



**Pontificia Universidad
Católica del Ecuador**

Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Maestría en Biología Computacional

Análisis comparativo del genoma de *Acinetobacter baumannii* de
cepas resistentes y sensibles a antibióticos

Autor: Lic. Julio Fabricio Lunavictoria Beltrán

Director: PhD. Alan Cervantes

Quito – Ecuador

2025

Dedicatoria

Para Rosa y Julio.

"In te confido, Domine."

Agradecimientos

Un agradecimiento especial a todo el cuerpo docente de la maestría por su compromiso y enseñanza en este tiempo compartido, gracias por compartir su conocimiento y experiencias profesionales. Agradezco a mi tutor, el profesor Alan por su ayuda constante.

Julio Lunavictoria

ÍNDICE GENERAL

Contenido

1. INTRODUCCIÓN.....	1
Formulación del problema	3
Objetivos	5
Objetivo General	5
Objetivos Específicos.....	5
2. MARCO TEÓRICO	5
Taxonomía de <i>Acinetobacter baumannii</i>	8
Identificación de Especies de <i>Acinetobacter baumannii</i>	9
Epidemiología	10
Antecedentes: Resistencia antibiótica y <i>Acinetobacter baumannii</i>	12
Patogenia y Factores de Virulencia	14
Plasticidad genómica y evolución de la virulencia	18
Crisis actual de la resistencia bacteriana	18
Historia de los antimicrobianos	19
Clasificación de los antibióticos	19
Mecanismos de acción de los antibióticos.....	22
Mecanismos de resistencia <i>A. baumannii</i>	27
Biología Computacional/Bioinformática.....	31
Tecnologías de secuenciación masiva	32
Genómica	33
Genómica Comparativa.....	34
BV-BRC (Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center)	36
Plataforma Galaxy	36
Quast (Quality Assessment Tool for Genome Assemblies).....	37
BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs).....	38
Mummer/NUCmer	39
DNAdiff.....	39
ABRicate	40
IQ-TREE (Iterative Quick Tree)	41
3. METODOLOGÍA	42
3.1. Obtención de genomas de <i>Acinetobacter baumannii</i>	42
3.2. Preprocesamiento de datos	55

3.2.1. Control de Calidad	55
3.3. Comparación genómica	57
3.4. Análisis de genes de resistencia y sensibilidad	58
3.5. Análisis filogenético.....	59
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE DATOS.....	60
4.1. Control de Calidad:.....	60
4.2. Comparación genómica	70
4.3. Análisis de genes de resistencia y sensibilidad	79
4.4. Análisis filogenético.....	88
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	89
5.1. Conclusiones	89
5.2. Recomendaciones	90
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
7. ANEXOS	95

ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 1: A) Desarrollo del complejo <i>A. baumannii</i> en agar Luria-Bertani a 37° C. B) Tinción Gram en fase logarítmica de células de <i>A. baumannii</i> en crecimiento en caldo Luria-Bertani (La flecha indica una célula individual de la bacteria. Ilustración tomada de Howard et al., 2012... 10	10
Ilustración 2. Factores de virulencia asociados a las células de <i>A. baumannii</i> . Los polisacáridos capsulares con carga negativa dificultan las interacciones con las superficies con carga negativa de los neutrófilos y macrófagos, y protegen contra la destrucción mediada por el complemento, la degradación de peptidoglicanos por la lisozima y las ROS (Especies Reactivas de Oxígeno/Reactive Oxygen Species). La heptacilación del lípido A en el LOS fortalece la membrana externa (OM) y protege a <i>A. baumannii</i> de los péptidos antimicrobianos catiónicos (CAMP) y la lisozima. El pilus de Csu, BAP, BLP1, BLP2 y el pilus tipo IV son las principales proteínas implicadas en la formación de biopelículas. La proteína A de la OM (OmpA) inhibe la destrucción mediada por el complemento. Otras abreviaturas: P: periplasma; IM: membrana interna (Lucidi et al., 2023).....	16
Ilustración 3. Página Web principal de BV-BRC desde el navegador Chrome.	42
Ilustración 4. Datos disponibles de <i>A. baumannii</i> en BV-BRC.	42
Ilustración 5. Parámetros colocados en la herramienta Quast desde Galaxy para valorar la calidad de los ensamblados de los 28 genomas seleccionados de <i>A. baumannii</i>	56
Ilustración 6. Cumulative length (Longitud Acumulada) en Quast, a continuación, se detalla de manera gráfica en grupo de cuatro genomas con el respectivo genoma de referencia para identificar de mejor manera.....	66
Ilustración 7. Output BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) de los 28 genomas (14 sensibles y 14 resistentes a los distintos antibióticos descritos en cada label) obtenido de MultiQC.....	70
Ilustración 8. Resumen de BUSCO con porcentajes. Realizado en R Studio por Julio Lunavictoria.	70
Ilustración 9. Heatmap que representa la presencia o ausencia de los genes encontrados con ABRicate en la base de datos CARD, la fila inferior representa el grupo de genes y la columna de la derecha cada genoma de <i>A. baumannii</i> con su respectiva etiqueta de sensibilidad antimicrobiana. Nótese que el color azul representa la presencia del gen y el color blanco la ausencia del mismo, el color celeste representa los genomas resistentes y el color rosado los sensibles. Heatmap realizado en R Studio por Julio Lunavictoria.	87
Ilustración 10. Heatmap que representa la presencia o ausencia de los genes encontrados con ABRicate en la base de datos ResFinder, la fila inferior representa el grupo de genes y la columna de la derecha cada genoma de <i>A. baumannii</i> con su respectiva etiqueta de sensibilidad. Nótese que el color azul representa la presencia del gen y el blanco su completa ausencia, el color celeste representa los genomas resistentes y el color rosado los sensibles. Heatmap realizado en R Studio por Julio Lunavictoria.	87
Ilustración 11. Representación gráfica del árbol filogenético de <i>Acinetobacter baumannii</i> visualizada en iTOL, el color rojo representa los genomas resistentes a antibióticos y el color azul a los genomas sensibles.....	89

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía <i>A. baumannii</i>	8
Tabla 2. Clasificación de los antibacterianos según sus lugares de acción.....	20
Tabla 3. Principales grupos de antimicrobianos y sus representantes.....	21
Tabla 4. Mecanismos de resistencia de <i>A. baumannii</i>	30
Tabla 5. Datos de los genomas de <i>A. baumannii</i> seleccionados para el estudio.....	45
Tabla 6. Estadísticas globales de la comparación de cepas sensibles, cepas resistentes y todo el conjunto de genomas de <i>A. baumannii</i>	60
Tabla 7. Informe Estadístico Quast.....	61
Tabla 8. Representa los gráficos de longitud acumulada obtenidos de Quast y estructurados por grupos de 4 genomas para una mejor valoración de la calidad del ensamblaje.....	66
Tabla 9. Gráficas de alineamiento de genomas por antibiótico generadas con MUMmerplot con su respectiva descripción.....	71
Tabla 10. Media estadística calculada de los 28 genomas de <i>A. baumannii</i>	76
Tabla 11. Resultados de DNAdiff entre dos secuencias con su respectivo antibiótico.....	77
Tabla 12. Genes de resistencia encontrados en los genomas de <i>A. baumannii</i> con el análisis de ABRicate en los 28 genomas, 14 genomas de fenotipo sensible y 14 de fenotipo resistente.	80
Tabla 13. Genes de resistencia encontrados en los 24 genomas de <i>Acinetobacter baumannii</i> en la base de datos CARD.....	80
Tabla 14. Resultados de los factores de virulencia encontrados en la base de datos VFDB.....	83
Tabla 15. Genes de resistencia encontrados en los 24 genomas de <i>Acinetobacter baumannii</i> en la base de datos ResFinder.....	84

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Resultados completos obtenidos de DNAdiff entre dos secuencias de <i>A. baumannii</i> con su respectivo antibiótico.....	95
Anexo 2. Heatmap de los 30 genes más frecuentes encontrados en los 24 genomas de <i>A. baumannii</i> después del análisis con ABRicate en la base de datos CARD.....	108
Anexo 3. Heatmap de los 30 genes más frecuentes encontrados en los 24 genomas de <i>A. baumannii</i> después del análisis con ABRicate en la base de datos ResFinder.....	109

Resumen

Las bacterias multirresistentes son una amenaza global que cada año afecta la salud pública; *Acinetobacter baumannii* se ha consolidado como un modelo de estudio debido a su notable plasticidad genética y resistencia bacteriana, por ende, comprender sus mecanismos genéticos que producen este fenómeno es crucial para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas y control sanitario. La presente investigación tuvo como objetivo analizar y comparar el genoma de *Acinetobacter baumannii* de cepas resistentes y sensibles antibióticos mediante datos de bases de datos públicas para identificar genes asociados a la resistencia y posibles mecanismos de patogenicidad. En la actualidad la multirresistencia bacteriana es problema crítico de salud pública por el abuso y mal uso de los antibióticos aumentando así la propagación de cepas bacterianas oportunista multirresistentes. *Acinetobacter baumannii* es un cocobacilo gramnegativo, no fermentador, oxidasa y catalasa positivo, inmóvil y aerobio estricto que en los últimos años debido su genoma plástico y varios mecanismos de resistencia se ha convertido en uno de los patógenos de prioridad crítica de la OMS (Organización Mundial de la Salud). Debido a la complicada multirresistencia microbiana que sufre el mundo actual y en especial de *Acinetobacter baumannii* se planteó el problema de análisis comparativo del genoma de *A. baumannii* de cepas sensibles a antibióticos y de cepas multirresistentes para de esta manera lograr vislumbrar mecanismos genéticos clave que intervienen en la resistencia bacteriana. La metodología aplicada en el siguiente proyecto de investigación fue la siguiente: búsqueda y obtención de los genomas de *Acinetobacter baumannii* de la base de datos pública disponible en BV-BRC, la selección de cada genoma se basó en algunos criterios para filtrar únicamente genomas viables (completitud genómica, disponibilidad de información como: plataforma de secuenciación, sensibilidad fenotípica), se seleccionaron 28 genomas y se descargaron en formato FASTA renombrando cada uno según corresponda; 14 genomas sensibles y 14 genomas resistentes fueron seleccionados a cada uno de los antibióticos (ciprofloxacino, gentamicina, ceftazidime, levofloxacina, tetraciclina, trimethoprim/sulphamethoxazole, amikacina, tobramicina, imipinem, meropenem, ampicilina/sulbactam, carbapenem, ceftriaxona y ampicilina); la validación de la calidad se realizó mediante Quast y Busco; la comparación de la cepa sensible contra la resistente se lo realizó con Nucmer del paquete MUMmer, se filtró este output con Delta-Filter y se graficó el alineamiento con MUMerplot; para la determinación de cambios estructurales más detallados de uso

DNAdiff y finalmente para el análisis filogenético se usó IQ-TREE con su visualización en iTol. Los resultados obtenidos de la investigación fueron desglosados por cada paso aplicado en la metodología: la calidad del ensamblaje de los 28 genomas escogidos resultó de alta calidad, la cobertura promedio de todos los genomas fue del 91,87%, la media de indels de los 28 genomas de 2532,28 y el número de SNPs de 64065; los gráficos obtenidos con MUMmerplot mostraron alto grado de plasticidad genómica asociado a la resistencia antibiótica, en las cepas resistentes se observó una pérdida de colinearidad (presencia de inversiones, traslocaciones, inserciones y deleciones); con respecto a los genes de resistencia encontrados fue un total de 725 genes en conjunto de la base de datos CARD (319 genes en las cepas sensibles y 406 en cepas resistentes), en la base de datos ResFinder se encontraron 258 genes (163 para cepas sensibles y 95 para resistentes), el mismo grupo de genes frecuentaban en ambos fenotipos de sensibilidad con CARD y en ResFinder en cepas resistentes frecuentaban blaADC-25_1, APH(6)-Id, blaOXA-23_1, mph(E)_1, msr(E)_1 y en cepas sensibles frecuentaban blaADC-25_1 y sul1_5; finalmente lo que respecta al análisis filogenético, al árbol indicó una baja variación genética (baja distancia evolutiva entre genomas) con una distribución en diferentes ramas de las cepas sensibles y resistentes sin agruparse por sensibilidad indicando una resistencia no monofilética y sin correlación directa entre la resistencia bacteriana y la filogenia, más bien la resistencia es causada por genes de resistencia adquiridos de forma independiente por ejemplo transferencia horizontal de genes.

Abstract

Multidrug-resistant bacteria are a global threat that affects public health every year. *Acinetobacter baumannii* has established itself as a study model due to its remarkable genetic plasticity and bacterial resistance. Therefore, understanding the genetic mechanisms that produce this phenomenon is crucial for the development of new therapeutic strategies and health control. This research aimed to analyze and compare the *Acinetobacter baumannii* genome of antibiotic-resistant and -sensitive strains using data from public databases to identify genes associated with resistance and possible pathogenicity mechanisms. Currently, bacterial multidrug resistance is a critical public health problem due to the abuse and misuse of antibiotics, thus increasing the spread of opportunistic multidrug-resistant bacterial strains. *Acinetobacter baumannii* is a gram-negative, non-fermenting, oxidase- and catalase-positive, nonmotile, and strictly aerobic coccobacillus. In recent years, due to its plastic genome and various resistance mechanisms, it has become one of the critical priority pathogens of the WHO (World Health Organization). Due to the complicated microbial multidrug resistance that the world suffers today and especially of *Acinetobacter baumannii* the problem of comparative analysis of the *A. baumannii* genome of antibiotic-sensitive strains and multidrug-resistant strains was raised in order to glimpse key genetic mechanisms involved in bacterial resistance. The methodology applied in the following research project was the following: search and obtaining of the *Acinetobacter baumannii* genomes from the public database available at BV-BRC, the selection of each genome was based on some criteria to filter only viable genomes (genomic completeness, availability of information such as: sequencing platform, phenotypic sensitivity), 28 genomes were selected and downloaded in FASTA format renaming each one as appropriate; 14 sensitive genomes and 14 resistant genomes were selected for each of the antibiotics (ciprofloxacin, gentamicin, ceftazidime, levofloxacin, tetracycline, trimethoprim/sulphamethoxazole, amikacin, tobramycin, imipinem, meropenem, ampicillin/sulbactam, carbapenem, ceftriaxone, and ampicillin); quality validation was performed using Quast and Busco; comparison of the sensitive versus resistant strain was performed with Nucmer from the MUMmer package; this output was filtered with Delta-Filter, and the alignment was plotted with MUMerplot; for more detailed structural changes, DNAdiff was used, and finally, for phylogenetic analysis, IQ-TREE was used with iTol. The results obtained from the research were broken down by each step applied

in the methodology: the assembly quality of the 28 chosen genomes was high, the average coverage of all genomes was 91.87%, the average number of indels of the 28 genomes was 2532.28 and the number of SNPs was 64065; the graphs obtained with MUMmerplot showed a high degree of genomic plasticity associated with antibiotic resistance, in the resistant strains a loss of collinearity was observed (presence of inversions, translocations, insertions and deletions); with respect to the resistance genes found it was a total of 725 genes in the CARD database (319 genes in sensitive strains and 406 in resistant strains), in the ResFinder database 258 genes were found (163 for sensitive strains and 95 for resistant), the same group of genes frequented in both sensitivity phenotypes with CARD and in ResFinder in resistant strains they frequented blaADC-25_1, APH(6)-Id, blaOXA-23_1, mph(E)_1, msr(E)_1 and in sensitive strains they frequented blaADC-25_1 and sul1_5; finally, with regard to the phylogenetic analysis, the tree indicated a low genetic variation (low evolutionary distance between genomes) with a distribution in different branches of the sensitive and resistant strains without grouping by sensitivity, indicating a non-monophyletic resistance and without direct correlation between bacterial resistance and phylogeny, rather the resistance is caused by resistance genes acquired independently, for example horizontal gene transfer.

1. INTRODUCCIÓN

La ciencia contemporánea se encuentra en un momento crucial en el que el avance tecnológico y la integración de la bioinformática ha cambiado la forma como se estudian los organismos vivos y sus interacciones con el entorno. Las bacterias, como agentes fundamentales en los ecosistemas y en la salud humana, representan un área de estudio de gran relevancia debido a su plasticidad genética y capacidad de adaptación, tales características, favorecen en la resistencia bacteriana a los antibióticos amenazando la eficacia de los tratamientos convencionales y produciendo una crisis de salud pública global. Un problema crítico actual a nivel mundial es la creciente amenaza de la resistencia antimicrobiana por el abuso, mal uso o propagación de cepas bacterianas oportunistas multirresistentes responsables de infecciones nosocomiales muy severas. Entre los patógenos más preocupantes por su débil poder de tratamiento en la actualidad (2025) se encuentra *Acinetobacter baumannii*, un coco-bacilo gram negativo oportunista responsable de infecciones nosocomiales graves principalmente en pacientes inmunodeprimidos y pacientes en unidades de cuidados intensivos.

La bacteria *Acinetobacter baumannii* posee un genoma altamente plástico y varios mecanismos de resistencia que se incluyen las bombas de eflujo, modificación enzimática de antibióticos, alteraciones en las proteínas blanco, y una propensión al intercambio horizontal de genes mediante elementos genéticos móviles. No todas las cepas de *A. baumannii* poseen el mismo nivel de resistencia, lo que sugiere una heterogeneidad genómica con implicaciones clínicas relevantes y funcionales.

El avance de las tecnologías de secuenciación masiva (NGS, por sus siglas en inglés) ha permitido caracterizar con mayor precisión los determinantes genéticos asociados a distintas bacterias problema, además de profundizar en su investigación a nivel molecular. Este enfoque de estudio bacteriano es apoyado con herramientas bioinformáticas y de biología computacional. La bioinformática se define como una disciplina científica que desarrolla algoritmos, bases de datos, desarrollo de software y métodos computacionales que son incorporados en flujos de trabajo, sistemas y distintas estrategias de investigación con el fin de comprender y estudiar sistemas biológicos (Portillo Bobadilla et al., 2022); por otra parte, la biología computacional es una ciencia multidisciplinaria que combina principios de biología, matemáticas, estadística y computación para analizar y modelar datos biológicos, esta disciplina permite analizar

grandes volúmenes de datos biológicos como secuencias genéticas, estructuras de proteínas, interacciones moleculares o patrones de expresión génica, ambas ciencias ayudan al estudio de resistencia antimicrobiana y un sin número más de aplicaciones (ganadería, agricultura, medicina, medicina personalizada, farmacología, etc.).

La resistencia bacteriana a los antibióticos en los últimos años ha sido un tema crítico en la salud pública, en primer lugar, por las complicaciones en el tratamiento de infecciones como sepsis en áreas críticas de hospitales o pacientes inmunodeprimidos, y en segunda instancia en cambios genéticos bacterianos por el abuso indebido de antimicrobianos que facilitan el desarrollo de mecanismo de resistencia. La amenaza de la resistencia antibiótica pone en alerta a los expertos alrededor del mundo para comunicar el abuso indebido de los antimicrobianos al personal de salud y su correcta forma de prescribir.

Entre los patógenos de prioridad crítica se encuentra *Mycobacterium tuberculosis* resistente a rifampicina y todas las bacterias gramnegativas resistentes a antimicrobianos de último recurso. Encabezando la lista de patógenos críticos de la OMS (Organización Mundial de la Salud) se encuentra *A. baumannii* resistente a carbapenémicos, seguido de enterobacterias resistentes a carbapenémicos y cefalosporinas de tercera generación y *Mycobacterium tuberculosis* resistente a rifampicina (OMS, 2024). En cepas de *A. baumannii* sensibles a antibióticos, el tratamiento de elección es primordialmente imipenem y meropenem (Hernández Torres et al., 2010), pero en cepas resistentes es el dilema que surge, al no tener un tratamiento eficaz en estas cepas. El uso indebido de los antimicrobianos en plantas y animales también juega un papel fundamental en el aumento de resistencia bacteriana.

Se estima que en el año 2050 las muertes prematuras producidas por bacterias multirresistentes llegarán a una cifra estimada de 10 millones al año (PAHO, Organización Panamericana de la Salud), en la actualidad las regiones más comprometidas son África y Asia. La OMS estipuló a la resistencia antimicrobiana como uno de los principales problemas del siglo XXI y pone en la mira al grupo de 6 bacterias patógenas que se denominan ESKAPE (*Enterococcus* spp, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.) (Chávez Jacobo, 2020).

De manera local, en Ecuador, existe escasos estudios sobre *A. baumannii* y su epidemiología. Un estudio destacado de epidemiología molecular llevado en Guayaquil en dos centros asistenciales por (Núñez Quezada et al., 2018), siendo pioneros en este tipo de investigaciones, resaltan que 33 aislamientos fueron sensibles solo a colistina, en 29 de estos se detectó OXA-24/40, y como conclusión de su investigación, los investigadores presentaron el primer brote de blaOXA-72 en América del Sur y la primera investigación en Ecuador de este tipo.

En el trabajo de Tubon et al., acerca de la resistencia bacteriana en el Ecuador, no menciona *A. baumannii*, pero realiza un compendio de las principales bacterias estudiadas y sus respectivos genes asociados a la resistencia, a continuación se mencionan algunos: *Escherichia coli* (gen blaCTX-M, OxyS, int1), *Helicobacter pylori* (gen 23S rNA), *Salmonella entérica* (blaCTX-M-65), *Mycobacterium tuberculosis* (rpoB, katG), *Klebsiella pneumoniae* (mcr, blaKpc, blaVIM, blaIMP, blaOXA-48), *Plasmodium falciparum* (Pfmdr1) (Tubon et al., 2024).

Formulación del problema

En síntesis, con la complicada multiresistencia microbiana que sufre el mundo actual y por pertenecer al grupo de las bacterias críticas en resistencia, se planteó el problema de análisis comparativo del genoma de *A. baumannii* de cepas sensibles a antibióticos y de cepas multiresistentes para vislumbrar alteraciones a gran escala entre estas bacterias e identificar diferencias genéticas clave que intervienen en la sensibilidad, multiresistencia y patogenicidad.

La importancia de la resistencia antibiótica de *Acinetobacter baumannii* es uno de los problemas cruciales de la actualidad, tanto que es reportado como un problema a nivel mundial por la OMS categorizando esta bacteria como un problema crítico de salud pública. La principal característica problemática de esta bacteria es por su resistencia a antibióticos (*Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos), en especial en áreas hospitalarias lo que la convierte en un patógeno endémico nosocomial. Las infecciones nosocomiales se transformaron en uno de los principales problemas sanitarios a nivel global con una morbi-mortalidad en aumento afectando 5-10 % de pacientes ingresados (García Salguero, 2022).

Este estudio representa un área de gran interés dentro de la microbiología, la medicina y la biología computacional/bioinformática al aplicar el uso de herramientas bioinformáticas para el análisis y comparación de diferentes genomas de *A. baumannii*. La plasticidad del genoma de *A. baumannii* que muta rápidamente bajo estrés o condiciones de adversidad, representa directamente su resistencia a múltiples fármacos (Harding et al., 2017). Un análisis detallado y comparativo entre estas cepas bacterianas ayuda a integrar nuevos conocimientos de genética, biología molecular y epidemiología genómica.

La innumerable cantidad de datos genómicos obtenidos en los últimos años de un sin número de seres vivos corresponde la principal causa del uso de herramientas en biología computacional para su análisis. Al aprovechar estas herramientas en la comparación del genoma de *A. baumannii*, va a permitir identificar genes de sensibilidad o resistencia, mutaciones claves y elementos móviles que interfieren a la sensibilidad antimicrobiana.

El acceso a datos públicos de secuenciación como NCBI y BV-BRC (BV-BRC: Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center) garantizó la disponibilidad de datos con la disminución de costos de secuenciación y optimizando el tiempo. Este estudio también contribuye al desarrollo y validación de metodologías bioinformáticas aplicadas al análisis de genomas bacterianos, promoviendo el uso de tecnologías computacionales en microbiología clínica y epidemiología molecular.

La resistencia de *A. baumannii* a los antimicrobianos de última línea deja en jaque para su tratamiento, esto conlleva a una gran preocupación latente para la salud pública. Esta bacteria de prioridad crítica declarada por la OMS, pone en marcha la concientización de la comunidad sanitaria al medicar antibióticos además de su restricción para la venta libre. El creciente número de infecciones como la tuberculosis, la gonorrea, septicemias o neumonía son más difíciles de tratar por la razón de que los antibióticos van perdiendo eficacia (Ángel Serra Valdés et al., 2017).

El desarrollo de nuevas políticas que ayuden a erradicar poco a poco el abuso de antimicrobianos es una de las principales metas de investigaciones en microbiología; la implementación de políticas de uso racional de antibióticos y la optimización de tratamientos basados en perfiles genómicos permitirá reducir la mortalidad y la propagación de infecciones resistentes por mutaciones por el uso indebido de antibióticos.

Objetivos

Objetivo General

Analizar y comparar el genoma de *Acinetobacter baumannii* de cepas resistentes y sensibles a antibióticos mediante datos de bases de datos públicas para identificar genes asociados a la resistencia y posibles mecanismos de patogenicidad

Objetivos Específicos

- Recopilar y seleccionar genomas de *Acinetobacter baumannii* resistentes y sensibles a antibióticos de bases de datos públicas como NCBI Genome y BV-BRC (Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center)
- Comparar la presencia de genes de resistencia y sensibilidad a antibióticos y su organización dentro del genoma
- Realizar un análisis filogenético para establecer relaciones evolutivas entre cepas de *Acinetobacter baumannii* sensibles y resistentes a antibióticos

2. MARCO TEÓRICO

El género *Acinetobacter* spp. es un cocobacilo gramnegativo, no fermentador, oxidasa positiva, catalasa positivo, inmóvil y aerobio estricto cuya especie más representativa es *Acinetobacter baumannii*. La aparición del género *Acinetobacter* en la historia, data del siglo XX cuando el microbiólogo Beijerinck en 1991 descubrió un microorganismo al cual nombró *Micrococcus calcoaceticus* que fue aislado del suelo.

Entre las principales causas de la resistencia antibiótica se encuentra el abuso y mal uso de los antimicrobianos por parte del personal de salud y de la población al automedicarse. En la actualización de patógenos prioritarios de la OMS describe 15 familias de bacterias resistentes a los antimicrobianos de los cuales se clasifican en tres categorías: críticas, alta y media. Los patógenos que se encuentran en la prioridad crítica están *Acinetobacter baumannii* resistente a los carbapenémicos, enterobacterias resistentes a carbapenémicos y cefalosporinas de tercera generación y *Mycobacterium tuberculosis* resistente a rifampicina. Dentro de los microorganismos de prioridad alta se encuentran *Staphylococcus aureus* resistente a ampicilina, *Neisseria gonorrhoeae* resistente a fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación, salmonelas no tifoideas

resistentes a fluoroquinolonas, *Enterococcus faecium* resistente a la vancomicina, *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los carbapenémicos, *Salmonella Typhi* resistente a las fluoroquinolonas y *Shigella* spp. resistente a las fluoroquinolonas (OMS, 2024).

Finalmente, entre los microorganismos que son patógenos de prioridad media, se hallan: Estreptococos del grupo A y B resistentes a macrólidos, *Haemophilus influenzae* resistente a la ampicilina, y *Streptococcus pneumoniae* resistente a los macrólidos. En estos cambios aplicados de actualización de la OMS a partir de la lista del año 2017 se ve una evolución notable en la adquisición de mecanismos de resistencia por parte de estos microorganismos patógenos.

Las especies del género *Acinetobacter* son bacterias gramnegativas aerobias que tienen una gran distribución en el agua y en el suelo, algunas veces también se cultivan de piel, secreciones, mucosas y en el medio intrahospitalario. Los microorganismos del género *Acinetobacter* se presentan frecuentemente de aspecto cocobacilar o de coco; se parecen a los gonococos en los frotis pues su predominio es en formas diplocócicas en los líquidos corporales y en los medios sólidos (Carroll et al., 2016). *Acinetobacter* spp. a menudo producen infecciones intrahospitalarias, se ha aislado *Acinetobacter baumannii* en sangre, esputo, líquido pleural, orina y piel. Las cepas de *Acinetobacter* spp. suelen ser resistentes a los antimicrobianos y el tratamiento de la infección puede ser difícil.

Acinetobacter baumannii es una bacteria oportunista que los últimos años ha tomado relevancia clínica especialmente por su multiresistencia. Esta bacteria puede afectar principalmente a pacientes con enfermedades subyacentes graves, procedimientos invasivos, sometidos a cirugía, uso previo de antibióticos de amplio espectro incluyendo pacientes en unidades de cuidados intensivos (UCI) (Hernández Torres et al., 2010).

En el año 2017 la Organización Mundial de la Salud (OMS) hace público un listado de bacterias importantes para las cuales se necesitan nuevos antibióticos en la cual se incluye *Acinetobacter baumannii* y 11 bacterias más peligrosas para la salud humana (OMS (Organización Mundial de la Salud), 2017). El listado está conformado principalmente por bacterias gramnegativas resistentes a varios antimicrobianos. La lista se elaboró con un grupo de expertos internacionales en conjunto con la División de Enfermedades infecciosas de la Universidad de Tübingen, ubicada en Alemania. Algunos criterios para incluir los patógenos en el listado fue de acuerdo con el grado de letalidad, la frecuencia

con la que se presenta resistencia a los antimicrobianos, sencillez de transmisión de animal-animal, animal-persona o persona-persona

Acinetobacter es un cocobacilo gram negativo, aerobio estricto, no fermentador, catalasa positiva, oxidasa positiva, e inmóvil, cuya especie más representativa es *Acinetobacter baumannii* (Hernández Torres et al., 2010). Uno de los rasgos de este microorganismo es su gran facilidad para desarrollar resistencia bacteriana. *Acinetobacter baumannii* no forma esporas, es aerobio estricto e inmóvil (López & López-Brea, 2000). Su óptima temperatura para su crecimiento oscila de 20 °C a 30 °C, y es capaz de crecer en los medios de cultivo rutinarios, sin requerimientos de medios de cultivos especiales. *Acinetobacter* en la mayoría de pruebas microbiológicas actúa como un microorganismo inerte y es capaz de oxidar la glucosa y otras aldosas.

Dentro del género *Acinetobacter* se han incluido diferentes grupos de ADN. En la actualidad se han descrito alrededor de 17 genoespecies, entre las que se incluye *Acinetobacter baumannii*. El patógeno *A. baumannii* está implicado en diversos tipos de infecciones, con mayor porcentaje en infecciones nosocomiales como neumonías, infecciones del tracto urinarios, septicemias (sepsis), meningitis e incluso endocarditis (inflamación del endocardio, capa interna del corazón). *A. baumannii* se podría decir que es un patógeno de bajo grado con una limitada virulencia, ciertas características le permiten incrementar la virulencia de aquellas cepas implicadas en infecciones, su invasividad puede relacionarse con ciertas sustancias de superficie que protegen a la bacteria de su fagocitosis (cápsula de polisacárido), además, la cápsula junto con las fimbrias permite su adhesión a las células epiteliales humanas.

A. baumannii está distribuido ampliamente en la naturaleza, también forma parte de la flora normal de la piel humana y puede ser capaz de colonizar transitoriamente el tracto respiratorio superior como flora habitual (no patógena). Existen cepas que pueden sobrevivir durante años en el ambiente hospitalario por su resistencia antimicrobiana o supervivencia en ambientes secos inanimados como almohadas, sábanas, equipo médico reutilizable, componentes de las camas de los hospitales, guantes entre otros.

Entre los mecanismos de resistencia a los antibióticos de *A. baumannii* se encuentran: resistencia a betalactámicos (beta-lactamasas) con el predominio de enzimas tipo cefalosporinasa cromosómicas tipo 1, alteración de permeabilidad celular, alteraciones en

las proteínas fijadoras de penicilina, resistencia a fluoroquinolonas por mutaciones en el ADN girasa (dada por alteraciones en el gen *gyrA*, mutaciones en el gen *parC*), y resistencia a aminoglucósidos por enzimas inactivantes como enzimas APH(3',5')I y AAD, asimismo la resistencia a amikacina por la presencia de fosfotransferasa APH(3')VI.

Taxonomía de *Acinetobacter baumannii*

Las especies del género *Acinetobacter* spp. pertenece a bacterias gramnegativas aerobias con un contenido de ADN G+C de 39%-47%. Con base a datos taxonómicos más recientes, se propuso que los miembros del género *Acinetobacter* se clasifiquen en la nueva familia Moraxellaceae que pertenece al orden Gammaproteobacteria en donde se incluye los géneros *Moraxella*, *Acinetobacter*, *Psychrobacter* entre otros organismos relacionados. Un gran avance en la complicada y larga historia de este género fue llevado a cabo por Bouvet y Grimont en 1986, quienes basados en estudios de hibridación DNA-DNA distinguieron 12 grupos de hibridación de DNA o genoespecies, algunas de las cuales fueron dadas nombres formales de especies incluyendo *A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* y *A. lwoffii* (Bouvet & Grimont, 1987).

Tabla 1. Taxonomía *A. baumannii*.

Taxonomía de <i>Acinetobacter baumannii</i>	
Dominio:	Bacteria
Filo:	Pseudomonadota
Clase:	Gammaproteobacteria
Orden:	Pseudomonadales
Familia:	Moraxellaceae
Género:	<i>Acinetobacter</i>
Especie:	<i>Acinetobacter baumannii</i>

Perspectiva Histórica

A principios del siglo XX, en 1991, el microbiólogo holandés, Beijerinck, describió un organismo llamado *Micrococcus calcoaceticus*, el cual fue aislado del suelo tras enriquecerlo con un medio que contenía calcio-acetato. En décadas posteriores se

describieron alrededor de 15 géneros y especies diferentes de las cuales se incluyen: *Micrococcus calcoaceticus*, *Alcaligenes haemolysans*, *Moraxella lwoffii*, *Diplococcus mucosus*, *Mima polymorpha*, *Herellea vaginicola*, *Bacterium anitratum*, *Moraxella lwoffii* var., *Neisseria winogradskyi*, *Achromobacter anitratum*, *Glucidolytica*, y *Achromobacter mucosus* (Hernández Torres et al., 2010).

La actual nominación del género, *Acinetobacter* (del griego ακινετος [akinetos], que significa inmóvil) fue propuesta inicialmente por Brisou y Prévot en el año de 1954 para separar los microorganismos inmóviles de los móviles dentro del género *Achromobacter*. No fue hasta 1968 que esta designación de género se aceptó más ampliamente. Baumann et al. publicaron un estudio exhaustivo y concluyeron que las diferentes especies enumeradas anteriormente pertenecían a un solo género, para el cual se propuso el nombre *Acinetobacter*, y que no era posible una subclasificación adicional en diferentes especies según las características fenotípicas (Hernández Torres et al., 2010). Estos hallazgos dieron como resultado el reconocimiento oficial del género *Acinetobacter* por parte del Subcomité de Taxonomía de *Moraxella* y Bacterias Afines en 1971. En la edición de 1974 del “Bergey's Manual of Systematic Bacteriology”, se incluyó el género *Acinetobacter*, con la descripción de una sola especie, *Acinetobacter calcoaceticus*.

Identificación de Especies de *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter spp. puede identificarse de forma presuntiva a nivel de género como cocobacilos gramnegativos, catalasa-positivos, oxidasa-negativos, no móviles y no fermentadores; son bacilos gramnegativos cortos y regordetes que son difíciles de desteñir, y se los pueden identificar de manera errónea como cocos gramnegativos o grampositivos. Las especies de *Acinetobacter* de origen humano crecen bien en medios sólidos que se usan de forma rutinaria en los laboratorios de microbiología clínica, como agar sangre de carnero o tripteína soya agar a una temperatura de 37 °C de incubación, forman colonias blancas grisáceas lisas y ciertas veces mucoides.

El estándar de referencia para la identificación de especies de *Acinetobacter* sigue siendo la hibridación ADN-ADN, uno de los pocos métodos que se han validado. Entre los métodos moleculares que se han desarrollado y se han validado para la identificación de acinetobacters se incluye: el análisis de restricción del gen ARNr 16S amplificado, el análisis de huellas dactilares de alta resolución mediante polimorfismo de longitud de

fragmento amplificado (AFLP), ribotipificación, huella dactilar del espaciador de ARNt, el análisis de restricción de las secuencias de la región espaciadora del gen ARNr 16S-23S y la secuenciación del gen *rpoB* (subunidad β de la ARN polimerasa) y sus espaciadores flanqueantes (Peleg et al., 2008a).

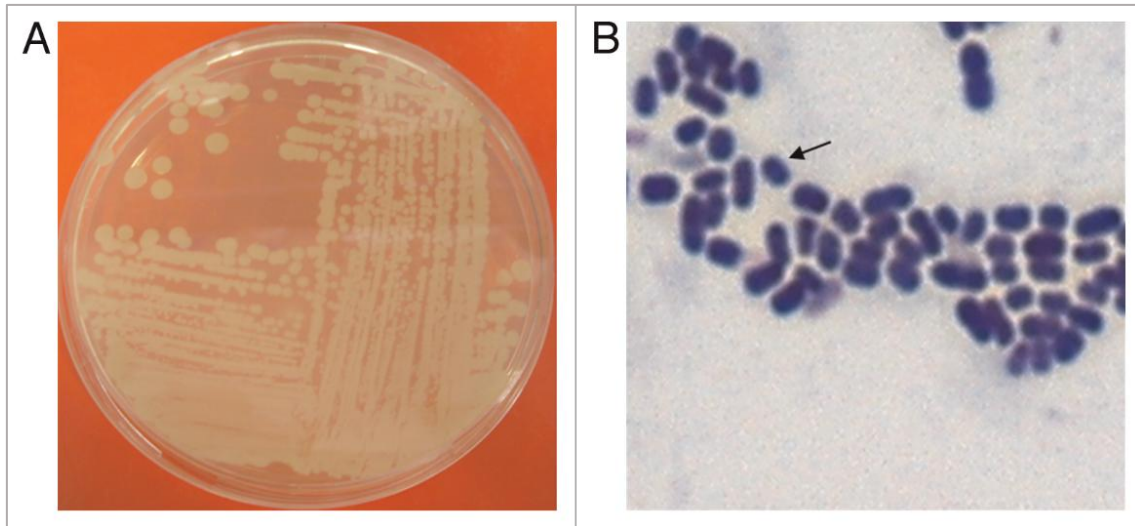


Ilustración 1: A) Desarrollo del complejo *A. baumannii* en agar Luria-Bertani a 37° C. B) Tinción Gram en fase logarítmica de células de *A. baumannii* en crecimiento en caldo Luria-Bertani (La flecha indica una célula individual de la bacteria. Ilustración tomada de Howard et al., 2012.

