



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**OBTENCIÓN DE CONTROLES POSITIVOS EN LA DETECCIÓN  
DE DOS GENES DE RESISTENCIA A TETRACICLINAS EN  
BACTERIAS DE INTERÉS VETERINARIO**

**OBTAINING OF POSITIVE CONTROLS IN THE DETECTION OF  
TWO GENES OF RESISTANCE TO TETRACYCLINES IN  
BACTERIA OF VETERINARY INTEREST**

**BEATRIZ ELIANA OBREQUE ROJAS**

Memoria para optar al Título Profesional  
de Médico Veterinario  
Departamento de Medicina Preventiva  
Animal

PROFESOR GUÍA  
**CARLOS NAVARRO VENEGAS**

SANTIAGO, CHILE  
2011



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS**  
**ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**OBTENCIÓN DE CONTROLES POSITIVOS EN LA DETECCIÓN  
DE DOS GENES DE RESISTENCIA A TETRACICLINAS EN  
BACTERIAS DE INTERÉS VETERINARIO**

**OBTAINING OF POSITIVE CONTROLS IN THE DETECTION OF  
TWO GENES OF RESISTANCE TO TETRACYCLINES IN  
BACTERIA OF VETERINARY INTEREST**

**BEATRIZ ELIANA OBREQUE ROJAS**

NOTA FINAL: .....

Memoria para optar al Título Profesional  
de Médico Veterinario.  
Departamento de Medicina Preventiva  
Animal.

		NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA	: CARLOS NAVARRO VENEGAS	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO	: M. ANTONIETA JARA OSORIO	.....	.....
PROFESOR CONSEJERO	: DANIELA IRAGÜEN CONTRERAS	.....	.....

SANTIAGO, CHILE  
2011

## AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mis padres, Beatriz y Joel, y a mis hermanos Cristián e Ivonne por el apoyo y la fe que depositaron en mí durante todos estos años. A mis sobrinos, Gabriel, Joaquín y Emilia, los cuales a pesar de no entender por su corta edad lo que estoy viviendo estarán orgullosos de mí.

A mis amigos y compañeros de universidad Yassna Faúndez, Patricia Quezada, John Quiroga y Lissette Saldías, por todo el cariño, alegría y amistad que hemos compartido desde que nos conocimos.

A mi profesor guía, Carlos Navarro por todo lo que me enseñó en el laboratorio, y por todas las palabras de ánimo las que me sirvieron para no caer. Eternamente gracias.

A la doctora María Antonieta Jara por su buena disposición y amabilidad. También a su ayudante, Nicolás Galarce por compartir sus conocimientos microbiológicos.

A Brisa, mi compañera de laboratorio por su gentileza y tranquilidad en desarrollar las actividades prácticas.

Y finalmente, a Leonardo Figueroa quien siempre tuvo la esperanza que lo lograría.

A todos ustedes...muchas gracias.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, por cumplir mi sueño.

A mi abuelo, porque siempre ha estado conmigo.

A mis sobrinos.

A Leonardo, por su apoyo.

## RESUMEN

El tratamiento de las infecciones nosocomiales se complica más cada día, debido a que los agentes etiológicos que las causan son principalmente bacterias multiresistentes. Dado que la resistencia está codificada por genes, es necesario conocer y actualizar sus frecuencias, lo que permitiría guiar el control de la resistencia antimicrobiana en recintos hospitalarios.

Actualmente, para la detección de estos genes se utiliza principalmente la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), la que requiere de controles positivos para la adecuada interpretación de sus resultados.

Por ello, el objetivo de este estudio fue obtener controles positivos para dos genes de resistencia a tetraciclinas: *tet(A)* y *tet(B)* a partir dos cepas bacterianas resistentes a tetraciclinas: *Pseudomonas aeruginosa* y *Pantoea agglomerans*, detectando estos genes mediante PCR, secuenciándolos y comparando su identidad nucleotídica con datos del GenBank®.

Los resultados obtenidos, mediante el programa Clustal W indican para *tet(B)* porcentajes de identidad nucleotídica mayores al 90%, mientras que para *tet(A)* fueron inferiores (78,79 y 83%).

En consecuencia, se confirmó la presencia del gen *tet(B)* en las cepas estudiadas siendo factible su utilización como controles positivos, no siendo posible la obtención de cepas controles para *tet(A)*.

**Palabras claves:** infección nosocomial, tetraciclinas, genes *tet*.

## SUMMARY

Because the etiologic agents are mainly multi-resistant bacteria, the treatment of nosocomial infections is increasingly complicated. In addition, due to the fact that bacterial resistance is encoded by genes, it becomes necessary to know and update their frequencies and to guide the control of antimicrobial resistance in hospitals.

Currently, the Polymerase Chain Reaction is the molecular tool used for the detection of these genes, but positive controls are needed for the proper interpretation of their results.

Therefore, the objective of this study was to obtain two positive controls for tetracycline resistance genes: *tet(A)* and *tet(B)* from *Pseudomonas aeruginosa* and *Pantoea agglomerans*, two bacterial strains resistant to tetracycline. These genes were detected by PCR, sequenced and compared with data from GenBank.®.

The results obtained using the Clustal W program indicated a percentage of nucleotidic identity higher than 90% for *tet(B)* gene, meanwhile lower nucleotidic identity for *tet(A)* gene (78, 79 and 83%) was detected.

Thus, the presence of the *tet(B)* gene was confirmed in the studied strains and its utilization as positive controls can be suggested. The obtaining of strain that may be used as positive control for *tet(A)* gene was not achieved.

**Keywords:** nosocomial infection, tetracycline, *tet* genes.

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales o intrahospitalarias (IN o IHH) se han definido como aquellas infecciones que son adquiridas dentro de un recinto hospitalario y cuya manifestación, dependiendo del periodo de incubación de la infección, puede presentarse 48-72 horas después, o incluso una vez dado de alta el paciente, es decir que no están presentes o siendo incubadas al momento de su ingreso (14). Son causadas preferentemente por bacterias, siendo las más aisladas desde unidades intensivas humanas *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Acinetobacter baumannii* (13).

En el caso de la medicina veterinaria, son escasos los estudios efectuados en hospitales veterinarios donde se aíslen e identifiquen los agentes nosocomiales de mayor prevalencia. En Chile se han identificado algunas bacterias causantes de infecciones en heridas operatorias en un hospital de pequeños animales, siendo *Staphylococcus intermedius* el agente más recurrente tanto en perros como en gatos, seguido por *Actinomyces pyogenes*, *Micrococcus spp.*, y *Pseudomonas aeruginosa* (20). También se han identificado bacterias ambientales potencialmente nosocomiales como *Enterococcus faecium*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, las cuales presentaron un alto porcentaje resistencia a 2 o más antimicrobianos (8).

Para definir si una bacteria es resistente a un antimicrobiano, se considera la concentración mínima inhibitoria (CIM); cuando la concentración que el antimicrobiano alcanza en el tejido no supera la CIM, las bacterias tienen todas las posibilidades de sobrevivir y se puede indicar que son resistentes (5). Esta resistencia puede ser una propiedad natural (intrínseca) o el resultado de una mutación o adquisición de material genético en forma de plásmidos o transposones, a través de diferentes procesos de transferencia, lo cual se ve facilitado por la presión de selección generada al utilizar antibacterianos (1, 3).

Actualmente, uno de los grupos de antibacterianos que presenta altos niveles de resistencia bacteriana, es el de las tetraciclinas (2). Los principales mecanismos de resistencia descritos para contrarrestar el efecto de estos antibacterianos, son: bombas de expulsión activa específicas para las tetraciclinas y proteínas de protección ribosomal, siendo de menor importancia la inactivación enzimática del fármaco (22). El primer mecanismo se ha descrito mayormente entre bacterias Gram-negativas, mientras que el segundo entre las Gram-positivas.

Hasta el momento, han sido caracterizados 40 determinantes genéticos de resistencia a tetraciclina (genes *tet*) y 3 determinantes de resistencia a oxitetraciclina (genes *otr*) (18). La mayoría de estos genes, entre ellos *tet(A)* y *tet(B)*, codifican una proteína de eflujo (Tet) de membrana citoplasmática, la cual intercambia un protón por un complejo catión- tetraciclina contra el gradiente de concentración (2,4). Se describe que estos dos genes están ampliamente diseminados en la naturaleza entre bacterias Gram-negativas, debido a que se presentan principalmente en elementos genéticos móviles (10).

Algunos estudios han evaluado la prevalencia de estos genes en bacterias nosocomiales y se reconoce que el gen *tet(B)* es el más prevalente en cepas de *Acinetobacter baumannii* (10) mientras que *tet(A)* y *tet(B)* presentan una alta frecuencia en cepas de *Escherichia coli* (23).

