

Universidad de Granada

Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología



**Determinación de resistencias a
quinolonas en aislados clínicos de
Escherichia coli productores de
betalactamasas de espectro
extendido**

**MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR**

Antonio Jiménez Pacheco
Granada, 2006

Universidad de Granada

Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología

Los que suscriben, D. José Gutiérrez Fernández, Profesor Titular de Microbiología de la Facultad de Medicina de Granada, D. Antonio Sorlózano Puerto, Doctor en Medicina por la Universidad de Granada y D. José Luís Martínez Torres, Profesor Asociado del Departamento de Cirugía de la Universidad de Granada y Jefe de Sección del Servicio de Urología del Hospital Universitario “San Cecilio” de Granada.

CERTIFICAN:

Que D. Antonio Jiménez Pacheco, Licenciado en Medicina, ha realizado el trabajo de Tesis Doctoral, que lleva por título “Determinación de resistencias a quinolonas en aislados clínicos de *Escherichia coli* productores de betalactamasas de espectro extendido”, que ha sido realizada bajo su dirección y reúne todos los requisitos necesarios para su juicio y calificación.

Lo que suscriben en Granada, a 1 de Diciembre de 2006.

*A mis padres, Eva,
hermanos y sobrinos.*

AGRADECIMIENTOS

A mis directores, D. José Gutiérrez Fernández, D. Antonio Sorlózano Puerto y D. José Luís Martínez Torres, a quienes deseo expresar mi más sincero agradecimiento por haberme introducido en el campo de la microbiología, así como por su colaboración e interés mostrado a lo largo del desarrollo de esta Tesis Doctoral.

A los miembros del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina por haberme permitido poder realizar esta Tesis.

Al Dr. Armando Zuluaga Gómez, Jefe de Servicio de Urología del Hospital Universitario “San Cecilio” de Granada y Catedrático de Urología de la Facultad de Medicina de Granada, por su ayuda y sus valiosos consejos a lo largo de la realización de este trabajo.

A los facultativos y compañeros del Servicio de Urología del Hospital “San Cecilio”, por su apoyo y comprensión.

A los doctores Jordi Vila, profesor titular de Microbiología de la Universidad Central de Barcelona, y Luís Martínez, Jefe de Microbiología del Hospital Valdecilla de Santander, por proporcionar los aislados bacterianos necesarios para realizar los estudios de secuenciación.

Al doctor Juan de Dios Luna, por su inestimable ayuda en el campo de la Estadística.

Al personal técnico del Instituto de Parasitología y Biomedicina “López-Neyra” de Granada, por la inestimable cooperación en la realización de las técnicas de secuenciación de genes.

Al Colegio de Médicos de Granada, por la concesión de la beca de Investigación que me ha permitido llevar a cabo la presente Tesis Doctoral, sin la cual, no hubiese sido posible.

Al laboratorio AstraZeneca, por su colaboración en los medios técnicos necesarios para este estudio.

A la “Fundación Hospital Clínico”, por favorecer, en el ámbito del Hospital “San Cecilio”, la realización de trabajos de investigación.

A todos, gracias.

*El éxito de una persona radica en la ilusión,
constancia, buen hacer y el amor
por los demás.*

Anjimon

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. EVOLUCIÓN HISTÓRICA Y ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS QUINOLONAS	3
1.2. ESTRUCTURA BÁSICA DE LAS QUINOLONAS	12
1.3. RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD DE LAS QUINOLONAS	14
1.4. CLASIFICACIÓN DE LAS QUINOLONAS	17
1.4.1. Quinolonas de primera generación	18
1.4.2. Quinolonas de segunda generación	18
1.4.3. Quinolonas de tercera generación	19
1.4.4. Quinolonas de cuarta generación	19
1.5. FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA	23
1.5.1. Absorción	23
1.5.2. Distribución	24
1.5.3. Eliminación	24
1.6. INDICACIONES CLÍNICAS	26
1.7. EFECTOS ADVERSOS E INTERACCIONES	28
1.8. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS QUINOLONAS	30
1.8.1. Topoisomerasa I	33
1.8.2. Topoisomerasa III	34
1.8.3. Topoisomerasa II o ADN girasa	34
1.8.4. Topoisomerasa IV	37
1.8.5. Modelos sobre los mecanismos moleculares de acción de las quinolonas	38
1.9. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LAS QUINOLONAS	41