Epidemiología

Acinetobacter se logra cultivar en casi 100% de las muestras del suelo y agua, incluso se ha logrado aislar de alimentos congelados, leche pasteurizada, vegetales, carne de ave congelada y pescado. En hospitales fue identificado en agua de grifo, el aire nosocomial, baños de dializado peritoneal, humidificadores, toallas, cortinas, catéteres de angiografía, respiradores mecánicos, bombas de infusión, duodenoscopios, laringoscopios y dispensadores de jabón (Rada Cuentas, 2016). *Acinetobacter* se produce a partir de numerosas fuentes humanas como la piel, la orina, el esputo, secreciones vaginales y las heces. El 7% de lactantes y de adultos presenta colonización faríngea transitoria, y hasta el 25% de personas adultas sanas presentan colonización cutánea.

A. baumannii es reconocido como el agente causal de distintas enfermedades nosocomiales severas de las cuales se incluyen infecciones de la piel, infecciones de heridas, infecciones de tracto urinario, infecciones de tejidos blandos, meningitis secundarias, neumonía asociada a ventilador y la bacteriemia, siendo estos últimos, las infecciones con una tasa de mortalidad muy elevada. Entre los factores de riesgo para el desarrollo de una infección nosocomial se encuentran: mayor a 5 días de estancia

hospitalaria, infecciones previas, cirugía preliminar, tratamiento con antibióticos de alto espectro (carbapenémicos, cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas), colonización fecal, catéteres intravenosos centrales y urinarios permanentes, estancia prolongada en UCI, ingreso a unidad de quemados, ventilación mecánica y una mala aplicación de protocolos de control de infecciones.

Las infecciones por *A. baumannii* en la comunidad se presentan con menor frecuencia, entre estas se incluyen bacteremia y neumonía en el 85% de los casos. La neumonía adquirida en la comunidad resulta más severa que la neumonía nosocomial, siendo fulminante con un 60% de pacientes que fallecen; los principales factores de riesgo que se pueden mencionar están: enfermedad pulmonar crónica, diabetes mellitus, tabaquismo, alcoholismo y residir zonas tropicales de un país en desarrollo.

Los miembros de las fuerzas armadas desplegadas en zonas de conflicto, en particular en Irak, son considerados como un grupo de riesgo para la infección por *A. baumannii*, por tal motivo se ha validado el apodo a la bacteria de “Iraqibacter”; las condiciones arenosas y secas que se asocian a estas campañas desérticas proporcionan un ambiente y etorno ideal para su robustes fisiológica, convirtiéndola en la principal fuente de infección entre los soldados heridos en combate. Un estudio llevado a cabo a bordo del buque USNS Comfort (T-AH-20) que proveía atención de emergencia a las fuerzas de combate estadounidenses heridas en el Golfo Pérsico, reveló que el 4,1% del total de infecciones de piel y tejidos blandos de las tropas estaban relacionadas con *A. baumannii* comprometiendo las axilas, las ingles y los interdigitales como zonas con mayor cantidad de colonización.

Desde finales de la década de 1980, la relevancia clínica de *A. baumannii* ha aumentado drásticamente con la aparición y propagación de tres linajes clonales predominantes (international clonal lineages, ICLs) con capacidad de producir brotes hospitalarios en todo el mundo y de los cuales el ICL1 e ICL2 son MDR (Multiple Drug-Resistant). El conglomerado número de genomas que esta disponible de manera libre en la base de datos del NCBI resaltó la elevada plasticidad genómica de la especie, lo que también demuestra esta propensión a adquirir información genética exógena a través de la recombinación genómica y la transferencia horizontal de genes. El pangenoma de *Acinetobacter baumannii* se encuentra abierto, en la publicación de (Mangas et al., 2019) demuestra que

el pangenoma de *A. baumannii* contra de un aproximado de 20 000 genes diferentes, la mayoría de los cuales están presentes en menos del 20% de las cepas.

Antecedentes: Resistencia antibiótica y *Acinetobacter baumannii*

El problema de la resistencia antibiótica se ha transformado en un problema de salud pública luego del abuso o mal uso que el personal de salud y principalmente la población en general da a los antimicrobianos. Las bacterias multirresistentes se están convirtiendo en un grave problema de salud pública a nivel nosocomial al presentarse múltiples bacterias con resistencia a un amplio espectro de antibióticos. *Acinetobacter baumannii* está entre las principales bacterias a nivel crítico reportado por la Organización Mundial de la Salud por su fuerte resistencia antimicrobiana.

Acinetobacter baumannii se ha convertido en un patógeno sumamente problemático para muchas instituciones a nivel mundial. Como consecuencia de su inmensa capacidad para adquirir o regular varios determinantes de resistencia a los antibióticos, ha sido impulsado justificadamente al primer plano de la atención científica. Aparte de su predilección por los enfermos graves en las unidades de cuidados intensivos, *A. baumannii* ha causado más recientemente una serie de síndromes infecciosos en el personal militar herido en los conflictos de Irak y Afganistán (Peleg et al., 2008).

El género *Acinetobacter* spp. ha sufrido una importante modificación taxonómica en los últimos 30 años. Su importancia clínica, especialmente en los últimos 15 años, ha sido impulsada por su notable capacidad para aumentar o adquirir determinantes de resistencia. Ahora se han informado cepas de *A. baumannii* resistentes a todos los antibióticos conocidos, lo que significa un evento alarmante sobre el que la comunidad de atención médica internacional debe actuar rápidamente.

La comparación de genomas entre cepas sensibles y resistentes a antibióticos de *A. baumannii* ha permitido identificar factores genéticos clave asociados con la resistencia antimicrobiana. Investigaciones recientes han utilizado técnicas de secuenciación genómica para analizar diferencias en la estructura genética, la presencia de genes de resistencia (como *blaOXA-23*, *blaNDM-1* y *armA*) y la expresión de bombas de eflujo.

A pesar de los avances en la caracterización genómica de *A. baumannii*, aún existen vacíos en el conocimiento sobre cómo las variaciones genéticas específicas contribuyen

a la resistencia y cómo estas se relacionan con la virulencia y adaptabilidad del patógeno. *A. baumannii* ha sido implicado en diversos tipos de infecciones, la mayoría de ellas nosocomiales, como septicemias, neumonías, infecciones del tracto urinario, meningitis e incluso endocarditis.

A. baumannii es una de las bacterias más frecuentes en brotes de infección intrahospitalaria por su capacidad de adherencia y persistencia en equipos biomédicos, teclados, cortinas e incluso teléfonos celulares de los trabajadores de salud, siendo usualmente resistente a desinfectantes de nivel bajo o intermedio. Un estudio realizado en unidades de cuidado intensivo reveló que después de 199 interacciones entre personal de la salud y pacientes colonizados o infectados con *A. baumannii* multirresistente, 38,7 % de los guantes o batas del personal de la salud resultaron contaminados y 4,5 % de ellos presentaron contaminación en sus manos después de la remoción de los guantes desechables (Vanegas-Múnera et al., 2014). Estos porcentajes son elevados si se comparan con otros microorganismos de importancia clínica como *Pseudomonas aeruginosa* que solo se presentó en el 8,2 % de las batas y guantes del personal de salud (Vanegas-Múnera et al., 2014).

Otro estudio, realizado durante un brote, encontró que *A. baumannii* podía ser recuperado de la cama de pacientes infectados hasta nueve días después del alta hospitalaria, lo que demuestra la habilidad de esta bacteria para sobrevivir por largo tiempo en superficies inanimadas. En el medio hospitalario *A. baumannii* origina diversidad de cuadros clínicos, principalmente neumonía asociada a ventilador y bacteriemia. Otras manifestaciones incluyen infecciones quirúrgicas, infecciones de tracto urinario relacionadas con sondas vesicales, meningitis relacionadas con derivaciones ventriculares externas e infecciones en piel y tejidos blandos en pacientes quemados y militares heridos en combate.

Acinetobacter spp., tiene la capacidad de producir infecciones supurativas en casi cualquier sistema del organismo. Debido a su amplia distribución en la naturaleza y su capacidad para colonizar tejidos sanos o dañados, la interpretación del significado de aislamientos procedentes de muestras clínicas suele ser difícil, poder diferenciar entre una muestra de sangre contaminada y bacteriemia real, suele ser una tarea a veces difícil (Rada Cuentas, 2016). El origen más común de las bacteriemias son las infecciones del tracto respiratorio, de heridas quirúrgicas o catéter intravascular, presentando la mayor

tasa de bacteriemia nosocomial durante la segunda semana de hospitalización. El complejo *A. baumannii* es el patógeno aislado con mayor frecuencia y representa el 80% de todos los aislamientos clínicos de esta especie (Rada Cuentas, 2016).

Patogenia y Factores de Virulencia

La patogenia de *Acinetobacter baumannii* está en estrecha relación con: A) su capacidad para adherirse a superficies y células epiteliales humanas con el uso de sus fimbrias, B) las cadenas de lipopolisacáridos, desarrollo de biopelículas (biofilm) sobre las superficies y células humanas, C) sus cadenas de lipopolisacáridos, D) su gran capacidad para sobrevivir en medios con limitada concentración de zinc dentro del hospedero, E) la presencia de lípido A en la membrana celular externa, F) su habilidad de desarrollarse en un pH ácido y a bajas temperaturas, G) su larga viabilidad en condiciones de sequedad, H) su capacidad de producción de bacteriocina que incrementa su sobrevivencia, I) su cápsula que inhibe la fagocitosis, J) la producción de bacteriocina, K) producción de sideróforos, producción de enzimas que pueden dañar tejidos lipídicos (como por ejemplo el butirato y caprilato esterasas, gelatinasa y lipasa, entre otros), L) cápsula que inhibe la fagocitosis, presencia de un polisacárido capsular formado por L-ramnosa, D-glucosa, D-ácido glucurónico y D-manosa (vuelve a la cepa más hidrofílica disminuyendo su adherencia a hidrocarburos y ayudando a la bacteria a evadir la fagocitosis), M) su potencial para adquirir material genético de su medio ambiente para aumentar su supervivencia y desarrollar varios mecanismos de resistencia antimicrobiana, N) producción de aerobactinas y proteínas de la membrana externa dependientes de hierro (Rada Cuentas, 2016).

Como patógeno, *A. baumannii* ataca principalmente a tejidos húmedos como por ejemplo membranas mucosas o áreas de la piel expuestas, ya sea por lesión o por accidente. Los tejidos blandos y la piel infectados por *A. baumannii* presentan una apariencia inicial “peau d’orange” que significa piel similar de una naranja, seguida de una apariencia similar parecida al papel de lija y finalmente da paso a vesículas transparentes en la piel (Howard et al., 2012). A pesar de toda la investigación emergente de esta bacteria, hasta el día de hoy se sabe muy poco del verdadero potencial patogénico o repertorio de virulencia. Se deduce que varios factores intervienen al potencial de virulencia de *A. baumannii*, un factor en particular, OmpA, un miembro de las proteínas externa de

membrana (OMPs) contribuye significativamente al potencial patógeno que causa patologías.

A. baumannii OmpA se une a los epitelios y mitocondrias del hospedero, una vez unida a las mitocondrias, OmpA induce disfunción mitocondrial y hace que las mitocondrias se hinchen, seguido de esto, viene la liberación del Citocromo C (una proteína hemo que juega un papel crucial en la respiración celular y la apoptosis) que conducen a la formación de apoptosoma y todas estas reacciones contribuyan a la apoptosis de la célula. OmpA al ser la proteína más abundante de *A. baumannii* esta estrechamente involucrada en la resistencia del complemento y la formación de biopelículas siendo ambas estrategias clave de supervivencia al estrés y virulencia potencial importante que ayudan a promover la supervivencia dentro y fuera del huésped (Howard et al., 2012).

Se ha demostrado que *A. baumannii* tiene la capacidad de formar biopelículas en superficies abióticas, como vidrio y equipos usados en las unidades de cuidados intensivos (UCI) y/o superficies bióticas como células epiteliales. Entre los factores más comunes que controlan la formación de biopelículas se puede incluir la presencia de pili, proteínas de membrana externa y secreciones macromoleculares y la disponibilidad de nutrientes. El ensamblaje del pili y la producción de proteínas asociadas a biopelículas (BAP, biofilm-associated protein) contribuyen en la maduración y producción de la biopelícula posterior de que *A. baumannii* se adhiera a superficies particulares. Los BAP están presentes en la superficie de las células bacterianas y contribuyen al desarrollo y maduración del biofilm al estabilizar el biofilm en las superficies bióticas y abióticas.

Otras proteínas clave que han sido mostradas que contribuyen a la virulencia de *A. baumannii* incluye la fosfolipasa D y C. Mientras la fosfolipasa D es importante para la resistencia del suero humano, evasión de células epiteliales y patogénesis, la fosfolipasa C aumenta la toxicidad para las células epiteliales y junto con las fimbrias su la superficie bacteriana contribuyen a la adhesión del patógeno al epitelio del huésped. Una descripción detallada de la virulencia de *Acinetobacter baumannii* se presenta a continuación con los factores de virulencia asociados a células.

-Lipooligosacárido

Los apéndices de superficie, los glicoconjugados y las adhesinas de *A. baumannii* como los polisacáridos capsulares, las proteínas glicosiladas, el peptidoglicano y el

lipooligosacáridos son determinantes de su virulencia. *A. baumannii* posee un lipooligosacárido (LOS) que consiste en un disacárido heptaacilado (lípidos A) unido a un núcleo de oligosacárido sin la adición de polisacáridos de unidades repetidas conocidos como antígenos O. Se ha demostrado que la fracción hepta-acilada del lípidos A de los LOS de *Acinetobacter baumannii* estimula la respuesta inmune innata del huésped a través de la activación del receptor de reconocimiento de patrones Toll-like receptor 4 (TLR 4) y promueve la resistencia al péptido antimicrobiano catiónico y la desecación (Lucidi et al., 2023).

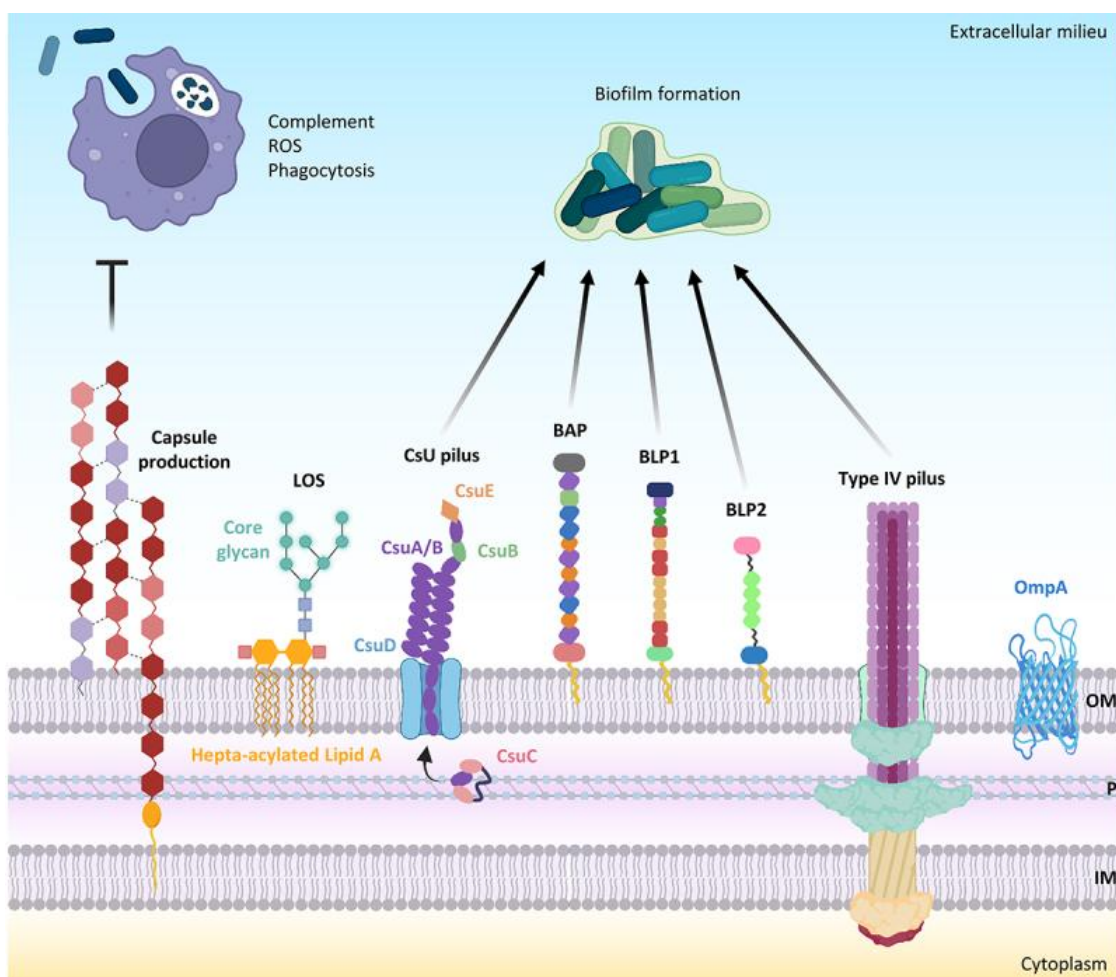


Ilustración 2. Factores de virulencia asociados a las células de *A. baumannii*. Los polisacáridos capsulares con carga negativa dificultan las interacciones con las superficies con carga negativa de los neutrófilos y macrófagos, y protegen contra la destrucción mediada por el complemento, la degradación de peptidoglicanos por la lisozima y las ROS (Especies Reactivas de Oxígeno/Reactive Oxygen Species). La heptaacilación del lípidos A en el LOS fortalece la membrana externa (OM) y protege a *A. baumannii* de los péptidos antimicrobianos catiónicos (CAMP) y la lisozima. El pilos de CsU, BAP, BLP1, BLP2 y el pilos tipo IV son las principales proteínas implicadas en la formación de biopelículas. La proteína A de la OM (OmpA) inhibe la destrucción mediada por el complemento. Otras abreviaturas: P: periplasma; IM: membrana interna (Lucidi et al., 2023).

-Cápsula:

A. baumannii se encuentra rodeado de una cápsula de polisacáridos que consiste en repeticiones de carbohidratos de alto peso molecular y también influye de forma importante en la virulencia bacteriana. El polisacárido capsular es crítico para el crecimiento en ascitis humana y la resistencia a la muerte mediada por complemento *A. baumannii* AB307-0294. Cada vez hay más evidencia que indica que la estructura del carbohidrato de la cápsula es responsable de la diferencia de virulencia entre los aislados clínicos de *A. baumannii*.

-OmpA (proteína de membrana externa A)

OmpA de *A. baumannii* es una proteína de superficie fundamental en la infección bacteriana. Se ha demostrado que OmpA se une a las células epiteliales del huésped y a los macrófagos primarios que se derivan de monocitos, se transloca al núcleo mediante una nueva señal de localización nuclear monopartita e induce a la muerte celular de las células huésped *in vitro*.

-Determinantes de virulencia implicados en la formación de biopelículas

La formación de biopelículas se ha asociado con la virulencia de *A. baumannii*, esto favorece la colonización de la mucosa del huésped y el crecimiento de bacterias en superficies abióticas contribuyendo de esta forma la producción de infecciones asociadas a dispositivos médicos y a la supervivencia en el medio ambiente, así se puede responder la supervivencia y persistencia en el entorno hospitalario. Existen pruebas que indican la expresión de los factores de virulencia implicados en el crecimiento y la adherencia de las biopelículas están finamente ajustada a nivel transcripcional. La formación de biopelículas también está regulada por varios factores incluyendo reguladores transcripcionales y sistemas de eflujo. Se ha demostrado que el regulador transcripcional tipo LysR LeuO regula negativamente los genes dentro del sistema de pili chaperona-usher *csuA/BABCDE* y los genes involucrados en la adquisición de hierro, y actúa como un represor de la síntesis de biopelículas (Lucidi et al., 2023).

-Sistemas de secreción en la virulencia de *A. baumannii*

Se han identificado cuatro sistemas de secreción de proteínas: sistema de secreción de tipo I (SSL1), sistema de secreción tipo II (SST2), sistema de secreción tipo V (T5SS), y

sistema de secreción tipos VI (T6SS), estos sistemas conllevan una serie reacciones bioquímicas complejas que no son descritas ni detalladas a fondo en esta investigación.

Plasticidad genómica y evolución de la virulencia

Con la rápida evolución de nuevas tecnologías de secuenciación, hay un sin número de genomas secuenciados y anotados de *A. baumannii*; estos datos disponibles permitió realizar análisis genómicos comparativos que han permitido resolver la estructura de la población de *A. baumannii* y sus relaciones filogenéticas, y de esta manera vislumbrar posibles factores de virulencia y el origen de los determinantes de resistencia a los antibióticos.

Dentro del pangenoma y el genoma central de *A. baumannii*, este tipo de especie bacteriana consta de un genoma central que varía entre 1455 y 2688 secuencias codificantes ortólogas (CDS) con dependencia del número e identidad de las cepas analizadas (Antunes et al., 2014). La mayor contribución al pangenoma de la especie la proporcionan los genes que no comparten todas las cepas (genoma accesorio) de los cuales entre el 25% y el 46% son únicos de cada cepa. Al comparar el genoma central con el genoma accesorio, este último está enriquecido en funciones de regulación del transporte y la transcripción.

Las funciones génicas asociadas supuestamente con la virulencia se encuentran principalmente en el genoma central de las distintas cepas clínicas siendo completamente independientes de su agrupación como aislados clonales o esporádicos o su fecha de aislamiento. Los genes que codifican algunos factores de virulencia implicados e la infección por *A. baumannii* también están ampliamente distribuidos en *Acinetobacter* spp. no patógenos como por ejemplo los genes que codifican el sistema de dos componentes BfmRS, OmpA (proteína de membrana externa), proteína de pared celular PBP 7/8 y los fosfolipasas C y D.

Crisis actual de la resistencia bacteriana

Desde el surgimiento de los antimicrobianos hace algunas décadas, como la penicilina y otro antimicrobianos surgidos en los años cuarenta, los antibióticos se han obtenido, utilizado y comercializado una gran cantidad alrededor del mundo. Con el comienzo de esta era antibiótica, surgió una falsa esperanza de que las enfermedades producidas por bacterias desaparecerían, pero al mismo tiempo las bacterias eran capaces de producir

mecanismo de resistencia, de tal manera que en los años 50 ya se conocían cepas resistentes a penicilina de *Staphylococcus aureus* (Daza-Pérez, 1998). Se dice que una bacteria es sensible cuando la capacidad del antibiótico frente a la bacteria es eficaz y se espera su inhibición (curación de la infección), por el otro lado, un antimicrobiano es completamente resistente cuando el crecimiento bacteriano solo puede ser inhibido a altas concentraciones a la que el antimicrobiano puede alcanzar en el lugar de infección.

Las infecciones producidas por bacterias resistentes están estrechamente relacionadas a una mayor mortalidad, morbilidad y coste que en casos de bacterias sensibles. Los antibacterianos o antimicrobianos o antibióticos han sido medicamentos que desde su descubrimiento y desarrollo han salvado millones de vida y han logrado transformar la medicina (desarrollo de procedimientos médicos complejos como por ejemplo las amputaciones y trasplantes).

Historia de los antimicrobianos

Como una breve introducción en la historia de los antibióticos, el término antibiótico data al año 1947 cuando S.A. Waksman definió por primera vez el término dando el concepto de ser una sustancia que tiene la capacidad de retardar, imposibilitar o destruir el crecimiento de las bacterias (Camacho Silvas, 2023). Además, según el uso de los antimicrobianos se los puede denominar como: antibacterianos, antiparasitarios, antivirales y antifúngicos. Los diversos antibióticos surgidos desde la fecha han clasificado estas sustancias de acuerdo la vía bioquímica en la que interfiere, de acuerdo al espectro y la clase y de acuerdo a su estructura química del compuesto.

El auge de los antibióticos inicia en 1899 con la piocinasa descubierta por Paul Ehrlich y Oscar Löw convirtiéndose en el primer antibiótico usado de tratamiento en infecciones humanas, aunque el primer antimicrobiano industrializado fue salvarsán (descrito por Paul Ehrlich en 1909) usada para tratar la sífilis. Se puede decir que se tiene registro en la antigua historia de Egipto, China y Grecia de tratar infecciones bacterianas al aplicar moho de forma tópica o algunos otros productos naturales (hierbas) como lo plasma John Parkinson en su libro “Theatrum Botanicum” de 1660.

Clasificación de los antibióticos

Los antibióticos se pueden dividir en bactericidas y bacteriostático, los primeros destruyen a las bacterias mientras que los segundos detienen el crecimiento bacteriano y

su replicación. En la actualidad ambos conceptos pueden desempeñar un papel confuso porque cada clase de antibiótico actúa preferentemente de una forma u otra, aunque un antimicrobiano puede comportarse como bactericida o bacteriostático. Los antimicrobianos bactericidas actúan inhibiendo la síntesis de la pared, interfiriendo con algunos aspectos del metabolismo del ADN o inhibiendo la síntesis de la pared celular mientras que, por el otro lado, los bacteriostáticos inhiben la síntesis proteica con excepción de los aminoglucósidos (Calvo & Martínez-Martínez, 2009).

Tabla 2. Clasificación de los antibacterianos según sus lugares de acción.

Clasificación antibacterianos según su lugar de acción	
Inhibición de la síntesis de la pared celular o bacteriana:	
<ul style="list-style-type: none"> • Penicilinas • Cefalosporinas • Carbapenémicos • Monobactámicos • Glicopéptidos • Bacitracina • Isoxazolidinonas • Fosfonopéptidos 	
Síntesis de proteínas:	
50s:	30s:
<ul style="list-style-type: none"> • Macrólidos • Fenicoles • Lincomicinas 	<ul style="list-style-type: none"> • Tetraciclinas • Aminoglucósidos • Glicilciclinas
Membrana citoplasmática:	Metabolismo del ácido fólico:
<ul style="list-style-type: none"> • Polimixinas • Lipopéptidos • Ionóforos • Formadores poros 	<ul style="list-style-type: none"> • Trimetoprima • Sulfonamidas
ADN directo ARN Polimerasa	ADN Girasa:
<ul style="list-style-type: none"> • Rifamicinas 	<ul style="list-style-type: none"> • Quinolonas/Fluoroquinolonas

Dependiendo el principal mecanismo de acción y estructura química del antibiótico, se describe los principales grupos antibióticos de interés clínico y sus representantes principales en la tabla de a continuación, tomado de (Calvo & Martínez-Martínez, 2009).

Tabla 3. Principales grupos de antimicrobianos y sus representantes.

Mecanismo de acción	Grupos	Antimicrobianos representativos	
Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana	B-lactámicos	Penicilinas	Naturales: penicilina G, penicilina V
			Resistentes a penicilinasas: cloxacilina, oxacilina, meticilina
			Aminopenicilinas: ampicilina, amoxicilina
			Carboxipenicilinas: carbenicilina, ticarcilina
			Ureidopenicilinas: piperacilina, mezlocilina
		Cefalosporinas	1.ª generación: cefazolina, cefalotina
			2.ª generación: cefuroxima, cefoxitinaa, cefotetána, cefaclor, cefamandol
			3.ª generación: cefotaxima, ceftriaxona, ceftazidima, cefixima, cefpodoxima
			4.ª generación: cefepima, cefpiroma
		Monobactams	Aztreonam
	Carbapenems	Imipenem, meropenem, ertapenem, doripenem	
	Glucopéptidos	Vancomicina, teicoplanina	
	Bacitracina	Bacitracina	
Isoxazolidinonas	Cicloserina		
Fosfonopéptidos	Fosfomicina		
Alteración de la membrana citoplásmica	Polimixinas	Polimixina B, polimixina E (colistina)	
	Lipopéptidos	Daptomicina	
	Ionóforos	Tiroidinas	
	Formadores poros	Gramicidinas	
Inhibición de la síntesis proteica	Ácido fusídico	Ácido fusídico	
	Aminoglucósidos	Gentamicina, tobramicina, amicacina, netilmicina	
	Anfenicoles	Cloranfenicol, Tiamfenicol	
	Estreptograminas	Quinupristina-Dalfopristina	
	Lincosamidas	Clindamicina, lincomicina	

	Macrólidos	14 átomos carbono: eritromicina, claritromicina, roxitromicina	
		15 átomos carbono: azitromicina (azálidos)	
		16 átomos carbono: espiramicina, josamicina, midecamicina	
		Cetólidos: telitromicina	
	Oxazolidinonas	Linezolid	
	Tetraciclinas	Tetraciclina, doxiciclina, minociclina	
Alteración del metabolismo o la estructura de los ácidos nucleicos	Quinolonas	1. ^a generación: ácido nalidíxico, ácido pipemídico	
		2. ^a generación: norfloxacino	
		3. ^a generación: ciprofloxacino, levofloxacino	
		4. ^a generación: moxifloxacino, gemifloxacino	
	Rifamicinas	Rifampicina	
	Nitroimidazoles	Metronidazol, ornidazol, tinidazol	
	Nitrofuranos	Nitrofurantoína, furazolidona	
Bloqueo de la síntesis de factores metabólicos	Sulfonamidas, Diaminopirimidinas	Trimetoprima sulfametoxazol	Cotrimoxazol
Inhibidores de β -lactamasas		Acido clavulánico, sulbactam, tazobactam	

Mecanismos de acción de los antibióticos

De manera general para eliminar o inhibir el crecimiento de bacterias, los antibióticos o antimicrobianos tienen que atravesar la membrana superficial de la bacteria y después fijarse sobre su diana (mecanismo bioquímico o estructura necesaria para reproducirse). Algunos de los mecanismos de acción de los antimicrobianos son: impedir la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas o de la pared celular o a su vez alterando la pared celular bacteriana.

1) Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared bacteriana

La pared celular protege la integridad anatómica y fisiológica de la bacteria además de soportar su gran presión osmótica interna, los antimicrobianos que inhiben la producción de la pared necesitan para ejercer su acción que las bacterias se encuentren en activo crecimiento; la acción bactericida de las bacterias necesita que el medio en el que se localice sea isotónico o hipotónico, estas características favorecen el estallido celular cuando la pared bacteriana se desestructura o se pierde. Estos antibióticos son generalmente más activos sobre las bacterias grampositivas por mayor cantidad de peptidoglicano. La pared celular se sintetiza en tres etapas en las cuales pueden actuar distintos antibióticos, las etapas son: etapa citoplasmática (síntesis precursoras de peptidoglicano), el transporte a través de la membrana citoplasmática y la organización final de la estructura del peptidoglicano.

-Inhibidores de la fase citoplasmática: los precursores del peptidoglicano son sintetizado por diferentes elementos en el citosol de la bacteria entre los que se encuentran: uridindifosfato-N-acetil-glucosamina (UDP-NAG), ácido fosfoenolpirúvico, uridintrifosfato (UTP) y Nicotinamida Adenina Dinucleótido (NADH) y a continuación se unen al azúcar una cadena de aminoácidos en la que se alternan formas L y D formando estos dos últimos el dipéptido D-alanin-D-alanina. Entre los ejemplos de estos antibióticos se encuentra la fosfomicina (antibiótico de amplio espectro, su acción inhibe la piruviltransferasa) y la cicloserina como fármaco de segunda línea por su toxicidad (este antibiótico actúa sobre su analogía estructural con la D-alanina).

-Inhibidores de la fase de transporte de precursores: aquí entra en desarrollo la membrana citoplasmática, un transportador de lípidos tomará a su cargo el precursor sintetizado en el citosol y hará atravesarlo a través de la membrana citoplasmática. Entre ejemplos de antibióticos se encuentran: mureidomicinas y bacitracina.

-Inhibidores de la organización estructural del peptidoglicano: todos los precursores del peptidoglicano son ensamblados con la ayuda de enzimas ubicadas en su superficie nombradas como proteínas fijadoras de penicilina (PBP, penicillin binding proteins) y los glucopéptidos y β -lactámicos tienen su acción en esta etapa.

2) Antibióticos que bloquean mecanismos de resistencia

Entre los inhibidores de beta-lactamasas de serina se encuentra el ácido clavulánico, tazobactam y sulbactam, de forma habitual estos antibióticos carecen de acción antibacteriana intrínseca, pero al unirse irreversiblemente a algunas β -lactamasas protegen de su acción a los antimicrobianos β -lactámicos. El sulbactam es activo frente *A. baumannii*.

3) Antibióticos activos en la membrana citoplasmática

Uno de los componentes que intervienen activamente en los procesos de transporte activo y procesos de difusión es la membrana citoplasmática (vital para todas las células) controlando la composición del medio interno celular, algunas sustancias que alteran su estructura están estrechamente relacionadas con el cambio de permeabilidad (salida iones de potasio o entrada de otras sustancias) que alteran el normal metabolismo de la bacteria.

Los antimicrobianos que su mecanismo de acción se encuentra en esta estructura tienen un comportamiento de bactericidas, entre los antibióticos que destacan y pertenecen a este grupo se encuentran las polimixinas, los lipopéptidos (como daptomicina), poliénicos y 2 grupos de bajo interés clínico que son los ionóforos y formadores de poros. Las polimixinas presentan mayor sensibilidad en bacterias gramnegativas por su mayor porcentaje de fosfolípidos que en grampositivas, son antimicrobianos activos de forma exclusiva frente bacilos gramnegativos aerobios, se incluyen bacterias multirresistentes como *Pseudomona aeruginosa* y *Acinetobacter baumannii*.

4) Antibiótico que inhiben la síntesis proteica

La síntesis de las proteínas bacterianas es el proceso más afectado por la acción de los antimicrobianos y su inhibición es viable gracias a las diferencias estructurales de los ribosomas eucariontes y bacterianos. Los ribosomas de las bacterias están constituidos por dos subunidades (30S y 50S) que contienen ARN ribosómico (ARNr 16S en la subunidad 30S, y en la subunidad 50S ARNr 5S y ARN 23S) y diversas proteínas llamadas S (small en la subunidad 30S) o L (large en la subunidad 50S).

Los antibióticos pertenecientes a este grupo tienen una actividad bacteriostática. La acción bactericida o bacteriostática del antibiótico va a depender de la concentración del

mismo. La síntesis proteica se desarrolla en diferentes fases y en las cuales tienen acción los diferentes antimicrobianos como se describe a continuación:

-Inhibidores de la fase de activación: el ARN de transferencia (ARNt) transporta los aminoácidos a la cadena peptídica en formación en el ribosoma que se unirá al ARNm codificante de la proteína en formación, cada aminoácido se unirá con su ARNt específico mediante su respectiva enzima específica (aminoacil ARNt sintetasa). En microorganismos como bacterias el primer aminoácido de la cadena peptídica es la metionina, la síntesis proteica se iniciará con la formación del complejo formilmetionil-ARNt que va a reconocer el codón de inicio AUG del ARNm. Un ejemplo de este tipo de inhibición es el antibiótico Mupirocina con acción potente frente grampositivos.

-Inhibidores del inicio de la síntesis proteica: el ARNm tiene un codón específico para la fijación del ARNt que porta el formilmetionina (aminoácido), los dos se unen a la subunidad 50S y conforman el complejo de iniciación de la síntesis de proteínas. El complejo consta de 2 sitios activos, locus A (donde se fijan los aminoacil-ARNt) y locus B (donde se engarzan el péptido en formación). Entre los antimicrobianos que actúan en esta fase de inicio de la síntesis están los aminoglucósidos y las oxazolidinonas (principal representante de uso es el linezolid).

-Inhibidores de la fijación del aminoacil-ARNt al ribosoma: iniciada la síntesis de proteínas, el proceso continúa con la incorporación de nuevos aminoácidos al locus A donde va a reconocer los codones internos del ARNm a través de los nucleótidos complementarios del ARNt que porta al aminoácido (Calvo & Martínez-Martínez, 2009). Los antibióticos que bloquean esta fase son los bacteriostáticos como las tetraciclinas (por ejemplo: doxiciclina, minociclina, oxitetraciclina, tetraciclina) y sus derivadas, glicilciclinas (por ejemplo, la tigeciclina).

-Inhibidores de la elongación: después que el ARNt que porta un aminoácido se ha fijado al locus A, el centro llamado peptidiltransferasa (ubicado en la subunidad 50S) cataliza la unión entre el aminoácido incorporado y el último aminoácido del péptido en formación cuyo proceso es denominado transpeptidación y que puede estar bloqueado por el cloranfenicol y las lincosamidas. Los anfenicoles como el cloranfenicol y su derivado tiamfenicol corresponde a antibióticos bacteriostáticos que bloquean la síntesis proteica de la bacteria al unirse reversiblemente a la proteína L16 localizada en la subunidad 50S.

Otros ejemplos de antibióticos que tienen su acción aquí se encuentra clindamicina como principal lincosamida, macrólidos (dependiendo del número de elementos que contienen en el anillo pueden ser: macrólidos de 14 átomos como eritromicina, roxitromicina, claritromicina entre otros; macrólidos de 15 átomos como la azitromicina; macrólidos de 16 átomos como josamicina, midecamicina, espiramicina, entre otros), cetólidos (nuevo grupo antimicrobiano derivado de la eritromicina), estreptograminas y ácido fusídico.