Para lograr esta detección se ha utilizado la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (6). Esta técnica, se basa en la amplificación exponencial de una secuencia de interés, de manera sensible y específica. Para su realización se requiere de ADN, dos oligonucleótidos sintéticos (partidores) que brindan la especificidad a la técnica, la ADN polimerasa proveniente inicialmente de la bacteria *Thermus aquaticus*, los cuatro desoxinucleótidos y un termociclador, que permite variar la temperatura de acuerdo a la etapa en desarrollo, necesitando la desnaturación y la extensión, temperaturas más elevadas que el alineamiento (11,19).

La técnica de PCR, requiere de controles positivos, los cuales son un elemento fundamental en la interpretación de los resultados. Actualmente, en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile, no se dispone de cepas nativas en las que se certifique la presencia de genes de resistencia que puedan ser utilizados como controles positivos, por lo que deben ser obtenidas a partir de cepas fenotípicamente resistentes. Debido a esta deficiencia, este estudio tiene por objetivo generar controles positivos nativos útiles en la detección de los genes *tet(A)* y *tet(B)*, complementando las investigaciones en las que se han obtenido cepas controles positivos para los genes *bla<sub>TEM</sub>* y *mecA*, involucrados en la resistencia a  $\beta$ -lactámicos (datos no publicados).

Estos controles permitirán, confirmar la presencia o ausencia de estos genes en bacterias aisladas desde recintos hospitalarios, siendo de gran utilidad como medida predictiva para un mayor control de la resistencia bacteriana, y en el desarrollo de un sistema de vigilancia que



gué la rotación de los antimicrobianos a utilizar, de acuerdo a la situación epidemiológica de cada recinto hospitalario (12, 15).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Esta investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología Veterinaria del Departamento de Medicina Preventiva Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile.

Se utilizaron 2 cepas bacterianas: *Pseudomonas aeruginosa* y *Pantoea agglomerans*, aisladas e identificadas en un estudio previo (8) que presentaron resistencia fenotípica a tetraciclinas según determinación de la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de Kirby Bauer y que al ser analizadas previamente mediante PCR, amplificaron bandas de tamaño compatible con lo descrito para los genes *tet(A)* y *tet(B)* (16).

La extracción del ADN bacteriano se realizó mediante la utilización de un kit comercial (Genomic DNA Purification kit, Fermentas®), siguiendo las indicaciones del fabricante.

Para su amplificación, se utilizó un kit comercial (2X PCR Master Mix Fermentas®), que contiene la polimerasa termoestable, los desoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs), el buffer de reacción y MgCl<sub>2</sub>.

Las condiciones de amplificación de los genes fueron las mismas para ambos genes *tet* (10). Brevemente, las muestras fueron sometidas a 30 ciclos, con denaturación a 94°C por un minuto, alineamiento a 55°C por un minuto, extensión a 72°C por un minuto y finalmente una elongación final a 72°C por cinco minutos. Los partidores utilizados están descritos en el anexo 1 y los tamaños de banda esperados para *tet(A)* y para *tet(B)* fueron 950 pb y 650 pb respectivamente.

La visualización de los productos de PCR, se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% (Winkler®) en buffer Tris acetato EDTA (TAE) (Fermentas ®). El producto de PCR se mezcló con un producto comercial de carga (6X Mass Ruler Loading Dye Solution; Fermentas ®) y la electroforesis se llevó a cabo a 90 V por 90 minutos. Como marcador de tamaño molecular se utilizó un estándar que contiene fragmentos de ADN entre 100 y 1000 pb (DNA ladder; Fermentas ®). Luego de la electroforesis, el gel se sometió a inmersión en bromuro de etidio (0,5 µg/mL; Fermelo ®) y las bandas fueron visualizadas en un transiluminador de luz ultravioleta (Transiluminator UVP ®) y fotografiadas con una cámara digital.

Respecto a las medidas de bioseguridad, éstas incluyeron el uso de material estéril, la utilización de delantal manga larga y guantes. El uso de un transiluminador de luz UV y del bromuro de etidio, contempló la utilización de una placa de acrílico y gafas con filtro, como también la incineración de los geles.

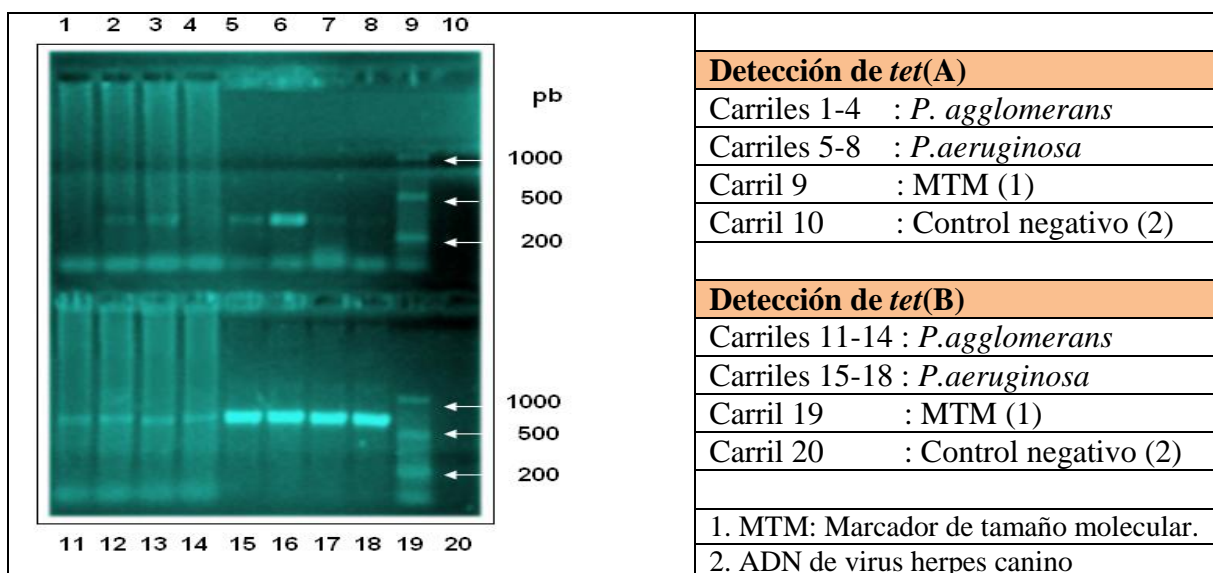
La secuenciación de los fragmentos de ADN resultantes, fue realizado por la empresa genYtec (Genética y Tecnología Ltda). Posteriormente, estas secuencias se alinearon mediante el programa *on line* Clustal W (acceso libre), obteniendo una secuencia de consenso para cada gen y cada cepa, comparándolas luego con algunas descritas en el GenBank® y determinando finalmente el porcentaje de identidad nucleotídica (PIN) para los genes de interés (21). Los números de acceso de las secuencias utilizadas para el alineamiento del gen *tet(B)* fueron: FJ411076.1, HQ333262.1 y FR872822.1 (anexo 4) y para *tet(A)*: NC\_005327.1 y NC\_013951.1 (anexo 8). El criterio para clasificar a los genes *tet*, se basó en el utilizado previamente, considerando al menos un PIN  $\geq 80\%$  para ser clasificado dentro de alguno de los determinantes genéticos ya descritos (9).

## RESULTADOS

### Detección y secuenciación genes *tet(A)* y *tet(B)* en bacterias descritas como nosocomiales.

En la figura 1, se visualizan las bandas obtenidas al realizar PCR: bandas de 300 pb para el gen *tet(A)* y de 650 pb para el gen *tet(B)*.

**Figura 1.** Detección mediante PCR de los genes *tet(A)* y *tet(B)* en 2 cepas bacterianas.



### Determinación del porcentaje de identidad nucleotídica (PIN) respecto del GenBank®.

Una vez secuenciados todos estos fragmentos, se obtuvo para cada cepa bacteriana y gen *tet* estudiado, una secuencia de consenso (anexos 2, 3, 6 y 7).

Al realizar el alineamiento múltiple para el gen *tet*(B) (cuadro 1, anexo 5), se encontraron valores mayores al 90% para ambas secuencias de consenso: BOR1 (93, 98 y 98%); BOR2 (93, 96 y 96%). El valor de PIN entre las secuencias GenBank® es de 99%.

Mientras que para *tet*(A) (cuadro 2, anexo 9) las secuencias BOR3 y BOR4 alcanzaron valores de PIN menores a los anteriores: BOR3 (78% y 79%) y BOR4 (83%) mientras que el PIN entre las secuencias de GenBank® es de 100%.

