CTGCTGAAATCGATGTCCTACCGAAGCGATGGAATCTCTTACTTCGGCCCAAAGTC
*****
CTTACCCTCGCACCATACGCTATCGCCAGTTCAGATCCCCGTGCTGATTAATAAT
*****
CTTACCCTCGCACCATACGCTATCGCCAGTTCAGATCCCCGTGCTGATTAATAAT
*****
ACCGCAATCCGCGAGGCCCGAAGCGCTGATCGGCGCATCCAGCGACGATGATAATCTG
*****
ACCGCAATCCGCGAGGCCCGAAGCGCTGATCGGCGCATCCAGCGACGATGATAATCTG
*****
CCGGTTAAAGGGATCTCTAACTTAAACAATGGCGATGTTTAGCGTCTCCGGCCCGGA
*****
CCGGTTAAAGGGATCTCTAACTTAAACAATGGCGATGTTTAGCGTCTCCGGCCCGGA
*****
ATGAAAGGGATGATTGGGATGGCGCGCGTGTTCGCCGCCATGTCGCGCCGGGATC
*****
ATGAAAGGGATGATTGGGATGGCGCGCGTGTTCGCCGCCATGTCGCGCCGGGATC
*****
TCGGTGGTCTCATTACCCAGTCCCTCTGAGTACAGCATCAGCTTCTGTGTGCCGAG
*****
TCGGTGGTCTCATTACCCAGTCCCTCTGAGTACAGCATCAGCTTCTGTGTGCCGAG
*****
AGTGACTGC
*****
AGTGACTGC

```

sucA 6

```

CAGACCTACTGCGGCCGATTGGCGCTGAGTATATGCACATCACCGACCCGAAAGAGAAA
*****
AAACGCTTCTGAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGTGCCAAA
*****
CGCTGGATCCAACGCGCATCGAATCCGCTCGTGGCCCTTTAGCGCTGACGAGAAAAAA
*****
TTCCCGGGTGCAGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCCATGCTGAAA
*****
CGCTTCTGAAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGTGCCAAATTC
*****
CGCTTCTGAAACGAACTGACCGCCGCTGAAGGGCTGGAACGTTATCTGGGTGCCAAATTC
*****
CCGGTGCAGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCCATGCTGAAAGAG
*****
CCGGTGCAGAAACGTTTCTCGCTCGAGGGGGAGATGCGCTGATACCCATGCTGAAAGAG
*****
ATGGTTCGCCATCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGTGGTCTGGGGATGGCCACCCGC
*****
ATGGTTCGCCATCGGGTAACAGCGGCACTCGCGAAGTGGTCTGGGGATGGCCACCCGC
*****
GGTGCCTGAACTGCTGATCAACGTAAGGGTAAAAAACCGCAGGATCTGTTGACGA
*****
GGTGCCTGAACTGCTGATCAACGTAAGGGTAAAAAACCGCAGGATCTGTTGACGA
*****
ATTTGCCGTAAGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGACGTAAGTATCACATGGGCTT
*****
ATTTGCCGTAAGCATAAAGAACATCTGGGTACCGCGACGTAAGTATCACATGGGCTT
*****
CTCGTCAGATATCGAAACCGAAGCGGCTGGTTCACTGGCGCTGGCGTTTAAACCATC
*****
CTCGTCAGATATCGAAACCGAAGCGGCTGGTTCACTGGCGCTGGCGTTTAAACCATC
*****
GCATCTGGAATTTGTAGCCCGGTTGATGGGCTCCGTCGCGCCCGCTGTGGACAGACT
*****
GCATCTGGAATTTGTAGCCCGGTTGATGGGCTCCGTCGCGCCCGCTGTGGACAGACT
*****
GGACGTAACCGAGCAGCAACAAAGTGTTCGCCGATCACTATTACGCGCAGCCCGGGTG
*****
GGACG-TAACCGAGCAGCAACAAAGTGT-TGCCGATCACTATTACGCGCAGCCCGGGTG
*****
ACCGGCCAGGGCGTGGTTCAG
*****
ACCGGCCAGGGCGTGGTTCAG

```