5) Antibióticos que actúan en la estructura o metabolismo de los ácidos nucleicos

La bacteria al dividirse debe transmitir la información de su ADN a la descendencia, y su replicación y transcripción se da por varias fases con la participación de distintas enzimas y sustratos y el ADN molde; esto constituye como dianas para la acción de ciertos antimicrobianos. En este grupo se incluyen las rifamicinas y quinolonas que actúan en enzimas que participan en la replicación y transcripción, también se encuentran los nitroimidazoles y nitrofuranos que tienen su acción directa sobre el ADN (lo dañan).

Las rifamicinas inhiben la síntesis de ARN mensajero y ARN ribosómico al bloquear la subunidad beta de la ARN polimerasa ADN-dependiente bacteriana codificada por el gen *rpoB* (Villain-Guillot et al., 2007); su antibiótico más representativo es la rifampicina. Las quinolonas ejercen su acción en las topoisomerasas II (ADN-girasa) y IV al bloquear su acción; al igual que las cefalosporinas, las quinolonas se han clasificado en generaciones respecto a sus propiedades farmacocinéticas y a su espectro de actividad, las de primera generación (ácido nalidíxico) tiene un espectro muy limitado a bacilos gramnegativos (tratamiento Infección Tracto Urinario/ITU), las de segunda generación como norfloxacin son más activas frente gramnegativos, las de tercera generación como levofloxacin y ciprofloxacino tienen mejor actividad frente grampositivos y bacterias fastidiosas; finalmente los de cuarta generación como gemifloxacino, moxifloxacino son muy activas en contra de bacterias grampositivas.

Los representantes de los nitroimidazoles como tinidazol, metronidazol y ornidazol penetran fácilmente el citoplasma por difusión pasiva dañando el ADN por oxidación. Finalmente, como representante principal de los nitrofuranos se encuentra la nitrofurantoína, este antimicrobiano reduce sus compuestos en el citoplasma bacteriano para generar derivados que son tóxicos y dañan el ADN.

6) Bloqueo de la síntesis de factores metabólicos

Algunas bacterias son incapaces de obtener folatos del medio y para obtener aminoácidos o bases nitrogenadas (púricas y pirimidínicas) las bacterias requieren de la síntesis de folatos. La síntesis del ácido tetrahidrofólico se lo obtiene a partir de una molécula de pteridina y ácido paraaminobenzoico (PABA) y posteriormente se forma el ácido dihidropteroico (mediante la enzima dihidropteroatosintetasa).

Las sulfamidas compiten por la enzima dihidropteroatosintetasa inhibiendo la formación de ácido dihidropteroico (precursor del ácido fólico), entre los representantes de este grupo se encuentran: sulfametoxazol (asociado a trimetoprima), sulfacetamida, suladiazina, sulfisoxazol, entre otros. Por el lado de las diaminopirimidinas como por ejemplo la pirimetamina y la trimetoprima, estas compiten por la enzima dihidrofolatoreductasa.

Mecanismos de resistencia *A. baumannii*

Con el auge de la tecnología de secuenciación, NGS (Next-generation sequencing) y la expansión de la secuenciación de genomas de *A. baumannii*, ha permitido el desarrollo de análisis filogenómicos y fenotípicos de una gran variedad lo que conlleva a la adquisición de información muy valiosa sobre la evolución y adaptación de esta bacteria como un patógeno grave en humanos. La resistencia antibiótica de *A. baumannii* ha aumentado progresivamente desde la década de 1970, para el 2007, hasta un 70% de los aislados de ciertos entornos eran MDR (multidrug resistant). La colistina, que es fue un fármaco fiable y eficaz contra *A. baumannii*, ahora también cuenta con informes de resistencia en todo el mundo, en parte por su capacidad para adquirir genes de resistencia en general mediante transferencia horizontal de genes.

Los mecanismos de resistencia de los antimicrobianos hacen referencia a los distintos procesos que presentan los microorganismos que producen ineficiencia a los medicamentos utilizados en su tratamiento, es decir a la capacidad de la bacteria para sobrevivir al medicamento en concentraciones terapéuticas. A nivel general, la resistencia bacteriana puede ser natural o intrínseca que significa que es una propiedad innata de la bacteria, y adquirida o extrínseca que es producto de un cambio en la composición genética causada por mecanismos como: neutralización del antibiótico mediante enzimas inactivantes como BLEE (Betalactamasas de espectro extendido), modificación o

alteración del sitio de unión con la consecuencia de pérdida de afinidad, y expulsión del antimicrobiano por un sistema de eflujo.

A nivel molecular y genético, se han asociado diferentes procesos en el intercambio de información entre bacterias que están vinculadas con la resistencia: conjugación (intercambio de material genético entre dos bacterias mediante contacto físico), transformación (incorporación por una bacteria de ADN libre en el medio como resultado de la lisis de otras bacterias), y transducción (consistente en transferir ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra) (Ángel Serra Valdés et al., 2017a).

En el año del 2006 un estudio realizado por (Fournier et al., 2006) comparó el genoma de *Acinetobacter* AYE y SDF con el uso de secuenciación completa de genoma shotgun, la cepa endémica AYE de Francia tuvo una tasa de mortalidad del 26% en pacientes infectados mientras que SDF proveniente de la misma región geográfica, pero con asociación con piojos del cuerpo de humanos y completamente susceptibles a agentes antimicrobianos. Las comparaciones genómicas revelaron que la cepa virulenta AYE contenía una región de 86kb llamada “isla” de resistencia que contenía un grupo de 45 genes de resistencia; la región homóloga de la cepa susceptible exhibió una isla genómica de 20kb con ausencia de estos marcadores de resistencia. Similitud de secuencias y análisis filogenéticos confirmaron que la mayoría de genes de resistencia encontrados en la cepa AYE han sido recientemente adquiridas de bacterias del género *Pseudomonas*, *Salmonella* o *Escherichia*

Todas las variantes genómicas de *A. baumannii* contienen una cefalosporinasa AmpC cromosómica no inducible, también conocida como cefalosporinas derivadas de *Acinetobacter* (ADC). La presencia de un elemento IS aguas arriba conocida como ISAbal determina la regulación del gen AmpC. La sobreexpresión de la cefalosporina AmpC y la resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido están intrínsecamente ligadas a la presencia de ISAbal. *A. baumannii* también posee una oxacilinas de clase D intrínseca que pertenece al grupo de las enzimas similares a OXA-51 que constituye más de 40 variantes de secuencia. La naturaleza ubicua de los genes similares a OXA-51 en *A. baumannii* se ha convertido en un marcador genético importante en la identificación del organismo a nivel de especie, estas enzimas similares a OXA-51 pueden hidrolizar penicilinas y carbapenémicos de forma débil. Una contribución significativa a la resistencia de lactama por enzimas similares a OXA-51 requiere inserción ISAbal aguas

arriba del gen (upstream) que actúa como un fuerte promotor transcripcional. La forma común de resistencia a carbapenémicos es la producción de oxacilinasas codificadas por genes del linaje similar a blaOXA-23, blaOXA-40 y blaOXA-58 (Howard et al., 2012b).

A. baumannii contiene algunos genes agrupados en islas de resistencia en su genoma, esta estructura peculiar facilita la adquisición de mecanismos de resistencia de otros tipos de especie de bacterias, también su peculiar característica de resistencia esta mediada en parte a comparación de otras bacterias gracias a su estrecho vínculo con varias especies de su género en el suelo y agua del ambiente que contiene un reservorio de genes grande que es responsable de la resistencia bacteriana.

Las β -lactamasas es el principal y más frecuente mecanismo de resistencia de *A. baumannii*. El conocido grupo Ambler 1 β -lactamasa clase C no inducible son codificadas cromosómicamente como cefalosporinas capaces de hidrolizar a las penicilinas y cefalosporinas desde la primera a tercera generación, se puede decir que para las cefalosporinas de cuarta generación como carbapenémicos y cefepime el porcentaje de hidrólisis es menor (Rada Cuentas, 2016).

Como es común en las bacterias que son gramnegativas, estas poseen una membrana citoplasmática y una membrana externa, un espacio periplásmico donde se ubica las beta-lactamasas. A nivel de la membrana citoplasmática se ubican las PFP que son las proteínas fijadoras de penicilina sin la diana de los antimicrobianos β -lactámicos. Otra causa de importancia de la resistencia de *A. baumannii* son las bombas de expulsión responsables de la resistencia a antibióticos β -lactámicos, macrólidos, cloranfenicol, tetraciclinas, tigeciclina, aminoglucósidos e incluso ciertos antisépticos. Además, la resistencia a los aminoglucósidos viene determinada por la presencia de enzimas conocidas como fosforilasas, acetilasas y adenilasas causantes de la disminución de la afinidad a estos antimicrobianos. Una recopilación de un gran compendio de mecanismos de resistencia de *A. baumannii* con su respectiva clase de antibiótico se describe en la tabla de a continuación tomado de (Peleg et al., 2008b).

Tabla 4. Mecanismos de resistencia de *A. baumannii*.

Clase de antibiótico y mecanismo de resistencia		Enzimas
β-Lactámicos	β-lactamasas	TEM SHV ADC _s VEB PER CTX-M OXA IMP VIM SIM
	OMPs	CarO (29 kDa) 336, 380, 511 47-, 44-, and 37-kDa OMPs 446 22- and 33-kDa OMPs 47 HMP-AB 209 33- to 36-kDa OMPs 94, 119 43-kDa OMP 141 OmpW
	Eflujo	AdeABC
	Proteínas de unión a penicilina alteradas	Altered penicillin-binding proteins
Aminoglucósidos	Enzimas modificadoras de aminoglucósidos	Acetiltransferasas, nucleotidiltransferasas, fosfotransferasas
	Metilación ribosómica (ARN16S) Eflujo	AdeABC AdeM
Tetraciclinas y glicilciclinas	Eflujo específico de tetraciclinas	Tet (A), Tet (B)
	Protección Ribosomal	Tet (M)
	Eflujo de múltiples fármacos	AdeABC
ADC, cefalosporinasas derivadas de <i>Acinetobacter</i> ; HMP-AB, proteína modificable por calor en <i>Acinetobacter baumannii</i> .		

-β-lactamasa

El mecanismo enzimático más frecuente de *A. baumannii* es de la resistencia a las β-lactamasas. Todas las cepas de *A. baumannii* inherentemente son cefalosporinasas AmpC codificadas cromosómicamente, también son conocidas como cefalosporinasas derivadas de *Acinetobacter* (ADC).

La resistencia a β -lactámicos contiene mecanismos no enzimáticos (incluido la resistencia a carbapenémicos) incluyendo cambios en proteínas de membrana externa (OMPs), bombas de eflujo de múltiples fármacos y cambios en la expresión y afinidad de proteínas de unión a penicilina. El genoma de una bacteria resistente a múltiples fármacos codifica una amplia gama de sistemas de eflujo de múltiples fármacos, una bomba de tipo familia de resistencia-nodulación-división (RND) AdeABC es la mejor estudiada y esta incluye β -lactámicos (incluidos los carbapenémicos), aminoglucósidos, eritromicina, cloranfenicol, tetraciclinas, trimetoprima, fluoroquinolonas y bromuro de etidio.

-Aminoglucósidos

En *A. baumannii* prevalece la presencia de genes que codifican enzimas modificadoras de aminoglucósidos dentro de integrones de la clase 1. Este mecanismo de resistencia altera la unión de los aminoglucósidos a sus sitios diana y confiere una resistencia de alto nivel a todos los aminoglucósidos clínicamente útiles (gentamicina, tobramicina, amikacina).

-Quinolonas

Las modificaciones de la ADN girasa o la topoisomerasa IV a través de mutaciones en los genes *gyrA* y *parC* han sido descritas en *A. baumannii*, estas alteraciones interfieren con la unión al sitio diana.

-Tetraciclinas y glicinas

Estos mecanismos de resistencias a las tetraciclinas y sus derivados pueden estar mediada por eflujo o protección ribosomal, las bombas de eflujo específicas de la tetraciclina incluyen las codificadas por los determinantes tet(A) a tet(E) que se encuentran frecuentemente en gramnegativos.

Biología Computacional/Bioinformática

La biología computacional se la define como la ciencia que trata del uso de computadoras, bases de datos, estadística, matemáticas y biología para reunir, almacenar, organizar y analizar grandes cantidades de información biológica, médica y de salud. Toda esta información es obtenida alrededor de todo el mundo de muchas fuentes, incluso desde

estudios de investigación genética y molecular, ensayos clínicos, estadísticas sobre pacientes y revistas científicas (NIH, 2025).

La biología computacional usa técnicas de programadores computacionales y científico de datos para abordar problemas biológicos, sus principales áreas de interés se encuentra el modelado computacional de procesos biológicos, el análisis de la estructura y función de las proteínas, el mapeo genómico y la predicción de funciones, la simulación y el diseño de sistemas vegetales y microbianos, y la elaboración de herramientas computacionales que faciliten estas actividades. La biología computacional desarrolla un papel crucial en la investigación para el descubrimiento de nuevos fármacos, el diseño de sistemas microbianos para aplicaciones médicas y ambientales y el análisis de grandes datos biológicos para encontrar patrones y objetivos en el tratamiento médico de enfermedades.

La bioinformática es una disciplina que se origina de la interacción entre la biología, la estadística y las ciencias de computación, como objetivos centrales se encuentra el manejo y análisis de grandes volúmenes de datos principalmente producto de nuevas tecnologías en biología molecular como son por ejemplo la proteómica, genómica y metabolómica. La bioinformática es una disciplina enfocada en el desarrollo y uso de herramientas computacionales para el manejo, análisis y almacenamiento de datos biológicos. Dentro de las áreas de aplicación de la bioinformática se encuentra el análisis de secuencias, genómica, transcriptómica, proteómica y biología estructural, metagenómica. Ambos términos se correlacionan, pero no son iguales, mientras la biología computacional se centra en modelos y teorías biológicas la bioinformática se enfoca en herramientas y análisis de datos biológicos, son ciencias complementarias, pero con un enfoque diferente.

Tecnologías de secuenciación masiva

Las tecnologías de secuenciación masiva también conocidas como Next Generation Sequencing (NGS) representan un conjunto de metodologías de secuenciación de ADN y ARN que permite obtener millones de lecturas en paralelo. Con el origen de los secuenciadores masivos la microbiología se ha revolucionado lo cual ha pasado a un ámbito netamente computacional con la inaudible aplicación de la bioinformática. El diagnóstico de enfermedades se ha vuelto mucho más rápido al tener la posibilidad de estudiar el microbiota, el microbioma y el metagenoma de una muestra clínica al tener

conocimiento de la taxonomía y la epidemiología de los agentes involucrados (Hernández et al., 2020). La NGS ha revolucionado la biología molecular, la medicina y la biotecnología al posibilitar el análisis de genomas completos, transcriptomas y comunidades microbianas.

Entre las principales tecnologías de secuenciación se encuentra: secuenciación por Illumina (Secuenciación por síntesis) que emplea nucleótidos marcados con fluoróforos y detección óptica, secuenciación por ligación (SOLid, Life Technologies) que usa sondas fluorescentes y ligasas de ADN, Pirosecuenciación (454 Roche) que se basa en la detección de pirofosfato liberado durante la síntesis de ADN, y finalmente las tecnologías de tercera generación como PacBio, SMRT, Oxford Nanopore que permiten lecturas largas en tiempo real que son muy útiles para estudios de genomas complejos y ensamblajes de novo (Goodwin et al., 2016). El impacto de las tecnologías de secuenciación masiva es evidente en múltiples áreas como la genómica, la transcriptómica, metagenómica y medicina personalizada.

Genómica

La genómica se define como una disciplina que estudia la función, estructura y evolución de los genomas, usa procedimientos metodológicos para secuenciar y ensamblar genomas (Pérez Alquicira et al., 2022). Se puede decir que diferencia de la genética clásica (centrada en los genes individuales y sus patrones de herencia), la genómica se enfoca en el análisis global de todos los genes y sus interacciones para la comprensión de fenómenos biológicos. El desarrollo de la genómica se consolidó con el Proyecto Genoma Humano cuyo éxito marco un hito en la biología moderna al secuenciar aproximadamente 3 200 millones de pares de bases del genoma humano (Collins et al., 2003). Desde esa fecha, el avance en las metodologías de secuenciación masiva (NGS) he permitido extender los estudios genómicos en múltiples organismos como bacterias, plantas y animales con aplicación directa en la biomedicina, agricultura y biotecnología.

Desde el origen de la genómica, esta ciencia ha transformado la investigación biomédica al permitir la identificación de variantes genéticas asociadas a enfermedades complejas, el descubrimiento de biomarcadores y el desarrollo de terapias personalizadas. La genómica constituye una herramienta esencial en la biología contemporánea, ya que integra datos de secuenciación, bioinformática y biología molecular para generar un entendimiento profundo de los organismos y sus interacciones. Su carácter transversal ha

impulsado avances significativos en múltiples disciplinas, consolidándola como uno de los pilares de la biología del siglo XXI. Entre las principales ramas de la genómica se destaca:

- Genómica estructural: enfocada en la organización y anotación de los genes dentro de un genoma, incluyendo la identificación de exones, intrones, elementos reguladores, y regiones no codificantes.
- Genómica funcional: enfocada en la expresión y regulación de los genes, utiliza tecnologías como RNA-seq, CHIP-seq o proteómica para explicar como la información genética se traduce en funciones biológicas.
- Genómica comparativa: enfocada en analizar las diferencias y similitudes entre genomas de distinta especie o cepas permitiendo inferir relaciones evolutivas, identificar genes de resistencia y comprender mecanismos de adaptación.
- Metagenómica: explora el material genético de comunidades microbianas directamente desde muestras ambientales o clínicas sin necesidad de realizar un cultivo en el laboratorio de microbiología, además los análisis metagenómicos aportan información sobre la diversidad y funciones metabólicas.

Genómica Comparativa

La genómica comparativa estudia similitudes y diferencias entre genomas para inferir relaciones evolutivas, mecanismos de adaptación y bases genéticas de los fenotipos, incluyendo virulencia y resistencia antimicrobiana. A diferencia de la genética clásica, que se centra en genes individuales, la genómica comparativa adopta una perspectiva de genoma completo, integrando análisis de contenido génico, organización (sintenia), variación nucleotídica y flujo génico horizontal.

Un concepto central es el pangenoma, que engloba el núcleo (genes presentes en todas las cepas) y el accesorio (genes variables, a menudo asociados a adaptación y movilidad genética). El pangenoma puede ser abierto (crece con cada genoma añadido) o cerrado (satura rápidamente), con implicaciones para la ecología y evolución de especies bacterianas (Vernikos et al., 2015). En bacterias oportunistas, el repertorio accesorio suele contener islas genómicas, plásmidos, transposones y casete integrones que median la adquisición de genes de resistencia y factores de virulencia. La genómica comparativa suele seguir cuatro ejes complementarios:

1. Delimitación y distancia genómica: la Identidad Promedio Nucleotídica (ANI) cuantifica la similitud par a par entre genomas. Herramientas actuales como FastANI y Mash permiten estimaciones rápidas a escala de colecciones grandes (Ondov et al., 2016).
2. Pangenoma y ortología: la identificación de ortólogos y la inferencia de presencia/ausencia de genes permiten caracterizar el pangenoma y asociar módulos genéticos con fenotipos. Pipelines como Roary y Panaroo ejecutan clustering de genes, corrigen errores de anotación y generan matrices de presencia/ausencia y alineamientos de genes del núcleo. La anotación estructural y funcional estandarizada (por ejemplo, la herramienta Prokka) es crítica para reducir falsos positivos/negativos en el llamado de genes.
3. Filogenómica y recombinación: los árboles de SNPs (Polimorfismo de un Solo Nucleótido) del núcleo o de genes concatenados se infieren con métodos de máxima verosimilitud (ejemplo: IQ-TREE, RAxML), tras alineamientos robustos (MAFFT) y, cuando procede, enmascaramiento de regiones recombinantes para evitar sesgos en la topología (Nguyen et al., 2015a).
4. Sintenia y variación estructural: herramientas de alineamiento de genomas completos como MUMmer y Mauve permiten detectar inversiones, reordenamientos, inserciones y deleciones a gran escala, además de visualizar patrones de colinealidad mediante dotplots. Estas señales estructurales suelen correlacionarse con islas móviles y hotspots de recombinación.

En contextos aplicados, la genómica comparativa sustenta:

-Vigilancia genómica y epidemiología. La resolución de brotes y la inferencia de transmisión se benefician de genomas completos, filogenias de alta resolución y tipificados basados en genes del núcleo.

-Resistencia antimicrobiana (RAM). La combinación de matrices de presencia/ausencia con bases de datos curadas (CARD, ResFinder) facilita mapear genes RAM, variantes cromosómicas y cassettes asociados a elementos móviles.

-Asociación genotipo-fenotipo. En bacterias, enfoques de GWAS microbiano (por ejemplo: pyseer) permiten ligar variantes (SNPs, k-mers, genes accesorios) con fenotipos como MIC o resistencia clínica, corrigiendo por estructura poblacional y clonía.

BV-BRC (Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center)

El Centro de Recursos de Bioinformática Bacteriana y Viral (BV-BRC) es un sistema de información diseñado para apoyar el trabajo de la comunidad de investigación biomédica en enfermedades infecciosas bacterianas y virales mediante la integración de información vital sobre patógenos con datos de alta calidad y herramientas de análisis. BV-BRC combina los datos, la tecnología y las extensas comunidades de usuarios de dos centros con una larga trayectoria: PATRIC (sistema bacteriano) e IRD/ViPR (sistema viral). Además de cientos de miles de genomas bacterianos en PATRIC y más de un millón de genomas virales en IRD/ViPR, ambos recursos albergan datos sobre estructura y función de proteínas, estudios clínicos, dianas farmacológicas y resistencia, epidemiología y otras características, y proporcionan herramientas de código abierto para el análisis de datos y la anotación genómica (BV-BRC, 2025).

El BV-BRC ofrece un repositorio con miles de genomas anotados de bacterias y virus, que son continuamente actualizados y estandarizados para facilitar la comparación y el análisis. Una de sus fortalezas radica en que no solo proporciona acceso a secuencias genómicas, sino también a metadatos clínicos, epidemiológicos y funcionales, lo que potencia los estudios en salud pública y biomedicina. Entre las principales funcionalidades de la página destaca: análisis de pangenoma y filogenómica, anotación automática de genomas, predicción de genes de resistencia antimicrobiana, herramientas para estudios comparativos e integración de datos con patogenicidad y virulencia.

Plataforma Galaxy

Se puede definir a Galaxy como una plataforma alojada en la web de código abierto, está diseñada para realizar análisis biomédicos y bioinformáticos de forma accesible, reproducible y transparente. Es una plataforma esencial para investigadores sin avanzados conocimientos en programación y así puedan ejecutar flujos de trabajo computacionales de una manera un poco más sencilla.

La plataforma Galaxy consta de una interfaz gráfica amigable, reproducibilidad, transparencia/compartición, herramientas integradas pre-empaquetadas listas para usar, y escalabilidad al estar diseñada para conectarse a clústeres de computación de alto rendimiento (HPC) y entornos cloud; así, de esta manera permite el análisis de grandes volúmenes de datos. La plataforma tiene un modelo de implantación descentralizado (no

hay un único servidor oficial sino una red de servidores públicos y privados) instalados en distintas instituciones alrededor del globo. Los principales servidores públicos más usados se encuentran: servidor de Estados Unidos (UseGalaxy.org), Europa (UseGalaxy.eu), Australia (UseGalaxy.org.au), Francia (UseGalaxy.fr).

Galaxy fue creada en 2005 por un equipo de investigadores de la Universidad Estatal de Pensilvania con el propósito de eliminar barreras técnicas en la implementación de flujos de trabajo computacionales complejos, permitiendo que investigadores sin experiencia avanzada en programación puedan realizar análisis bioinformáticos de manera intuitiva (Jalili et al., 2020). Funciona como un sistema basado en la web que integra miles de herramientas bioinformáticas, incluyendo aquellas para el procesamiento de secuencias, ensamblaje genómico, análisis de expresión génica, genómica comparativa, y filogenómica. En la investigación genómica y biomédica, Galaxy está consolidada como una herramienta clave para el análisis de datos provenientes de NGS facilitando procesos como el control de calidad de lecturas crudas, ensamblaje y anotación de genomas, mapeo de secuencias y análisis de variantes, generación de árboles filogenéticos y estudios de microbioma y metagenómica.

Quast (Quality Assessment Tool for Genome Assemblies)

Quast se puede definir como una herramienta bioinformática para evaluar la calidad de ensamblados genómicos de novo o basados en referencia. Genera métricas estadísticas y gráficas que permite comparar la calidad entre distintos ensamblajes genómicos o a su vez valorar un ensamblaje individual. Es común su uso después del ensamblado con herramientas como SPAdes, Velvet, Canu, Flye, entre otros.

Quast calcula un conjunto de métricas estándar y avanzadas del ensamblado, entre ellas:

- Número de contigs/scaffolds
- Longitud total ensamblada
- GC% del ensamblado
- N50 y L50 (métricas de continuidad: indican qué tan largos y completos son los contigs)
- Largest contig (longitud del contig más largo)
- Número de Ns (bases ambiguas en el ensamblado)

- Tamaño estimado del genoma (si se proporciona una referencia o se conoce previamente)

Al proporcionar un genoma de referencia, Quast añade:

- Tasa de alineamiento contra la referencia
- Errores de ensamblado (inserciones, deleciones, inversiones, translocaciones)
- Genes perdidos o fragmentados (con base en anotaciones de referencia)
- Porcentaje de cobertura del genoma de referencia

BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs)

BUSCO es un conjunto de herramientas y bases de datos diseñadas para evaluar la calidad de ensamblajes genómico, transcriptomas y conjuntos de genes anotados. Su función primordial es de medir la completitud de un conjunto de datos biológicos mediante la búsqueda de genes altamente conservados y que deberían de estar presentes en un organismo dado. En cuanto al fundamento biológico e informático los Ortólogos Universales de Copia Única (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) se define que los ortólogos son genes en diferentes especies que evolucionaron a partir de un gen ancestral común, la copia única se espera que estos genes estén presentes en una sola copia en el genoma de la mayoría de los organismos su duplicación o pérdida de estos genes es un evento raro porque suelen ser esenciales para la supervivencia celular.

Entre los resultados que se espera al ejecutar BUSCO que busca el gen ortólogo esperado del genoma o transcriptoma están:

- Complete (Completo): coincidencia completa o casi completa de un gen, se subdivide en:
 - Single-copy (Copia Única): cuando se encuentra una sola copia, es el resultado ideal.
 - Duplicated (Copias Múltiples): se encuentra más de una copia, puede ser indicativo de duplicación génica pero también de error en el ensamblaje.
- Fragmented (Fragmentados): solo se encontró una parte del gen, esto sugiere que el genoma está incompleto o el gen fue ensamblado incorrectamente.
- Missing (Ausentes): no existe ningún vestigio del gen, esto indica que el ensamblaje está muy incompleto o que el gen se perdió en ese linaje.

Mummer/NUCmer

La comparación de genomas completos es una tarea fundamental en la genómica comparativa y la bioinformática estructural, ya que permite identificar regiones de conservación, variación y posibles eventos de reorganización genómica. Una de las herramientas más empleadas para este propósito es MUMmer (Maximal Unique Matches), un software diseñado para la alineación rápida y eficiente de secuencias de ADN a gran escala. MUMmer fue desarrollado originalmente para comparar genomas bacterianos completos, pero actualmente se utiliza ampliamente en la comparación de genomas microbianos, eucariotas y metagenomas. Su eficiencia radica en la identificación de coincidencias únicas máximas (MUMs), que son secuencias exactas no repetitivas presentes en ambos genomas. Estas coincidencias se emplean como anclas para realizar alineaciones a gran escala, lo que permite procesar genomas de varios megabases en minutos.

Dentro de este paquete, una de las herramientas más destacadas es NUCmer (Nucleotide MUMmer), optimizada para la comparación de secuencias de nucleótidos de gran tamaño. A diferencia de PROMer (Protein MUMmer), que compara secuencias a nivel de aminoácidos, NUCmer utiliza algoritmos que permiten realizar alineamientos globales y locales entre genomas completos o fragmentos de ADN, siendo especialmente útil para: identificación de polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), detección de inserciones, deleciones y duplicaciones, análisis de reordenamientos cromosómicos y cálculo de identidad promedio entre genomas (ANI), un parámetro clave en taxonomía microbiana.

MUMmer/NUCmer incluye herramientas complementarias como delta-filter, que permite filtrar los alineamientos para obtener correspondencias uno a uno entre regiones homólogas, y show-coords, que genera coordenadas y estadísticas sobre la similitud y cobertura entre genomas (Marçais et al., 2018). Estas funcionalidades son esenciales en la investigación genómica, especialmente en estudios de patógenos resistentes a antibióticos, donde se busca identificar variaciones genómicas responsables de la resistencia o virulencia.

DNAdiff

DNAdiff es una herramienta de línea de comandos que se utiliza para comparar dos genomas bacterianos o dos conjuntos de secuencias genómicas y calcular una serie de

métricas que muestran las diferencias y similitudes entre ellos. Es parte del paquete de software MUMmer, que es muy popular en bioinformática para el alineamiento de secuencias genómicas completas. Las comparaciones que hace DNAdiff son fundamentales en áreas como: genómica comparativa (estudiar la evolución y relación entre diferentes cepas de una misma especie bacteriana), control de calidad de ensamblajes (comparar el genoma que acabas de ensamblar con una secuencia de referencia de alta calidad para ver qué tan bueno es tu ensamblaje), identificación de variantes (encontrar diferencias a nivel de nucleótidos (SNPs), inserciones, deleciones y rearrreglos genómicos entre una cepa y una referencia).

En cuanto a las métricas y resultados, cuando ejecutas DNAdiff, automáticamente ejecuta varios programas del paquete MUMmer (como nucmer, delta-filter, etc.) por detrás y te genera un reporte resumido muy útil que incluye:

- Porcentaje de Identidad: el promedio de similitud entre las secuencias alineadas.
- Porcentaje de Alineamiento: que porcentaje de cada genoma está alineado con el otro.
- Coincidencia de Referencia (RefCoverage): Qué fracción del genoma de referencia está cubierta por el genoma query (consulta).
- Coincidencia de Query (QueryCoverage): qué fracción del genoma de query está cubierta por el genoma de referencia.
- Número de SNPs: Cantidad de diferencias de un solo nucleótido.
- Número de INSerciones (INS) y DELEcciones (DEL): brechas en la alineación que representan inserciones o deleciones.
- Rearreglos (Inversiones, Translocaciones): identifica grandes cambios estructurales.

Gracias a estas métricas, DNAdiff se utiliza frecuentemente en proyectos de comparación de cepas bacterianas resistentes y sensibles a antibióticos, ya que posibilita identificar diferencias genéticas que explican fenotipos de resistencia.

ABRicate

ABRicate se ha consolidado como una herramienta bioinformática de referencia para la búsqueda sistemática de genes de resistencia y factores de virulencia a partir de secuencias genómicas ensambladas. ABRicate funciona como un interfaz de búsqueda

basada en BLAST, que permite comparar secuencias genómicas contra diferentes bases de datos especializadas. Entre las bases más utilizadas se encuentran CARD, ResFinder, VFDB, NCBI AMRFinderPlus. La utilidad principal de ABRicate reside en su capacidad para detectar, listar y resumir genes de resistencia o virulencia presentes en un genoma, generando un archivo tabular con información como el gen identificado, la base de datos de referencia, el porcentaje de identidad y la cobertura de alineamiento.

En investigaciones microbiológicas, ABRicate se utiliza ampliamente en proyectos de vigilancia epidemiológica y salud pública, ya que permite la rápida identificación de genes responsables de resistencia a antibióticos de alto impacto clínico, como blaOXA, blaNDM, mcr, entre otros. Además, facilita el estudio de la patogenicidad bacteriana, al identificar genes relacionados con factores de virulencia como toxinas, adhesinas o sistemas de secreción (Jia et al., 2017).

IQ-TREE (Iterative Quick Tree)

La reconstrucción filogenética es un componente esencial de la bioinformática y la genómica comparativa, ya que permite establecer relaciones evolutivas entre organismos y evaluar la diversidad genética dentro de un conjunto de cepas o especies. Entre las herramientas más robustas y utilizadas en este campo se encuentra IQ-TREE (Iterative Quick Tree), un software de código abierto diseñado para la inferencia de árboles filogenéticos mediante el método de máxima verosimilitud (Maximum Likelihood, ML) (Nguyen et al., 2015b). Una de las principales ventajas de IQ-TREE frente a otros programas como RAxML o PhyML es su alta velocidad y precisión, ya que implementa algoritmos de optimización eficientes que permiten explorar de manera exhaustiva el espacio de posibles árboles filogenéticos. IQ-TREE incorpora además un mecanismo innovador denominado Stochastic Algorithmic Perturbation (SAP), que evita quedar atrapado en óptimos locales y mejora la búsqueda del árbol con mayor verosimilitud.

Otro aspecto relevante de IQ-TREE es la selección automática de modelos evolutivos mediante su módulo ModelFinder, que compara cientos de modelos de sustitución de nucleótidos o aminoácidos y selecciona el más adecuado según criterios estadísticos como Akaike Information Criterion (AIC) o Bayesian Information Criterion (BIC) (Kalyaanamoorthy et al., 2017). Este procedimiento mejora la confiabilidad de las inferencias filogenéticas al ajustar el modelo a las características reales de los datos. IQ-TREE se utiliza ampliamente en estudios de genómica bacteriana y viral, en la

Para llevar a cabo la búsqueda y selección de los genomas de *A. baumannii* se procedió de la siguiente forma que se detalla a continuación:

1. En la barra de búsqueda principal de BV-BRC se colocó las palabras clave “*acinetobacter baumannii*” para filtrar solo esta bacteria, los resultados disponibles fueron de 458 094 genomas disponibles de *Acinetobacter baumannii* en esta base de datos.
2. Dentro del taxón “*Acinetobacter baumannii*” la página BV-BRC muestra varias opciones: Overview, Phylogeny, Taxonomy, Genomes, AMR Phenotypes, Sequences, Features, Proteins, Protein Structure, Specialty Genes, Domains and Motifs, Epitopes, Pathways, Subsystems, Experiments e Interactions. Dentro de estas opciones se seleccionó AMR Phenotypes que representa los fenotipos de la resistencia antimicrobiana/antibiótica (bacterias sensibles, intermedias y resistentes).
3. Dentro de la sección AMR Phenotypes, la página web muestra todos los genomas disponibles con su respectivo nombre, fenotipo resistente (Sensible, Intermedio, Resistente), método de laboratorio aplicado en la sensibilidad antibiótica, y métodos computacionales predictores de sensibilidad entre las que destacan las opciones más representativas y útiles para este proyecto. Se filtró en la opción “Filters” y se fue seleccionando el respectivo antibiótico a buscar con el fenotipo “Susceptible (Sensible)” y “Resistant (Resistente)”. Los datos con una sensibilidad intermedia no fueron considerados ni tomados en cuenta para la investigación, solo genomas de *A. baumannii* sensibles y resistentes.
4. BV-BRC consta de distintos datos informativos de los datos genómicos, entre los que destaca: el ID del genoma, métricas y datos estadísticos importantes, la clasificación taxonómica, información de la secuenciación, estadísticas del ensamblaje, calidad del genoma, método de laboratorio aplicado en la sensibilidad antibiótica, predicciones computacionales de sensibilidad antibiótica, entre otras. Para la selección de los genomas y su sensibilidad antibiótica se consideró solo los datos con métodos analíticos de laboratorio como como dilución en caldo (MIC/CMI: Concentración Mínima Inhibitoria de un antibiótico) o difusión de disco (método de Kirby-Bauer). No se tomó en cuenta genomas con predicciones computacionales de sensibilidad antibiótica que aplican algoritmos computacionales para la predicción de sensibilidad.

5. Para la selección de los antibióticos se tomó en consideración los más usados e importantes en el ámbito clínico. Se seleccionaron 14 antibióticos o antimicrobianos: ciprofloxacino, gentamicina, ceftazidime, levofloxacina, tetraciclina, trimethoprim/sulphamethoxazole, amikacina, tobramicina, imipinem, meropenem, ampicilina/sulbactam, carbapenem, ceftriaxona y ampicilina.
6. El último filtro para la selección de los genomas fue que se consideraron solo genomas que tengan información completa y bien detallada en la base de datos BV-BRC y tengan disponible la descarga del archivo FASTA. La información que se verificó es que el genoma tenga los datos completos de longitud (longitud aproximada de 3.8-4.3 Mbp para *A. baumannii*), contigs, plataforma de secuenciación (Sequencing Platform), profundidad (Sequencing Depth), método o metodología de ensamblaje (Assembly Method), estado del genoma (Genome Status), estadísticas del genoma (Genome Statistics: contenido GC, ContigL50, ContigN50). Debido a la cantidad de genomas disponibles y a la ausencia del filtro que permite clasificar los genomas por su forma de secuenciación, no se estandarizó esta búsqueda con una sola forma de secuenciar la bacteria.
7. La elección final al pasar todos los filtros previos considerados para la selección de la muestra (28 genomas) fue de un genoma con fenotipo sensible por cada antibiótico (14 antibióticos descritos anteriormente) y un genoma con fenotipo resistente siendo un total de 28 genomas, cabe recalcar que los genomas seleccionados fueron secuenciados en diferentes plataformas así mismo como ensamblados con distintas herramientas bioinformáticas de ensamblaje. Se descargaron todos los genomas en formato FASTA renombrando el respectivo nombre del genoma según corresponda, con su fenotipo de sensibilidad (sensible, resistente) y respectivo antibiótico, y el nombre de la cepa a la pertenece.
8. Los 28 archivos FASTA de los genomas seleccionados de *Acinetobacter baumannii* fueron descargados de la opción “Download” y en “DNA FASTA”; todos los genomas se descargaron con el nombre predeterminado que le da BV-BRC por lo cual fue modificado por el nombre del genoma (Genome Name) y organizado en una carpeta de la PC local para el próximo procesamiento de datos.