**Cuadro 1.** PIN para *tet*(B).

Nombre	Bases	Nombre	Bases	PIN
BOR1	512	S1	655	<b>98.0</b>
BOR1	512	S2	418	<b>93.0</b>
BOR1	512	S3	789	<b>98.0</b>
BOR1	512	BOR2	514	77.0
S1	655	S2	418	<b>99.0</b>
S1	655	S3	789	<b>99.0</b>
S1	655	BOR2	514	<b>96.0</b>
S2	418	S3	789	<b>99.0</b>
S2	418	BOR2	514	<b>93.0</b>
S3	789	BOR2	514	<b>96.0</b>

**Cuadro 2.** PIN para *tet*(A).

Nombre	Bases	Nombre	Bases	PIN
BOR3	288	BOR4	284	65.0
BOR3	288	S4	1200	<b>78.0</b>
BOR3	288	S5	1275	<b>79.0</b>
BOR4	284	S4	1200	<b>83.0</b>
BOR4	284	S5	1275	<b>83.0</b>
S4	1200	S5	1275	<b>100.0</b>

## DISCUSIÓN

Hoy en día, es necesario contar con herramientas que permitan guiar el control de la resistencia bacteriana en los hospitales. Una de estas herramientas, podría basarse en la detección de genes de resistencia, los cuales permitirían una mejor elección de los antimicrobianos a utilizar complementando la información obtenida en el antibiograma.

Para esta detección molecular, una alternativa es utilizar la técnica de PCR. Un riesgo importante en su realización, es la contaminación con ADN exógeno, el que puede provenir

principalmente de reacciones anteriores o por el uso de reactivos contaminados. Para evitarla, se recomienda básicamente respetar las normas de trabajo, utilizar reactivos de calidad certificada, material desechable y contar con un espacio físico separado de áreas donde se realicen otras actividades (17, 24).

En este trabajo, la metodología descrita (10) permitió obtener amplicones de tamaños cercanos a 650 pb para el gen *tet(B)* y de 300 pb para el gen *tet(A)* a partir de muestras provenientes de *P.agglomerans* y *P.aeruginosa*, dos cepas bacterianas ambientales descritas como potencialmente nosocomiales (8).

La obtención de amplicones de 650 pb fue una primera señal de la presencia del gen *tet(B)*. Sin embargo, la presencia de amplicones de 300 pb respecto del gen *tet(A)* generó una interrogante aun no resuelta, debido a que estas mismas cepas fueron previamente analizadas por PCR, amplificando bandas de 950 pb (16).

Las secuencias nucleotídicas obtenidas, permitieron evidenciar la presencia del gen *tet(B)* y descartar definitivamente la alternativa que el fragmento de 300 pb sea parte del gen *tet(A)*, pues a pesar de alcanzar un valor de PIN relativamente alto (83%) en *P.aeruginosa*, su alineamiento con las otras secuencias descritas no fue homogéneo, situación que es aún más evidente en la cepa de *P.agglomerans* (anexo 9, cuadro 2). Este resultado no correspondería a una falla en la extracción de ADN bacteriano, lo cual es corroborado por la presencia de amplicones de 650 pb; tampoco sería atribuible a los partidores, que fueron preparados de nuevo para evitar confusiones; la mezcla de reacción fue la misma, por lo tanto no representa un error tampoco y por último, el programa introducido en el termociclador es el mismo para ambos protocolos de PCR (10). Por lo tanto, para la detección de este gen en el futuro próximo, es recomendable el uso de partidores alternativos, ya sea previamente utilizados (7) o diseñados mediante programas computacionales (*in silico*) utilizando como referencia secuencias ya descritas y publicadas en bancos genéticos (anexos 10 y 11).

Al obtener las secuencias nucleotídicas y realizar el alineamiento mediante el programa Clustal W, se corroboró la obtención de dos cepas controles positivos para *tet(B)*: *P.agglomerans* y *P.aeruginosa*, pues el valor de PIN alcanzado ( $\geq 93\%$ ) permite clasificarlos en este determinante genético, superando el valor PIN de 80%, recomendado en el caso de los genes *tet* (9). No obstante, quedará la interrogante sobre la presencia del gen *tet(A)* en las muestras analizadas.

En relación a esto último, al incorporar la secuencia de 300 pb en la base de datos del programa *on line* de acceso libre denominado BLAST (25), la secuencia BOR4 (*P.aeruginosa*) muestra un 93% de identidad nucleotídica con un segmento del genoma completo de *P.aeruginosa*, lo cual era esperable (anexo 12). Sin embargo, al incorporar la secuencia BOR3 (*P.agglomerans*), el programa no encuentra ninguna identidad en su vasta colección nucleotídica (anexo 13), sugiriendo quizás amplificación no específica. Por ello, sería interesante reiterar la utilización de los partidores diseñados *in silico* propuestos en este estudio, para llegar a corroborar la obtención de fragmentos compatibles con el tamaño esperado y verificar su identidad a través de secuenciación, evaluando su posible utilidad como controles positivos. Finalmente, la verificación de la presencia del gen *tet(B)* en *P.agglomerans* y *P.aeruginosa* constituye –al parecer- un hallazgo debido que anteriormente no se ha descrito este gen en ninguna de estas cepas.

## CONCLUSIONES

La metodología descrita permitió obtener dos cepas controles nativas: *P.agglomerans* y *P.aeruginosa*, para continuar con el estudio del gen *tet(B)*, uno de los 40 genes involucrados en la resistencia a tetraciclinas y constituye un primer paso hacia el estudio de las relaciones entre la susceptibilidad antimicrobiana determinada mediante el método de Kirby Bauer y la presencia efectiva de un gen involucrado en la resistencia.

## BIBLIOGRAFIA

1. **CABRERA, C.; GÓMEZ, F.; ZÚÑIGA, A.** 2007. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colomb Med* 38: 149- 158.
2. **CHOPRA, I.; ROBERTS, M.** 2001. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 65: 232-260.
3. **DAVIES, J.** 1994. Inactivation of antibiotics and dissemination of resistance genes. *Science* 264: 375-382.
4. **DAVIES, J.; WEEB, V.** 2004. Antibiotic resistance of bacteria. **In:** Shaechter, M. The desk encyclopedia of microbiology. Elsevier. California, USA. pp. 25-46.

5. **ERRECALDE, J.** 2004. Uso de antimicrobianos en animales de consumo: incidencia del desarrollo de resistencias en salud pública. FAO. Roma, Italia. 61 p.
6. **FLUIT, A.; VISSER, M.; SCHMITZ, F-J.** 2001. Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin Microbiol Rev* 14: 836-871.
7. **GUILLAUME, G.; VERBRUGGE, D.; CHASSEUR-LIBOTTE, M.; MOENS, W.; COLLARD, J.** 2000. PCR typing of tetracycline resistance determinants (Tet A-E) in *Salmonella enterica* serotype Hadar and in the microbial community of activated sludges from hospital and urban wastewater treatment facilities in Belgium. *FEMS Microbiol Ecol* 32: 77-85.
8. **JARA, M. A.; NAVARRO, C.; AVENDAÑO, P.** 2009. Identificación y estudio de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias potencialmente responsables de infecciones nosocomiales en hospitales veterinarios de la Universidad de Chile. *Av Cs Vet* 24: 11-17.
9. **LEVY, S.; McMURRY, L.; BARBOSA, T.; BURDETT, V.; COURVALIN, P.; HILLEN, W.; ROBERTS, M.; ROOD, J.; TAYLOR, D.** 1999. Nomenclature for new tetracycline resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother.* 43:1523- 1524.
10. **MARTÍ, S.; FERNÁNDEZ-CUENCA, F.; PASCUAL, A.; RIBERA, A.; RODRÍGUEZ-BAÑO, J.; BOU, G.; CISNEROS, J.; PACHÓN, J.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, L.; VILA, J.** 2006. Prevalencia de los genes *tetA* y *tetB* como mecanismo de resistencia a tetraciclina y minociclina en aislamientos clínicos de *Acinetobacter baumannii*. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 24:77-80.
11. **MULLIS, K.; FALOONA, F.** 1987. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalysed chain reaction. *Methods Enzymol* 155:335-350.
12. **OGEER-GYLES, J.; MATHEWS, K.; BOERLIN, P.** 2006. Nosocomial infections and antimicrobial resistance in critical care medicine. *J Vet Emerg Crit Care* 16:1-18.
13. **OLAECHEA, P.; INSAUSTI, J.; BLANCO, A.; LUQUE, P.** 2010. Epidemiología e impacto de las infecciones nosocomiales. *Med Intensiva* 34:256-267.
14. **OMS (ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD).** 2003. Epidemiología de las infecciones nosocomiales. [en línea] Cap. 1 In: Prevención de las enfermedades nosocomiales: guía práctica. <[http://www.who.int/csr/resources/publications/ES\\_WHO\\_CDS\\_CSR\\_EPH\\_2002\\_12.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/ES_WHO_CDS_CSR_EPH_2002_12.pdf)> [consulta: 08-11-2011].