	Página
1.9.1. Resistencias de tipo cromosómico	42
1.9.1.1. ADN girasa	42
1.9.1.2 Topoisomerasa IV	43
1.9.2. Resistencia por alteraciones en la permeabilidad bacteriana	46
1.9.3. Resistencia mediada por sistemas de expulsión	47
1.9.4. Resistencia mediada por plásmidos	49
1.10. MUTACIONES ADAPTATIVAS Y RESISTENCIA	51
1.11. RESISTENCIA A QUINOLONAS, UN PROBLEMA EPIDEMIOLÓGICO	52
1.12. RESISTENCIA A QUINOLONAS EN AISLADOS PRODUCTORES DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEEs)	55
2. OBJETIVOS	63
3. MATERIAL Y MÉTODOS	67
3.1. SELECCIÓN DE LOS AISLADOS BACTERIANOS	69
3.2. AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES <i>gyrA</i>, <i>gyrB</i>, <i>parC</i> Y <i>parE</i> MEDIANTE PCR	72
3.2.1. Extracción del ADN bacteriano	73
3.2.2. Amplificación del ADN bacteriano	73
3.2.3. Electroforesis en gel de azarosa	75
3.3. PURIFICACIÓN DEL PRODUCTO DE PCR	75
3.4. CUANTIFICACIÓN DEL AMPLIFICADO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE LUZ ULTRAVIOLETA	76
3.5. SECUENCIACIÓN DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES <i>gyrA</i>, <i>gyrB</i>, <i>parC</i> Y <i>parE</i>	78
3.6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE SECUENCIACIÓN	81

	Página
3.7. MÉTODO ESTADÍSTICO	84
APÉNDICE I	85
APÉNDICE II	89
APÉNDICE III	93
APÉNDICE IV	97
APÉNDICE V	98
4. RESULTADOS	99
4.1. AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES	
<i>gyrA</i>, <i>gyrB</i>, <i>parC</i> y <i>parE</i> DE <i>ESCHERICHIA COLI</i>	101
4.2. MUTACIONES DETECTADAS	102
4.2.1. Mutaciones S83L y D87N del gen <i>gyrA</i> del aislado 1	103
4.2.2. Mutaciones S80I y A108V del gen <i>parC</i> del aislado 191	104
4.2.3. Mutaciones S80I y E84G del gen <i>parC</i> del aislado 180	105
4.2.4. Mutaciones S80I y E84V del gen <i>parC</i> del aislado 179	106
4.2.5. Mutación E84K del gen <i>parC</i> del aislado 25	107
4.2.6. Mutación S80R del gen <i>parC</i> del aislado 141	108
4.2.7. Mutación S458A del gen <i>parE</i> del aislado 245	109
4.3. SECUENCIA DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES <i>gyrA</i>, <i>gyrB</i>,	
<i>parC</i> y <i>parE</i> DE LOS TREINTA AISLADOS, CON SUS	
MUTACIONES CORRESPONDIENTES	110
4.4. RELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LAS MUTACIONES DETECTADAS	
Y LA CMI DE CIPROFLOXACINO Y LEVOFLOXACINO	231
5. DISCUSIÓN	235
5.1. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN <i>gyrA</i>	240

	Página
5.2. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN <i>gyrB</i>	243
5.3. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN <i>parC</i>	244
5.4. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN <i>parE</i>	245
5.5 INFLUENCIA DE OTROS MECANISMOS EN LA RESISTENCIA A FLUORQUINOLONAS	247
6. CONCLUSIONES	251
7. BIBLIOGRAFÍA	255

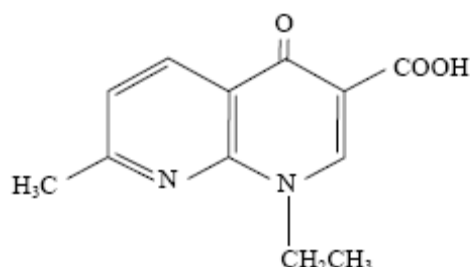
1. INTRODUCCIÓN

1.1. EVOLUCIÓN HISTÓRICA Y ESTRUCTURA QUÍMICA DE LAS QUINOLONAS

Las quinolonas son un grupo de antibacterianos sintéticos. Price y cols (1949) describió un derivado alcaloide con una estructura similar a las quinolonas, pero sin actividad biológica.