La tabla que se presenta a continuación muestra los genomas seleccionados para la investigación, se detalla la población en general (número total de genomas disponibles en

la base de datos: 458 094) y la muestra seleccionada que son 28 genomas. Los genomas con los que se trabajó fueron: un genoma de *Acinetobacter baumannii* de cepas sensibles a: ciprofloxacino, gentamicina, ceftazidime, levofloxacina, tetraciclina, trimethoprim/sulphamethoxazole, amikacina, tobramicina, imipinem, meropenem, ampicilina/sulbactam, carbapenem, ceftriaxona y ampicilina; y un genoma de *Acinetobacter baumannii* de cepas resistentes a estos mismos antibióticos. Debido a que las cepas seleccionadas presentan un perfil de multirresistencia y sensibilidad de *A. baumannii*, la clasificación como resistente o sensible a un antibiótico específico se realizó con base en el fenotipo de susceptibilidad aplicado en el filtro de búsqueda de BV-BRC declarado en los metadatos de cada genoma. Para cada par de cepas seleccionadas (una sensible y otra resistente) se procedió con comparaciones puntuales sin que la presencia de resistencia adicional a otros antibióticos afecte la validez de la comparación.

Tabla 5. Datos de los genomas de *A. baumannii* seleccionados para el estudio.

Datos Generales de <i>Acinetobacter baumannii</i>	
N° Total Genomas disponibles en BV-BRC: 458 094	
Datos informativos de los genomas seleccionados	
Cepas Sensibles	Cepas resistentes
Ciprofloxacino	
Genomas sensibles a ciprofloxacino:1986	Genomas resistentes a ciprofloxacino: 14318
<i>Acinetobacter baumannii</i> UH6507 Longitud: 3762269bp, Contigs: 47 ID: 1398977.3 Sequencing Platform: Illumina GAIIx Sequencing Depth: 109.6x Assembly Method: Velvet v. 1.0.17 Genome Status: WGS	<i>Acinetobacter baumannii</i> UH11608 Longitud: 3886470bp, Contigs: 80 ID: 1398950.3 Sequencing Platform: Illumina GAIIx Sequencing Depth: 129.9x Assembly Method: Velvet v. 1.0.17 Genome Status: WGS
Genome Statistics	Genome Statistics
Contigs 47	Contigs 80
Genome Length 3762269	Genome Length 3886470
GC Content 38.8	GC Content 38.9
Contig L50 6.0	Contig L50 9
Contig N50 219190	Contig N50 146192
Annotation Statistics	Annotation Statistics
tRNA 60	tRNA 65
rRNA 4	rRNA 6
CDS 3518	CDS 3699
CDS Ratio 0.94	CDS Ratio 0.95
Hypothetical CDS 786	Hypothetical CDS 958
Hypothetical CDS Ratio 0.22	Hypothetical CDS Ratio 0.26
PLFAM CDS 3516	PLFAM CDS 3695
PLFAM CDS Ratio 1	PLFAM CDS Ratio 1

Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, ampicillin/sulbactam, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, timentin, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole	Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, meropenem, timentin, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole
Gentamicina	
Genomas sensibles a gentamicina: 3041	Genomas resistentes a gentamicina: 13137
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> Naval-82 Longitud: 3908929bp, Contigs: 197 ID: 903921.3 Sequencing Platform: Illumina Sequencing Depth: 62.5x Assembly Method: Celera Assembler v. 6.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 197 Genome Length 3908929 GC Content 39.18 Contig L50 24 Contig N50 50853</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 74 rRNA 16 CDS 3850 CDS Ratio 0.98 Hypothetical CDS 957 Hypothetical CDS Ratio 0.25 PLFAM CDS 3830 PLFAM CDS Ratio 0.99</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin, tetracycline, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> ABUH514287 Longitud: 3951134bp, Contigs: 99 ID: 470.702 Sequencing Platform: Illumina HiSeq 2000 Sequencing Depth: 66.43x Assembly Method: SPAdes v. 3.1.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 99 Genome Length 3951134 GC Content 38.89 Contig L50 10 Contig N50 110068</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 59 rRNA 4 CDS 3751 CDS Ratio 0.95 Hypothetical CDS 1014 Hypothetical CDS Ratio 0.27 PLFAM CDS 3751 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, ampicillin/sulbactam, aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, tetracycline, ticarcillin/clavulanic acid, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>
Ceftazidime	
Genomas sensibles a ceftazidime: 3817	Genomas resistentes a ceftazidime: 12102
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> UH19608 Longitud: 4074016bp, Contigs: 225 ID: 1398962.3 Sequencing Platform: Illumina GAllx Sequencing Depth: 197.8x Assembly Method: Velvet v. 1.0.17 Genome Status: WGS</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> ABUH588656 Longitud: 4079365bp, Contigs: 275 ID: 470.629 Sequencing Platform: Illumina HiSeq2000 Sequencing Depth: 93.15x Assembly Method: SPAdes v. 3.1.1 Genome Status: WGS</p>

<p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 225 Genome Length 4074016 GC Content 39 Contig L50 20 Contig N50 63258</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 65 rRNA 4 CDS 3874 CDS Ratio 0.95 Hypothetical CDS 1070 Hypothetical CDS Ratio 0.28 PLFAM CDS 3872 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, ampicillin/sulbactam, ceftazidime</p>	<p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 275 Genome Length 4079365 GC Content 38.89 Contig L50 30 Contig N50 44596</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 53 rRNA 2 CDS 3823 CDS Ratio 0.94 Hypothetical CDS 1036 Hypothetical CDS Ratio 0.27 PLFAM CDS 3823 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, ampicillin/sulbactam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, piperacillin/tazobactam, tetracycline, ticarcillin/clavulanic acid, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>
Levofloxacin	
Genomas sensibles a levofloxacin: 3441	Genomas resistentes a levofloxacin: 12091
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain AB_349 Longitud: 3764588bp, Contigs: 206 ID: 470.6180 Sequencing Platform: Illumina NextSeq Sequencing Depth: 134x Assembly Method: SPAdes v. 3.11.0 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 206 Genome Length 3764588 GC Content 38.979107 Contig L50 28 Contig N50 43457</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 59 rRNA 2 CDS 3813 CDS Ratio 1.0128598 Hypothetical CDS 875 Hypothetical CDS Ratio 0.2294781 Partial CDS 59</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain AB_029 Longitud: 3845327bp, Contigs: 281 ID: 470.6247 Sequencing Platform: Illumina NextSeq Sequencing Depth: 8x Assembly Method: SPAdes v. 3.11.0 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 281 Genome Length 3845327 GC Content 38.99792 Contig L50 38 Contig N50 28308</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 65 rRNA 2 CDS 3811 CDS Ratio 0.9910731 Hypothetical CDS 924 Hypothetical CDS Ratio 0.24245605 Partial CDS 34</p>

Partial CDS Ratio 0.015473381 PLFAM CDS 3684 PLFAM CDS Ratio 0.96616834 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, ampicillin/sulbactam, cefepime, ceftazidime, ciprofloxacin, doxycycline, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, minocycline, piperacillin/tazobactam, trimethoprim/sulfamethoxazole	Partial CDS Ratio 0.008921543 PLFAM CDS 3723 PLFAM CDS Ratio 0.9769089 Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, ampicillin/sulbactam, cefepime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, doxycycline, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, piperacillin/tazobactam
Tetraciclina	
Genomas sensibles a tetraciclina: 3802	Genomas resistentes a tetraciclina: 11622
<i>Acinetobacter baumannii</i> strain AR_0037 Longitud: 4069789bp. Contigs: 26 ID: 470.2844 Sequencing Platform: PacBio Sequencing Depth: 100x Assembly Method: HGAP v. 3 Genome Status: WGS <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> Contigs 26 Genome Length 4069789 GC Content 38.99 Contig L50 1 Contig N50 3156531 <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> tRNA 86 rRNA 29 CDS 3925 CDS Ratio 0.96 Hypothetical CDS 1055 Hypothetical CDS Ratio 0.27 PLFAM CDS 3925 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, colistin, polymyxin B, tetracycline	<i>Acinetobacter baumannii</i> ABUH134192 Longitud: 4180473bp, Contigs: 91 ID: 470.718 Sequencing Platform: Illumina HiSeq 2000 Sequencing Depth: 167.3x Assembly Method: SPAdes v. 3.1.1 Genome Status: WGS <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> Contigs 91 Genome Length 4180473 GC Content 38.98 Contig L50 11 Contig N50 120109 <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> tRNA 49 rRNA 3 CDS 3984 CDS Ratio 0.95 Hypothetical CDS 1163 Hypothetical CDS Ratio 0.29 PLFAM CDS 3984 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, ampicillin/sulbactam, aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, tetracycline, ticarcillin/clavulanic acid, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole
Trimethoprim/sulphamethoxazole	
Genomas sensibles a trimethoprim/sulphamethoxazole: 4058	Genomas resistentes a trimethoprim/sulphamethoxazole: 11672
<i>Acinetobacter baumannii</i> UH5107 Longitud: 4006224bp, Contigs: 135 ID: 1398971.3	<i>Acinetobacter baumannii</i> ABUH71296 Longitud: 4167283bp, Contigs: 121 ID: 470.699

<p>Sequencing Platform: Illumina GAIIx Sequencing Depth: 111.2x Assembly Method: Velvet v. 1.0.17 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 135 Genome Length 4006224 GC Content 38.9 Contig L50 7 Contig N50 214999</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 60 rRNA 3 CDS 3805 CDS Ratio 0.95 Hypothetical CDS 1005 Hypothetical CDS Ratio 0.26 PLFAM CDS 3803 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, ampicillin/sulbactam, cefepime, ceftazidime, timentin, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>	<p>Sequencing Platform: Illumina HiSeq 2000 Sequencing Depth: 153.51x Assembly Method: SPAdes v. 3.1.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 121 Genome Length 4167283 GC Content 38.98 Contig L50 12 Contig N50 120130</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 51 rRNA 3 CDS 3985 CDS Ratio 0.96 Hypothetical CDS 1180 Hypothetical CDS Ratio 0.3 PLFAM CDS 3985 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, aztreonam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, tetracycline, ticarcillin/clavulanic acid, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>
Amikacina	
<p>Genomas sensibles a amikacina:6005</p> <p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain MRSN3941 Longitud: 3949960bp, Contigs: 112 ID: 470.1562 Sequencing Platform: Illumina MiSeq Sequencing Depth: 66.0x Assembly Method: Newbler v. 2.7 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 112 Genome Length 3949960 GC Content 38.94 Contig L50 14 Contig N50 79571</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 63 rRNA 2 CDS 3849 CDS Ratio 0.97 Hypothetical CDS 992</p>	<p>Genomas resistentes a amikacina: 9925</p> <p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain CCF34 Longitud: 3968927bp, Contigs: 128 ID: 470.2238 Sequencing Platform: Illumina NextSeq 500 Sequencing Depth: 254.88x Assembly Method: SPAdes v.3.1.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 128 Genome Length 3968927 GC Content 39 Contig L50 21 Contig N50 65563</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 58 rRNA 1 CDS 3842 CDS Ratio 0.97</p>

<p>Hypothetical CDS Ratio 0.26 PLFAM CDS 3847 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: ampicillin/sulbactam, amikacin</p>	<p>Hypothetical CDS 1028 Hypothetical CDS Ratio 0.27 PLFAM CDS 3840 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, ampicillin, ampicillin/sulbactam, azidothymidine, cefepime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, ertapenem, gentamicin, imipenem, levofloxacin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, tetracycline, ticarcillin, tobramycin</p>
Tobramicina	
Genomas sensibles a tobramicina: 5967	Genomas resistentes a tobramicina: 9890
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain CCF18 Longitud: 4011600bp, Contigs: 83 ID: 470.2255 Sequencing Platform: Illumina NextSeq 500 Sequencing Depth: 114.72x Assembly Method: SPAdes v. 3.1.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 83 Genome Length 4011600 GC Content 38.87 Contig L50 12 Contig N50 111044</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 61 rRNA 1 CDS 3923 CDS Ratio 0.98 Hypothetical CDS 1107 Hypothetical CDS Ratio 0.28 PLFAM CDS 3917 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, minocycline, tobramycin</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain MRSN20755 Longitud: 3826045bp, Contigs: 77 ID: 470.1558 Sequencing Platform: Illumina Miseq Sequencing Depth: 147.0x Assembly Method: Newbler v. 2.7 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 77 Genome Length 3826045 GC Content 39.06 Contig L50 9 Contig N50 142952</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 65 rRNA 3 CDS 3709 CDS Ratio 0.97 Hypothetical CDS 906 Hypothetical CDS Ratio 0.24 PLFAM CDS 3708 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Resistente: ceftriaxone, gentamicin, tobramycin, ampicillin/sulbactam, aztreonam, ceftazidime, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole, ampicillin, ceftazidime, cefotaxime, nitrofurantoin</p>
Imipenem	
Genomas sensibles a imipenem: 6300	Genomas resistentes a imipenem: 9858
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain MRSN17592 Longitud: 3857306bp, Contigs: 80 ID: 470.1548</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain MRSN6269 Longitud: 4025940bp, Contigs: 117 ID: 470.1564</p>

<p>Sequencing Platform: Illumina MiSeq Sequencing Depth: 145.0x Assembly Method: Newbler v. 2.7 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 80 Genome Length 3857306 GC Content 38.87 Contig L50 8 Contig N50 156144</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 63 rRNA 2 CDS 3734 CDS Ratio 0.97 Hypothetical CDS 923 Hypothetical CDS Ratio 0.25 PLFAM CDS 3733 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Susceptible: ampicillin/sulbactam, tobramycin, amikacin, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, gentamicin, imipenem, meropenem, tigecycline</p>	<p>Sequencing Platform: Illumina MiSeq Sequencing Depth: 40.0x Assembly Method: Newbler v. 2.7 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 117 Genome Length 4025940 GC Content 38.84 Contig L50 14 Contig N50 87286</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 61 rRNA 1 CDS 3948 CDS Ratio 0.98 Hypothetical CDS 1079 Hypothetical CDS Ratio 0.27 PLFAM CDS 3946 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Resistente: ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin, tobramycin, amikacin, imipenem, trimethoprim/sulfamethoxazole, ampicillin, aztreonam, cefazolin, cefotaxime, ceftaxitin, colistin, meropenem, nitrofurantoin, tetracycline</p>
Meropenem	
Genomas sensibles a meropenem: 5580	Genomas resistentes a meropenem: 9460
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain MRSN20315 Longitud: 3824942bp, Contigs: 79 ID: 470.1556 Sequencing Platform: Illumina MiSeq Sequencing Depth: 136.0x Assembly Method: Newbler v. 2.7 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 79 Genome Length 3824942 GC Content 39.05 Contig L50 8 Contig N50 138684</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 62 rRNA 4 CDS 3703 CDS Ratio 0.97</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain AR_0035 Longitud: 4138746bp, Contigs: 5 ID: 470.2846 Sequencing Platform: PacBio Sequencing Depth: 107x Assembly Method: HGAP v. 3 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 5 Genome Length 4138746 GC Content 39.07 Contig L50 1 Contig N50 3291190</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 76 rRNA 20 CDS 3972 CDS Ratio 0.96</p>

<p>Hypothetical CDS 899 Hypothetical CDS Ratio 0.24 PLFAM CDS 3701 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, imipenem, levofloxacin, meropenem, moxifloxacin, tigecycline</p>	<p>Hypothetical CDS 1119 Hypothetical CDS Ratio 0.28 PLFAM CDS 3971 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Resistente: ampicillin/sulbactam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, doripenem, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, piperacillin/tazobactam, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>
Ampicilina/sulbactam	
Genomas sensibles a ampicilina/sulbactam: 6183	Genomas resistentes a ampicilina/sulbactam: 9299
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain MRSN17593 Longitud: 3870522bp, Contigs: 82 ID: 470.1549 Sequencing Platform: Illumina MiSeq Sequencing Depth: 145.0x Assembly Method: Newbler v. 2.7 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 82 Genome Length 3870522 GC Content 38.85 Contig L50 8 Contig N50 156143</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 63 rRNA 3 CDS 3752 CDS Ratio 0.97 Hypothetical CDS 942 Hypothetical CDS Ratio 0.25 PLFAM CDS 3751 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: tobramycin, ampicillin/sulbactam, ceftazidime, imipenem, meropenem, tigecycline</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain AR_0056 Longitud: 4188385bp, Contigs: 4 Cromosomas: 1, Plasmidos: 3 ID: 470.4701 Sequencing Platform: PacBio RSII Sequencing Depth: 150x Assembly Method: canu v. 1.6 Genome Status: Complete</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Chromosomes 1 Plasmids 3 Contigs 4 Genome Length 4188385 GC Content 39.111042 Contig L50 1 Contig N50 3993843</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 72 rRNA 12 CDS 4189 CDS Ratio 1 Hypothetical CDS 1293 Hypothetical CDS Ratio 0.31 PLFAM CDS 4149 PLFAM CDS Ratio 0.99 Resistencia antimicrobiana: Resistente: ampicillin/sulbactam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, colistin, doripenem, gentamicin, imipenem, levofloxacin, meropenem, piperacillin/tazobactam, tetracycline, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>

Carbapenem	
Genomas sensibles a carbapenem: 10064	Genomas resistentes a carbapenem: 3766
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> 4749 Longitud: 4159919bp, Contigs: 356 ID: 1310634.3 Sequencing Platform: Illumina Sequencing Depth: 70.929408x Assembly Method: MaSuRCA v. 2.0.3.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 356 Genome Length 4159919 GC Content 38.9 Contig L50 23 Contig N50 56618</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 134 rRNA 27 CDS 4020 CDS Ratio 0.97 Hypothetical CDS 981 Hypothetical CDS Ratio 0.24 PLFAM CDS 4009 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Susceptible: carbapenem, imipenem</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> 947299 Longitud: 4056891bp, Contigs: 306 ID: 1310587.3 Sequencing Platform: Illumina Sequencing Depth: 125.0670269x Assembly Method: MaSuRCA v. 2.0.3.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 306 Genome Length 4056891 GC Content 39.2 Contig L50 32 Contig N50 36793</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 96 rRNA 16 CDS 3918 CDS Ratio 0.97 Hypothetical CDS 1062 Hypothetical CDS Ratio 0.27 PLFAM CDS 3904 PLFAM CDS Ratio 1</p> <p>Resistencia antimicrobiana: Resistente: carbapenem, imipenem</p>
Ceftriaxona	
Genomas sensibles a ceftriaxona: 102	Genomas resistentes a ceftriaxona: 1543
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> Naval-72 Longitud: 3840453bp, Contigs: 52 ID: 903908.3 Sequencing Platform: Illumina Sequencing Depth: 64.2x Assembly Method: Celera Assembler v. 6.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 52 Genome Length 3840453 GC Content 38.8 Contig L50 5 Contig N50 279997</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 79 rRNA 24 CDS 3579 CDS Ratio 0.93 Hypothetical CDS 847</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain Pesh-04 Longitud: 4158554bp, Contigs: 360 ID: 470.8396 Sequencing Platform: Illumina MiSeq Sequencing Depth: 15-20x Assembly Method: CLC NGS Cell v. CLC Genomics Workbench 11 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 360 Genome Length 4158554 GC Content 38.963833 Contig L50 33 Contig N50 39669</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 63 rRNA 2 CDS 4182 CDS Ratio 1.005638</p>

<p>Hypothetical CDS Ratio 0.24 PLFAM CDS 3578 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amikacin, cefepime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, gentamicin, imipenem, levofloxacin, tetracycline, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>	<p>Hypothetical CDS 1049 Hypothetical CDS Ratio 0.2508369 Partial CDS 45 Partial CDS Ratio 0.010760401 PLFAM CDS 4059 PLFAM CDS Ratio 0.9705882 Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, ampicillin/sulbactam, cefepime, cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, gentamicin, levofloxacin, meropenem, piperacillin/tazobactam, tobramycin, trimethoprim/sulfamethoxazole</p>
Ampicilina	
Genomas sensibles a ampicilina: 3	Genomas resistentes a ampicilina: 914
<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain KCRI-518B strain RDK05_518B Longitud: 4148351bp, Contigs: 166 ID: 470.4824 Sequencing Platform: Illumina MiSeq Sequencing Depth: 13x Assembly Method: SPAdes 3.11.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 166 Genome Length 4148351 GC Content 39.04438 Contig L50 6 Contig N50 309557</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 64 rRNA 4 CDS 4153 CDS Ratio 1 Hypothetical CDS 1231 Hypothetical CDS Ratio 0.3 PLFAM CDS 4150 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Susceptible: amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin</p>	<p><i>Acinetobacter baumannii</i> strain CCF19 Longitud: 3847884bp, Contigs: 94 ID: 470.2270 Sequencing Platform: Illumina NextSeq5000 Sequencing Depth: 235.28x Assembly Method: SPAdes v. 3.1.1 Genome Status: WGS</p> <p style="text-align: center;">Genome Statistics</p> <p>Contigs 94 Genome Length 3847884 GC Content 38.87 Contig L50 14 Contig N50 94048</p> <p style="text-align: center;">Annotation Statistics</p> <p>tRNA 61 rRNA 1 CDS 3711 CDS Ratio 0.96 Hypothetical CDS 916 Hypothetical CDS Ratio 0.25 PLFAM CDS 3708 PLFAM CDS Ratio 1 Resistencia antimicrobiana: Resistente: amikacin, ampicillin, azidothymidine, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, ertapenem, gentamicin, imipenem, levofloxacin, piperacillin, piperacillin/tazobactam, tetracycline, ticarcillin, tobramycin</p>

3.2.Preprocesamiento de datos

3.2.1. Control de Calidad

Después de la selección y descarga de todos los genomas de cepas sensibles y resistentes a antibióticos de *A. baumannii* se inició el procesamiento de los datos. Se optó por trabajar en la plataforma Galaxy (principalmente de Estados Unidos, también Australia y Europa para comparar las diferentes herramientas disponibles) donde existe un sin número de opciones en herramientas e interfaz gráfica con los usuarios. Además de contar con servidores gratuitos de supercomputadoras para un mejor y eficiente trabajo.

Para el preprocesamiento de los datos, en primer lugar, se evaluó la calidad del ensamblaje con Quast, que es una herramienta para valorar la calidad del ensamblaje de los genomas. Se buscó en la sección “Tools” de Galaxy (disponible en <https://usegalaxy.org/>) esta herramienta (Quast) y se corrió la “Galaxy Version 5.3.0+galaxy0” con el respectivo genoma de referencia vigente y actualizado de *Acinetobacter baumannii* (GCF_009035845.1_ASM903584v1_genomic) disponible en la página del NCBI en conjunto con todas las 28 cepas (14 sensibles y 14 resistentes) de *A. baumannii* entre sensibles y resistentes a los distintos antibióticos preseleccionados.

La mayoría de los parámetros de la herramienta (Tool Parameters) Quast fueron con la configuración por defecto que presenta en Galaxy. El parámetro que se modificó por completo fue “Use customized names for the input files” seleccionando la opción “Yes, specify custom names” para seleccionar los 28 genomas por separado y especificar el correspondiente nombre de cada uno de ellos.

En la siguiente ilustración se describe todas las configuraciones realizadas en la herramienta Quast de Galaxy, se omitió la configuración de los 28 genomas con sus respectivas etiquetas de títulos debido a la gran extensión, pero se ratifica que fueron etiquetados por separado en la opción “Contigs/Scaffolds file” de la sección “Use customized names for the input files?”; se aclara que los genomas fueron renombrados de la siguiente manera: la primera letra con el fenotipo de la sensibilidad (R para resistente o S para sensible), el respectivo antibiótico y el nombre ID del genoma respectivo, por ejemplo “S_ciprofloxacino *Acinetobacter baumannii* UH6507.fasta”. Los formatos output (formatos de salida) de Quast que se seleccionaron fue el PDF, Tabular reports y HTML reports. En las imágenes que se encuentran a continuación capturadas del

navegador web de la plataforma Galaxy se resumen en forma rápida las configuraciones modificadas antes de correr Quast.

Use customized names for the input files?

Yes, specify custom names

They will be used in reports, plots and logs

Contigs/scaffolds

1: Contigs/scaffolds

Contigs/scaffolds file *

1: S_ciprofloxacino Acinetobacter baumannii UH6507.fasta

accepted formats

Name - optional

Ab UH6507 (sensible ciprofloxacino)

(--labels)

2: Contigs/scaffolds

Contigs/scaffolds file *

29: GCF_009035845.1_ASM903584v1_genomic.fna

accepted formats switch to column select

Quast Genome assembly Quality (Galaxy Version 5.3.0+galaxy0) Run Tool

Use a reference genome?

Yes

Many metrics can't be evaluated without a reference. If this is omitted, QUAST will only report the metrics that can be evaluated without a reference.

Reference genome *

29: GCF_009035845.1_ASM903584v1_genomic.fna

accepted formats switch to column select

Ilustración 5. Parámetros colocados en la herramienta Quast desde Galaxy para valorar la calidad de los ensamblados de los 28 genomas seleccionados de *A. baumannii*.

Después de aplicar la herramienta Quast, se validó la calidad del ensamblaje y se comprobó que un genoma tenía una calidad muy baja por lo cual se descartó y se implementó otro que cubra las expectativas buscadas.; los parámetros de calidad para seleccionar los genomas disponibles en la base de datos incluyeron: el número de contigs, longitud total del genoma entre 3,7 Mbp - 4,3Mbp (completitud genómica) y un contenido GC dentro del rango esperado de *A. baumannii* que es de aproximadamente 39%. Una vez que se obtuvo todos los resultados se continuó con la herramienta BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) para evaluar la completitud de los ensamblajes genómicos basados en la presencia de genes conservados de copia única (ortólogos universales) que deberían estar presentes en el linaje de *A. baumannii*.

La versión de BUSCO usada fue “Galaxy Version 5.8.0+galaxy0” con todos los parámetros predeterminados excepto en la opción de salida “Which outputs should be generated” en donde se seleccionó la opción “short summary” y “summary image” para obtener también el diagrama de barras de BUSCO. A continuación, para unificar los reportes de BUSCO de los 28 genomas de *A. baumannii* se realizó con la herramienta

“MultiQC (Galaxy Version 1.27+galaxy1)”, los parámetros seleccionados fueron: en el primer resultado en la opción “Which tool was used generate logs” se seleccionó la opción “BUSCO” y se eligieron todos los 28 formatos de salida de BUSCO (“Short summary”) como archivos de entrada para MultiQC y el resto de opciones con los valores predeterminados de la herramienta, se obtuvo como resultado todas las gráficas de barra de los genomas con su respectivo porcentaje de C (Complete), S (single.copy), F (Fragmented), D (Duplicated) y M (Missing), estos resultados se los muestra en la sección resultados.

3.3.Comparación genómica

La comparación genómica se llevó a cabo mediante MUMmer/Nucmer, primero con un alineamiento de dos secuencias, el genoma sensible de cada antibiótico se lo tomó como el genoma de referencia (Reference Sequence) y el genoma resistente como el genoma de consulta (Query Sequence); en la sección “Tools” de Galaxy se buscó y seleccionó “Nucmer (Galaxy Version 4.0.0+galaxy1)” y se colocó el par de genomas (un sensible y un resistente) como se mencionó con anterioridad. La salida del formato (output format) se eligió “Mummer delta format -allow plots” y las demás configuraciones con la forma predeterminada obteniendo 14 alineamientos entre los genomas de bacterias sensibles y resistentes a los 14 antibióticos previamente mencionados.

Los resultados del alineamiento de Nucmer se limpiaron con “Delta-Filter (Galaxy Version 4.0.0+galaxy1)” con el archivo delta de salida de Nucmer, en la estrategia de alineamiento (Alignment Strategy) se optó por “1-to-1 alignment allowing for rearrangements (-1)” y los demás parámetros con su forma predeterminada dando como resultado 14 delta-filtrados usados después en la herramienta “Show-Coords (Galaxy Version 4.0.0+galaxy1)” como entrada para visualizar información extra del alineamiento pero que no se describe en mayor detalle. Para finalizar la comparación de los 28 genomas se graficó el alineamiento del par de genomas con “Mummerplot (Galaxy Version 4.0.0+galaxy 1)” con la siguiente configuración en sus parámetros: en “Match File → Archivo delta filtrado”, en “Reference Sequence → los genomas de cepas sensibles”, en “Query Sequence → los genomas de cepas resistentes”, y el resto de parámetros con las configuraciones predeterminadas. Los SNPs (Polimorfismos de Nucleótido Único) y algunos otros datos (indels, inversiones, traslocaciones, inserciones, entre otras) fueron establecidos con “DNAdiff (Galaxy Version 4.0.0+galaxy1)”, los parámetros de esta

herramienta fueron seleccionar los genomas de las cepas sensibles en secuencia referencia (Reference Sequence) contra las cepas resistentes (Query Sequence) de cada uno de los antimicrobianos y ejecutar DNAdiff con los demás parámetros de manera predeterminada para obtener el porcentaje de identidad, cobertura del alineamiento, número de variantes (SNPs, indels), entre otros, los resultados obtenidos se muestran en su sección correspondiente.

3.4. Análisis de genes de resistencia y sensibilidad

3.4.1. Identificación de genes asociados

La identificación de los genes asociados a resistencia se determinó en cada uno de los 28 genomas de *A. baumannii*, tanto los 14 sensibles como los 14 genomas resistentes. Para la búsqueda e identificación de los genes se realizó con la herramienta “ABRicate (Galaxy Version 1.0.1)” de las herramientas disponibles en Galaxy, se ejecutó ABRicate seleccionando todos los genomas (por facilidad se crearon “Data set collection” para los datos genómicos porque la cantidad de elementos corridos en la historia eran numerosos); ABRicate se ejecutó con los parámetros predeterminados excepto en la base de datos (Resfinder es la base de datos predeterminada), se utilizó 3 bases de datos por su relevancia en la investigación: CARD (Comprehensive Antibiotic Resistance Database), VFDB (Virulence Factors Database) y ResFinder.

Para indexar todo el contexto de los resultados obtenidos de ABRicate de las tres bases de datos se realizó un compendio de los resultados con la herramienta “ABRicate Summary (Galaxy Version 1.0.1)” de las tres bases de datos, un resumen para CARD, uno para ResFinder y otro para VFDB. Con estos resultados obtenidos se generó una matriz de presencia/ausencia de genes de todos los genomas. Al ser el summary de ABRicate muy extenso, la comparación y la visualización se centró en lo más importante con significado biológico por lo que se elaboró mapas de calor (heat maps) de la presencia o la ausencia de los genes en todos los genomas, los mapas de calor se realizaron por medio de R Studio (R version 4.4.2) y se muestran en la sección resultados. En cuanto a la organización genómica, se realizó una búsqueda de plásmidos en las secuencias genómicas a partir de la herramienta “PlasmidFinder (Galaxy Version 2.1.6+galaxy1)” con sus valores predeterminados, el dataset de PlasmidFinder fue de “2.1_2019_08_28”.

3.5. Análisis filogenético

La reconstrucción filogenética se realizó para la búsqueda de relaciones evolutivas entre las distintas cepas bacteriana, así es posible mostrar cómo están relacionadas entre sí y si existen agrupamientos claros entre resistentes y sensibles. Los árboles fueron generados a partir de genes centrales del pangenoma (Roary) al construir la matriz de alineamientos, esto permite identificar las variaciones evolutivas en regiones compartidas.

La forma estándar de oro para la filogenómica bacteriana inicia con la anotación masiva de los genomas ensamblados, para ello se utilizó “Prokka-Prokaryotic genome annotation (Galaxy Version 1.14.6+galaxy1)” de los 28 genomas con los parámetros predeterminados de la herramienta. El archivo con la extensión “.gff” resultante de Prokka fue necesario en el siguiente paso que fue la obtención del Core Genome (Secuencias conservadas) con la herramienta “Roary the pangenome pipeline (Galaxy Version 3.13.0+galaxy3)”, se añadió los dataset collection de los archivos GFF de los 24 genomas (output Prokka) y el resto de parámetros fueron los que viene de manera predeterminada para de esta forma crear el pangenoma.

Para la construcción del árbol filogenético se realizó mediante la herramienta “IQ-TREE Phylogenomic / evolutionary tree construction from multiple sequences (Galaxy Version 2.4.0+galaxy1)”, los datos de entrada de IQ-TREE fue el archivo de alineamiento resultante de Roary (Core Gene Alignment), para los soportes de clado se configuró: en el parámetro “Tree Parameters→Single Branch test” se colocó 1000 en SH-aLRT y en el parámetro “Bootstrap Parameters→Ultrafast bootstrap parameters” también se colocó 1000; el resto de parámetro fueron los establecidos por defecto. El árbol filogenético se construyó con secuencias de nucleótidos provenientes del archivo generado por Roary, el cual contiene los genes centrales (core genes) presentes en todas las cepas de *A. baumannii*. Estos fragmentos corresponden a regiones de ADN conservado (Page et al., 2015).

Para la visualización del árbol se descargó de la plataforma Galaxy el formato nhx de los resultados de correr IQ-TREE y se lo visualizó en la iTOL: Interactive Tree Of Life, además en la misma herramienta de modificó los genomas por colores, rojo para los genomas resistentes y negro para los genomas sensibles.

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE DATOS

4.1. Control de Calidad:

-Quast:

El análisis de calidad relacionado directamente con Quast (Quality Assessment Tool for Genome Assemblies) mostró en sus estadísticas globales al comparar los 28 genomas que en general el promedio del tamaño del genoma en cepas sensibles es más pequeño (3 946 347,71) que de cepas resistentes (4007419,07) y el promedio general del tamaño de los 28 genomas utilizados es de 3984653,29 con una desviación estándar $\pm 135\ 181,89$. Los genomas de *A. baumannii* de cepas resistentes presentaron un mayor número de contigs en comparación con las cepas sensibles lo que representa un indicio de una mayor fragmentación de ensamblaje. Hay que tener en cuenta que el proceso de secuenciación y ensamble de los genomas en la base de datos pública BV-BRC no se encuentra estandarizada, no se tuvo control sobre las plataformas de secuenciación ni sobre los softwares de ensamblaje utilizados. Esta falta de uniformidad representa una limitación metodológica inherente a la naturaleza de los datos. Para una mejor visualización acerca de los resultados estadísticos globales más representativos se presenta una tabla comparativa que describe la media aritmética del tamaño de los genomas (genomas sensibles, genomas resistentes y el conjunto de todos los genomas), el número de contigs, el contig más largo y el porcentaje de guanina-citocina.

Tabla 6. Estadísticas globales de la comparación de cepas sensibles, cepas resistentes y todo el conjunto de genomas de *A. baumannii*.

Estadísticas Globales del ensamblaje	28 genomas	Cepas sensibles	Cepas resistentes
Media tamaño genoma (bp)	3984653,29	3946347,71	4007419,07
# contigs	3432	1525	1907
Contig más largo (bp)	3993843	3156531	3993843
%GC	38,96 %	38,94 %	38,97 %

Con lo que respecta a todo el grupo de las estadísticas obtenidas y de las cuales fueron usadas para el cálculo de las métricas globales descritas anteriormente, los datos usados fueron extraídos del reporte HTML de Quast (output de Quast). El reporte HTML obtenido de Quast es el output más importante de esta herramienta con datos como: estadísticas basadas en el alineamiento (Alignment-based statistics), Misassemblies, Unaligned, Per base quality, y estadísticas sin referencia (Statistics without reference). La tabla que se encuentra a continuación refleja los resultados de las estadísticas básicas de

Quast en los genomas sensibles y resistentes de cada uno de los 14 antibióticos (ciprofloxacino, gentamicina, ceftazidime, levofloxacina, tetraciclina, trimethoprim/sulphamethoxazole, amikacina, tobramicina, imipinem, meropenem, ampicilina/sulbactam, carbapenem, ceftriaxona y ampicilina).