15. **OTEO, J.; CAMPOS, J.** 2003. Valor de los sistemas de vigilancia de resistencia a antibióticos. *Enferm Infecc Clin* 21: 123-125.
16. **OYARCE, D.** 2011. Detección de cuatro genes de resistencia a tetraciclinas en bacterias nosocomiales Gram-negativas, aisladas en recintos hospitalarios veterinarios. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuarias. X p.
17. **PERCING, D.** 1991. Polymerase chain reaction: Trenches to benches. *J Clin Microbiol* 29: 1281-1285.
18. **ROBERTS, M.** 2010. Tet mechanisms of resistance. [en línea] < <http://faculty.washington.edu/marilynr/tetweb1.pdf> > [consulta: 08-11-2011]
19. **SAIKI, R.; GELFAND, D.; STOFFEL, S.; SCHARF, S.; HIGUCHI, R.; HORN, G.; MULLIS, K.; ERLICH, H.** 1988. Primer- directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239: 487-491.
20. **SANZ, L.; JUNCO, C.** 2009. Identificación de la etiología de las infecciones bacterianas de las heridas operatorias. *Hosp Vet* 1: 21-32.
21. **THOMPSON, J.; HIGGINSS, D.; GIBSON, T.** 1994. Clustal W: Improving the sensitivity progressive multiple sequence alignments through sequence weighting position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl Acids Res* 22: 4673-4680.
22. **TRIEBER, C.; TAYLOR, D.** 2002. Mutations in the 16S genes of *Helicobacter pylori* mediate resistance to tetracycline. *J Bacteriol* 184: 2131-2140.
23. **TUCKMAN, M.; PETERSEN, P.; HOWE, A.; ORLOWSKI, M.; MULLEN, S.; CHAN, K.; BRADFORD, P.; JONES, C.** 2007. Ocurrence of tetracycline resistance genes among *Escherichia coli* isolates from the phase 3 clinical trials for tigecycline.. *Antimicrob Agents Chemother* 51: 3205-3211.
24. **WOLCOTT, M.** 1992. Advances in nucleic acid-based detection methods. *Clin Microbiol Rev* 5: 370 -386.
25. **ZHANG, Z.; SCHWARTZ, S.; WAGNER, L.; MILLER, W.** 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J Comput Biol* . 7:203-14.

## ANEXOS

### Anexo 1. Partidores según gen *tet* (10)

Gen	Partidores	
<i>tet</i> (A)	5'-GTAATTCTGAGCACTGTTCGC-3'	5'-CTGCCTGGACAACATTGCTT-3'
<i>tet</i> (B)	5'-TTGGTTAGGGGCAAGTTTTG-3'	5'-GTAATGGGCCAATAACACCG-3'

### Anexo 2. Obtención de secuencia de consenso BOR1: *tet*(B) de *P.agglomerans*.

<i>tet</i> B1	TTATGTTTTGG-TTCCGTGAAACCAAAAA-TACACGTGATAATACAGATACCG-AAGTAG	57
<i>tet</i> B2	TTATGTTTTGGGTTCCGTGAAACCAAAAAATACACGTGATAATACAGATACCGGAAGTAG	60
BOR1	***** TTATGTTTTGGGTTCCGTGAAACCAAAAAATACACGTGATAATACAGATACCGGAAGTAG	
<i>tet</i> B1	GGGT-GAGACGCAATCGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTTG	116
<i>tet</i> B2	GGGTTGAGACGCAATCGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTTG	119
BOR1	**** GGGTTGAGACGCAATCGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTTG	
<i>tet</i> B1	TTGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATTGATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTA	176
<i>tet</i> B2	TTGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATTGATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTA	179
BOR1	***** TTGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATTGATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTA	
<i>tet</i> B1	TTTACCGAAAATCGTTTTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTT	236
<i>tet</i> B2	TTTACCGAAAATCGTTTTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTT	239
BOR1	***** TTTACCGAAAATCGTTTTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTT	
<i>tet</i> B1	GGTCTTTTACACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATGGGGC	296
<i>tet</i> B2	GGTCTTTTACACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATGGGGC	299
BOR1	***** GGTCTTTTACACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATGGGGC	
<i>tet</i> B1	GAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCATTTGCCTTTTTAGCG	356
<i>tet</i> B2	GAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCATTTGCCTTTTTAGCG	359
BOR1	***** GAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCATTTGCCTTTTTAGCG	



tetB1	TTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTATAATAATATTGGCTGGTGGTGGGATC	416
tetB2	TTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTAAAATATATTGGCTGGTGGTGGGATC	419
	***** ** *****	
BOR1	TTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTATAATAATATTGGCTGGTGGTGGGATC	
tetB1	GCTTTACCTGCATTACAGGGAGTGATGTCTATCCAAACAAAGATTCATCAGCAAGGTGCT	476
tetB2	GCTTTACCTGCATTACAGGGAGTGATGTCTATCCAAACAAAGATTCATCAGCAAGGTGCT	479
	***** *****	
BOR1	GCTTTACCTGCATTACAGGGAGTGATGTCTATCCAAACAAAGATTCATCAGCAAGGTGCT	
tetB1	TTACAGGGATTATTGGGAGCCTTACCAATGCACAT	511
tetB2	TTACAGGGATTATTGGGAGCCTTACCAATGCACT-	513
	*****	
BOR1	TTACAGGGATTATTGGGAGCCTTACCAATGCACT	

**Anexo 3.** Obtención de secuencia de consenso BOR2: *tet(B)* de *P.aeruginosa*.

tetB3	TGCCTTGGTTAAAGCGGGCCCTATTATTGGTGGTTTTGAGGAGAGTTTTTACCGCATAGT	60
tetB4	-AGCTTGGTTAAAGCGGGCCCTATT-TTGGTGGTTTTGAGGAGAGATTTT-CCGCATAGT	57
	***** *****	
BOR2	TGCCTTGGTTAAAGCGGGCCCTATTATTGGTGGTTTTGAGGAGAGTTTTTACCGCATAGT	
tetB3	CCCTTTTTTATCGCTGCGTTGCTAAATATTGTCGCTTTCCTTGTGGTTATGTTTATTGTT	120
tetB4	CCCTTTTTTATCGCTGCGTTGCTAAATATTGTCGCTTTCCTTGTGGTTATGTTT-TGGTT	116
	***** * ***	
BOR2	CCCTTTTTTATCGCTGCGTTGCTAAATATTGTCGCTTTCCTTGTGGTTATGTTTATTGTT	
tetB3	CCGTGAAACCAAAAATACACCGTGATAATACAGATACCGAAGTAGGGGTTGAGACGCAAT	180
tetB4	CCGTGAAACCAAAAATACAC-GTGATAATACAGATACCGAAGTAGGGGTTGAGACGCAAT	175
	***** *****	
BOR2	CCGTGAAACCAAAAATACACCGTGATAATACAGATACCGAAGTAGGGGTTGAGACGCAAT	
tetB3	CGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTGTGGATTATTTATTTTT	240
tetB4	CGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTGTGGATTATTTATTTTT	235
	*****	
BOR2	CGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTGTGGATTATTTATTTTT	
tetB3	CAGCGCAATTGATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	300
tetB4	CAGCGCAATTGATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	295
	*****	
BOR2	CAGCGCAATTGATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	

tetB3	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACTCAG	360
tetB4	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACTCAG	355
	*****	
BOR2	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACTCAG	
tetB3	TATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATGGGGCGAAAAA-CGGCAGTAC	419
tetB4	TATTCCAAGCCTTTGTGGCAAGAAGAATAGCCACTAAATGGGGCGAAAAAACGGCAGTAC	415
	*****	
BOR2	TATTCCAAGCCTTTGTGGCAAGAAGAATAGCCACTAAATGGGGCGAAAAAACGGCAGTAC	
tetB3	TGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCATTTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGT-	478
tetB4	TGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCATTTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTT	475
	*****	
BOR2	TGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCATTTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTT	
tetB3	GGGTTAGTTTT--CCCTGTTTT--AATTTTATT-	507
tetB4	GGGTGAGGTTTGTCCCTGTTTTTAAATTTTATTA	509
	**** ** * * *****	
BOR2	GGGTGAGGTTTGTCCCTGTTTTTAAATTTTATTA	