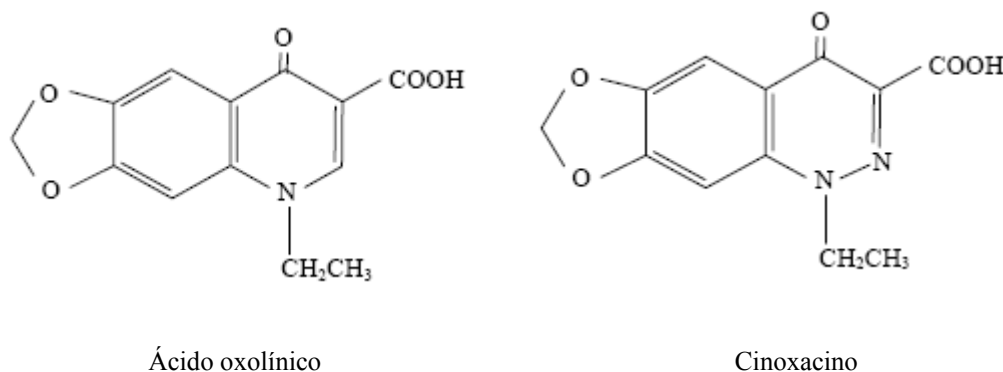
En 1960, Barton y cols patentaron unas 80 moléculas con estructura de quinolona. Una de las moléculas fue aislada de una solución líquida durante la síntesis de la cloroquina, agente antimalárico, el ácido 6-cloro-1-H-4-oxoquinolina-3-carboxílico, que demostró tener actividad antimicrobiana (Bryskier y cols, 1995). Posteriormente, en 1962, se patentó lo que sería la primera quinolona, el ácido nalidíxico (Lesher y cols, 1962), introducido en la práctica clínica en 1967 (Emmerson y cols, 2003; Sierra, 2005). El ácido nalidíxico (figura 1), presentaba una modesta actividad frente a microorganismos gramnegativos, y algunas limitaciones en cuanto a sus parámetros farmacodinámicos y farmacocinéticos, aunque las concentraciones alcanzadas en el tracto urinario eran altas, lo que le hizo un buen candidato para utilizar en el tratamiento de las infecciones urinarias causadas por enterobacterias (Appelbaum y cols, 2000; Emmerson y cols, 2003; Sierra, 2005).

Figura 1: Estructura química del ácido nalidíxico

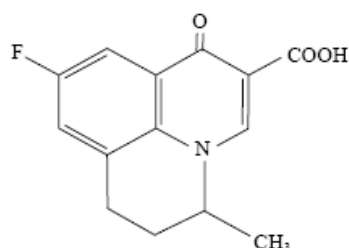


La aparición del ácido nalidíxico marcó el inicio del desarrollo de las quinolonas, aunque no fue hasta mediados de los años 70, cuando aparecen nuevos compuestos. En primer lugar, aparecieron cinoxacino y ácido oxolínico (cuyas estructuras se representan en la figura 2), que no aportaban mejoras substanciales en comparación con el ácido nalidíxico. Ambos compuestos también estaban indicados para su uso en infecciones urinarias.

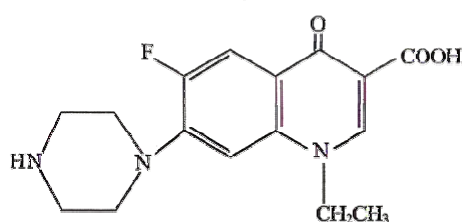
Figura 2: Estructura química del ácido oxolínico y cinoxacino



En 1973 apareció la primera quinolona fluorada (con un grupo flúor en la posición 6), flumequino (figura 3) (Appelbaum y cols, 2000; Rohlfing y cols, 1976; Sierra, 2005). Esta quinolona es unas diez veces más activa, en comparación con el ácido nalidíxico, frente a bacterias gramnegativas (Bryskier y cols, 1995; Rohlfing y cols 1976), además de presentar actividad frente a bacterias grampositivas (Appelbaum y cols, 2000; Emmerson y cols, 2003; Rohlfing y cols, 1976).

Figura 3: Estructura química del flumequino

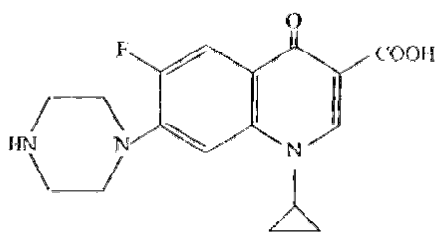
A finales de la década de los 70 y principios de los 80 apareció el norfloxacinó (figura 4), primera molécula considerada como fluorquinolóna), que gracias a su capacidad de absorción a nivel del tracto digestivo, se empleó para la descontaminación intestinal en pacientes sometidos a trasplantes (Giuliano y cols, 1989).