Tabla 7. Informe Estadístico Quast

Quast: Reporte HTML		
Ciprofloxacina:	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics	Ab_UH6507_sensible_ciproflo...	Ab_UH11608_resistente_ciprof...
Genome fraction (%)	85.489	82.957
Duplication ratio	1	1
Largest alignment	196 806	193 087
Total aligned length	3 388 687	3 289 506
NGA50	65 990	50 141
LGA50	18	22
Misassemblies		
# misassemblies	56	52
Misassembled contigs length	3 084 064	3 006 929
Per base quality		
# mismatches per 100 kbp	1791.37	1754.91
# indels per 100 kbp	45.24	38.15
# N's per 100 kbp	0	0
Statistics without reference		
# contigs	35	68
Largest contig	458 465	364 280
Total length	3 758 845	3 883 161
Total length (>= 1000 bp)	3 756 356	3 880 676
Gentamicina:	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics	Ab_Naval-82_sensible_gentami...	Ab_ABUH514287_resistente_gen...
Genome fraction (%)	78.095	84.091
Duplication ratio	1.004	1.001
Largest alignment	194 059	138 077
Total aligned length	3 125 271	3 335 411
NGA50	27 532	48 646
LGA50	40	24
Misassemblies		
# misassemblies	53	50
Misassembled contigs length	2 022 832	2 765 628
Per base quality		
# mismatches per 100 kbp	1776.29	1734.75
# indels per 100 kbp	50.36	38.71
# N's per 100 kbp	0	0
Statistics without reference		
# contigs	171	99
Largest contig	226 337	353 709
Total length	3 899 620	3 951 134
Total length (>= 1000 bp)	3 890 977	3 941 782
Ceftazidime	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics	Ab_UH19608_sensible_ceftazid...	Ab_ABUH588656_resistente_cef...
Genome fraction (%)	84.304	84.968
Duplication ratio	1.001	1.003
Largest alignment	192 631	128 973
Total aligned length	3 343 799	3 400 970
NGA50	35 381	31 196
LGA50	33	38
Misassemblies		
# misassemblies	47	39
Misassembled contigs length	2 018 873	1 163 303
Per base quality		
# mismatches per 100 kbp	1742.12	1709.07
# indels per 100 kbp	38.1	35.58
# N's per 100 kbp	0	0
Statistics without reference		
# contigs	172	275
Largest contig	222 831	157 435
Total length	4 057 670	4 079 365
Total length (>= 1000 bp)	4 029 702	4 034 887
Levofloxacina:	Cepa sensible y resistente	

Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_AB_349_sensible_levofloxa... Ab_AB_029_resistente_levoflo... 79.962 85.429 1.001 1.001 86 668 83 285 3 171 571 3 384 781 25 376 22 102 45 52 45 34 1 689 314 1 023 412 1800.94 1736.57 44.99 36.84 3.05 21.38 206 281 122 842 119 428 3 764 588 3 845 327 3 743 647 3 825 934
Tetraciclina:	Cepa sensible y resistente
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_AR_0037_sensible_tetrac... Ab_ABUH134192_resistente_tet... 85.56 85.971 1.023 1 249 574 153 220 3 454 401 3 404 129 74 188 45 326 14 24 80 57 3 806 192 2 857 990 1923.55 1738.71 55.49 38.28 0 0 26 91 3 156 531 315 444 4 069 789 4 180 473 4 067 481 4 174 883
Trimethoprim/sulphamethoxazole:	Cepa sensible y resistente
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_UH5107_sensible_SXT_ Ab_ABUH71296_resistente_SXT_ 86.06 85.453 1.001 1.001 187 385 153 220 3 411 038 3 387 693 61 577 44 150 19 25 52 48 3 048 767 2 633 771 1851.31 1736.73 47.73 38.32 0 0 99 121 372 541 315 444 3 994 403 4 167 283 3 984 681 4 151 068
Amikacina:	Cepa sensible y resistente
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_MRSN3941_sensible_amikaci... Ab_CCF34_resistente_amikacin... 84.103 85.522 1.001 1.001 113 688 179 252 3 339 460 3 386 075 44 983 36 965 30 30 41 40 2 275 920 1 586 031 1817.39 1729.02 43.87 36.74 0 0 106 128 296 836 237 384 3 948 252 3 968 927 3 941 337 3 956 883
Tobramicina:	Cepa sensible y resistente

Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_CCF18__Sensible_tobramicin...	Ab_MRSN20755__resistente_tobr...
	85.039	81.821
	1	1
	153 220	196 472
	3 370 137	3 244 561
	45 407	45 536
	24	24
	46	62
	2 661 206	2 862 984
	1742.48	1826.47
	38.4	48.08
	0	0
	83	69
	290 700	603 803
	4 011 600	3 823 800
	4 007 804	3 820 601
Imipenem:	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_MRSN17592__sensible_imipen...	Ab_MRSN6269__resistente_imipe...
	81	84.153
	1	1.001
	172 153	103 662
	3 209 554	3 339 758
	44 791	44 904
	24	30
	55	45
	2 881 487	2 397 317
	1833.84	1819.5
	48.57	43.9
	0	0
	69	113
	477 836	373 741
	3 853 311	4 024 905
	3 846 357	4 017 204
Merepenem:	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_MRSN20315__sensible_merope...	Ab_AR_0035__resistente_merope...
	81.814	86.048
	1	1.005
	196 472	250 743
	3 244 221	3 456 482
	47 596	80 271
	24	14
	63	84
	2 928 879	4 000 897
	1825.99	1735
	47.78	38.85
	0	0
	71	5
	603 803	3 291 190
	3 822 331	4 138 746
	3 820 467	4 138 746
Ampicilina:	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_MRSN17593__sensible_ampici...	Ab_AR_0056__resistente_ampici...
	81.285	86.023
	1	1.013
	169 770	172 581
	3 221 184	3 473 212
	45 534	61 175
	24	21
	57	109
	2 956 912	3 993 843
	1834.88	1745.36
	49.11	37.26
	0	0
	70	4
	477 834	3 993 843
	3 866 284	4 188 385
	3 858 756	4 188 385
Carbapenem:	Cepa sensible y resistente	

Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_4749_sensible_carbapenem 82.297 1.075 158 023 3 532 978 36 655 32 64 1 976 625 1832.25 47.41 0 312 190 014 4 142 568 4 108 511	Ab_947299_resistente_carbape... 84.154 1.007 112 522 3 387 985 24 351 44 35 1 174 382 1741.63 36.9 0 282 143 767 4 048 616 4 026 928
Ceftriaxona:	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_Naval-72_sensible_ceftria... 83.097 1.011 185 373 3 338 565 54 056 20 70 3 457 854 1878.08 49.9 0 36 611 021 3 835 406 3 831 580	Ab_Pesh-04_resistente_ceftri... 83.003 1.003 123 133 3 303 818 23 339 48 43 1 197 650 1850.31 47.76 0 277 130 998 4 132 452 4 103 756
Ampicilina:	Cepa sensible y resistente	
Alignment-based statistics Genome fraction (%) Duplication ratio Largest alignment Total aligned length NGA50 LGA50 Misassemblies # misassemblies Misassembled contigs length Per base quality # mismatches per 100 kbp # indels per 100 kbp # N's per 100 kbp Statistics without reference # contigs Largest contig Total length Total length (>= 1000 bp)	Ab_strain_KCRI-518B_strain_RD... 85.952 1.002 161 753 3 416 916 62 032 22 59 3 727 685 1809.53 47.79 0 69 462 570 4 121 965 4 111 365	Ab_CCF19_resistente_ampicili... 84.454 1.006 131 863 3 344 149 44 549 28 55 2 725 492 1762.72 39.02 0 94 255 098 3 847 884 3 842 134

La interpretación de cada salida (output) de Quast es la siguiente:

Alignment-based statistics:

- Genome fraction (%): porcentaje del genoma de referencia que está cubierto por el ensamblaje.
- Duplication ratio: mide redundancia, es la relación entre la longitud total alineada en el ensamblaje dividido para la longitud real cubierta en el genoma de referencia. El valor ideal es cuando está cerca de 1 y si es mayor a 1 existen duplicaciones en el ensamblaje.
- Largest alignment: Longitud del alineamiento más largo entre el ensamblaje y el genoma de referencia.
- Total aligned length: Suma de todas las regiones del ensamblaje que se alinearon con el genoma de referencia.

- NGA50: Igual al N50 pero considerando alineamiento al genoma de referencia (tamaño de contig tal que el 50% del genoma de referencia está cubierto por contigs de al menos ese tamaño).
- LGA50: Número mínimo de alineamientos requeridos para cubrir al menos el 50% del genoma de referencia.

Misassemblies:

- # misassemblies: número de eventos de ensamblaje incorrecto (inversiones, translocaciones, fusiones erróneas, etc.) detectados al comparar con el genoma de referencia.
- Misassembled contigs length: Longitud total de los contigs que presentan errores de ensamblaje.

Per base quality:

- # mismatches per 100 kbp: cantidad promedio de bases distintas al comparar ensamblaje vs referencia por cada 100,000 pares de bases.
- # indels per 100 kbp: Cantidad promedio de inserciones/delecciones (indels) por cada 100,000 pb.
- # N's per 100 kbp: Número de bases ambiguas ("N") en el ensamblaje por cada 100,000 pb.

Statistics without reference:

- # contigs: Número de contigs en el ensamblaje.
- Largest contig: Tamaño del contig más largo.
- Total length: Longitud total del ensamblaje sumando todos los contigs.
- Total length (≥ 1000 bp): Longitud total del ensamblaje considerando solo los contigs de al menos 1000 pb (para descartar fragmentos muy pequeños).

Aparte de las estadísticas obtenidas de Quast y previamente mostradas (tabla 6), el HTML también mostró una gráfica final que representa la longitud acumulada (Cumulative length) de todos los genomas de *Acinetobacter baumannii* para de esta manera identificar de forma gráfica la calidad del ensamblaje. En esta gráfica de calidad obtenida como resultado de Quast (ver ilustración 6) se puede interpretar que algunos genomas tienen un mejor ensamblaje que otros al tener una curva que llega a la meseta con pocos contigs, lo que indica un ensamblaje más continuo y de mejor calidad, pero en general, 100% de los genomas recuperan la longitud esperada del genoma de *A. baumannii* a pesar de limitación metodológica de los genomas usados. En el gráfico de longitud acumulada que salió de Quast está presente los 28 genomas de *A. baumannii* con diferente color cada uno y también se encuentra presente el genoma de referencia representado con una línea de

punto en los dos bordes del gráfico (ilustración 6). Se presenta a continuación el gráfico en conjunto con los 29 genomas (14 sensibles, 14 resistentes, 1 genoma de referencia) y otros gráficos en grupo de 4 genomas para distinguir mejor los colores, las líneas de los genomas, el nombre y la respectiva sensibilidad al antibiótico que le corresponde (ver gráficos de la tabla 8).

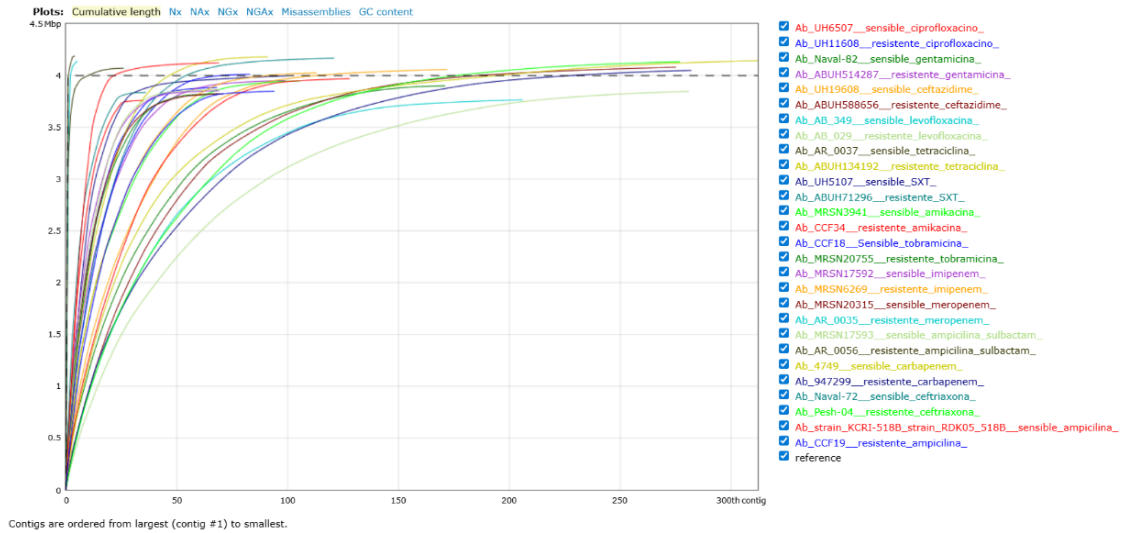
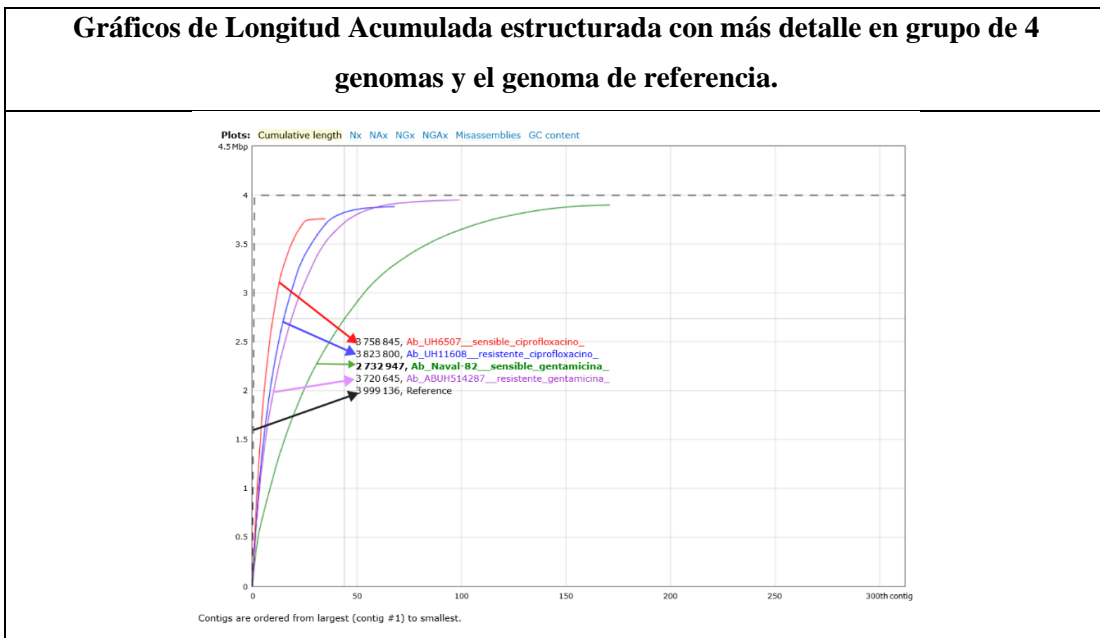
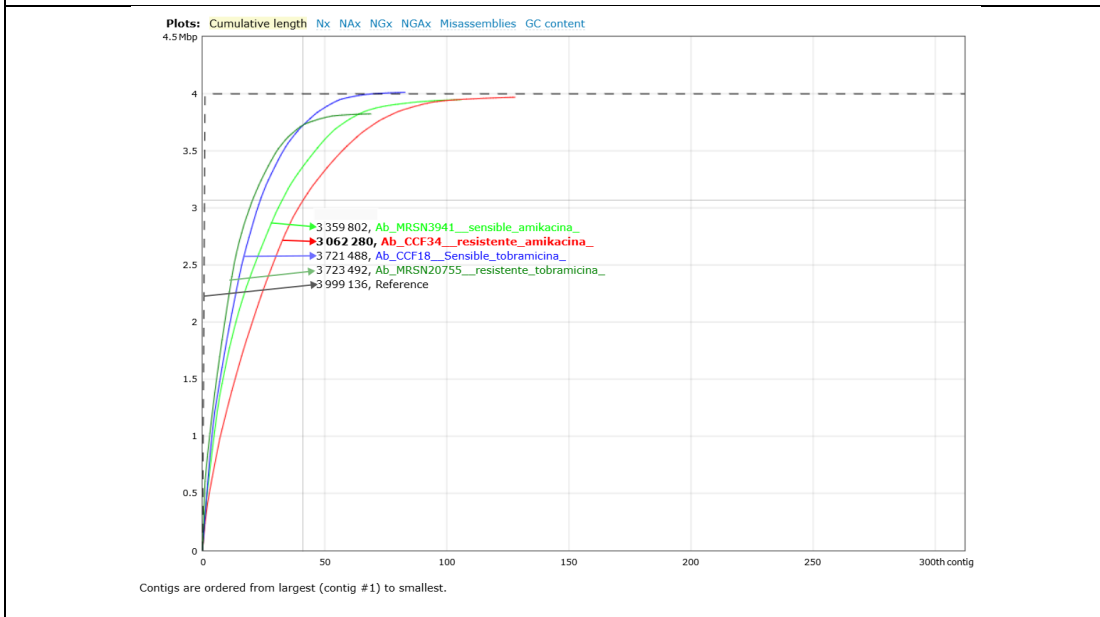
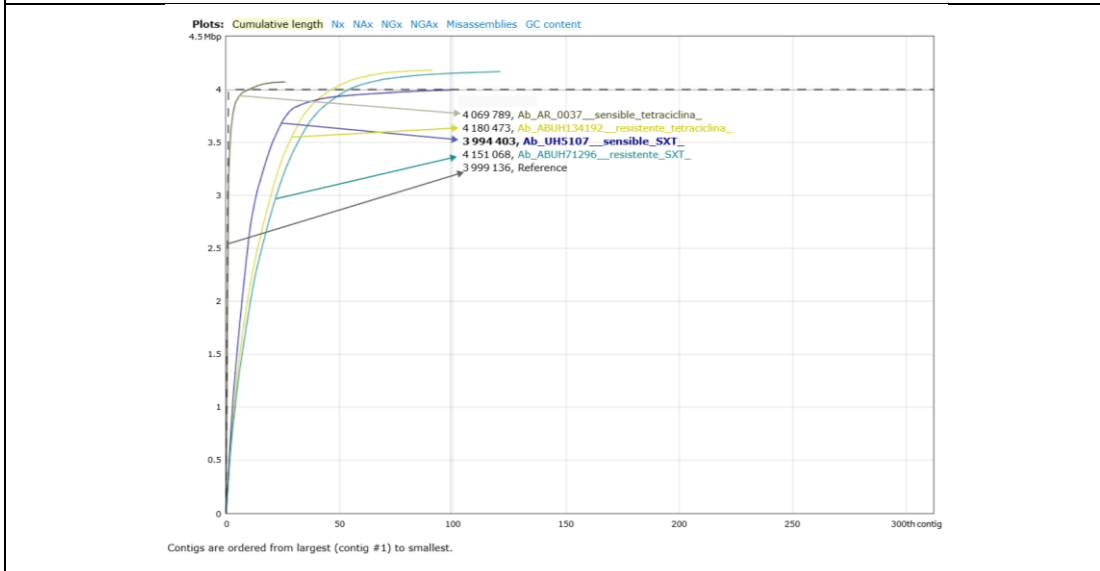
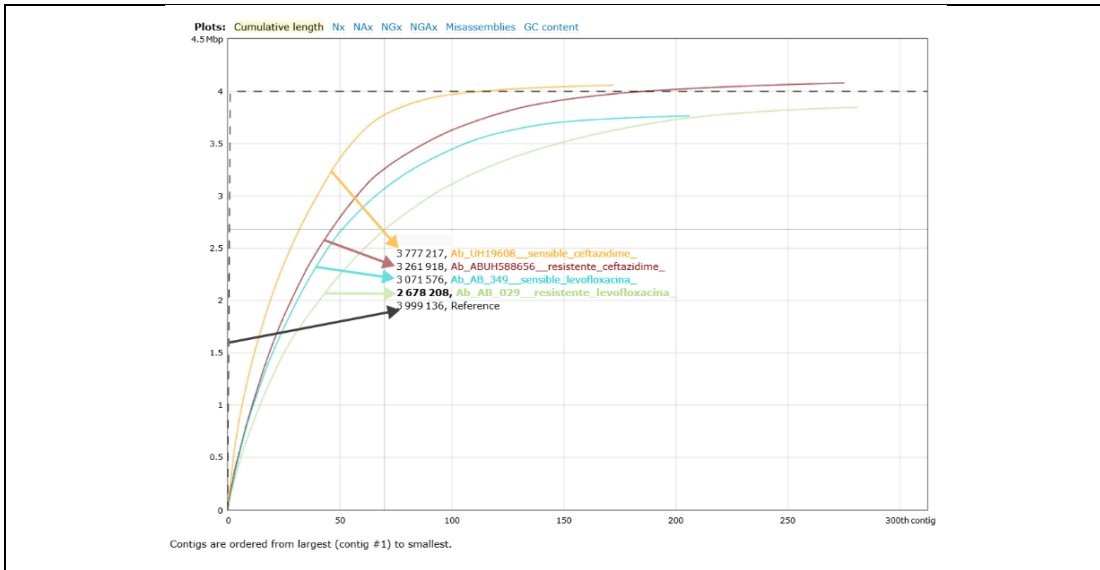
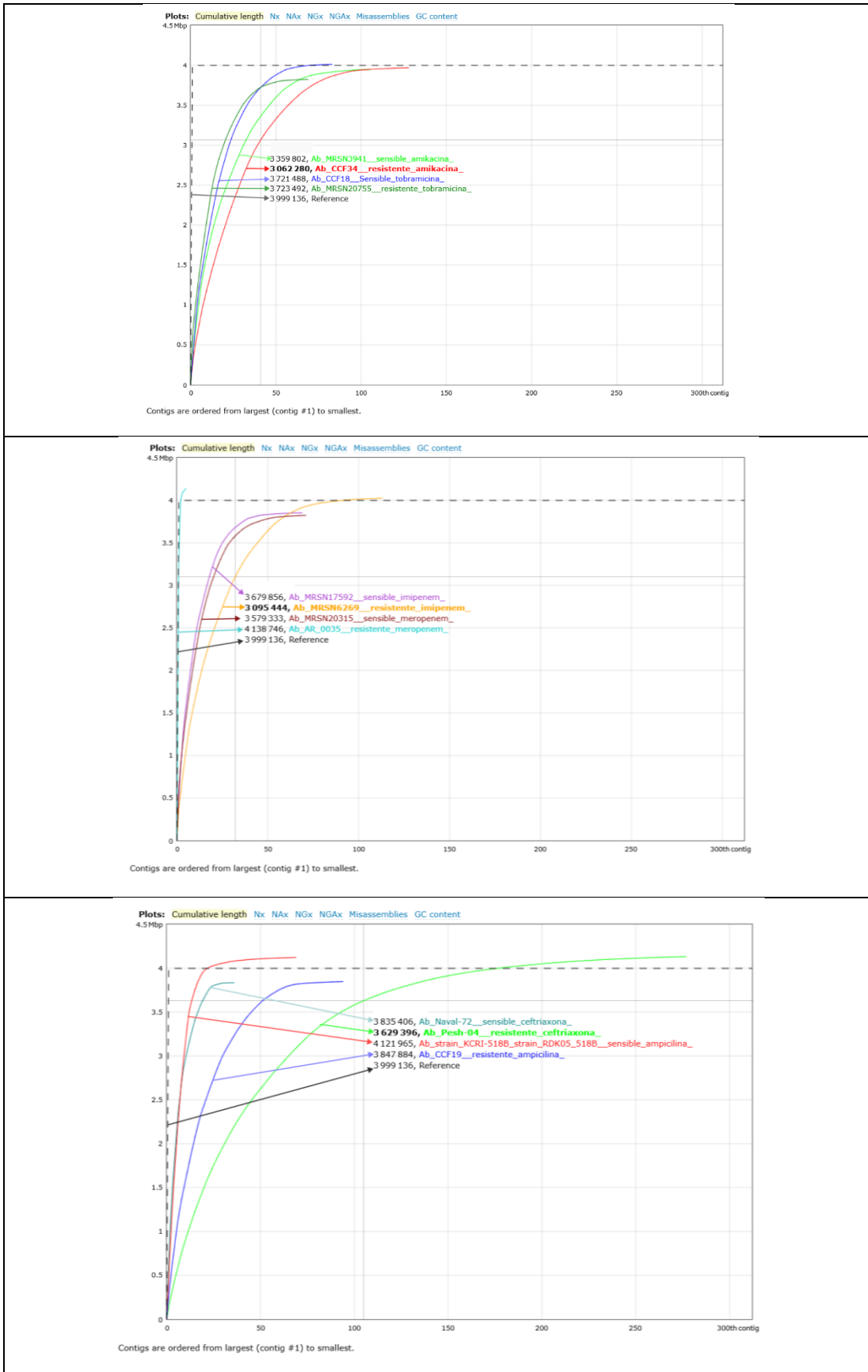


Ilustración 6. Cumulative length (Longitud Acumulada) en Quast, a continuación, se detalla de manera gráfica en grupo de cuatro genomas con el respectivo genoma de referencia para identificar de mejor manera

Tabla 8. Representa los gráficos de longitud acumulada obtenidos de Quast y estructurados por grupos de 4 genomas para una mejor valoración de la calidad del ensamblaje.







Como se puede apreciar en los gráficos de longitud acumulada de la tabla 8, los genomas ensamblados seleccionados se encuentran en óptimas condiciones de calidad para

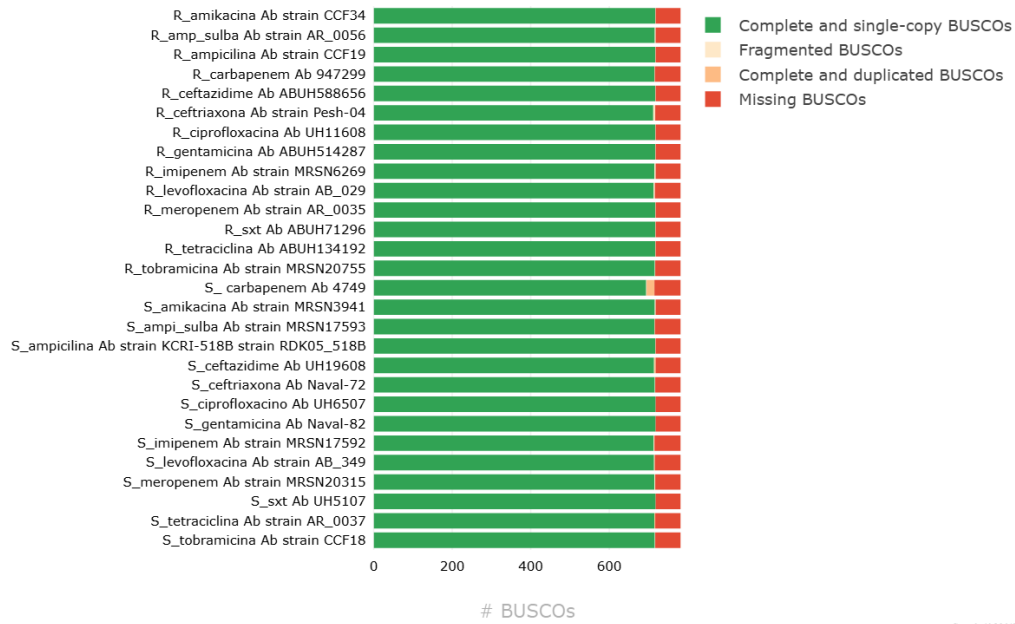
proceder con la investigación; estas condiciones se ven reflejadas en las curvas de genomas que alcanzan rápido la meseta y genomas con menor dispersión respecto a la referencia. El eje X del gráfico de longitud acumulada representa el número de contigs y por el otro lado el eje Y representa la longitud acumulada en Mbp (millones de pares de bases). Las curvas más verticales y que alcanzan antes la meseta son genomas con menos contigs grandes (más continuidad y mayor calidad). Las otras curvas horizontales y largas representan la necesidad de contigs más pequeños para cubrir el genoma reflejando fragmentación.

-BUSCO:

El análisis de calidad con la otra herramienta bioinformática BUSCO mostró una alta completitud (aprox. > 90%) en todo el conjunto de los 28 genomas de *Acinetobacter baumannii* usados. Al momento de ejecutar BUSCO los resultados se obtuvieron por separado, un diagrama de barras por cada genoma, razón por la cual se unificaron con la herramienta MultiQC y se obtuvo el gráfico de todos los 28 genomas en conjunto con las métricas: Complete, Single-copy, Duplicated, Fragmented, Missing.

En el gráfico de barras que se presenta a continuación, cada barra representa un genoma identificado con su correspondiente fenotipo antibiótico (Sensible o Resistente) y el correspondiente nombre. El predominio de color verde de la mayoría de los genomas representa una alta completitud (> 90%, genomas de buena calidad), el rojo se encuentra en un porcentaje aproximado entre el 5-10% de genes ausentes, existe escasa fragmentación representada con el color amarillo y duplicados (color naranja) se puede vislumbrar en poco porcentaje. Cada salida de BUSCO de los 28 genomas de *A. baumannii* refiere al conjunto de genes altamente conservados “Pseudomonadales_obd10” específicos para el orden bacteriano Pseudomonadales (orden de bacterias dentro de la clase Gamma proteobacteria). El odb10 hace referencia a la versión 10 de la base de datos OrthoDB del cual el conjunto de genes específicos para Pseudomonadales fue definido y extraído por defecto en la configuración de BUSCO.

BUSCO Assessment Results: pseudomonadales_odb10 28 samples



Created with MultiQC

Ilustración 7. Output BUSCO (Benchmarking Universal Single-Copy Orthologs) de los 28 genomas (14 sensibles y 14 resistentes a los distintos antibióticos descritos en cada label) obtenido de MultiQC.

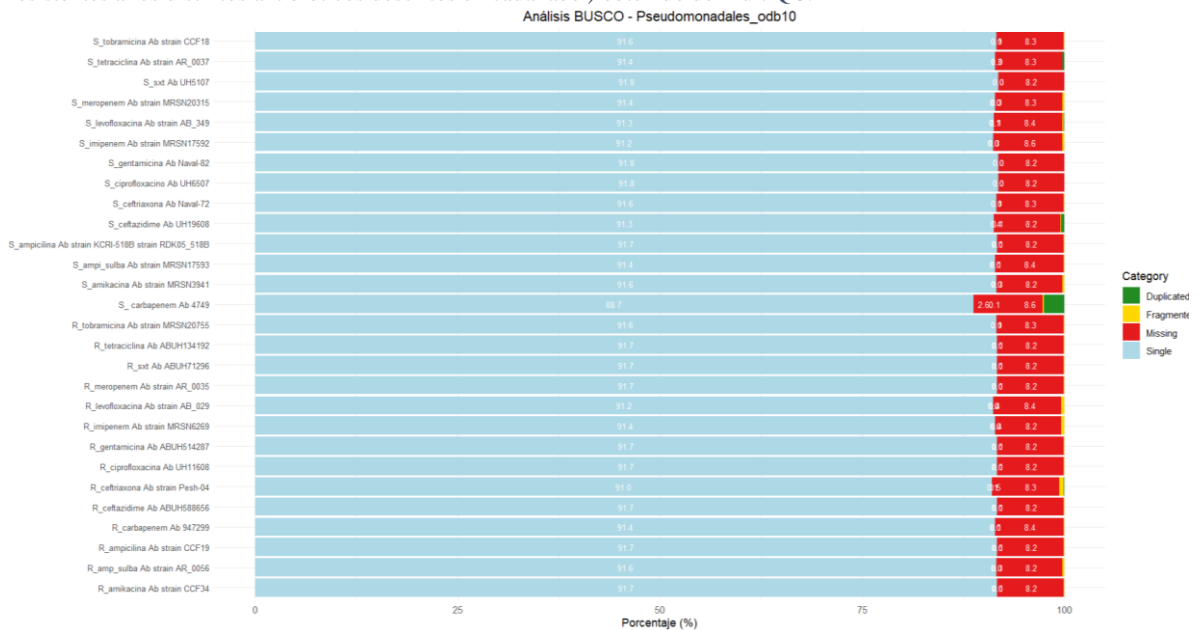


Ilustración 8. Resumen de BUSCO con porcentajes. Realizado en R Studio por Julio Lunavictoria.

4.2. Comparación genómica

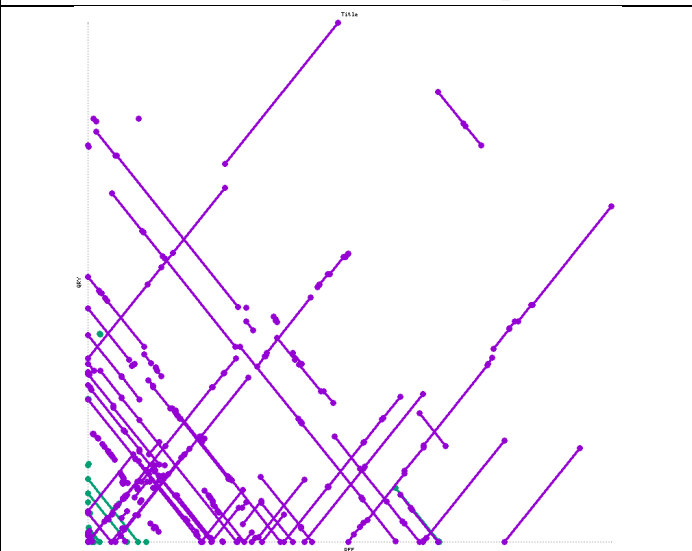
-MUMer/NUCmer

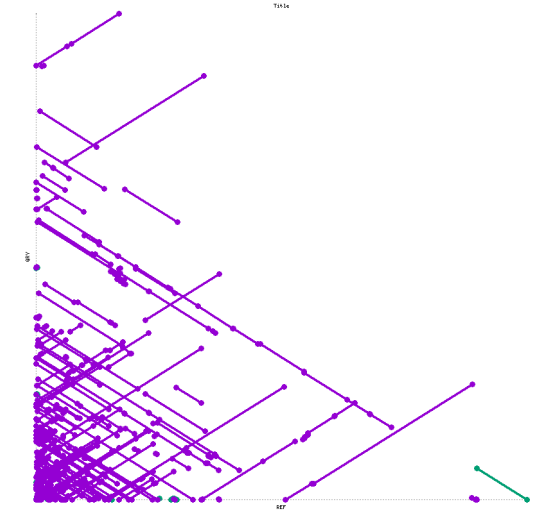
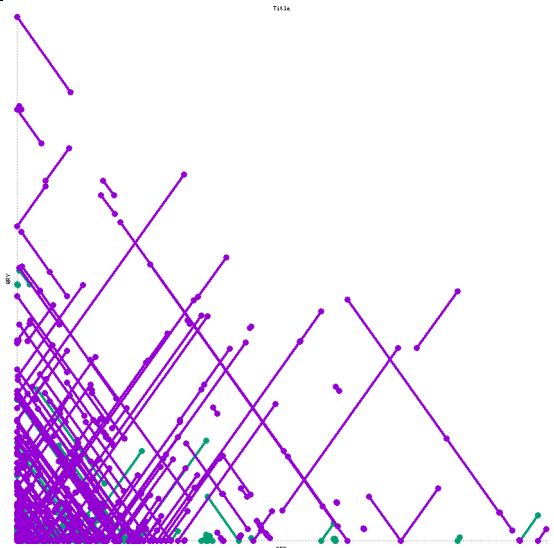

Para evaluar las relaciones genómicas a gran escala entre las cepas sensibles y las cepas resistentes se empleó la herramienta NUCmer, esta elección se basó en su eficiencia y precisión para identificar regiones de alta similitud (conservadas) y rearrangements genómicos (inversiones, traslocaciones) entre los genomas bacterianos.

La comparación genómica de *Acinetobacter baumannii* realizada por NUCmer fue posteriormente graficada con MUMmerplot para obtener el gráfico de puntos (dotplots) como salida y mostró que los genomas analizados son altamente repetitivos y complejos, esto se infiere de la gran cantidad de líneas y puntos dispersos en los gráficos indicando que existen muchos segmentos de ADN que se repiten en diferentes lugares. La gran cantidad de líneas y puntos morados (ver gráficos tabla 10) que se cruzan en todas las direcciones indican un número elevado de repeticiones directas (muchos elementos repetitivos), la presencia de líneas verdes confirma la existencia de inversiones o segmentos de ADN repetidos en sentidos opuestos. Aunque en la mayor parte de los genomas predomina las líneas moradas, la presencia de líneas verdes añade una capa de complejidad estructural en los genomas que se encuentran presentes. Gran porcentaje de los alineamientos presentó una alta conservación estructural en sus secuencias.

La comparación también mostró dos grupos de genomas muy diferentes, las dos cepas de ampicilina y las dos cepas de ampicilina/sulbactam constan de bloques diagonales y limpios que indican que hay una conservación de sintenia (el orden de los genes), sin embargo, el hecho de no existir una única diagonal perfecta, sino que esté fragmentada, revela que se ha producido reordenamientos genómicos. Los 14 MUMmerplots con su respectiva descripción del alineamiento se presenta en la tabla 9 a continuación.

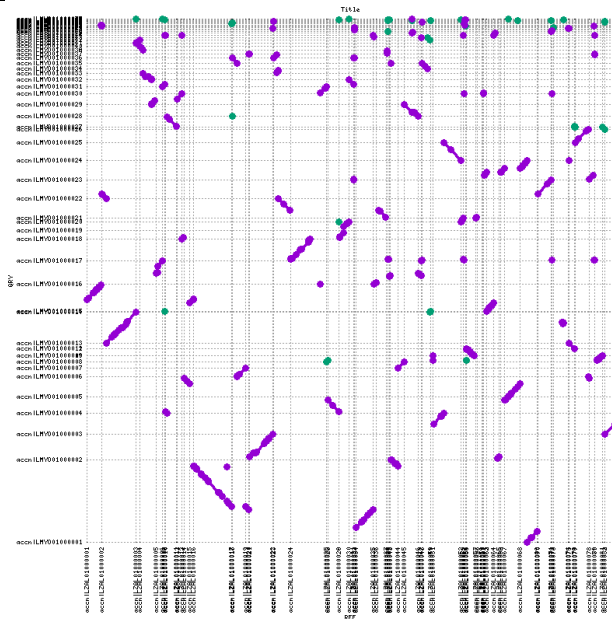
Tabla 9. Gráficas de alineamiento de genomas por antibiótico generadas con MUMmerplot con su respectiva descripción.