#### Anexo 4. Secuencias a comparar en el alineamiento nucleotídico.

##### a) Secuencias entregadas por genYtec

###### >BOR1: secuencia de consenso *tet(B)* (*P.agglomerans*)

TTATGTTTTGGGTTCCGTGAAACCAAAAAATACACGTGATAATACAGATACCGGAAGTAGGGTTGAGACGCAATC  
GAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTGTGATTATTTATTTTTTTCAGCGCAATTGATAG  
GCCAAATTCCTCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTTTTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTT  
CATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATGGGGCG  
AAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCATTTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTT  
GGTTAGTTTTCCCTGTTATAATAATATTGGCTGGTGGTGGGATCGCTTTACCTGCATTACAGGGAGTGATGTCTA  
TCCAACAAGAGTCATCGCAAGGTGCTTTACAGGGATTATTGGGAGCCTTACCAATGCACT

###### >BOR2: secuencia de consenso *tet(B)* (*P.aeruginosa*)

TGCCTTGGTTAAAGCGGGCCTATTATTGGTGGTTTTGAGGAGAGTTTTTACCGCATAGTCCCTTTTTTATCGCT  
GCGTTGCTAAATATTGTGCTTTTCTTGTGGTTATGTTTATTGTTCCGTGAAACCAAAAAATACACCGTATAATA  
CAGATACCGAAGTAGGGGTTGAGACGCAATCGAATTCGGTATAACATCACTTTATTTAAAACGATGCCCATTTTGT  
TGATTATTTATTTTTTTCAGCGCAATTGATAGGCCAAATTCCTCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT  
TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACTCAGTATTCCAAGCCTTTG  
TGGCAAGAAGAATAGCCACTAAATGGGGCGAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCAT  
TTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGGGTGAGGTTTGTCCCTGTTTTTAAATTTTATTA

**b) Secuencias aportadas por GenBank® (Números de acceso)**

**>S1: *Streptococcus suis* (FJ411076.1)**

AGGGGGCAAGTTTTGGGCTTGGTTTAAATAGCGGGGCCTATTATTGGTGGTTTTGCAGGAGAGATTTACCCGCATA  
GTCCCTTTTTTATCGCTGCGTTGCTAAATATTGTCACTTTCCCTTGTGGTTATGTTTTGGTTCCGTGAAACCAAAA  
ATACACGTGATAATACAGATACCGAAGTAGGGGTTGAGACGCAATCGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAA  
CGATGCCCATTTTTGTTGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATTGATAGGCCAAAATCCCGCAACGGTGTGGGTGCTAT  
TTACCGAAAATCGTTTTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACTCAG  
TATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATGGGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTG  
CAGATAGTAGTGCAATTTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTTAATTTTATTGG  
CTGGTGGTGGGATCGCTTTACCTGCATTACAGGGAGTGATGTCTATCCAAACAAAGAGTCATCAGCAAGGTGCTT  
TACAGGGATTATTGGTGAGCCTTACCAATGCAACCGGTGTTATTGGCCATTACA

**>S2: *Escherichia coli* (HQ333262.1)**

GAGATCGGTCTATTATTGGTGGTTTTGCAGGAGAGATTTACCCGCATAGTCCCTTTTTTATCGCTGCGTTGCTAA  
ATATTGTGCGCTTTCCCTTGTGGTTATGTTTTGGTTCCGTGAAACCAAAAAATACACGTGATAATACAGATACCGAAG  
TAGGGGTTGAGACGCAATCGAATTCGGTATACATCACTTTATTTAAAAACGATGCCCATTTTTGTTGATTATTTATT  
TTTTCAGCGCAATTGATAGGCCAAAATCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTTTTGGATGGAATA  
GCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAA  
TAGCCACTAAATGGGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCAATTTGCCTTTTTAG  
CGTTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTTAATTTTATTGGCTGGTGGTGGGATCGCTTTACCTGCAT  
TACAGGGAGTGATGTCTATCCAAACAAAGAGTCATCAGCAAGGTGCTTTACAGGGATTATTGGTGAGCCTTACCA  
ATGCAACCGGTGTTATTGGCCCCATTAC

**>S3: *Pasteurella multocida* (FR872822.1)**

GGTTAGGGGCAAGTTTTGGGCTTGGTTTAAATAGCGGGGCCTATTATTGGTGGTTTTGCAGGAGAGATTTACCCGC  
ATAGTCCCTTTTTTATCGCTGCGTTGCTAAATATTGTGCGCTTTCCCTTGTGGTTATGTTTTGGTTCCGTGAAACCA  
AAAATACACGTGATAATACAGATACCGAAGTAGGGGTTGAGACGCAATCGAATTCGGTATACATCACTTTATTTA  
AAACGATGCCCATTTTTGTTGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATTGATAGGCCAAAATCCCGCAACGGTGTGGGTGC  
TATTTACCGAAAATCGTTTTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTTTTACACT  
CAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATGGGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTA  
TTGCAGATAGTAGTGCAATTTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTTAATTTTAT  
TGGCTGGTGGTGGGATCGCTTTACCTGCATTACAGGGAGTGATGTCTATCCAAACAAAGAGTCATCAGCAAGGTG  
CTTTACAGGGATTATTGGTGAGCCTTACCAATGCAACCGGTGTTATTGGCCATTACTGTTTGCTGTTATTTATA  
ATCATTCACTACCAATTTGGGATGGCTGGATTGGATTATTGGTTTAGCGTTTTACTGTATTATTATCCTGCTAT  
CGATGACCTTC

**Anexo 5.** Alineamiento de secuencias BOR1 y BOR2 v/s secuencias GenBank®.

BOR1	TATTTAAAACGATGCCCCATTTTGTGGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATT	145
S2	-----TGTTGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATT	28
S1	TATTTAAAACGATGCCC-ATTTTGTGGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATT	265
S3	TATTTAAAACGATGCCC-ATTTTGTGGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATT	296
BOR2	TATTTAAAACGATGCCC-ATTTTGTGGATTATTTATTTTTTCAGCGCAATT	250
	*****	
BOR1	GATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	195
S2	GATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	78
S1	GATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	315
S3	GATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	346
BOR2	GATAGGCCAAATTCCCGCAACGGTGTGGGTGCTATTTACCGAAAATCGTT	300
	*****	
BOR1	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTT	245
S2	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTT	128
S1	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTT	365
S3	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTT	396
BOR2	TTGGATGGAATAGCATGATGGTTGGCTTTTCATTAGCGGGTCTTGGTCTT	350
	*****	
BOR1	TTACTACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATG	295
S2	TTACTACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATG	178
S1	TTACTACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATG	415
S3	TTACTACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATG	446
BOR2	TTACTACTCAGTATTCCAAGCCTTTGTGGCAGGAAGAATAGCCACTAAATG	400
	***** *****	
BOR1	GGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCAT	345
S2	GGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCAT	228
S1	GGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCAT	465
S3	GGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCAT	496
BOR2	GGGCGAAAAAACGGCAGTACTGCTCGGATTTATTGCAGATAGTAGTGCAT	450
	*****	
BOR1	TTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTATA	395
S2	TTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTATA	278
S1	TTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTATA	515
S3	TTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGGTTAGTTTTCCCTGTTTATA	546
BOR2	TTGCCTTTTTAGCGTTTATATCTGAAGGTTGG-----	482
	*****	

**Anexo 6.** Obtención secuencia de consenso BOR3: *tet(A)* de *P.agglomerans*.

tetA1	CCGTTACACGGCTTCGTCGGGCTCTAGGACCCCTCCGGGCGTCGTCGAGGACCCGCACGTT	60
tetA2	ACAT-ACACGGCTTCATGGGTCTCTGGGACCCCTCCGGGCGTCGCCGAGC-CCCGCAGGAT	58
	* * ***** * * * ***** ***** ***** ***** ***** * *	
BOR3	CCGTTACACGGCTTCGTCGGGCTCTAGGACCCCTCCGGGCGTCGTCGAGGACCCGCACGTT	
tetA1	GCCCAGGTCCACCCGTGCCCCCTCCACGATTGCCACGTGCCCCCTCCTGAA-CCTCGCAGG	119
tetA2	GCCCCGTCCACCCGCGCCCGTTTCGACGAGTTCAGGAGCCGCTCCTGAAGCTTTTTTCGA	118
	**** ***** *	
BOR3	GCCCCGTCCACCCGCGCCCGTTTCGACGAGTTCAGGAGCCGCTCCTGAAGCTTTTTTCGA	
tetA1	CCTCGTTGGTCAAGAAGTGCCAGATGTGCCGGTTGAGCCCCTTGCTTTTCCTTGCCCTTCCA	179
tetA2	TTTCGTTGGTCAAGATGTCCCCGATGTGCCGGTTGAGCCCCTTGCTTTTCCTTGCCCTTCCA	178
	***** * * * * ***** ***** ***** ***** ***** *****	
BOR3	TCTCGTTGGTCAAGATGTCCCCGATGTGCCGGTTGAGCCCCTTGCTTTTCCTTGCCCTTCCA	
tetA1	CGCCCACCGCGGTCAGGCCCTTGACGCGTTGGGCGAGTCGTGCCATCCCTTGTGGCTCCT	239
tetA2	CGCCCACCGCGGTCAGGCCCTTGACGCGTTGGGCGATGCGTGCCATCTCCTGTGGCTCCT	238
	***** ***** ***** ***** ***** * *****	
BOR3	CGCCCACCGCGGTCAGGCCCTTGACGCGTTGGGCGATTTCGTGCCATCCCTTGTGGCTCCT	
tetA1	GTGGCACAGGGTACACCGCATCAATGTTATCAATGCTGTCCAGGCAG-	286
tetA2	GTTGCACATGGTACACGGAATCAATGTTATCCATGCTGTCCAGGCAGA	286
	** ***** * ***** ***** ***** ***** *****	
BOR3	GTTGCACATGGTACACGGAATCAATGTTATCCATGCTGTCCAGGCAGA	

**Anexo 7.** Obtención de secuencia de consenso BOR4: *tet(A)* de *P.aeruginosa*.

tetA3	TGTAATTCCTTGTAATTGTGAGCAGGGTCGCCGCGTCACAGGTTTCGTCGAGGCTCAGGGC	60
tetA4	-----TTGTAATTGTGAGCAGGGTCGCCGCGTCACAGGTTTCGTCGAGGCTCAGGGC	52
	***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****	
BOR4	TGTAATTCCTTGTAATTGTGAGCAGGGTCGCCGCGTCACAGGTTTCGTCGAGGCTCAGGGC	
tetA3	CAGCCGCCGGTCGTCAAAAACGCGCAGGTTGACCCGTGCCGCCCGCGCCCGTTTCGAGGA	120
tetA4	CAGCCGCCGGTCGTCGACCA-CGCGCAGGTTGACCCGTGCCGCCCGCGCCCGTTTCGAGGA	111
	***** * * ***** ***** ***** ***** ***** *****	
BOR4	CAGCCGCCGGTCGTCAAAAACGCGCAGGTTGACCCGTGCCGCCCGCGCCCGTTTCGAGGA	
tetA3	TCGCCGCTGACGCTCGCCGACCTCGTAGGTCAGGGTGTGGAAGAAGTGCCGGTTGA-GC	179
tetA4	TCGCCGCTGACGCTCGCCGACCTCGTAGAACATGGTGTGGAAGAAGTGCCGAAAAAAGC	171
	***** ***** * * ***** ***** ***** * * *	
BOR4	TCGCCGCTGACGCTCGCCGACCTCGTAGAACATGGTGTGGAAGAAGTGCCGAAAAAAGC	
tetA3	CGCCGCAGTCCCTTGCTTTTCAGGCCCGCCGCCAGCAGCGCGGTTCAGGCGCTGGACGCGT	239
tetA4	CGCCGCAGTCCCTTGCTTTTCAGGCCCGCCGCCAGCAGCGCGGTTCAGGCGCTGGACGCGT	231
	***** ***** ***** ***** ***** ***** ***** *****	
BOR4	CGCCGCAGTCCCTTGCTTTTCAGGCCCGCCGCCAGCAGCGCGGTTCAGGCGCTGGACGCGT	

```

tetA3      TGGGCGATGCGTTTCAGGTCCTGGGCCCAGGAGACGGCA-ACAC 282
tetA4      TGGGCGATGCGTTTCAGGTCCTGGGCCCAGGAGACGGCATACAA 275
           *****
BOR4       TGGGCGATGCGTTTCAGGTCCTGGGCCCAGGAGACGGCATACAA

```

**Anexo 8.** Secuencias a comparar en el alineamiento nucleotídico.

**a) Aportadas por genYtec**

**>BOR3: secuencia de consenso *tet(A)*. (*P.agglomerans*)**

```

CCGTTACACGGCTTCGTCGGGCTCTAGGACCCCTCCGGGCGTCGTCGAGGACCCGCACGTTGCCCCCGTCCACCCG
CGCCCGTTTCGACGAGTTCCAGGAGCCGCTCCTGAAGCTTTTTTCGATCTCGTTGGTCAAGATGTCCCCGATGTGCC
GGTTGAGCCCCTTGCTTTCCCTTGCCTCCACGCCCACCGCGGTGAGGCCCTTGACGCGTTGGGCGATTTCGTGCCA
TCCCCTGTGGCTCCTGTTGCACATGGTACACGGAATCAATGTTATCCATGCTGTCCAGGCAGA

```

**>BOR4: secuencia de consenso *tet(A)* (*P.aeruginosa*)**

```

TGTAATTCCTTGTAAATTGTGAGCAGGGTCGCCGCGTCACAGGTTTCGTCGAGGCTCAGGGCCAGCCGCCGGTTCGTC
AAAAAACGCGCAGGTTGACCCGTGCCGCCCGCGCCCGTTTCGAGGATCGCCGCTGACGCTCGCCGACCTCGTAGA
ACATGGTGTGAAGAAGTGCCGAAAAAGCCGCCGAGTCCCTTGCTTTCCAGGCCCGCCGACGAGCGCGGTTC
AGGCGCTGGACGCGTTGGGCGATGCGTTTCAGGTCCTGGGCCCAGGAGACGGCATACAA

```

**b) Aportadas por GenBank® (Números de acceso)**

**>S4: *Escherichia coli* (NC\_005327.1)**

```

GTGAAACCCAACAGACCCCTGATCGTAATTCTGAGCACTGTGCGCTCGACGCTGTGCGCATCGGCCTGATTATG
CCGGTGCTGCCGGGCTCCTGCGCGATCTGGTTCACTCGAACGACGTCACCGCCACTATGGCATTCTGCTGGCG
CTGTATGCGTTGATGCAATTTGCCTGCGCACCTGTGCTGGGCGCGCTGTGCGATCGTTTCGGGCGGCGCCGGTC
TTGCTCGTCTCGCTGGCCGGCGCTGCTGTGCACTACGCCATCATGGCGACGGCGCCTTTCTTTGGGTTCTCTAT
ATCGGGCGGATCGTGGCCGGCATACCGGGGCGACTGGGGCGGTAGCCGGCGCTTATATTGCCGATATCACTGAT
GGCGATGAGCGCGCGCGGCACTTCGGCTTCATGAGCGCCTGTTTCGGGTTTCGGGATGGTTCGCGGGACCTGTGCTC
GGTGGGCTGATGGGCGGTTTCTCCCCCAGCTCCGTTCTTCGCCGCGGCAGCCTTGAACGGCCTCAATTTCTG
ACGGGCTGTTTCTTTTCCCGGAGTCGCACAAAGGCGAACGCCGGCCGTTACGCCGGGAGGCTCTCAACCCGCTC
GCTTCGTTCCGGTGGGCCCCGGGCATGACCGTCGTCGCCCCCTGATGGCGGTCTTCTTCATCATGCAACTTGTC
GGACAGGTGCCGGCCGCGCTTTGGGTCAATTTTCGGCGAGGATCGCTTTCACCTGGGACGCGACCACGATCGGCATT
TCGCTTGCCGCATTTGGCATTCTGCATTCACCTCGCCAGGCAATGATCACCGGCCCTGTAGCCGCCCGGCTCGGC
GAAAGGCGGGCACTCATGCTCGGAATGATTGCCGACGGCACAGGCTACATCCTGCTTGCTTCGCGACACGGGGA
TGGATGGCGTTCCCGATCATGGTCCTGCTTGTTCGGGTGGCATCGGAATGCCGGCGCTGCAAGCAATGTTGTCC
AGGCAGGTGGATGAGGAACGTCAGGGGCGAGTGAAGGCTCACTGGCGGCGCTCACCAGCCTGACCTCGATCGTC
GGACCCCTCCTCTTCACGGCGATCTATGCGGCTTCTATAACAACGTGGAACGGGTGGGCATGGATTGCAGGCGCT
GCCCTCTACTTGCTCTGCCTGCCGGCGCTGCGTTCGGGCTTTGGAGCGGCGCAGGGCAACGAGCCGATCGCTGA