Alineamiento de Secuencias	
Ciprofloxacino	
	<p>El alineamiento revela reordenamientos genómicos, existen segmentos discontinuos y fragmentados (refleja diferencias estructurales notables), se observa regiones sin alineamiento. La cepa resistente presenta reordenamientos a gran escala. Los genomas son altamente divergentes estructuralmente, con múltiples inversiones y reordenamientos.</p>

Gentamicina	
	<p>La alineación aparece fragmentada en múltiples bloques que se dispersan y cruzan indicando un genoma con múltiples reordenamientos estructurales. La cepa resistente presenta varios segmentos no colineales (regiones del genoma que no conservan el mismo orden lineal que la cepa sensible). Existe presencia de bloques invertidos</p>
Ceftazidime	
	<p>Se observa una gran cantidad de bloques dispersos sin formar una diagonal clara, esto indica un alto grado de reordenamiento estructural entre ambas cepas. Se evidencia inversiones cromosómicas (varias líneas se orientan en diagonal opuesta a la esperada). Los vacíos en la diagonal y la superposición de segmentos sugieren presencia de regiones adicionales o perdidas en la cepa resistente.</p>
Levofloxacin	
	<p>El alineamiento muestra un patrón altamente fragmentado con muchos bloques cortos distribuidos al largo del eje diagonal. Existe múltiples diferencias estructurales en ambos genomas. Se evidencia inversiones en el genoma de la cepa resistente. Presenta reordenamientos genómicos complejos y posibles inserciones y deleciones</p>

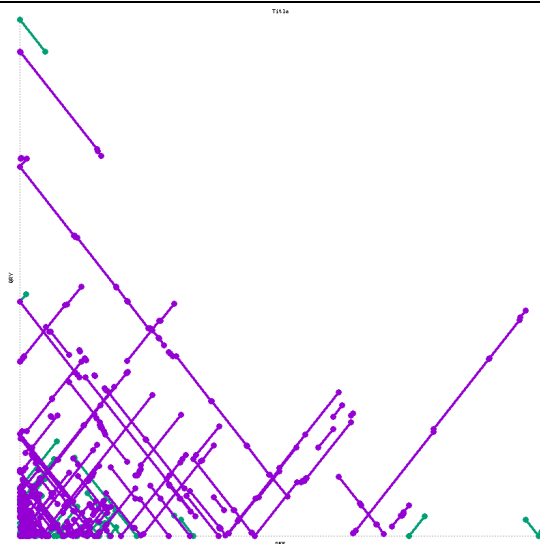
Tetraciclina	
	<p>En comparación de los gráficos anteriores, aquí, no se observa una diagonal clara en el alineamiento, en su lugar aparecen múltiples segmentos cortos y dispersos (refleja una gran divergencia estructural entre ambas cepas).</p> <p>Fragmentación extrema: el genoma resistente se alinea con la referencia en pequeños bloques aislados sugiriendo reordenamientos genómicos masivos y posiblemente pérdida o ganancia de grandes regiones. Bloques verticales desconectados.</p>
Trimethoprim/sulphamethoxazole	
	<p>El alineamiento muestra varios segmentos alineados en la diagonal esperada, aunque interrumpidos por huecos y cortes, existe cierto grado de conservación colineal, pero con múltiples reordenamientos. Se evidencia inversiones cromosómicas en la cepa resistente. Varias alineaciones son de buen tamaño y mantienen continuidad lo que refleja que partes considerables del genoma se conservan.</p>
Amikacina	
	<p>La alineación muestra una diagonal parcialmente conservada (clara en ciertos tramos) lo que indica que una parte del genoma de la cepa resistente mantiene colinearidad con la cepa sensible. Se observa alineamientos largos pero distribuidos en diferentes posiciones (refleja traslocaciones y reordenamientos locales). Hay evidencia de inversiones cromosómicas y conservación moderada.</p>

Tobramicina



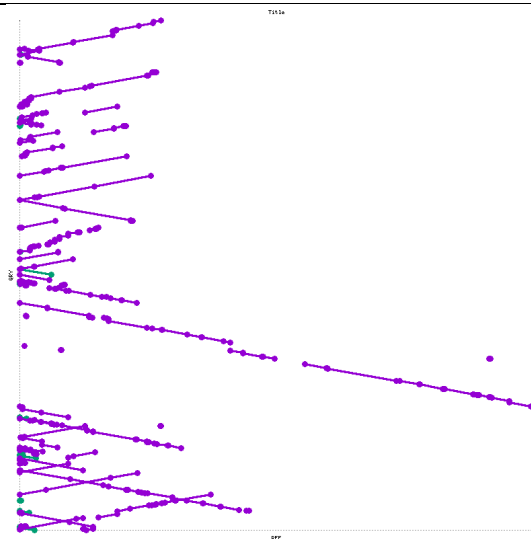
Los alineamientos aparecen como pequeños bloques aislados y distribuidos en múltiples posiciones, lo que refleja un genoma muy reorganizado. Se observa ausencia de colinearidad global, cada contig de la cepa sensible se alinea con segmentos dispersos de la cepa resistentes, esto indica fuerte pérdida de continuidad y presencia de múltiples reordenamientos, inserciones y deleciones.

Imipenem



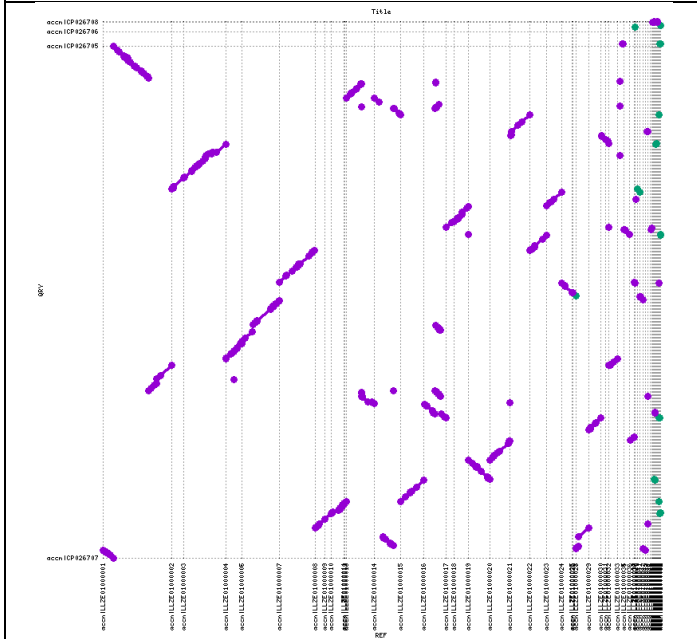
El alineamiento muestra una diagonal parcial con bloques grandes y medianos que está interrumpida por huecos, esto indica cierto grado de conservación, pero acompañado de reordenamiento significativos. Presenta bloques cruzados, varios alineamientos se intersecan con la diagonal principal, esto evidencia inversiones y traslocaciones.

Meropenem



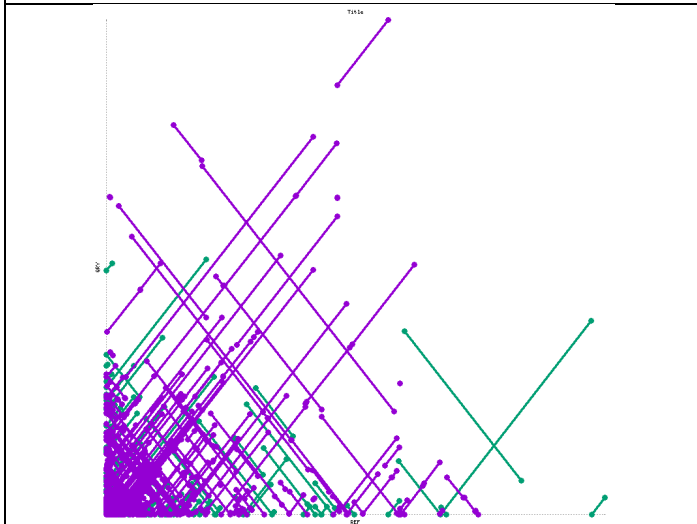
El alineamiento muestra ausencia de la diagonal global, en su lugar aparecen bloques verticales dispersos lo que indica que los alineamientos entre referencia (cepa sensible) y query (cepa resistente) están altamente reordenados. El genoma muestra está altamente reorganizado con pérdida total de colinearidad, bloques verticales y fragmentos dispersos reflejando una divergencia estructural profunda respecto a la cepa sensible.

Ampicilina/sulbactam



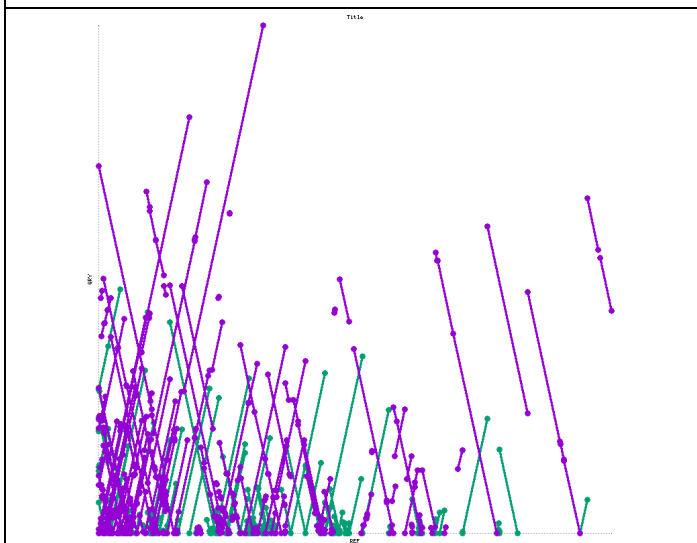
En este caso no se observa una diagonal continua como en genomas colineales, en su lugar aparecen fragmentos dispersos, pequeños y medianos ubicados en posiciones diferentes reflejando un genoma altamente reorganizado en la cepa resistente. Muchos alineamientos se concentran como fragmentos verticales aislados, lo que indica translocaciones y reubicaciones de regiones genómicas; hay presencia de huecos grandes lo que señala deleciones o inserciones extensas.

Carbapenem

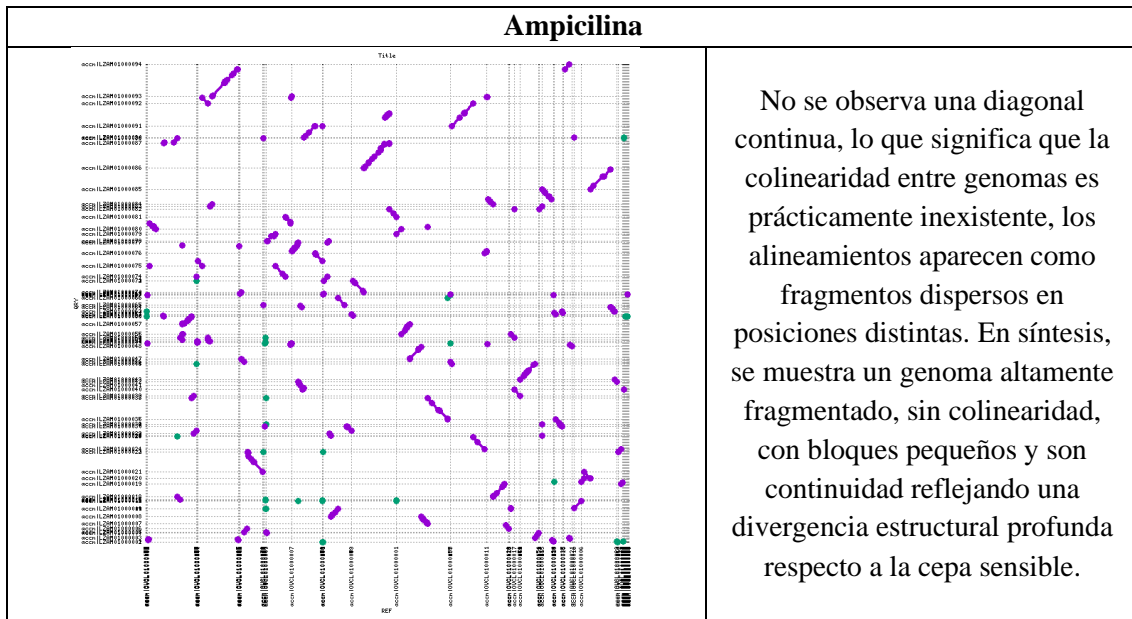


El alineamiento muestra fragmentación severa y dispersión, muestra múltiples bloques cortos y medianos con ausencia de una diagonal continúa indicando un alto grado de reorganización estructural. Se observa varias alineaciones en dirección opuesta a la diagonal principal lo que evidencia translocaciones.

Ceftriaxona



Se muestran los alineamientos como bloques dispersos y verticales/largos, lo que refleja pérdida de organización global. Se evidencia inversiones cromosómicas (los segmentos se orientan en múltiples direcciones) y la intersección de bloques indica translocaciones múltiples.



-DNAdiff

Los resultados obtenidos de la herramienta DNAdiff mostró una serie de datos resultantes al comparar dos genomas bacterianos de *A. baumannii*, un genoma de una cepa sensible contra el otro de una cepa resistente. Los 28 genomas de *A. baumannii* tiene una identidad promedio de las alineaciones de 97,874%, los indels una media de 2532,28 y los SNPs una media 64065.

Tabla 10. Media estadística calculada de los 28 genomas de *A. baumannii*.

Estadísticas Globales DNAdiff

Media AvgIdentity	97,8749462
Media Indels	2532,28571
SNPs	64065

Las tablas que se presentan a continuación describen los resultados más resumidos y relevantes obtenidos al ejecutar DNAdiff, estos datos fueron usados para calcular las estadísticas globales de DNAdiff que se presentó anteriormente. La tabla completa con todas las métricas obtenidas de la herramienta DNAdiff donde muestran diferencias y similitudes de las secuencias sensibles y secuencias resistentes a antibióticos con parámetros como la similitud global, las diferencias estructurales, variación del nivel de base, cobertura y alineamientos se puede observar en la sección “Anexos” (ver anexo 1).

Tabla 11. Resultados de DNAdiff entre dos secuencias con su respectivo antibiótico.

1) Ciprofloxacina			2) Gentamicina		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	47	80	TotalSeqs	197	99
AlignedSeqs	45(95.7447%)	58(72.5000%)	AlignedSeqs	149(75.6345%)	67(67.6768%)
UnalignedSeqs	2(4.2553%)	22(27.5000%)	UnalignedSeqs	48(24.3655%)	32(32.3232%)
[Alignments]			[Alignments]		
AvgIdentity	98.0042	98.0042	AvgIdentity	98.0177	98.0177
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	60786	60786	TotalSNPs	56953	56953
TotalIndels	2510	2510	TotalIndels	2575	2575

3) Ceftazidime			4) Levofloxacina		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	225	275	TotalSeqs	206	281
AlignedSeqs	193(85.7778%)	246(89.4545%)	AlignedSeqs	174(84.4660%)	241(85.7651%)
UnalignedSeqs	32(14.2222%)	29(10.5455%)	UnalignedSeqs	32(15.5340%)	40(14.2349%)
[Alignments]			[Alignments]		
AvgIdentity	98.1386	98.1386	AvgIdentity	97.8929	97.8929
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	59554	59554	TotalSNPs	60836	60836
TotalIndels	2082	2082	TotalIndels	2548	2548

5) Tetraciclina			6) Trimethoprim/sulfamethoxazole		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	26	91	TotalSeqs	135	121
AlignedSeqs	25(96.1538%)	83(91.2088%)	AlignedSeqs	102(75.5556%)	100(82.6446%)
UnalignedSeqs	1(3.8462%)	8(8.7912%)	UnalignedSeqs	33(24.4444%)	21(17.3554%)
[Alignments]			[Alignments]		
AvgIdentity	97.8696	97.8696	AvgIdentity	97.8794	97.8794
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	66693	66693	TotalSNPs	65268	65268
TotalIndels	2636	2636	TotalIndels	2673	2673

7) Amikacina			Tobramicina		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	112	128	TotalSeqs	83	77
AlignedSeqs	92(82.1429%)	117(91.4062%)	AlignedSeqs	77(92.7711%)	69(89.6104%)
UnalignedSeqs	20(17.8571%)	11(8.5938%)	UnalignedSeqs	6(7.2289%)	8(10.3896%)

[Alignments]			[Alignments]		
AvgIdentity	97.9268	97.9268	AvgIdentity	97.8421	97.8421
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	63479	63479	TotalSNPs	64224	64224
TotalIndels	2390	2390	TotalIndels	2584	2584

9) Imipenem			10) Meropenem		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	80	117	TotalSeqs	79	5
AlignedSeqs	62(77.5000%)	98(83.7607%)	AlignedSeqs	73(92.4051%)	5(100.0000%)
UnalignedSeqs	18(22.5000%)	19(16.2393%)	UnalignedSeqs	6(7.5949%)	0(0.0000%)
[Alignments]			[Alignments]		
AvgIdentity	97.7488	97.7488	AvgIdentity	97.8646	97.8646
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	69097	69097	TotalSNPs	63753	63753
TotalIndels	2835	2835	TotalIndels	2619	2619

11) Ampicilina/sulbactam			12) Carbapenem		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	82	4	TotalSeqs	356	306
AlignedSeqs	62(75.6098%)	4(100.0000%)	AlignedSeqs	288(80.8989%)	221(72.2222%)
UnalignedSeqs	20(24.3902%)	0(0.0000%)	UnalignedSeqs	68(19.1011%)	85(27.7778%)
[Alignments]			[Alignments]		
AvgIdentity	97.7908	97.7908	AvgIdentity	97.9025	97.9025
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	66305	66305	TotalSNPs	61008	61008
TotalIndels	2482	2482	TotalIndels	2466	2466

13) Ceftriaxona			14) Ampicilina		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	52	360	TotalSeqs	166	94
AlignedSeqs	36(69.2308%)	228(63.3333%)	AlignedSeqs	98(59.0361%)	88(93.6170%)
UnalignedSeqs	16(30.7692%)	132(36.6667%)	UnalignedSeqs	68(40.9639%)	6(6.3830%)
[Alignments]			[Alignments]		
AvgIdentity	97.7742	97.7742	AvgIdentity	97.8607	97.8607
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	71065	71065	TotalSNPs	67889	67889
TotalIndels	2593	2593	TotalIndels	2459	2459

4.3. Análisis de genes de resistencia y sensibilidad

Respecto a la búsqueda e identificación de genes de resistencia mediante el análisis con ABRicate en los 24 genomas de *A. baumannii*, se encontraron un total de 725 genes de resistencia para la base de datos CARD (406 genes de resistencia para cepas resistentes y 319 genes para cepas sensibles), 258 genes en la base ResFinder (163 genes de resistencia en cepas resistentes y 95 en cepas sensibles) y 0 factores de virulencia en VFDB.

-CARD: La mayoría de genes de resistencia de las cepas sensibles y resistentes encontrados en la base de datos CARD frecuentaban los mismos genes sin prevalecer alguno en específico en mayor porcentaje sin causar relevancia alguna al mencionar todos los genes encontrados.

-ResFinder: en cuanto a los genes de resistencia encontrados en la base de datos ResFinder se encontró que en cepas sensibles de *A. baumannii* presentaron alta frecuencia del gen blaADC-25_1 (es una β -lactamasa de tipo AmpC) que hace resistente a cefalosporinas de tercera y cuarta generación y a penicilinas, y el gen sul1_5 (altera el sitio diana enzima dihidropteroato sintasa /DHPS) produciendo resistencia a sulfonamidas. En las cepas resistentes de *A. baumannii* de igual manera que en las cepas sensibles fue el gen blaADC-25_1 el de mayor prevalencia, el gen APH(6)-Id (inactivación enzimática del antibiótico) que produce resistencia de aminoglucósidos como la eritromicina, el gen blaOXA-23_1 (β -lactamasa de hidrólisis enzimática) principal causante de resistencia a carbapenémicos como Imipenem y meropenem, el gen mph(E)_1 (inactivación enzimática) responsable de la resistencia a macrólidos y el gen msr(E)_1 (con su mecanismo de eflujo activo del antibiótico) causante de resistencia a macrólidos y estreptograminas B.

Las cepas resistentes de *A. baumannii* presenta un mayor número de genes de resistencia en la base de datos CARD que en ResFinder, en ResFinder el mayor número de genes de resistencia encontrados fue en cepas sensibles. Estos hallazgos refuerzan la validación de la multiresistencia antibiótica de la bacteria a cefalosporinas, carbapenémicos, macrólidos y aminoglucósidos. En la siguiente tabla se resume el número de genes de resistencia encontrados por fenotipo de sensibilidad (sensible y resistente) en los genomas de *A. baumannii*, así como los principales genes de cada uno.

Tabla 12. Genes de resistencia encontrados en los genomas de *A. baumannii* con el análisis de ABRicate en los 28 genomas, 14 genomas de fenotipo sensible y 14 de fenotipo resistente.

Estadísticas Globales de los genes de resistencia encontrados en los 24 genomas de <i>Acinetobacter baumannii</i> en las bases de datos		
CARD		
CARD (Total 725 genes)	Cepas sensibles: 319 genes	Cepas resistentes: 406 genes
Genes Frecuentes	Frecuencia similar de los mismos genes en ambas cepas	
ResFinder		
ResFinder (258)	Cepas sensibles: 163 genes	Cepas resistentes: 95
Genes Frecuentes	blaADC-25_1 (14 genomas) sul1_5 (5 genomas)	blaADC-25_1 (14 genomas) APH(6)-Id (11 genomas) blaOXA-23_1 (11 genomas) mph(E)_1 (11 genomas) msr(E)_1 (11 genomas)

Los genes de resistencia encontrados en *A. baumannii* en cada una de las 24 cepas seleccionados se clasificaron de acuerdo a la base de datos: un resultado para CARD, uno para ResFinder, y uno para la base VFDB; en la base VFDB no se encontraron resultados para los factores de virulencia de *A. baumannii* lo cual significa que de las cepas seleccionados no existen descripciones de los mismos. Los resultados que se presentarán posteriormente, describen los resultados encontrados en CARD, ResFinder y VFDB en conjunto con el respectivo genoma identificado, el número de genes encontrados y los genes de cada genoma.

Tabla 13. Genes de resistencia encontrados en los 24 genomas de *Acinetobacter baumannii* en la base de datos CARD.

Genes encontrados en CARD		
Genomas: R→Resistentes S→Sensibles	Nro. genes	Genes encontrados
R_amikacina_AB_strain_CCF34	29	APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, tet(B), AAC(6')-Iaf, Acinetobacter_baumannii_AmvA, abeM, OXA-72, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeN, AAC(3)-Ia, msrE, mphE, OXA-66, adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, ADC-30, adeI, adeJ, adeK, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, sul2
R_amp_sulba_AB_strain_AR_0056	28	mphE, msrE, OXA-23, Acinetobacter_baumannii_AmvA, adeN, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, OXA-66, Acinetobacter_baumannii_AbaF, AAC(3)-Ile, APH(3')-Ia, ADC-25, adeI, adeJ, adeK, sul2, tet(B), APH(6)-Id, APH(3'')-Ib, sul2, abeM, adeH, adeF, adeG, adeL, abeS

R_ampicilina_AB_strain_CCF19	25	Acinetobacter_baumannii_AbaF, OXA-23, ADC-25, OXA-115, APH(3')-VIa, adeN, adeC, adeB, adeA, adeR, adeS, adeK, adeJ, adeI, abeM, ANT(2'')-Ia, aadA2, sul1, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, Acinetobacter_baumannii_AmvA, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH
R_carbapenem_AB_947299	27	abeM, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeK, adeJ, adeI, Acinetobacter_baumannii_AmvA, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeN, adeC, adeB, adeA, adeR, adeS, ADC-25, OXA-115, ANT(3'')-IIa, AAC(3)-Ia, mphE, msrE, OXA-23, sul1, APH(3')-VIa
R_ceftazidime_AB_ABUH588656	26	adeN, tet(B), APH(6)-Id, APH(3'')-Ib, abeM, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeI, adeJ, adeK, Acinetobacter_baumannii_AmvA, ADC-30, OXA-23, adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, adeC, adeB, adeA, adeR, adeS, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, OXA-66, AAC(3)-Ia, OXA-72
R_ceftriaxona_AB_strain_Pesh-04	32	adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, adeK, adeJ, adeI, OXA-64, APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, abeM, adeB, adeA, adeR, adeS, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, PER-7, sul1, Acinetobacter_baumannii_AbaF, mphE, msrE, armA, Acinetobacter_baumannii_AmvA, arr-2, cmlA5, AAC(3)-IIe, sul2, AAC(6')-Ian, tet(B), OXA-23, ADC-79
R_ciprofloxacin_AB_UH11608	33	Acinetobacter_baumannii_AmvA, abeM, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, adeK, adeJ, adeI, APH(3')-Ia, APH(3')-VIa, sul2, AAC(6')-Ib7, catB8, ANT(3'')-IIa, sul1, armA, msrE, mphE, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, ADC-56, OXA-23, tet(B), APH(6)-Id, APH(3'')-Ib, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, OXA-115
R_gentamicina_AB_ABUH514287	32	adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, tet(B), Acinetobacter_baumannii_AbaF, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeS, OXA-115, Acinetobacter_baumannii_AmvA, adeC, adeB, adeA, adeR, AAC(6')-Ib7, catB8, ANT(3'')-IIa, sul1, armA, msrE, mphE, adeI, adeJ, adeK, OXA-23, APH(3')-Ia, APH(3')-VIa, abeM, ADC-30
R_imipenem_AB_strain_MRSN6269	27	abeM, adeF, adeG, adeL, abeS, ADC-79, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeI, adeJ, adeK, adeN, Acinetobacter_baumannii_AmvA, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, OXA-69, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, sul2, ANT(2'')-Ia, APH(3')-Ia, msrE, mphE, APH(3')-VIa, APH(3')-VI, OXA-23
R_levofloxacin_AB_strain_AB_029	29	abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, adeK, adeJ, adeI, abeM, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, adeN, Acinetobacter_baumannii_AmvA, mphE, msrE, armA, OXA-66, APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, tet(B), Acinetobacter_baumannii_AbaQ, ADC-73, OXA-23, TEM-12, APH(3')-Ia
R_meropenem_AB_strain_AR_0035	29	adeK, adeJ, adeI, ADC-30, adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, msrE, mphE, Acinetobacter_baumannii_AmvA, adeN, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, OXA-66, Acinetobacter_baumannii_AbaF, APH(3')-Ia, TEM-12, abeM, APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, tet(B), sul2, OXA-72
R_sxt_AB_ABUH71296	32	adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, Acinetobacter_baumannii_AbaF, OXA-66, adeC, adeB, adeA, adeR, adeS, APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, tet(B), adeI,

		adeJ, adeK, Acinetobacter_baumannii_AmvA, AAC(6')-Ib7, catB8, ANT(3'')-IIa, sul1, armA, msrE, mphE, OXA-23, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, APH(3')-Ia, APH(3')-VIa, abeM, ADC-30
R_tetraciclina_AB_ABUH134192	32	APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, tet(B), abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, Acinetobacter_baumannii_AbaF, OXA-66, adeC, adeB, adeA, adeR, adeS, adeI, adeJ, adeK, Acinetobacter_baumannii_AmvA, AAC(6')-Ib7, catB8, ANT(3'')-IIa, sul1, armA, msrE, mphE, OXA-23, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, APH(3')-Ia, APH(3')-VIa, ADC-30, abeM
R_tobramicina_AB_strain_MRSN20755	25	abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, ADC-76, Acinetobacter_baumannii_AbaF, OXA-68, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeB, adeC, abeM, Acinetobacter_baumannii_AmvA, adeN, tet(39), APH(3')-Ia, adeK, adeJ, adeI, tet(A), floR, ANT(2'')-Ia, CMY-59, APH(6)-Id, sul2
S_carbapenem_AB_4749	18	abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, abeM, adeK, adeJ, adeI, adeN, ADC-2, adeB, adeA, adeR, adeS, Acinetobacter_baumannii_AmvA, OXA-51, Acinetobacter_baumannii_AbaQ
S_amikacina_AB_strain_MRSN3941	26	abeM, adeF, adeG, adeL, abeS, adeI, adeJ, adeK, ADC-79, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeN, Acinetobacter_baumannii_AmvA, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, OXA-69, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, sul2, APH(3')-VI, msrE, mphE, ANT(2'')-Ia, OXA-23, APH(3')-Ia
S_ampi_sulba_AB_strain_MRSN17593	28	abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, ADC-76, abeM, adeI, adeJ, adeK, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeB, adeC, OXA-68, adeN, mphE, msrE, sul1, Acinetobacter_baumannii_AbaF, APH(3'')-Ib, APH(3')-VI, Acinetobacter_baumannii_AmvA, OXA-58, tet(39), AAC(3)-IId, CARB-4, dfrA16, CARB-3
S_ampicilina_AB_strain_KCRI-518B_strain_RDK05_518B	26	abeM, adeN, Acinetobacter_baumannii_AmvA, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, OXA-69, ADC-79, adeC, adeB, adeA, adeR, adeS, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeI, adeJ, adeK, catI, tet(A), ANT(3'')-IIa, AAC(3)-Ia, APH(3')-Ia, sul1
S_ceftazidime_AB_UH19608	33	adeI, adeJ, adeK, msrE, mphE, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, OXA-24, AAC(6')-Ia, Acinetobacter_baumannii_AmvA, adeN, sul1, catB3, ANT(2'')-Ia, OXA-65, ADC-6, Acinetobacter_baumannii_AbaF, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, sul2, APH(3'')-Ib, APH(6)-Id, cmlB1, abeM, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, TEM-1, AAC(3)-IId
S_ceftriaxona_AB_Naval-72	15	OXA-71, adeA, adeN, Acinetobacter_baumannii_AmvA, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, ADC-68, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, abeM, adeK, adeJ, adeI
S_ciprofloxacino_AB_UH6507	18	abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, Acinetobacter_baumannii_AmpC_beta-lactamase, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeS, adeR, adeA, adeB, OXA-314, adeI, adeJ, adeK, adeN, Acinetobacter_baumannii_AmvA, abeM
S_gentamicina_AB_Naval-82	17	Acinetobacter_baumannii_AmvA, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeR, adeS, Acinetobacter_baumannii_AbaF, OXA-343, adeN, abeM, adeI, adeJ, adeK, ADC-6

S_imipenem_AB_strain_MRSN17592	28	ADC-76, adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, abeM, adeI, adeJ, adeK, adeC, adeB, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, OXA-68, adeN, msrE, mphE, sull, Acinetobacter_baumannii_AbaF, Acinetobacter_baumannii_AmvA, APH(3')-VI, APH(3")-Ib, OXA-58, tet(39), AAC(3)-IId, CARB-4, dfrA16, CARB-3
S_levofloxacin_AB_strain_AB_349	14	abeM, adeK, adeJ, adeI, ADC-58, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, OXA-343, adeN, adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, Acinetobacter_baumannii_AmvA
S_meropenem_AB_strain_MRSN20315	25	abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, ADC-76, CMY-59, OXA-68, abeM, Acinetobacter_baumannii_AmvA, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeB, adeC, Acinetobacter_baumannii_AbaF, adeI, adeJ, adeK, adeN, tet(39), APH(3')-Ia, tet(A), floR, ANT(2")-Ia, sul2, APH(6)-Id
S_sxt_AB_UH5107	23	OXA-223, Acinetobacter_baumannii_AbaF, ANT(2")-Ia, aadA2, sull, abeM, adeS, adeR, adeA, adeB, adeC, adeK, adeJ, adeI, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, ADC-79, adeN, Acinetobacter_baumannii_AmvA
S_tetraciclina_AB_strain_AR_0037	25	APH(3')-VI, NDM-1, determinant_of_bleomycin_resistance, adeK, adeJ, adeI, ADC-2, ADC-10, adeH, adeF, adeG, adeL, abeS, Acinetobacter_baumannii_AmvA, adeN, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, adeS, adeR, adeA, adeB, OXA-94, Acinetobacter_baumannii_AbaF, sul2, abeM, ANT(2")-Ia
S_tobramicina_AB_strain_CCF18	23	abeM, ADC-30, Acinetobacter_baumannii_AbaF, Acinetobacter_baumannii_AbaQ, OXA-23, abeS, adeL, adeG, adeF, adeH, APH(3")-Ib, APH(6)-Id, tet(B), adeI, adeJ, adeK, adeC, adeB, adeA, adeR, adeS, Acinetobacter_baumannii_AmvA, OXA-66

Tabla 14. Resultados de los factores de virulencia encontrados en la base de datos VFDB.

VFDB	
#FILE	NUM_FOUND
R_amikacina_AB_strain_CCF34	0
R_amp_sulba_AB_strain_AR_0056	0
R_ampicilina_AB_strain_CCF19	0
R_carbapenem_AB_947299	0
R_ceftazidime_AB_ABUH588656	0
R_ceftriaxona_AB_strain_Pesh-04	0
R_ciprofloxacin_AB_UH11608	0
R_gentamicina_AB_ABUH514287	0
R_imipenem_AB_strain_MRSN6269	0
R_levofloxacin_AB_strain_AB_029	0
R_meropenem_AB_strain_AR_0035	0
R_sxt_AB_ABUH71296	0
R_tetraciclina_AB_ABUH134192	0
R_tobramicina_AB_strain_MRSN20755	0
S_carbapenem_AB_4749	0

S_amikacina_AB_strain_MRSN3941	0
S_ampi_sulba_AB_strain_MRSN17593	0
S_ampicilina_AB_strain_KCRI-518B_strain_RDK05_518B	0
S_ceftazidime_AB_UH19608	0
S_ceftriaxona_AB_Naval-72	0
S_ciprofloxacino_AB_UH6507	0
S_gentamicina_AB_Naval-82	0
S_imipenem_AB_strain_MRSN17592	0
S_levofloxacina_AB_strain_AB_349	0
S_meropenem_AB_strain_MRSN20315	0
S_sxt_AB_UH5107	0
S_tetraciclina_AB_strain_AR_0037	0
S_tobramicina_AB_strain_CCF18	0

Tabla 15. Genes de resistencia encontrados en los 24 genomas de *Acinetobacter baumannii* en la base de datos ResFinder.

ResFinder		
Genomas: R→Resistentes S→Sensibles	Nro genes	Genes
R_amikacina_AB_strain_CCF34	11	aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, tet(B)_1, aac(6'')-Iaf_1, blaOXA-72_1, aac(3)-Ia_1, msr(E)_1, mph(E)_1, blaOXA-66_1, blaADC-25_1, sul2_2
R_amp_sulba_AB_strain_AR_0056	11	mph(E)_1, msr(E)_1, blaOXA-23_1, blaOXA-66_1, aac(3)-IIa_2, aph(3')-Ia_7, blaADC-25_1, sul2_2, tet(B)_1, aph(6)-Id_1, aph(3'')-Ib_2
R_ampicilina_AB_strain_CCF19	7	blaOXA-23_1, blaADC-25_1, blaOXA-82_1, aph(3')-VIa_1, ant(2'')-Ia_1, aadA2_1, sul1_5
R_carbapenem_AB_947299	11	blaADC-25_1, blaOXA-82_1, ant(3'')-Ia_1, aac(3)-Ia_1, mph(E)_1, msr(E)_1, blaOXA-23_1, sul1_9, sul1_36, sul1_5, aph(3')-VIa_1
R_ceftazidime_AB_ABUH588656	8	tet(B)_1, aph(6)-Id_1, aph(3'')-Ib_2, blaADC-25_1, blaOXA-23_1, blaOXA-66_1, aac(3)-Ia_1, blaOXA-72_1
R_ceftriaxona_AB_strain_Pesh-04	16	blaOXA-64_1, aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, blaPER-7_1, sul1_5, mph(E)_1, msr(E)_1, armA_1, ARR-3_4, cmlA1_1, aac(3)-IIa_1, sul2_2, aac(6'')-Ian_1, tet(B)_1, blaOXA-23_1, blaADC-25_1
R_ciprofloxacina_AB_UH11608	15	aph(3')-Ia_7, aph(3')-VIa_1, sul2_2, catB8_1, ant(3'')-Ia_1, sul1_5, armA_1, msr(E)_1, mph(E)_1, blaADC-25_1, blaOXA-23_1, tet(B)_1, aph(6)-Id_1, aph(3'')-Ib_2, blaOXA-82_1
R_gentamicina_AB_ABUH514287	14	aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, tet(B)_1, blaOXA-82_1, catB8_1, ant(3'')-Ia_1, sul1_5, armA_1, msr(E)_1, mph(E)_1, blaOXA-23_1, aph(3')-Ia_7, aph(3')-VIa_1, blaADC-25_1
R_imipenem_AB_strain_MRSN6269	10	blaADC-25_1, blaOXA-69_1, sul2_2, ant(2'')-Ia_13, aph(3')-Ia_7, msr(E)_1, mph(E)_1, aph(3')-VIa_1, aph(3')-VI_1, blaOXA-23_1

R_levofloxacina_AB_strain_AB_029	11	mph(E)_1, msr(E)_1, armA_1, blaOXA-66_1, aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, tet(B)_1, blaADC-25_1, blaOXA-23_1, blaTEM-1D_1, aph(3')-Ia_7
R_meropenem_AB_strain_AR_0035	11	blaADC-25_1, msr(E)_1, mph(E)_1, blaOXA-66_1, aph(3')-Ia_7, blaTEM-1D_1, aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, tet(B)_1, sul2_2, blaOXA-72_1
R_sxt_AB_ABUH71296	14	blaOXA-66_1, aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, tet(B)_1, catB8_1, ant(3'')-Ia_1, sul1_5, armA_1, msr(E)_1, mph(E)_1, blaOXA-23_1, aph(3')-Ia_7, aph(3')-VIa_1, blaADC-25_1
R_tetraciclina_AB_ABUH134192	14	aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, tet(B)_1, blaOXA-66_1, catB8_1, ant(3'')-Ia_1, sul1_5, armA_1, msr(E)_1, mph(E)_1, blaOXA-23_1, aph(3')-Ia_7, aph(3')-VIa_1, blaADC-25_1
R_tobramicina_AB_strain_MRSN20755	10	blaADC-25_1, blaOXA-68_1, tet(39)_1, aph(3')-Ia_7, tet(A)_6, floR_2, ant(2'')-Ia_13, blaCMY-30_1, aph(6)-Id_1, sul2_2
S_carbapenem_AB_4749	2	blaADC-25_1, blaOXA-51_1
S_amikacina_AB_strain_MRSN3941	9	blaADC-25_1, blaOXA-69_1, sul2_2, aph(3')-VI_1, msr(E)_1, mph(E)_1, ant(2'')-Ia_13, blaOXA-23_1, aph(3')-Ia_7
S_ampi_sulba_AB_strain_MRSN17593	13	blaADC-25_1, blaOXA-68_1, mph(E)_1, msr(E)_1, sul1_5, aph(3'')-Ib_2, aph(3')-VIb_1, blaOXA-58_1, tet(39)_1, aac(3)-IId_1, blaCARB-4_1, dfrA16_2, blaCARB-2_1
S_ampicilina_AB_strain_KCRI-518B_strain_RDK05_518B	8	blaOXA-69_1, blaADC-25_1, catA1_1, tet(A)_6, ant(3'')-Ia_1, aac(3)-Ia_1, aph(3')-Ia_7, sul1_5
S_ceftazidime_AB_UH19608	15	msr(E)_1, mph(E)_1, blaOXA-24_1, aac(6')-Ia_n_1, sul1_5, catB3_2, ant(2'')-Ia_1, blaOXA-65_1, blaADC-25_1, sul2_2, aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, cmlB1_1, blaTEM-1B_1, aac(3)-IIa_1
S_ceftriaxona_AB_Naval-72	2	blaOXA-71_1, blaADC-25_1
S_ciprofloxacino_AB_UH6507	2	blaADC-25_1, blaOXA-314_1
S_gentamicina_AB_Naval-82	2	blaOXA-343_1, blaADC-25_1
S_imipenem_AB_strain_MRSN17592	13	blaADC-25_1, blaOXA-68_1, msr(E)_1, mph(E)_1, sul1_5, aph(3')-VIb_1, aph(3'')-Ib_2, blaOXA-58_1, tet(39)_1, aac(3)-IId_1, blaCARB-4_1, dfrA16_2, blaCARB-2_1
S_levofloxacina_AB_strain_AB_349	2	blaADC-25_1, blaOXA-343_1
S_meropenem_AB_strain_MRSN20315	10	blaADC-25_1, blaCMY-30_1, blaOXA-68_1, tet(39)_1, aph(3')-Ia_7, tet(A)_6, floR_2, ant(2'')-Ia_13, sul2_2, aph(6)-Id_1
S_sxt_AB_UH5107	5	blaOXA-223_1, ant(2'')-Ia_1, aadA2_1, sul1_5, blaADC-25_1
S_tetraciclina_AB_strain_AR_0037	6	aph(3')-VI_1, blaNDM-1_1, blaADC-25_1, blaOXA-94_1, sul2_2, ant(2'')-Ia_13
S_tobramicina_AB_strain_CCF18	6	blaADC-25_1, blaOXA-23_1, aph(3'')-Ib_2, aph(6)-Id_1, tet(B)_1, blaOXA-66_1

Con el fin de mejorar la visualización de los resultados sobre los genes encontrados, se optó por presentar mapas de calor (heatmaps) para representar de manera gráfica y más

condensada los resultados obtenidos. Los siguientes mapas de calor elaborados en R Studio muestran la presencia o ausencia de genes encontrados en las bases CARD (ver ilustración 9) y en Resfinder (ver ilustración 10) desde la herramienta ABRicate; VFDB no presentó ningún resultado en cuanto a los factores de virulencia presentes en las 28 cepas de *A. baumannii*, razón por la cual no se presenta su heatmap correspondiente al no ser relevante en la investigación.

El heatmap de la base de datos CARD (ilustración 9) muestra una diferenciación clara entre grupos: los genomas resistentes presentan una mayor cantidad de genes (presencia representada en azul), por el contrario, los genomas sensibles aparecen mayoritariamente en blanco indicando ausencia de la mayoría de genes de resistencia, esto sugiere una clara separación de los perfiles genómicos entre resistentes y sensibles. Mientras que los genomas resistentes presentan una alta densidad de genes de resistencia, incluyendo carbapenemasas y determinantes para aminoglucósidos, los sensibles exhiben perfiles mucho más limitados, con ausencia de la mayoría de los genes detectados. El análisis jerárquico evidencia un agrupamiento de los resistentes en función de la similitud de sus repertorios genómicos, lo cual refuerza la asociación entre la presencia de genes adquiridos y el fenotipo de resistencia. El análisis revela que los genes de resistencia más relevantes en este conjunto de *A. baumannii* son carbapenemasas (OXA, ADC), modificadores de aminoglucósidos (aac, aph, ant, aad), tet(B), sul1/sul2 y dfrA, todos ellos mayormente concentrados en cepas resistentes.

El heatmap de ResFinder (ilustración 10) muestra una menor densidad general de genes que el primer heatmap, incluso varias cepas (incluida las resistentes) aparecen con menos genes de resistencia detectados, indicando que la base de datos utilizada muestra un subconjunto más específico de genes. En las cepas resistentes se observó una alta frecuencia de genes β -lactamasa, entre ellos blaOXA-23, blaOXA-66, blaOXA-71 y blaADC-25/26, así como genes de espectro ampliado como blaTEM-1. Estos genes se distribuyeron principalmente en cepas resistentes a carbapenémicos (imipenem, meropenem) y cefalosporinas (ceftazidima, ceftriaxona), confirmando su asociación con la resistencia a β -lactámicos. Los genes modificadores de aminoglucósidos estuvieron también fuertemente representados en cepas resistentes, destacando aph(3')-Id, aph(6)-Id, aac(3)-Id, aac(6')-Id, ant(2'')-Ia y aadA2, que fueron detectados en aislados resistentes a amikacina, tobramicina y gentamicina. Vale mencionar que investigaciones futuras de los factores de virulencia y su respectiva anotación en bases de datos proporcionaría

información necesaria para comprender como influyen estos mecanismos en la patogenicidad de *Acinetobacter baumannii*.

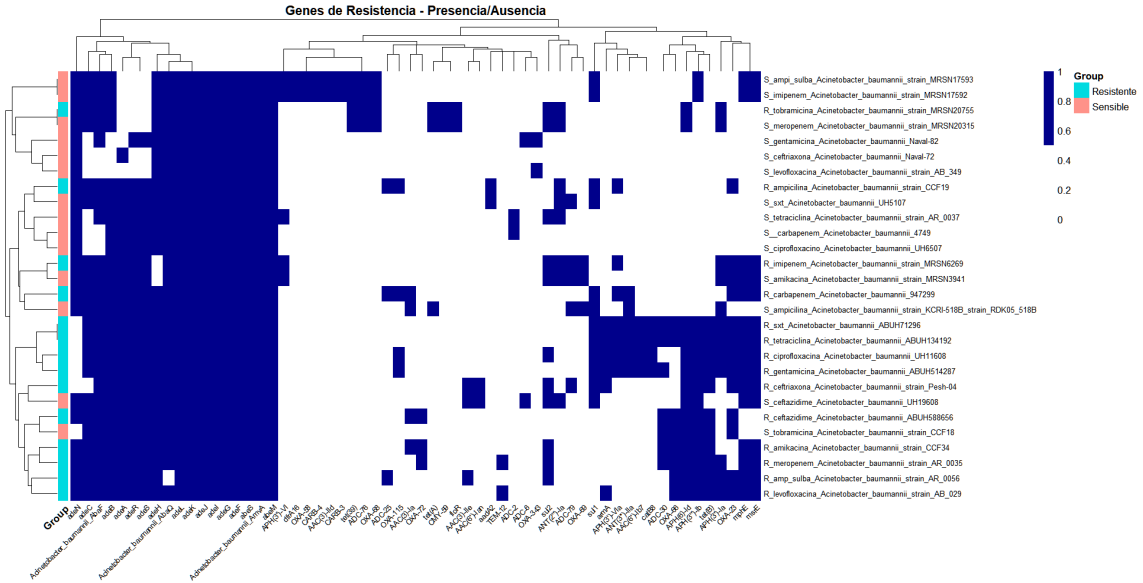


Ilustración 9. Heatmap que representa la presencia o ausencia de los genes encontrados con ABRicate en la base de datos CARD, la fila inferior representa el grupo de genes y la columna de la derecha cada genoma de *A. baumannii* con su respectiva etiqueta de sensibilidad antimicrobiana. Nótese que el color azul representa la presencia del gen y el color blanco la ausencia del mismo, el color celeste representa los genomas resistentes y el color rosado los sensibles. Heatmap realizado en R Studio por Julio Lunavictoria.

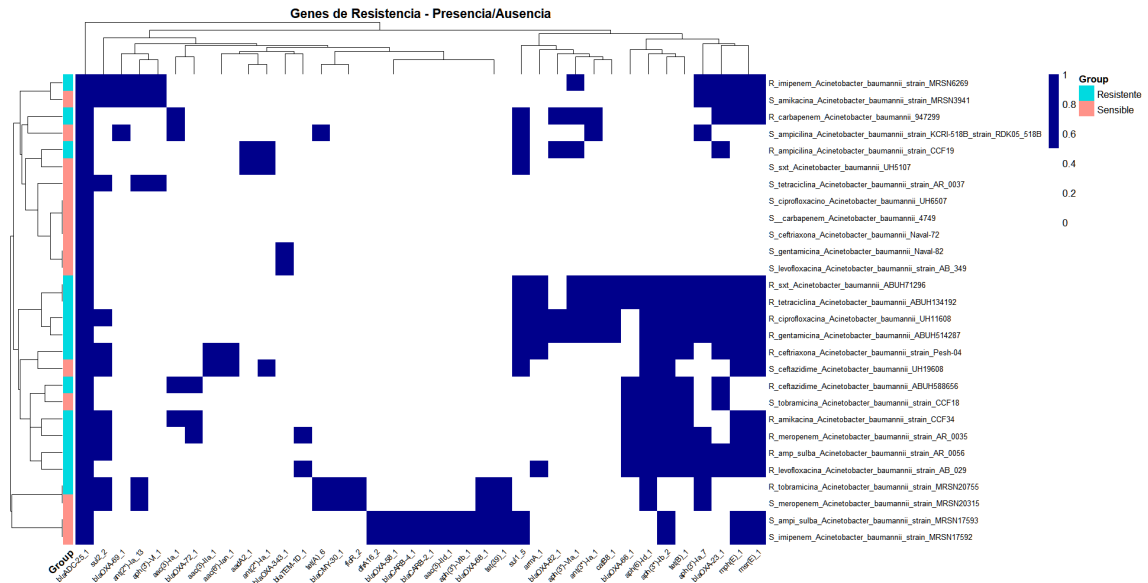


Ilustración 10. Heatmap que representa la presencia o ausencia de los genes encontrados con ABRicate en la base de datos ResFinder, la fila inferior representa el grupo de genes y la columna de la derecha cada genoma de *A. baumannii* con su respectiva etiqueta de sensibilidad. Nótese que el color azul representa la presencia del gen y el blanco su completa ausencia, el color celeste representa los genomas resistentes y el color rosado los sensibles. Heatmap realizado en R Studio por Julio Lunavictoria.

4.4. Análisis filogenético

Lo que respecta a la filogenia encontrada de *A. baumannii* la escala representada (0.01) en el árbol filogenético construido a partir del alineamiento de genes core indica que las diferencias entre ramas corresponden a una baja variación genética, es decir una baja distancia evolutiva entre los genomas, por la misma razón de pertenecer todos los genomas a *Acinetobacter baumannii*. La distribución de las cepas resistentes (color rojo) no forman un único clado separado, sino que aparecen distribuidas en diferentes ramas del árbol, es una resistencia no monofilética lo que puede indicar que el fenotipo resistente surgió de manera independiente con una alta probabilidad de adquisición horizontal de genes de resistencia. Las cepas sensibles también se aprecian un poco dispersas, pero con algunos grupos sensibles forman clados más cercanos entre sí.

La resistencia no sigue estrictamente la relación filogenética, no depende solo de la evolución vertical del genoma central, sino que también influyen mecanismos horizontales que indiquen a la resistencia antimicrobiana. Algunas cepas sensibles en la parte inferior del árbol se encuentran más agrupadas, esto indicaría linajes ancestrales sin tanta presión antibiótica o sin adquisición de genes de resistencia. Los clados mixtos donde se encuentran cepas sensibles y resistentes sugieren que cepas muy cercanas genéticamente pueden diferir en resistencia y puede ser a causa de genes de resistencia adquiridos de forma independiente.

La resistencia a antibióticos de *A. baumannii* no se correlaciona directamente con la filogenia por lo cual la dispersión de cepas resistentes y sensibles sugiere que su resistencia antimicrobiana tiene una fuerte influencia en la transferencia horizontal de genes causando la evolución de la resistencia. Las cepas resistentes tienden a formar agrupaciones con soporte estadístico alto lo que refleja posibles linajes clonales de resistencia antimicrobiana.

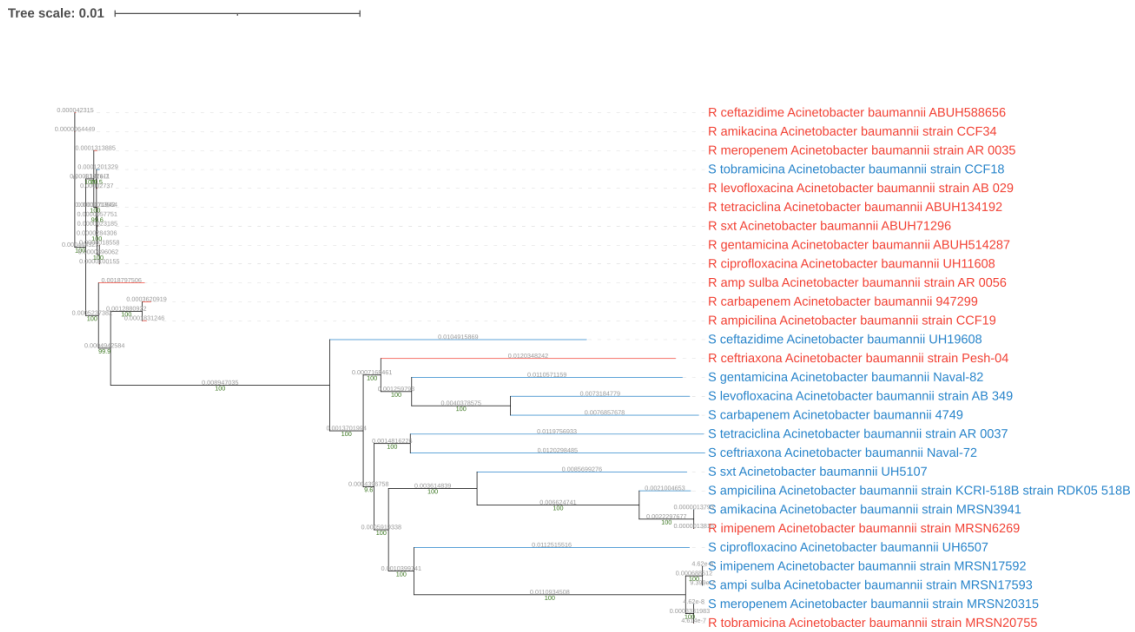


Ilustración 11. Representación gráfica del árbol filogenético de *Acinetobacter baumannii* visualizada en iTOL, el color rojo representa los genomas resistentes a antibióticos y el color azul a los genomas sensibles. La visualización en iTOL evidenció una clara diferenciación de clados con altos valores de soporte estadístico ($\geq 95\%$), lo que respalda la robustez de la topología obtenida.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

El análisis comparativo del genoma de *Acinetobacter baumannii* de cepas sensible y resistentes a antibióticos obtenido de la base pública BV-BRC permitió identificar genes asociados a resistencia bacteriana específicos de cada uno de los genomas con principal relación a los grupos antimicrobianos de los carbapenémicos, aminoglucósidos, macrólidos y cefalosporinas, así como también diferencias estructurales (SNPs) en los dos fenotipos de sensibilidad antibiótica. El genoma de esta bacteria mantiene una alta conservación estructural y en general sus mecanismos de resistencia se asocian a la adquisición de genes exógenos.

La recopilación de los 28 genomas de *Acinetobacter baumannii* disponibles en la plataforma BV-BRC permitió establecer un conjunto representativo de esta especie bacteriana tanto de cepas sensibles como de cepas resistentes para garantizar la diversidad y disponibilidad de datos para su análisis. La calidad del ensamblaje de cada uno de los genomas se llevó a cabo mediante Busco y Quast para ratificar su calidad y demostrando que todos los genomas cuentan con una buena calidad para todos los análisis realizados.

El análisis de los genes de resistencia realizado con ABRicate evidenció que tanto cepas sensibles como resistentes cuentan con diversos genes de resistencia, los genes de resistencia que frecuentaron en las cepas sensibles y cepas resistentes con la base de datos CARD frecuentaban los mismos genes en casi todos los genomas sin un gran relevante mientras que los principales genes de resistencia que se evidencio en ResFinder en las cepas sensibles principalmente frecuentan y se asocian: el gen blaADC-25_1 y sul1_5; y en las cepas resistentes los genes: blaADC-25_1, APPH (6)-Id, blaOXA-23_1, APH(6)-Id, blaOXA-23_1, mph(E)_1, y el gen msr(E)_1.

Al realizar el análisis filogenético de los genomas de *Acinetobacter baumannii* se determinó que las diferencias entre las ramas del árbol corresponden a una baja variación genética al pertenecer todos los 28 genomas al mismo género y especie, hay evidencia existe una baja distancia evolutiva entre los genomas. Los grupos de los genomas por resistencia se encuentran distribuidos en diferentes ramas del árbol, la resistencia no es monofilética. La resistencia antimicrobiana de la especie no sigue una relación filogenética estricta sin depender solo de la evolución vertical del genoma central sino también de mecanismo adquiridos de resistencia

5.2.Recomendaciones

-Es recomendable dar seguimiento epidemiológico a *Acinetobacter baumannii* alrededor de todo al mundo al ser una bacteria de peligro crítico y de seguimiento por la OMS, sus mecanismos de resistencia pueden evolucionar en algunos años e incluso transmitirlos a otras bacterias convirtiéndose en un problema de salud más grave.

-Se propone e incentiva hacer investigaciones a nivel local (Ecuador) de estas enterobacterias de gran peligro para la salud humana ya que no existe mucha información acerca de las cepas que predominan en el país.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ángel Serra Valdés, M., Cabrera, E., & Habana Cuba maserra, L. (2017a). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 16(3), 402–419. <https://revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2013/1826>

Ángel Serra Valdés, M., Cabrera, E., & Habana Cuba maserra, L. (2017b). La resistencia microbiana en el contexto actual y la importancia del conocimiento y aplicación en la política antimicrobiana Microbial resistance in the current context and the importance of knowledge and application in antimicrobial policy. *CIENCIAS EPIDEMIOLOGÍAS Y SALUBRISTAS* . <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2013>

- Antunes, L. C. S., Visca, P., & Towner, K. J. (2014). *Acinetobacter baumannii*: evolution of a global pathogen. *Pathogens and Disease*, 71(3), 292–301. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12125>
- Bouvet, P. J. M., & Grimont, P. A. D. (1987). Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Annales de l'Institut Pasteur / Microbiologie*, 138(5), 569–578. [https://doi.org/10.1016/0769-2609\(87\)90042-1](https://doi.org/10.1016/0769-2609(87)90042-1)
- BV-BRC. (2025). *About Us / BV-BRC*. <https://www.bv-brc.org/about>
- Calvo, J., & Martínez-Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(1), 44–52. <https://doi.org/10.1016/J.EIMC.2008.11.001>
- Camacho Silvas, L. A. (2023). Resistencia bacteriana, una crisis actual. *Revista Española de Salud Pública*, 97, e202302013. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10541255/>
- Carroll, K., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Timothy, M., Detrick, B., Mitchell, T., McKerrow, J., & Sakanari, J. (2016). *Jawetz, Melnick, & Adelberg Microbiología Médica* (McGrawHill, Ed.; 27a Ed.).
- Chávez Jacobo, V. M. (2020). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: : Un problema de salud pública sin ESKAPE. *Milenaria, Ciencia y Arte, ISSN-e 2954-4289, N°. 15, 2020, Págs. 6-8, 15, 6–8*. <https://doi.org/10.2147/IDR.S173867>
- Collins, F. S., Morgan, M., & Patrinos, A. (2003). The Human Genome Project: Lessons from Large-Scale Biology. *Science*, 300(5617), 286–290. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1084564>
- Daza-Pérez. (1998). *Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria*. 57–67. <https://vsf-iwsold-preportal.sanidad.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
- Fournier, P. E., Vallenet, D., Barbe, V., Audic, S., Ogata, H., Poirel, L., Richet, H., Robert, C., Mangenot, S., Abergel, C., Nordmann, P., Weissenbach, J., Raoult, D., & Claverie, J. M. (2006). Comparative Genomics of Multidrug Resistance in *Acinetobacter baumannii*. *PLoS Genetics*, 2(1), e7. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PGEN.0020007>
- García Salguero, C. (2022). *Acinetobacter baumannii: epidemiología, resistencias y opciones de tratamiento*. <https://repositorio.uam.es/handle/10486/703852>
- Goodwin, S., McPherson, J. D., & McCombie, W. R. (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics* 2016 17:6, 17(6), 333–351. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.49>
- Harding, C. M., Hennon, S. W., & Feldman, M. F. (2017). Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nature Reviews Microbiology* 2017 16:2, 16(2), 91–102. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.148>
- Hernández, M., Quijada, N. M., Rodríguez-Lázaro, D., & Eiros, J. M. (2020). Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 150–161. <https://doi.org/10.1016/J.RAM.2019.06.003>
- Hernández Torres, A., García Vázquez, E., Yagüe Guirao, G., & Gómez Gómez, J. (2010). *Acinetobacter baumannii* multirresistente: situación clínica actual y nuevas perspectivas. *Revista Española de Quimioterapia, ISSN-e 0214-3429, Vol. 23, N°. 1, 2010, Págs. 12-19*,

23(1), 12–19.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3704971&info=resumen&idioma=ENG>

- Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., & Sleator, R. D. (2012a). *Acinetobacter baumannii*: An emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3), 243. <https://doi.org/10.4161/VIRU.19700>
- Howard, A., O'Donoghue, M., Feeney, A., & Sleator, R. D. (2012b). *Acinetobacter baumannii*: An emerging opportunistic pathogen. *Virulence*, 3(3), 243. <https://doi.org/10.4161/VIRU.19700>
- Jalili, V., Afgan, E., Gu, Q., Clements, D., Blankenberg, D., Goecks, J., Taylor, J., & Nekrutenko, A. (2020). The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2020 update. *Nucleic Acids Research*, 48(W1), W395–W402. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKAA434>
- Jia, B., Raphenya, A. R., Alcock, B., Waglechner, N., Guo, P., Tsang, K. K., Lago, B. A., Dave, B. M., Pereira, S., Sharma, A. N., Doshi, S., Courtot, M., Lo, R., Williams, L. E., Frye, J. G., Elsayegh, T., Sardar, D., Westman, E. L., Pawlowski, A. C., ... McArthur, A. G. (2017). CARD 2017: expansion and model-centric curation of the comprehensive antibiotic resistance database. *Nucleic Acids Research*, 45(D1), D566–D573. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKW1004>
- Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K. F., Von Haeseler, A., & Jermin, L. S. (2017). ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, 14(6), 587–589. <https://doi.org/10.1038/NMETH.4285;SUBJMETA=114,181,631,739;KWRD=COMPUTATIONAL+BIOLOGY+AND+BIOINFORMATICS,EVOLUTION,PHYLOGENY>
- López, S., & López-Brea, M. (2000). ¿Qué debemos saber acerca de las infecciones por *Acinetobacter baumannii*? *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 18(3), 153–156. <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-que-debemos-saber-acerca-infecciones-9771>
- Lucidi, M., Visaggio, D., Migliaccio, A., Capecchi, G., Visca, P., Imperi, F., & Zarrilli, R. (2023). Pathogenicity and virulence of *Acinetobacter baumannii*: Factors contributing to the fitness in healthcare settings and the infected host. *Virulence*, 15(1), 2289769. <https://doi.org/10.1080/21505594.2023.2289769>
- Mangas, E. L., Rubio, A., Álvarez-Marín, R., Labrador-Herrera, G., Pachón, J., Pachón-Ibáñez, M. E., Divina, F., & Pérez-Pulido, A. J. (2019). Pangenome of *Acinetobacter baumannii* uncovers two groups of genomes, one of them with genes involved in CRISPR/Cas defence systems associated with the absence of plasmids and exclusive genes for biofilm formation. *Microbial Genomics*, 5(11). <https://doi.org/10.1099/MGEN.0.000309>,
- Marçais, G., Delcher, A. L., Phillippy, A. M., Coston, R., Salzberg, S. L., & Zimin, A. (2018). MUMmer4: A fast and versatile genome alignment system. *PLOS Computational Biology*, 14(1), e1005944. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PCBI.1005944>
- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015a). IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268–274. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSU300>

- Nguyen, L. T., Schmidt, H. A., Von Haeseler, A., & Minh, B. Q. (2015b). IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 32(1), 268–274. <https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSU300>
- NIH. (2025). *Definición de biología computacional - Diccionario de cáncer del NCI - NCI*. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/biologia-computacional>
- Núñez Quezada, T. de la L., Hernan Rodríguez, C., Klinger Rincon, H., Nastro, M., Balderrama Yarhui, N., Dabos, L., Acosta Mosquera, Y., Plaza Moreira, N., & Famiglietti, Á. (2018). Epidemiología molecular de aislamientos de *Acinetobacter Baumannii* en la ciudad de Guayaquil. *Medicina*, ISSN-e 1390-8464, ISSN 1390-0218, Vol. 22, N°. 1, 2018, Págs. 5-8, 22(1), 5–8. <https://doi.org/10.23878/medicina.v22i1.836>
- OMS. (2024). *La OMS pone al día la lista de bacterias farmacorresistentes más peligrosas para la salud humana*. <https://www.who.int/es/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2017). *La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos*. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Ondov, B. D., Treangen, T. J., Melsted, P., Mallonee, A. B., Bergman, N. H., Koren, S., & Phillippy, A. M. (2016). Mash: Fast genome and metagenome distance estimation using MinHash. *Genome Biology*, 17(1), 1–14. <https://doi.org/10.1186/S13059-016-0997-X/FIGURES/5>
- Page, A. J., Cummins, C. A., Hunt, M., Wong, V. K., Reuter, S., Holden, M. T. G., Fookes, M., Falush, D., Keane, J. A., & Parkhill, J. (2015). Roary: rapid large-scale prokaryote pan genome analysis. *Bioinformatics*, 31(22), 3691–3693. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTV421>
- Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008a). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 538. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>
- Peleg, A. Y., Seifert, H., & Paterson, D. L. (2008b). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a Successful Pathogen. *Clinical Microbiology Reviews*, 21(3), 538. <https://doi.org/10.1128/CMR.00058-07>
- Pérez Alquicira, J., Rodríguez-Gómez, F., Vargas-Ponce, O., Muñoz-González, Z. A. G., Alcalá-Gómez, G., & Zamora-Tavares, P. (2022). Principios básicos de la genómica y sus aplicaciones. *E-CUCBA*, 9(18), 123–131. <https://doi.org/10.32870/ECUCBA.VI18.248>
- Portillo Bobadilla, T., Pérez Hernández, B., Pérez Hernández, V., & Hernández Guzmán, M. (2022). Una introducción a la bioinformática: avances en la biología y ciencias de la salud. *Mensaje Bioquímico*, 45, 1–12. https://www.researchgate.net/publication/361601534_Una_introduccion_a_la_bioinformatica_avances_en_la_biologia_y_ciencias_de_la_salud
- Rada Cuentas, J. (2016). *Acinetobacter* un patógeno actual. *Revista de La Sociedad Boliviana de Pediatría*, 55(1), 29–48.

http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752016000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es

- Tubon, I., Medina Naranjo, G. R., Mena Silva, P., & Vaca Altamirano, G. L. (2024). La resistencia bacteriana en el Ecuador. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. <https://revibiomedica.sld.cu/index.php/ibi/article/view/3413/1567>
- Vanegas-Múnera, J. M., Roncancio-Villamil, G., & Jiménez-Quiceno, J. N. (2014). *Acinetobacter baumannii*: importancia clínica, mecanismos de resistencia y diagnóstico. *CES Medicina*, 28(2), 233–246. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-87052014000200008&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Vernikos, G., Medini, D., Riley, D. R., & Tettelin, H. (2015). Ten years of pan-genome analyses. *Current Opinion in Microbiology*, 23, 148–154. <https://doi.org/10.1016/J.MIB.2014.11.016>
- Villain-Guillot, P., Bastide, L., Gualtieri, M., & Leonetti, J. P. (2007). Progress in targeting bacterial transcription. *Drug Discovery Today*, 12(5–6), 200–208. <https://doi.org/10.1016/J.DRUDIS.2007.01.005>

7. ANEXOS

Anexo 1. Resultados completos obtenidos de DNAdiff entre dos secuencias de *A. baumannii* con su respectivo antibiótico.

1) Ciprofloxacina			2) Gentamicina		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	47	80	TotalSeqs	197	99
AlignedSeqs	45(95.7447%)	58(72.5000%)	AlignedSeqs	149(75.6345%)	67(67.6768%)
UnalignedSeqs	2(4.2553%)	22(27.5000%)	UnalignedSeqs	48(24.3655%)	32(32.3232%)
[Bases]			[Bases]		
TotalBases	3762269	3886470	TotalBases	3908929	3951134
AlignedBases	3273148(86.9993%)	3272261(84.1962%)	AlignedBases	3162176(80.8962%)	3106823(78.6312%)
UnalignedBases	489121(13.0007%)	614209(15.8038%)	UnalignedBases	746753(19.1038%)	844311(21.3688%)
[Alignments]			[Alignments]		
1-to-1	218	218	1-to-1	289	289
TotalLength	3268349	3268111	TotalLength	3101362	3101161
AvgLength	14992.4266	14991.3349	AvgLength	10731.3564	10730.6609
AvgIdentity	98.0448	98.0448	AvgIdentity	98.0532	98.0532
M-to-M	280	280	M-to-M	441	441
TotalLength	3288195	3287950	TotalLength	3182161	3181992
AvgLength	11743.5536	11742.6786	AvgLength	7215.7846	7215.4014
AvgIdentity	98.0042	98.0042	AvgIdentity	98.0177	98.0177
[Feature Estimates]			[Feature Estimates]		
Breakpoints	473	493	Breakpoints	781	731
Relocations	1	1	Relocations	2	1
Translocations	50	40	Translocations	52	123
Inversions	2	2	Inversions	1	1
Insertions	189	223	Insertions	456	248
InsertionSum	498359	505103	InsertionSum	640074	686518
InsertionAvg	2636.8201	2265.0359	InsertionAvg	1403.6711	2768.2177
TandemIns	0	1	TandemIns	0	1
TandemInsSum	0	579	TandemInsSum	0	100
TandemInsAvg	0.0000	579.0000	TandemInsAvg	0.0000	100.0000
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	60786	60786	TotalSNPs	56953	56953
TG	2188(3.5995%)	2157(3.5485%)	GC	1158(2.0333%)	1191(2.0912%)
TA	3079(5.0653%)	2983(4.9074%)	GT	2088(3.6662%)	2054(3.6065%)

TC	11122(18.2970%)	10950(18.0140%)	GA	10077(17.6935%)	10324(18.1272%)
CA	2296(3.7772%)	2134(3.5107%)	CG	1191(2.0912%)	1158(2.0333%)
CG	1263(2.0778%)	1193(1.9626%)	CA	2166(3.8031%)	2077(3.6469%)
CT	10950(18.0140%)	11122(18.2970%)	CT	10130(17.7866%)	10122(17.7725%)
GT	2157(3.5485%)	2188(3.5995%)	TG	2054(3.6065%)	2088(3.6662%)
GC	1193(1.9626%)	1263(2.0778%)	TC	10122(17.7725%)	10130(17.7866%)
GA	10805(17.7755%)	10616(17.4645%)	TA	2782(4.8847%)	2784(4.8882%)
AC	2134(3.5107%)	2296(3.7772%)	AT	2784(4.8882%)	2782(4.8847%)
AG	10616(17.4645%)	10805(17.7755%)	AG	10324(18.1272%)	10077(17.6935%)
AT	2983(4.9074%)	3079(5.0653%)	AC	2077(3.6469%)	2166(3.8031%)
TotalGSNPs	17761	17761	TotalGSNPs	16849	16849
TG	557(3.1361%)	574(3.2318%)	CA	545(3.2346%)	524(3.1100%)
TA	673(3.7892%)	653(3.6766%)	CT	3245(19.2593%)	3176(18.8498%)
TC	3408(19.1881%)	3437(19.3514%)	CG	289(1.7152%)	269(1.5965%)
CG	340(1.9143%)	269(1.5146%)	GC	269(1.5965%)	289(1.7152%)
CA	587(3.3050%)	530(2.9841%)	GA	3231(19.1762%)	3280(19.4670%)
CT	3437(19.3514%)	3408(19.1881%)	GT	515(3.0566%)	534(3.1693%)
AT	653(3.6766%)	673(3.7892%)	AT	605(3.5907%)	636(3.7747%)
AG	3299(18.5744%)	3434(19.3345%)	AG	3280(19.4670%)	3231(19.1762%)
AC	530(2.9841%)	587(3.3050%)	AC	524(3.1100%)	545(3.2346%)
GA	3434(19.3345%)	3299(18.5744%)	TA	636(3.7747%)	605(3.5907%)
GC	269(1.5146%)	340(1.9143%)	TC	3176(18.8498%)	3245(19.2593%)
GT	574(3.2318%)	557(3.1361%)	TG	534(3.1693%)	515(3.0566%)
TotalIndels	2510	2510	TotalIndels	2575	2575
T.	446(17.7689%)	426(16.9721%)	G.	255(9.9029%)	175(6.7961%)
C.	241(9.6016%)	170(6.7729%)	C.	224(8.6990%)	186(7.2233%)
G.	249(9.9203%)	190(7.5697%)	T.	473(18.3689%)	378(14.6796%)
A.	466(18.5657%)	322(12.8287%)	A.	465(18.0583%)	419(16.2718%)
.T	426(16.9721%)	446(17.7689%)	.G	175(6.7961%)	255(9.9029%)
.A	322(12.8287%)	466(18.5657%)	.C	186(7.2233%)	224(8.6990%)
.G	190(7.5697%)	249(9.9203%)	.T	378(14.6796%)	473(18.3689%)
.C	170(6.7729%)	241(9.6016%)	.A	419(16.2718%)	465(18.0583%)
TotalGIndels	236	236	TotalGIndels	227	227
T.	61(25.8475%)	50(21.1864%)	C.	5(2.2026%)	10(4.4053%)
C.	8(3.3898%)	4(1.6949%)	G.	11(4.8458%)	9(3.9648%)
A.	49(20.7627%)	49(20.7627%)	A.	43(18.9427%)	65(28.6344%)
G.	10(4.2373%)	5(2.1186%)	T.	44(19.3833%)	40(17.6211%)
.T	50(21.1864%)	61(25.8475%)	.A	65(28.6344%)	43(18.9427%)
.G	5(2.1186%)	10(4.2373%)	.T	40(17.6211%)	44(19.3833%)
.A	49(20.7627%)	49(20.7627%)	.C	10(4.4053%)	5(2.2026%)
.C	4(1.6949%)	8(3.3898%)	.G	9(3.9648%)	11(4.8458%)

3) Ceftazidime			4) Levofloxacin		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	225	275	TotalSeqs	206	281
AlignedSeqs	193(85.7778%)	246(89.4545%)	AlignedSeqs	174(84.4660%)	241(85.7651%)
UnalignedSeqs	32(14.2222%)	29(10.5455%)	UnalignedSeqs	32(15.5340%)	40(14.2349%)
[Bases]			[Bases]		
TotalBases	4074016	4079365	TotalBases	3764588	3845327
AlignedBases	3595233(88.2479%)	3560190(87.2731%)	AlignedBases	3200488(85.0156%)	3197858(83.1622%)
UnalignedBases	478783(11.7521%)	519175(12.7269%)	UnalignedBases	564100(14.9844%)	647469(16.8378%)
[Alignments]			[Alignments]		
1-to-1	457	457	1-to-1	480	480
TotalLength	3562300	3561944	TotalLength	3188657	3188496
AvgLength	7794.9672	7794.1882	AvgLength	6643.0354	6642.7000
AvgIdentity	98.2332	98.2332	AvgIdentity	97.9687	97.9687
M-to-M	750	750	M-to-M	666	666
TotalLength	3642993	3642601	TotalLength	3230709	3230509
AvgLength	4857.3240	4856.8013	AvgLength	4850.9144	4850.6141
AvgIdentity	98.1386	98.1386	AvgIdentity	97.8929	97.8929
[Feature Estimates]			[Feature Estimates]		
Breakpoints	1131	1021	Breakpoints	1185	956
Relocations	7	9	Relocations	5	1
Translocations	211	140	Translocations	227	149
Inversions	0	0	Inversions	0	0
Insertions	465	346	Insertions	577	358
InsertionSum	501327	382519	InsertionSum	479265	469525
InsertionAvg	1078.1226	1105.5462	InsertionAvg	830.6153	1311.5223
TandemIns	3	1	TandemIns	3	1
TandemInsSum	198	240	TandemInsSum	334	63
TandemInsAvg	66.0000	240.0000	TandemInsAvg	111.3333	63.0000
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	59554	59554	TotalSNPs	60836	60836
AC	2197(3.6891%)	2194(3.6841%)	TG	2229(3.6639%)	2283(3.7527%)
AT	2872(4.8225%)	2808(4.7150%)	TA	3000(4.9313%)	3067(5.0414%)
AG	10759(18.0660%)	10783(18.1063%)	TC	10711(17.6064%)	10831(17.8036%)
TC	10551(17.7167%)	10670(17.9165%)	GA	10721(17.6228%)	10945(17.9910%)
TA	2808(4.7150%)	2872(4.8225%)	GC	1259(2.0695%)	1277(2.0991%)
TG	2117(3.5548%)	2192(3.6807%)	GT	2283(3.7527%)	2229(3.6639%)
CG	1213(2.0368%)	1198(2.0116%)	CA	2229(3.6639%)	2284(3.7544%)