```

**>S5: *Klebsiella pneumoniae* (NC\_013951.1)**

```

ATGTCCACCAACTTATCAGTGATAAAGAATCCGCGCGTTCAATCGGACCAGCGGAGGCTGGTCCGGAGGCCAGAC
GTGAAACCCAACAGACCCCTGATCGTAATTCTGAGCACTGTGCGCTCGACGCTGTGCGCATCGGCCTGATTATG
CCGGTGCTGCCGGGCTCCTGCGCGATCTGGTTCACTCGAACGACGTCACCGCCACTATGGCATTCTGCTGGCG
CTGTATGCGTTGATGCAATTTGCCTGCGCACCTGTGCTGGGCGCGCTGTGCGATCGTTTCGGGCGGCGCCGGTC
TTGCTCGTCTCGCTGGCCGGCGCTGCTGTGCACTACGCCATCATGGCGACGGCGCCTTTCTTTGGGTTCTCTAT
ATCGGGCGGATCGTGGCCGGCATACCGGGGCGACTGGGGCGGTAGCCGGCGCTTATATTGCCGATATCACTGAT
GGCGATGAGCGCGCGCGGCACTTCGGCTTCATGAGCGCCTGTTTCGGGTTTCGGGATGGTTCGCGGGACCTGTGCTC

```

GGTGGGCTGATGGGCGGTTTCTCCCCCACGCTCCGTTCTTCGCCGCGGCAGCCTTGAACGGCCTCAATTTCTCTG  
ACGGGCTGTTTCCTTTTGCCGGAGTCGCACAAAGGCGAAGCCGCGCTTACGCCGGGAGGCTCTCAACCCGCTC  
GCTTCGTTCCGGTGGGCCCGGGGATGACCGTCGTCGCCGCCCTGATGGCGGTCTTCTTCATCATGCAACTTGTG  
GGACAGGTGCCGGCCGCGCTTTGGGTCAATTTTCGGCGAGGATCGCTTTCACTGGGACGCGACCACGATCGGCATT  
TCGCTTGCCGCATTTGGCATTCTGCATTCACTCGCCAGGCAATGATCACCGGCCCTGTAGCCGCCCAGGCTCGGC  
GAAAGGCGGGCACTCATGCTCGGAATGATTGCCGACGGCACAGGCTACATCCTGCTTGCCTTCGCGACACGGGA  
TGGATGGCGTTCGCCATCATGGTCCTGCTTTCGGGTGGCATCGGAATGCCGGCGCTGCAAGCAATGTTGTTC  
AGGCAGGTGGATGAGGAACGTCAGGGGACGCTGCAAGGCTCACTGGCGGCGCTCACCAGCCTGACCTCGATCGTC  
GGACCCCTCCTCTTCAGGCGATCTATGCGGCTTCTATAACAACGTGGAACGGGTGGGCATGGATTGCAGGCGCT  
GCCCTCTACTTGCTCTGCCTGCCGGCGCTGCGTCGCGGGCTTTGGAGCGGCGCAGGGCAACGAGCCGATCGCTGA

Anexo 9. Alineamiento de secuencias BOR3 y BOR4 v/s secuencias GenBank®.

S4	-----GTGAAACCCAACAGACCCCTGATCGTAATTCTGAGCACTGTCGCG	45
S5	GTCCGGAGGCCAGACGTGAAACCCAACAGACCCCTGATCGTAATTCTGAGCACTGTCGCG	120
BOR4	-----TGTAATTC-----TTGTAATTGTGAGCAGGGTTCG	30
BOR3	-----CCGTTC-----CAC-	9
	* * *	* *
S4	CTCGACGCTGTCGGCATCGGCCTGATTATGCCGGTGCTGCCGGGCCCTCCTGCGCGATCTG	105
S5	CTCGACGCTGTCGGCATCGGCCTGATTATGCCGGTGCTGCCGGGCCCTCCTGCGCGATCTG	180
BOR4	-----CGC-GTCA-----CAGGTTTCGTCGAGGCT-CAGGGCCAGCCGC-CGGTCG	73
BOR3	-----GGCTTCGTCG-GGCTCTAGGACCCTCCGGGCG-TCG-	43
	* * * * * * * * * * *	* * * * *
S4	GTTCACTCGAACGACGTCACCGCCCACTATGGCATTCTGCTGGCGCTGTATGCGTTGATG	165
S5	GTTCACTCGAACGACGTCACCGCCCACTATGGCATTCTGCTGGCGCTGTATGCGTTGATG	240
BOR4	-----TCAAAAAACGC-----G	85
BOR3	-----TCGAG-GACCC-----G	54
	* * * *	*
S4	CAATTTGCCTGCGCACCTGTGCTGGGCGCGCTGTTCGGATCGTTTCGGGGCGGCGGCCGGTC	225
S5	CAATTTGCCTGCGCACCTGTGCTGGGCGCGCTGTTCGGATCGTTTCGGGGCGGCGGCCGGTC	300
BOR4	CAGGTTG-----ACCCGTGCCGCCCAGCGCC-----CGTT-----	114
BOR3	CACGTTGCC-----CCCGT-CCACCCGCGCC-----CGTT-----	83
	* * * * * * * * * * *	* * * * *
S4	TTGCTCGTCTCGCTGGCCGGGCGCTGCTGTGCGACTACGCCATCATGGCGACGGCGCCTTTC	285
S5	TTGCTCGTCTCGCTGGCCGGGCGCTGCTGTGCGACTACGCCATCATGGCGACGGCGCCTTTC	360
BOR4	-----CGA-----	117
BOR3	-----CGACG-----	88
	* * *	
S4	CTTTGGGTTCTCTATATCGGGCGGATC-----GTGGCCGGCATCACCGGGGCGACTGGGG	340
S5	CTTTGGGTTCTCTATATCGGGCGGATC-----GTGGCCGGCATCACCGGGGCGACTGGGG	415
BOR4	-----GGATC-----GCCGC-----	128
BOR3	-----AGTTCCAGGAGCCGCTC-----	105
	* * * * *	

S4 CGGTAGCCGGCGCTTATATTGCCGATATCACTGATGGCGATGAGCGCGCGGGCACTTCG 400  
 S5 CGGTAGCCGGCGCTTATATTGCCGATATCACTGATGGCGATGAGCGCGCGGGCACTTCG 475  
 BOR4 -----TGACGCTC-----GCCGA----- 141  
 BOR3 -----CTGAAGCTT-----TTTCGA----- 120  
 \* \*\*\* \*\*\*

S4 GCTTCATGAGCGCCTGTTTCGGGTTTCGGGATGGTCGCGGGACCTGTGCTCGGTGGGCTGA 460  
 S5 GCTTCATGAGCGCCTGTTTCGGGTTTCGGGATGGTCGCGGGACCTGTGCTCGGTGGGCTGA 535  
 BOR4 -----CCT-----CGTAGAAC-----A 153  
 BOR3 -----TCT-----CGTTGGTC-----A 132  
 \*\* \*\* \* \*

S4 TGGGCGGTTTTCTCCCCCAGCTCCGTTCTTCGCCGCGGCAGCCTTGAACGGCCTCAATT 520  
 S5 TGGGCGGTTTTCTCCCCCAGCTCCGTTCTTCGCCGCGGCAGCCTTGAACGGCCTCAATT 595  
 BOR4 TGG-----TGTCGAAGAAG----- 167  
 BOR3 AGA-----TGTCCCCGATG----- 146  
 \* \* \* \*

S4 TCCTGACGGGCTGTTTCCTTTTGCCGGAGTCGCACAAAGGCGAACGCCGGCCGTTACGCC 580  
 S5 TCCTGACGGGCTGTTTCCTTTTGCCGGAGTCGCACAAAGGCGAACGCCGGCCGTTACGCC 655  
 BOR4 -----TGCCGAA-----AAAAGC-----CGCCG----- 185  
 BOR3 -----TGCCG-----GTTG----- 155  
 \*\*\*\*\* \* \*

S4 GGGAGGCTCTCAACCCGCTCGCTTCGTTCCGGTGGGCCCGGGGCATGACCGTCGTCGCCG 640  
 S5 GGGAGGCTCTCAACCCGCTCGCTTCGTTCCGGTGGGCCCGGGGCATGACCGTCGTCGCCG 715  
 BOR4 -----CAGTCC-CTTGCT--TTCCAG--GCCCG-----CCG 211  
 BOR3 -----AGCCC-CTTGCT--TTCTTT--GCCCT-----CCACG 182  
 \* \*\* \* \* \* \* \* \* \* \*\*

S4 CCCTGATGGCGGTCTTCTTCATCATGCAACTTGTCGGACAGGTGCCGGCCGCGCTTTGGG 700  
 S5 CCCTGATGGCGGTCTTCTTCATCATGCAACTTGTCGGACAGGTGCCGGCCGCGCTTTGGG 775  
 BOR4 CC--AGCAGCG-----CGGTCAGGCGCTGGACGCG--TTGGG 244  
 BOR3 CC----CACCG-----CGGTCAGGCCCTTGACGCG--TTGGG 213  
 \*\* \*\* \* \* \* \* \* \* \* \*