CT	10670(17.9165%)	10551(17.7167%)	CT	10831(17.8036%)	10711(17.6064%)
CA	2194(3.6841%)	2197(3.6891%)	CG	1277(2.0991%)	1259(2.0695%)
GC	1198(2.0116%)	1213(2.0368%)	AT	3067(5.0414%)	3000(4.9313%)
GA	10783(18.1063%)	10759(18.0660%)	AG	10945(17.9910%)	10721(17.6228%)
GT	2192(3.6807%)	2117(3.5548%)	AC	2284(3.7544%)	2229(3.6639%)
TotalGSNPs	18004	18004	TotalGSNPs	17553	17553
GA	3537(19.6456%)	3481(19.3346%)	GC	302(1.7205%)	295(1.6806%)
GT	558(3.0993%)	581(3.2271%)	GA	3261(18.5780%)	3425(19.5123%)
GC	291(1.6163%)	289(1.6052%)	GT	587(3.3442%)	569(3.2416%)
AG	3481(19.3346%)	3537(19.6456%)	TC	3256(18.5495%)	3368(19.1876%)
AT	706(3.9214%)	640(3.5548%)	TA	652(3.7145%)	704(4.0107%)
AC	573(3.1826%)	607(3.3715%)	TG	569(3.2416%)	587(3.3442%)
TG	581(3.2271%)	558(3.0993%)	CA	556(3.1675%)	578(3.2929%)
TC	3387(18.8125%)	3354(18.6292%)	CT	3368(19.1876%)	3256(18.5495%)
TA	640(3.5548%)	706(3.9214%)	CG	295(1.6806%)	302(1.7205%)
CG	289(1.6052%)	291(1.6163%)	AC	578(3.2929%)	556(3.1675%)
CA	607(3.3715%)	573(3.1826%)	AG	3425(19.5123%)	3261(18.5780%)
CT	3354(18.6292%)	3387(18.8125%)	AT	704(4.0107%)	652(3.7145%)
TotalIndels	2082	2082	TotalIndels	2548	2548
A.	411(19.7406%)	317(15.2257%)	N.	6(0.2355%)	0(0.0000%)
T.	407(19.5485%)	311(14.9376%)	T.	466(18.2889%)	417(16.3658%)
C.	201(9.6542%)	124(5.9558%)	G.	235(9.2229%)	161(6.3187%)
G.	184(8.8377%)	127(6.0999%)	C.	266(10.4396%)	180(7.0644%)
.A	317(15.2257%)	411(19.7406%)	A.	446(17.5039%)	371(14.5604%)
.T	311(14.9376%)	407(19.5485%)	.T	417(16.3658%)	466(18.2889%)
.C	124(5.9558%)	201(9.6542%)	.G	161(6.3187%)	235(9.2229%)
.G	127(6.0999%)	184(8.8377%)	.N	0(0.0000%)	6(0.2355%)
			.A	371(14.5604%)	446(17.5039%)
TotalGIndels	238	238	.C	180(7.0644%)	266(10.4396%)
G.	7(2.9412%)	4(1.6807%)			
A.	56(23.5294%)	46(19.3277%)	TotalGIndels	213	213
T.	56(23.5294%)	54(22.6891%)	G.	5(2.3474%)	6(2.8169%)
C.	11(4.6218%)	4(1.6807%)	T.	47(22.0657%)	44(20.6573%)
.C	4(1.6807%)	11(4.6218%)	C.	5(2.3474%)	5(2.3474%)
.A	46(19.3277%)	56(23.5294%)	A.	47(22.0657%)	54(25.3521%)
.T	54(22.6891%)	56(23.5294%)	.T	44(20.6573%)	47(22.0657%)
.G	4(1.6807%)	7(2.9412%)	.G	6(2.8169%)	5(2.3474%)
			.A	54(25.3521%)	47(22.0657%)
			.C	5(2.3474%)	5(2.3474%)

5) Tetraciclina		6) Trimethoprim/sulfamethoxazole			
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]

[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	26	91	TotalSeqs	135	121
AlignedSeqs	25(96.1538%)	83(91.2088%)	AlignedSeqs	102(75.5556%)	100(82.6446%)
UnalignedSeqs	1(3.8462%)	8(8.7912%)	UnalignedSeqs	33(24.4444%)	21(17.3554%)
[Bases]			[Bases]		
TotalBases	4069789	4180473	TotalBases	4006224	4167283
AlignedBases	3569975(87.7189%)	3470574(83.0187%)	AlignedBases	3431590(85.6565%)	3427749(82.2538%)
UnalignedBases	499814(12.2811%)	709899(16.9813%)	UnalignedBases	574634(14.3435%)	739534(17.7462%)
[Alignments]			[Alignments]		
1-to-1	269	269	1-to-1	288	288
TotalLength	3469273	3468747	TotalLength	3416901	3416729
AvgLength	12896.9257	12894.9703	AvgLength	11864.2396	11863.6424
AvgIdentity	979.595	979.595	AvgIdentity	979.659	979.659
M-to-M	414	414	M-to-M	417	417
TotalLength	3610915	3610421	TotalLength	3464746	3464587
AvgLength	8722.0169	8720.8237	AvgLength	8308.7434	8308.3621
AvgIdentity	97.8696	97.8696	AvgIdentity	97.8794	97.8794
[Feature Estimates]			[Feature Estimates]		
Breakpoints	782	628	Breakpoints	673	693
Relocations	10	11	Relocations	2	7
Translocations	105	17	Translocations	71	64
Inversions	0	20	Inversions	1	1
Insertions	322	250	Insertions	309	288
InsertionSum	616556	604576	InsertionSum	573073	467659
InsertionAvg	1914.7702	2418.3040	InsertionAvg	1854.6052	1623.8160
TandemIns	3	0	TandemIns	0	3
TandemInsSum	683	0	TandemInsSum	0	273
TandemInsAvg	227.6667	0.0000	TandemInsAvg	0.0000	91.0000
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	66693	66693	TotalSNPs	65268	65268
TA	3393(5.0875%)	3296(4.9420%)	TC	11607(17.7836%)	11493(17.6089%)
TC	11809(17.7065%)	11989(17.9764%)	TA	3177(4.8676%)	3284(5.0316%)
TG	2316(3.4726%)	2535(3.8010%)	TG	2306(3.5331%)	2484(3.8058%)
AC	2423(3.6331%)	2378(3.5656%)	GT	2484(3.8058%)	2306(3.5331%)
AG	11802(17.6960%)	11958(17.9299%)	GA	11575(17.7346%)	11807(18.0900%)
AT	3296(4.9420%)	3393(5.0875%)	GC	1353(2.0730%)	1390(2.1297%)
GA	11958(17.9299%)	11802(17.6960%)	CA	2395(3.6695%)	2397(3.6726%)
GT	2535(3.8010%)	2316(3.4726%)	CG	1390(2.1297%)	1353(2.0730%)
GC	1396(2.0932%)	1398(2.0962%)	CT	11493(17.6089%)	11607(17.7836%)

CG	1398(2.0962%)	1396(2.0932%)	AG	11807(18.0900%)	11575(17.7346%)
CT	11989(17.9764%)	11809(17.7065%)	AC	2397(3.6726%)	2395(3.6695%)
CA	2378(3.5656%)	2423(3.6331%)	AT	3284(5.0316%)	3177(4.8676%)
TotalGSNPs	18294	18294	TotalGSNPs	18535	18535
TC	3418(18.6837%)	3553(19.4217%)	TC	3589(19.3634%)	3511(18.9425%)
TG	542(2.9627%)	563(3.0775%)	TA	676(3.6472%)	708(3.8198%)
TA	667(3.6460%)	627(3.4274%)	TG	553(2.9835%)	607(3.2749%)
AG	3629(19.8371%)	3601(19.6840%)	GT	607(3.2749%)	553(2.9835%)
AC	573(3.1322%)	541(2.9573%)	GC	307(1.6563%)	304(1.6401%)
AT	627(3.4274%)	667(3.6460%)	GA	3561(19.2123%)	3596(19.4011%)
GC	302(1.6508%)	278(1.5196%)	CT	3511(18.9425%)	3589(19.3634%)
GT	563(3.0775%)	542(2.9627%)	CA	574(3.0968%)	549(2.9620%)
GA	3601(19.6840%)	3629(19.8371%)	CG	304(1.6401%)	307(1.6563%)
CT	3553(19.4217%)	3418(18.6837%)	AG	3596(19.4011%)	3561(19.2123%)
CA	541(2.9573%)	573(3.1322%)	AC	549(2.9620%)	574(3.0968%)
CG	278(1.5196%)	302(1.6508%)	AT	708(3.8198%)	676(3.6472%)
TotalIndels	2636	2636	TotalIndels	2673	2673
T.	505(19.1578%)	401(15.2124%)	T.	473(17.6955%)	411(15.3760%)
A.	505(19.1578%)	373(14.1502%)	G.	242(9.0535%)	182(6.8088%)
G.	268(10.1669%)	154(5.8422%)	C.	235(8.7916%)	207(7.7441%)
C.	281(10.6601%)	149(5.6525%)	A.	476(17.8077%)	447(16.7228%)
.A	373(14.1502%)	505(19.1578%)	.C	207(7.7441%)	235(8.7916%)
.T	401(15.2124%)	505(19.1578%)	.A	447(16.7228%)	476(17.8077%)
.C	149(5.6525%)	281(10.6601%)	.G	182(6.8088%)	242(9.0535%)
.G	154(5.8422%)	268(10.1669%)	.T	411(15.3760%)	473(17.6955%)
TotalGIndels	270	270	TotalGIndels	247	247
T.	61(22.5926%)	66(24.4444%)	T.	60(24.2915%)	54(21.8623%)
A.	46(17.0370%)	67(24.8148%)	G.	12(4.8583%)	6(2.4291%)
G.	9(3.3333%)	5(1.8519%)	C.	7(2.8340%)	4(1.6194%)
C.	10(3.7037%)	6(2.2222%)	A.	55(22.2672%)	49(19.8381%)
.C	6(2.2222%)	10(3.7037%)	.T	54(21.8623%)	60(24.2915%)
.G	5(1.8519%)	9(3.3333%)	.C	4(1.6194%)	7(2.8340%)
.A	67(24.8148%)	46(17.0370%)	.A	49(19.8381%)	55(22.2672%)
.T	66(24.4444%)	61(22.5926%)	.G	6(2.4291%)	12(4.8583%)

7) Amikacina			Tobramicina		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	112	128	TotalSeqs	83	77
AlignedSeqs	92(82.1429%)	117(91.4062%)	AlignedSeqs	77(92.7711%)	69(89.6104%)
UnalignedSeqs	20(17.8571%)	11(8.5938%)	UnalignedSeqs	6(7.2289%)	8(10.3896%)

[Bases]			[Bases]		
TotalBases	3949960	3968927	TotalBases	4011600	3826045
AlignedBases	3376506(85.4820%)	3358800(84.6274%)	AlignedBases	3294590(82.1266%)	3292894(86.0652%)
UnalignedBases	573454(14.5180%)	610127(15.3726%)	UnalignedBases	717010(17.8734%)	533151(13.9348%)
[Alignments]			[Alignments]		
1-to-1	309	309	1-to-1	263	263
TotalLength	3354117	3353719	TotalLength	3282188	3282237
AvgLength	10854.7476	10853.4595	AvgLength	12479.8023	12479.9886
AvgIdentity	98.0090	98.0090	AvgIdentity	97.9339	97.9339
M-to-M	395	395	M-to-M	368	368
TotalLength	3395609	3395237	TotalLength	3323690	3323761
AvgLength	8596.4785	8595.5367	AvgLength	9031.7663	9031.9592
AvgIdentity	97.9268	97.9268	AvgIdentity	97.8421	97.8421
[Feature Estimates]			[Feature Estimates]		
Breakpoints	724	687	Breakpoints	615	611
Relocations	2	4	Relocations	7	6
Translocations	99	84	Translocations	61	70
Inversions	2	2	Inversions	0	0
Insertions	346	332	Insertions	280	240
InsertionSum	566322	581035	InsertionSum	719158	513660
InsertionAvg	1636.7688	1750.1054	InsertionAvg	2568.4214	2140.2500
TandemIns	1	1	TandemIns	1	1
TandemInsSum	102	99	TandemInsSum	100	87
TandemInsAvg	102.0000	99.0000	TandemInsAvg	100.0000	87.0000
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	63479	63479	TotalSNPs	64224	64224
AT	3050(4.8047%)	3184(5.0158%)	AG	11358(17.6850%)	11497(17.9014%)
AG	11324(17.8390%)	11162(17.5838%)	AT	3269(5.0900%)	3270(5.0916%)
AC	2316(3.6485%)	2384(3.7556%)	AC	2343(3.6482%)	2429(3.7821%)
TC	11362(17.8988%)	11462(18.0564%)	TA	3270(5.0916%)	3269(5.0900%)
TG	2243(3.5335%)	2335(3.6784%)	TG	2352(3.6622%)	2330(3.6279%)
TA	3184(5.0158%)	3050(4.8047%)	TC	11311(17.6118%)	11361(17.6896%)
GA	11162(17.5838%)	11324(17.8390%)	GC	1311(2.0413%)	1393(2.1690%)
GT	2335(3.6784%)	2243(3.5335%)	GT	2330(3.6279%)	2352(3.6622%)
GC	1335(2.1031%)	1322(2.0826%)	GA	11497(17.9014%)	11358(17.6850%)
CA	2384(3.7556%)	2316(3.6485%)	CA	2429(3.7821%)	2343(3.6482%)
CT	11462(18.0564%)	11362(17.8988%)	CT	11361(17.6896%)	11311(17.6118%)
CG	1322(2.0826%)	1335(2.1031%)	CG	1393(2.1690%)	1311(2.0413%)
TotalGSNPs	18149	18149	TotalGSNPs	18006	18006

GC	282(1.5538%)	328(1.8073%)	GA	3499(19.4324%)	3460(19.2158%)
GT	581(3.2013%)	538(2.9644%)	GT	556(3.0879%)	563(3.1267%)
GA	3438(18.9432%)	3475(19.1471%)	GC	276(1.5328%)	326(1.8105%)
CT	3538(19.4942%)	3459(19.0589%)	TA	693(3.8487%)	688(3.8209%)
CG	328(1.8073%)	282(1.5538%)	TG	563(3.1267%)	556(3.0879%)
CA	578(3.1847%)	581(3.2013%)	TC	3406(18.9159%)	3418(18.9826%)
TA	706(3.8900%)	645(3.5539%)	CG	326(1.8105%)	276(1.5328%)
TG	538(2.9644%)	581(3.2013%)	CT	3418(18.9826%)	3406(18.9159%)
TC	3459(19.0589%)	3538(19.4942%)	CA	569(3.1601%)	552(3.0656%)
AT	645(3.5539%)	706(3.8900%)	AG	3460(19.2158%)	3499(19.4324%)
AG	3475(19.1471%)	3438(18.9432%)	AT	688(3.8209%)	693(3.8487%)
AC	581(3.2013%)	578(3.1847%)	AC	552(3.0656%)	569(3.1601%)
TotalIndels	2390	2390	TotalIndels	2584	2584
A.	462(19.3305%)	320(13.3891%)	A.	451(17.4536%)	432(16.7183%)
T.	465(19.4561%)	381(15.9414%)	T.	399(15.4412%)	468(18.1115%)
G.	231(9.6653%)	155(6.4854%)	G.	209(8.0882%)	210(8.1269%)
C.	232(9.7071%)	144(6.0251%)	C.	175(6.7724%)	240(9.2879%)
.T	381(15.9414%)	465(19.4561%)	.A	432(16.7183%)	451(17.4536%)
.G	155(6.4854%)	231(9.6653%)	.G	210(8.1269%)	209(8.0882%)
.C	144(6.0251%)	232(9.7071%)	.T	468(18.1115%)	399(15.4412%)
.A	320(13.3891%)	462(19.3305%)	.C	240(9.2879%)	175(6.7724%)
TotalGIndels	234	234	TotalGIndels	251	251
G.	9(3.8462%)	9(3.8462%)	G.	5(1.9920%)	9(3.5857%)
C.	8(3.4188%)	2(0.8547%)	T.	52(20.7171%)	59(23.5060%)
T.	49(20.9402%)	64(27.3504%)	C.	6(2.3904%)	10(3.9841%)
A.	55(23.5043%)	38(16.2393%)	A.	68(27.0916%)	42(16.7331%)
.T	64(27.3504%)	49(20.9402%)	.A	42(16.7331%)	68(27.0916%)
.G	9(3.8462%)	9(3.8462%)	.G	9(3.5857%)	5(1.9920%)
.C	2(0.8547%)	8(3.4188%)	.T	59(23.5060%)	52(20.7171%)
.A	38(16.2393%)	55(23.5043%)	.C	10(3.9841%)	6(2.3904%)

9) Imipenem			10) Meropenem		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	80	117	TotalSeqs	79	5
AlignedSeqs	62(77.5000%)	98(83.7607%)	AlignedSeqs	73(92.4051%)	5(100.0000%)
UnalignedSeqs	18(22.5000%)	19(16.2393%)	UnalignedSeqs	6(7.5949%)	0(0.0000%)
[Bases]			[Bases]		
TotalBases	3857306	4025940	TotalBases	3824942	4138746
AlignedBases	3327328(86.2604%)	3352049(83.2613%)	AlignedBases	3340541(87.3357%)	3411477(82.4278%)
UnalignedBases	529978(13.7396%)	673891(16.7387%)	UnalignedBases	484401(12.6643%)	727269(17.5722%)

[Alignments]			[Alignments]		
1-to-1	273	273	1-to-1	233	233
TotalLength	3328207	3328510	TotalLength	3344059	3344057
AvgLength	12191.2344	12192.3443	AvgLength	14352.1845	14352.1760
AvgIdentity	97.8126	97.8126	AvgIdentity	97.9536	97.9536
M-to-M	334	334	M-to-M	339	339
TotalLength	3360273	3360570	TotalLength	3449174	3449030
AvgLength	10060.6976	10061.5868	AvgLength	10174.5546	10174.1298
AvgIdentity	97.7488	97.7488	AvgIdentity	97.8646	97.8646
[Feature Estimates]			[Feature Estimates]		
Breakpoints	592	597	Breakpoints	528	673
Relocations	5	2	Relocations	11	8
Translocations	85	44	Translocations	4	85
Inversions	0	0	Inversions	9	0
Insertions	219	361	Insertions	222	291
InsertionSum	512818	566936	InsertionSum	451865	817905
InsertionAvg	2341.6347	1570.4598	InsertionAvg	2035.4279	2810.6701
TandemIns	0	0	TandemIns	1	2
TandemInsSum	0	0	TandemInsSum	4	156
TandemInsAvg	0.0000	0.0000	TandemInsAvg	4.0000	78.0000
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	69097	69097	TotalSNPs	63753	63753
GA	12142(17.5724%)	12320(17.8300%)	GT	2272(3.5638%)	2276(3.5700%)
GT	2526(3.6557%)	2560(3.7049%)	GA	11090(17.3953%)	11135(17.4658%)
GC	1507(2.1810%)	1525(2.2070%)	GC	1353(2.1223%)	1335(2.0940%)
TG	2560(3.7049%)	2526(3.6557%)	CT	11395(17.8737%)	11586(18.1733%)
TC	12294(17.7924%)	12016(17.3900%)	CG	1335(2.0940%)	1353(2.1223%)
TA	3573(5.1710%)	3597(5.2057%)	CA	2385(3.7410%)	2438(3.8241%)
CA	2434(3.5226%)	2603(3.7672%)	AT	3231(5.0680%)	3257(5.1088%)
CT	12016(17.3900%)	12294(17.7924%)	AG	11135(17.4658%)	11090(17.3953%)
CG	1525(2.2070%)	1507(2.1810%)	AC	2438(3.8241%)	2385(3.7410%)
AC	2603(3.7672%)	2434(3.5226%)	TA	3257(5.1088%)	3231(5.0680%)
AT	3597(5.2057%)	3573(5.1710%)	TC	11586(18.1733%)	11395(17.8737%)
AG	12320(17.8300%)	12142(17.5724%)	TG	2276(3.5700%)	2272(3.5638%)
TotalGSNPs	17859	17859	TotalGSNPs	17964	17964
CA	515(2.8837%)	558(3.1245%)	TG	567(3.1563%)	550(3.0617%)
CG	314(1.7582%)	319(1.7862%)	TC	3561(19.8230%)	3418(19.0269%)
CT	3319(18.5845%)	3393(18.9988%)	TA	697(3.8800%)	678(3.7742%)
TA	678(3.7964%)	668(3.7404%)	AT	678(3.7742%)	697(3.8800%)
TG	594(3.3261%)	532(2.9789%)	AC	558(3.1062%)	558(3.1062%)

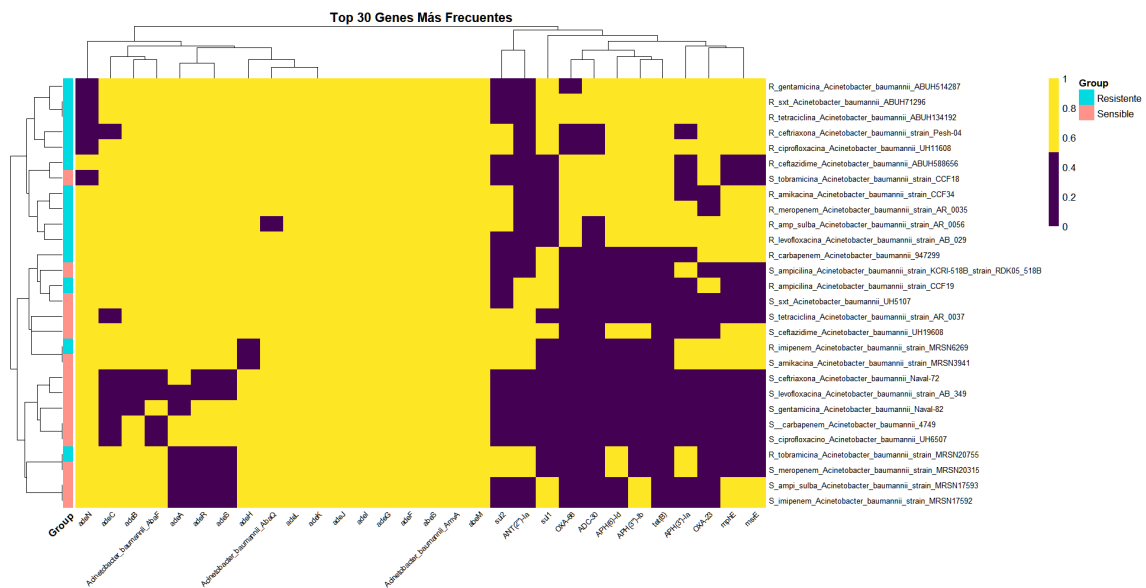
TC	3393(18.9988%)	3319(18.5845%)	AG	3365(18.7319%)	3408(18.9713%)
GA	3472(19.4412%)	3497(19.5812%)	GT	550(3.0617%)	567(3.1563%)
GT	532(2.9789%)	594(3.3261%)	GC	308(1.7145%)	296(1.6477%)
GC	319(1.7862%)	314(1.7582%)	GA	3408(18.9713%)	3365(18.7319%)
AC	558(3.1245%)	515(2.8837%)	CA	558(3.1062%)	558(3.1062%)
AT	668(3.7404%)	678(3.7964%)	CG	296(1.6477%)	308(1.7145%)
AG	3497(19.5812%)	3472(19.4412%)	CT	3418(19.0269%)	3561(19.8230%)
TotalIndels	2835	2835	TotalIndels	2619	2619
G.	183(6.4550%)	275(9.7002%)	G.	205(7.8274%)	226(8.6292%)
T.	447(15.7672%)	515(18.1658%)	C.	227(8.6674%)	222(8.4765%)
C.	235(8.2892%)	266(9.3827%)	A.	420(16.0367%)	432(16.4948%)
A.	396(13.9683%)	518(18.2716%)	T.	426(16.2658%)	461(17.6021%)
.C	266(9.3827%)	235(8.2892%)	.G	226(8.6292%)	205(7.8274%)
.G	275(9.7002%)	183(6.4550%)	.C	222(8.4765%)	227(8.6674%)
.T	515(18.1658%)	447(15.7672%)	.A	432(16.4948%)	420(16.0367%)
.A	518(18.2716%)	396(13.9683%)	.T	461(17.6021%)	426(16.2658%)
TotalGIndels	249	249	TotalGIndels	248	248
C.	9(3.6145%)	6(2.4096%)	T.	56(22.5806%)	65(26.2097%)
T.	56(22.4900%)	54(21.6867%)	A.	45(18.1452%)	52(20.9677%)
G.	4(1.6064%)	12(4.8193%)	G.	11(4.4355%)	1(0.4032%)
A.	45(18.0723%)	63(25.3012%)	C.	8(3.2258%)	10(4.0323%)
.A	63(25.3012%)	45(18.0723%)	.T	65(26.2097%)	56(22.5806%)
.C	6(2.4096%)	9(3.6145%)	.G	1(0.4032%)	11(4.4355%)
.G	12(4.8193%)	4(1.6064%)	.C	10(4.0323%)	8(3.2258%)
.T	54(21.6867%)	56(22.4900%)	.A	52(20.9677%)	45(18.1452%)

11) Ampicilina/sulbactam			12) Carbapenem		
	Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]		Genoma sensible [REF]	Genoma resistente [QRY]
[Sequences]			[Sequences]		
TotalSeqs	82	4	TotalSeqs	356	306
AlignedSeqs	62(75.6098%)	4(100.0000%)	AlignedSeqs	288(80.8989%)	221(72.2222%)
UnalignedSeqs	20(24.3902%)	0(0.0000%)	UnalignedSeqs	68(19.1011%)	85(27.7778%)
[Bases]			[Bases]		
TotalBases	3870522	4188385	TotalBases	4159919	4056891
AlignedBases	3342084(86.3471%)	3492085(83.3755%)	AlignedBases	3558296(85.5376%)	3320723(81.8539%)
UnalignedBases	528438(13.6529%)	696300(16.6245%)	UnalignedBases	601623(14.4624%)	736168(18.1461%)
[Alignments]			[Alignments]		
1-to-1	265	265	1-to-1	431	431
TotalLength	3349852	3349855	TotalLength	3323136	3323305
AvgLength	12640.9509	12640.9623	AvgLength	7710.2923	7710.6845
AvgIdentity	97.8793	97.8793	AvgIdentity	98.0234	98.0234

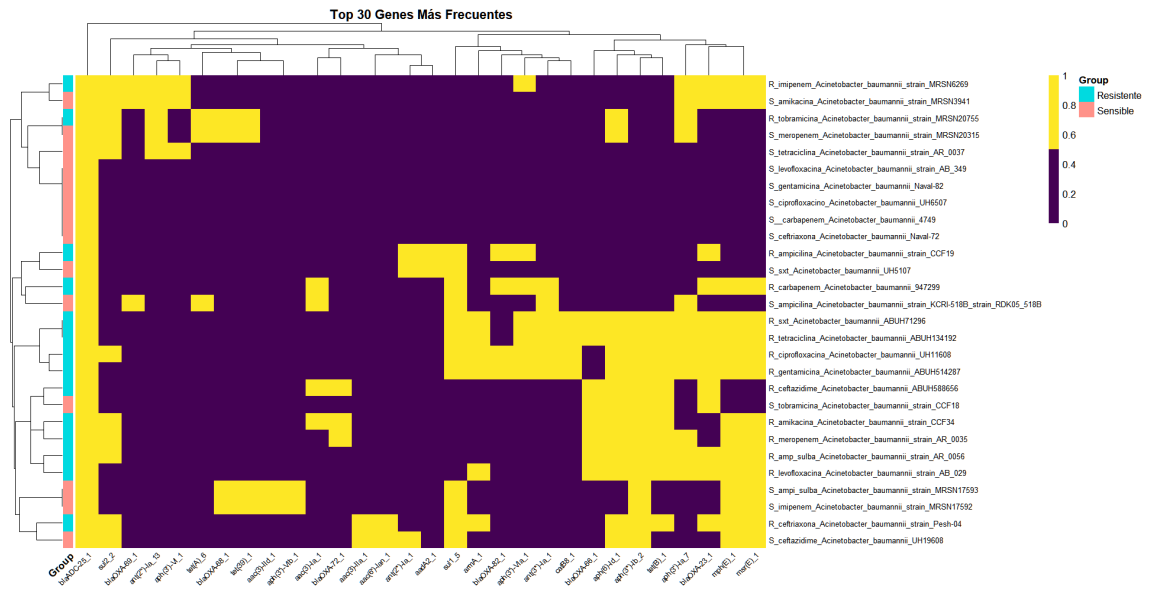
M-to-M	455	455	M-to-M	863	863
TotalLength	3506258	3506291	TotalLength	3636444	3636538
AvgLength	7706.0615	7706.1341	AvgLength	4213.7242	4213.8331
AvgIdentity	97.7908	97.7908	AvgIdentity	97.9025	97.9025
[Feature Estimates]			[Feature Estimates]		
Breakpoints	705	906	Breakpoints	1328	1327
Relocations	21	16	Relocations	2	1
Translocations	2	86	Translocations	185	138
Inversions	19	3	Inversions	0	0
Insertions	219	475	Insertions	774	406
InsertionSum	513443	845733	InsertionSum	707517	413517
InsertionAvg	2344.4886	1780.4905	InsertionAvg	914.1047	1018.5148
TandemIns	2	2	TandemIns	0	1
TandemInsSum	115	223	TandemInsSum	0	100
TandemInsAvg	57.5000	111.5000	TandemInsAvg	0.0000	100.0000
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	66305	66305	TotalSNPs	61008	61008
GA	11544(17.4105%)	11606(17.5040%)	GC	1282(2.1014%)	1258(2.0620%)
GT	2407(3.6302%)	2471(3.7267%)	GT	2428(3.9798%)	2220(3.6389%)
GC	1426(2.1507%)	1333(2.0104%)	GA	10683(17.5108%)	10762(17.6403%)
CA	2455(3.7026%)	2458(3.7071%)	CT	10935(17.9239%)	10912(17.8862%)
CT	11725(17.6834%)	11948(18.0198%)	CA	2398(3.9306%)	2240(3.6716%)
CG	1333(2.0104%)	1426(2.1507%)	CG	1258(2.0620%)	1282(2.1014%)
AC	2458(3.7071%)	2455(3.7026%)	TA	2959(4.8502%)	2931(4.8043%)
AT	3405(5.1354%)	3527(5.3194%)	TG	2220(3.6389%)	2428(3.9798%)
AG	11606(17.5040%)	11544(17.4105%)	TC	10912(17.8862%)	10935(17.9239%)
TA	3527(5.3194%)	3405(5.1354%)	AC	2240(3.6716%)	2398(3.9306%)
TC	11948(18.0198%)	11725(17.6834%)	AG	10762(17.6403%)	10683(17.5108%)
TG	2471(3.7267%)	2407(3.6302%)	AT	2931(4.8043%)	2959(4.8502%)
TotalGSNPs	18099	18099	TotalGSNPs	17746	17746
GA	3370(18.6198%)	3448(19.0508%)	TC	3379(19.0409%)	3343(18.8380%)
GT	591(3.2654%)	584(3.2267%)	TG	550(3.0993%)	696(3.9220%)
GC	319(1.7625%)	288(1.5912%)	TA	668(3.7642%)	653(3.6797%)
TA	692(3.8234%)	707(3.9063%)	AG	3347(18.8606%)	3314(18.6746%)
TC	3566(19.7027%)	3436(18.9845%)	AC	560(3.1556%)	636(3.5839%)
TG	584(3.2267%)	591(3.2654%)	AT	653(3.6797%)	668(3.7642%)
AC	568(3.1383%)	530(2.9283%)	GC	295(1.6623%)	305(1.7187%)
AT	707(3.9063%)	692(3.8234%)	GT	696(3.9220%)	550(3.0993%)
AG	3448(19.0508%)	3370(18.6198%)	GA	3314(18.6746%)	3347(18.8606%)
CA	530(2.9283%)	568(3.1383%)	CG	305(1.7187%)	295(1.6623%)

[Feature Estimates]			[Feature Estimates]		
Breakpoints	771	514	Breakpoints	819	822
Relocations	4	6	Relocations	3	6
Translocations	214	28	Translocations	86	50
Inversions	0	0	Inversions	2	2
Insertions	252	285	Insertions	395	311
InsertionSum	398141	468862	InsertionSum	601933	347014
InsertionAvg	1579.9246	1645.1298	InsertionAvg	1523.8810	1115.8006
TandemIns	0	2	TandemIns	2	2
TandemInsSum	0	186	TandemInsSum	175	176
TandemInsAvg	0.0000	93.0000	TandemInsAvg	87.5000	88.0000
[SNPs]			[SNPs]		
TotalSNPs	71065	71065	TotalSNPs	67889	67889
AT	3483(4.9011%)	3599(5.0644%)	GC	1478(2.1771%)	1395(2.0548%)
AG	12749(17.9399%)	12469(17.5459%)	GT	2536(3.7355%)	2517(3.7075%)
AC	2617(3.6825%)	2642(3.7177%)	GA	11820(17.4108%)	11831(17.4270%)
CT	12673(17.8330%)	12418(17.4741%)	AT	3555(5.2365%)	3572(5.2615%)
CG	1567(2.2050%)	1562(2.1980%)	AC	2494(3.6736%)	2569(3.7841%)
CA	2642(3.7177%)	2617(3.6825%)	AG	11831(17.4270%)	11820(17.4108%)
GA	12469(17.5459%)	12749(17.9399%)	CT	12107(17.8335%)	12015(17.6980%)
GC	1562(2.1980%)	1567(2.2050%)	CG	1395(2.0548%)	1478(2.1771%)
GT	2636(3.7093%)	2650(3.7290%)	CA	2569(3.7841%)	2494(3.6736%)
TA	3599(5.0644%)	3483(4.9011%)	TC	12015(17.6980%)	12107(17.8335%)
TC	12418(17.4741%)	12673(17.8330%)	TA	3572(5.2615%)	3555(5.2365%)
TG	2650(3.7290%)	2636(3.7093%)	TG	2517(3.7075%)	2536(3.7355%)
TotalGSNPs	18608	18608	TotalGSNPs	18625	18625
TG	604(3.2459%)	549(2.9503%)	TG	603(3.2376%)	617(3.3128%)
TC	3574(19.2068%)	3566(19.1638%)	TA	780(4.1879%)	701(3.7638%)
TA	708(3.8048%)	656(3.5254%)	TC	3608(19.3718%)	3637(19.5275%)
AG	3588(19.2820%)	3544(19.0456%)	CT	3637(19.5275%)	3608(19.3718%)
AC	599(3.2190%)	590(3.1707%)	CA	608(3.2644%)	569(3.0550%)
AT	656(3.5254%)	708(3.8048%)	CG	313(1.6805%)	318(1.7074%)
CG	312(1.6767%)	318(1.7089%)	AG	3408(18.2980%)	3463(18.5933%)
CA	590(3.1707%)	599(3.2190%)	AT	701(3.7638%)	780(4.1879%)
CT	3566(19.1638%)	3574(19.2068%)	AC	569(3.0550%)	608(3.2644%)
GT	549(2.9503%)	604(3.2459%)	GC	318(1.7074%)	313(1.6805%)
GC	318(1.7089%)	312(1.6767%)	GT	617(3.3128%)	603(3.2376%)
GA	3544(19.0456%)	3588(19.2820%)	GA	3463(18.5933%)	3408(18.2980%)
TotalIndels	2593	2593	TotalIndels	2459	2459
A.	424(16.3517%)	431(16.6217%)	G.	230(9.3534%)	181(7.3607%)

C.	242(9.3328%)	196(7.5588%)	A.	475(19.3168%)	376(15.2908%)
G.	232(8.9472%)	228(8.7929%)	C.	234(9.5161%)	137(5.5714%)
T.	450(17.3544%)	390(15.0405%)	T.	444(18.0561%)	382(15.5348%)
.C	196(7.5588%)	242(9.3328%)	.G	181(7.3607%)	230(9.3534%)
.A	431(16.6217%)	424(16.3517%)	.A	376(15.2908%)	475(19.3168%)
.G	228(8.7929%)	232(8.9472%)	.C	137(5.5714%)	234(9.5161%)
.T	390(15.0405%)	450(17.3544%)	.T	382(15.5348%)	444(18.0561%)
TotalGIndels	243	243	TotalGIndels	247	247
T.	61(25.1029%)	47(19.3416%)	T.	55(22.2672%)	59(23.8866%)
A.	50(20.5761%)	60(24.6914%)	C.	6(2.4291%)	4(1.6194%)
C.	4(1.6461%)	7(2.8807%)	A.	54(21.8623%)	51(20.6478%)
G.	6(2.4691%)	8(3.2922%)	G.	9(3.6437%)	9(3.6437%)
.T	47(19.3416%)	61(25.1029%)	.C	4(1.6194%)	6(2.4291%)
.C	7(2.8807%)	4(1.6461%)	.T	59(23.8866%)	55(22.2672%)
.A	60(24.6914%)	50(20.5761%)	.G	9(3.6437%)	9(3.6437%)
.G	8(3.2922%)	6(2.4691%)	.A	51(20.6478%)	54(21.8623%)



Anexo 2. Heatmap de los 30 genes más frecuentes encontrados en los 24 genomas de *A. baumannii* después del análisis con ABRicate en la base de datos CARD.



Anexo 3. Heatmap de los 30 genes más frecuentes encontrados en los 24 genomas de *A. baumannii* después del análisis con ABRicate en la base de datos ResFinder.