S4 TCATTTTCGGCGAGGATCGCTTTCACTGGGACGCGACCACGATCGGCATTTTCGCTTGCCG 760  
 S5 TCATTTTCGGCGAGGATCGCTTTCACTGGGACGCGACCACGATCGGCATTTTCGCTTGCCG 835  
 BOR4 -----CGAT--GCGTTTCA----- 256  
 BOR3 -----CGATT--CGTGCCATCCCTG 232  
 \*\*\*\*\* \* \* \*

S4 CATTTGGCATTCTGCATTCACTCGCCCAGGCAATGATCACCGGCCCTGTAGCCGCCCGGC 820  
 S5 CATTTGGCATTCTGCATTCACTCGCCCAGGCAATGATCACCGGCCCTGTAGCCGCCCGGC 895  
 BOR4 -----GGTCCTG-----GGC 266  
 BOR3 TG-----GTCCTGTTGC-ACATGGT 252  
 \* \*\*\*\*\* \*\*



S4	TCGGCGAAAGGCGGGCACTCATGCTCGGAATGATTGCCGACGGCACAGGCTACATCCTGC	880
S5	TCGGCGAAAGGCGGGCACTCATGCTCGGAATGATTGCCGACGGCACAGGCTACATCCTGC	955
BOR4	CCAG-GA-----GACGGCA-----TACAA-----	284
BOR3	ACACGGAA-----TCAATGTTA-----TCCATGCTGT	279
	* ** * * *	

### Anexo 10. Diseño de partidores *in silico*.

Secuencias de partidores obtenidas mediante el programa *on line* OligoPerfect™ Designer, de libre acceso (<http://tools.invitrogen.com/content.cfm?pageid=9716>)

**Target Sequence:**

```

1   10   20   30   40   50   60   70   80   90
1   GTGAAACCCACAGACCCCTGRTCGTTRTCTGAGCACGTCGCGCTCGACGCTGTCGGGCTCGGGCTGRTTRTTCGGGTGCTGCCGGGCTCCTGCGCG
101  ATCTGGTTCACTCGAACGACGTCACCGCCCACTRTGGCATTCTGCTGGCGCTGTRTGGCTGATGACATTTGCTGCGCACCTGTCGTCGGGCGCGCTGTC
201  GGRTCGTTTCGGGCGGCGCGGCTTTGCTCGTCTCGCTGGCGGCGCTGCTGTCGACTACGCGCATCTGCGGACGCGCGCTTTCTTTGGGTTCTCTRT
301  ATCGGGCGGATCGTGGCCGCGCTCACCGGGCGACTGGGGCGGTAGCCGCGCTTTRTTCGGATGATGCGGATGAGCGCGCGCGGCACTTCG
401  GCTTCATGAGCGCTGTTTCGGGTTTCGGGATGGTCGCGGACCTGTCGCTCGGTGGGCTGATGGGCGGTTTCTCCCCCAGCTCCGTTCTCGCCCGCGG
501  AGCCTTGACCGGCTCARTTTCCTGACGGGCTGTTTCTTTTCCGGAGTCGACAAAGGCGGACGCGCGGCGGTTCGCGGGGAGGCTCTCACCCGCTC
601  GCTTCGTTCCGGTGGGCCCGGGGCTGACCGCTGTCGCGCCCTGRTGGCGGCTTCTTCTCTCTGCAACTTGTGCGGACAGGTGCCGGCCGCGCTTTGGG
701  TCRITTTCCGGCGAGGATCGCTTTCACCTGGGACGCGACCGATCGGCACTTTCGCTTGGCGCTTTGGCATTCTGCACTTCACTGCCCCGCGCAATGATCAC
801  CGGCCCTGTRGCGCCCGGCTCGGGCAAGGCGGGCACTCTGCTCGGATGRTTCCGACGCGCACAGGCTTCATCTCTGCTTGGCTTCCGACACGGGGA
901  TGGATGGCGTTCCCGATCTGTTCTGCTTGGGTTGGCTCGGATGCGGGCGCTGCAAGCAATGTTGTCAGGCAAGGTGGATGAGGACGCTCAGG
1001 GGCAGCTGCAGGCTCACTGGCGGCGCTCACCGCCTGACCTCGATCGTCGGACCCCTCCTCTTCACGGCGATCTRTGCGGCTTCTATACACGCTGGAA
1101 CGGGTGGGATGRTTGCAGGCGCTGCCCTCTTCTTCTGCTGCGCTGCGGGCGCTGCGTTCGGGCTTTGGAGCGGCGCGGGCACCGGCGATCGCTGA

```

Rank: 1 | Product Length: 526 | Product Region: 363-888

Primer Name	%GC	Strand	Size (bases)	Tm (°C)
<input type="checkbox"/> bor5 1 F	50.00	FWD	20	60.06
<input type="checkbox"/> bor5 1 R	55.00	REV	20	59.99

### Anexo 11. Partidores propuestos para la detección del gen *tet(A)*.

Nombre del partidador propuesto	Secuencia
BOR5 1F	5'-CGATATCACTGATGGCGATG-3'
BOR5 1R	5'-GAAGGCAAGCAGGATGTAGC-3'

**Anexo 12.** Identidad nucleotídica según el programa BLAST para BOR4 (*P.aeruginosa*).

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

**Sequences producing significant alignments:**

Accession	Description	Max ident
<a href="#">CP002496.1</a>	Pseudomonas aeruginosa M18, complete genome	93%
<a href="#">FM209186.1</a>	Pseudomonas aeruginosa LESB58 complete genome sequence	93%
<a href="#">CP000438.1</a>	Pseudomonas aeruginosa UCBPP-PA14, complete genome	93%
<a href="#">AE004091.2</a>	Pseudomonas aeruginosa PAO1, complete genome	93%
<a href="#">AP012280.1</a>	Pseudomonas aeruginosa NCGM2.S1 DNA, complete genome	93%
<a href="#">CP000744.1</a>	Pseudomonas aeruginosa PA7, complete genome	88%

**Alignments**

Select All [Get selected sequences](#) [Distance tree of results](#)

>  [gb|CP002496.1](#)  **D** Pseudomonas aeruginosa M18, complete genome  
Length=6327754

Score = 396 bits (214), Expect = 5e-107  
Identities = 249/265 (94%), Gaps = 5/265 (2%)  
Strand=Plus/Plus

```

Query 22      CAGGGTCGCCCGCTCACAGGTTTCGTCGAGGCTCAGGGCCAGCCGCCGGTCGTCAAAAA 81
Sbjct 5924595  CAGGGTCGCCCGCTCACAGGTTTCGTCGAGGCTCAGGGCCAGCCGCCGGTCGTC-GACCA 5924653

Query 82      CGCGCAGGTTGACCCGTGCCCGCCCGCCCGTTTCGAGGATCGCCGCCCTGACGCTCGCCGA 141
Sbjct 5924654  CGCGCAGGTTGACCCGTGCCCGCCCGCCCGTTTCGAGGATCGCCGCCCTGACGCTCGCCGA 5924713

Query 142     CCTCGTAGAACATGGTGTGCGAAGAAGTGCCGAAAAAAGCCGCCAGTCCCTTGCTTTCC 201
Sbjct 5924714  CCTCGTAGGTCAGGGTGTGCGAAGAAGTGCCG-GTTGAGCCGCCAGTCCCTTGCTTTCC 5924772

Query 202     AGGCCCGCCGCCAGCAGCGCGGTCAGGCGCTGGACGCGTTGGGCGATGCGTTTCAGGTCC 261
Sbjct 5924773  AGGCCCGCCGCCAGCAGCGCGGTCAGGCGCTGGACGCGTTGGGCGATGCGTTTCAGGTCC 5924832

Query 262     TG-GGCCCA-GG-AGACGGCATAACA 283
Sbjct 5924833  TGTGGCCCATGGTAGACGGCATAACA 5924857
    
```

**Anexo 13.** Identidad nucleotídica según el programa BLAST para BOR3 (*P.agglomerans*).

blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

**BLAST®** Basic Local Alignment Search Tool

[Home](#) [Recent Results](#) [Saved Strategies](#) [Help](#)

▶ NCBI/BLAST/blastn suite/ Formatting Results - BGFK5YJF01S

[Edit and Resubmit](#) [Save Search Strategies](#) [Formatting options](#) [Download](#)

**BOR3**

<b>Query ID</b>	ld 53153	<b>Database Name</b>	nr
<b>Description</b>	BOR3	<b>Description</b>	All GenBank+EMBL+DDJ+PDB sequences (but no EST, STS, GSS, environmental samples or phase 0, 1 or 2 HTGS sequences)
<b>Molecule type</b>	nucleic acid	<b>Program</b>	BLASTN 2.2.26+ <a href="#">Citation</a>
<b>Query Length</b>	288		

**No significant similarity found.** For reasons why, [click here](#)

Other reports: [Search Summary](#)