Figura 4: Estructura química del norfloxacinó

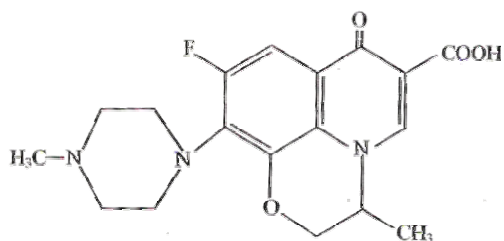
Posteriormente, se desarrollaron nuevas fluorquinolonas: pefloxacinó, enoxacinó, lomefloxacinó, fleroxacinó, ciprofloxacinó y ofloxacinó (figura 5). Estas otras fluorquinolonas presentaban un mayor espectro de actividad, ampliado a organismos grampositivos, y con una gran actividad sobre gramnegativos (unas 1000 veces más que el ácido nalidíxico) (Sierra, 2005). Norfloxacinó, lomefloxacinó y enoxacinó, por ejemplo, no alcanzaban concentraciones en tejidos y sangre suficientemente altas (al igual que el ácido nalidíxico), mientras que sí eran suficientes para su uso en infecciones urinarias (Ito y cols,

1980; King y cols, 1982; Owens y cols, 2000). En cambio, ciprofloxacino y ofloxacino, sí presentaban una mayor biodisponibilidad, lo que le permite alcanzar altas concentraciones en sangre, pudiendo ser así utilizadas para el tratamiento de infecciones sistémicas, además de las infecciones urinarias (Wise y cols, 1983).

Figura 5: Estructura química de nuevas fluorquinolonas



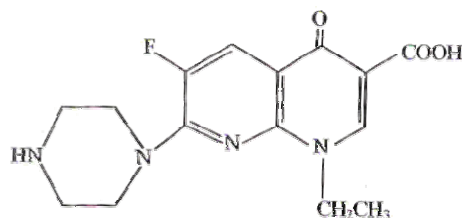
Ciprofloxacino



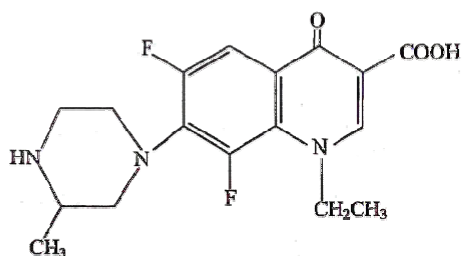
Ofloxacino



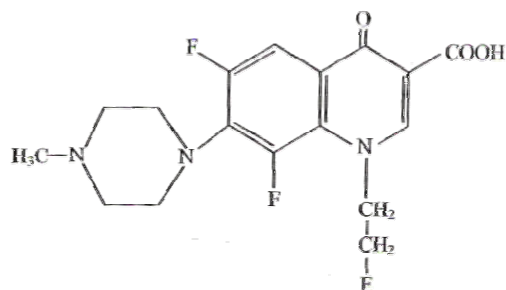
Pefloxacino



Enoxacino



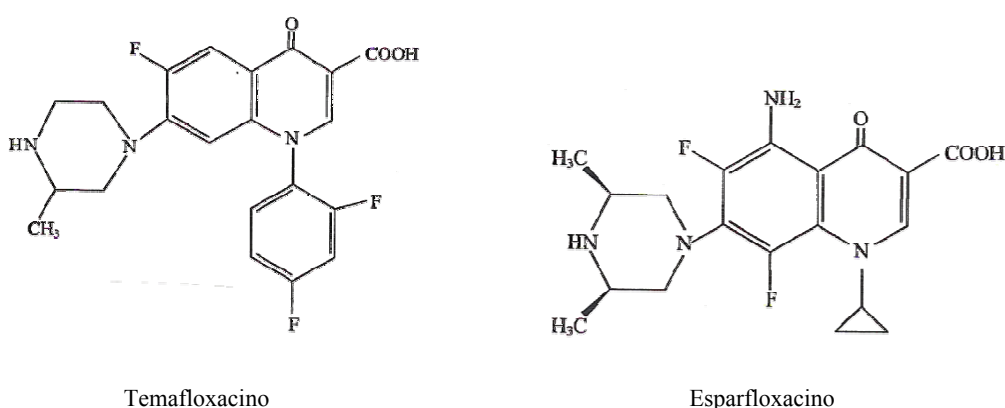
Lomefloxacino



Fleroxacino

En la década de los 90 aparecieron nuevas moléculas, temafloxacino y esparfloxacino (figura 6) (Andersson y cols, 2003; Emmerson y cols, 2003), las cuales, mejoraban el espectro de actividad, especialmente frente a microorganismos grampositivos, y su actividad frente a anaerobios, mientras que seguían manteniendo su actividad frente a gramnegativos (Appelbaum y cols, 2000).

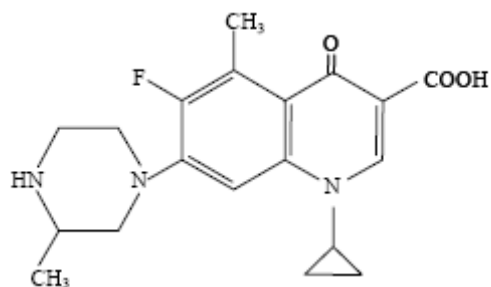
Figura 6: Estructura química del temafloxacino y esparfloxacino



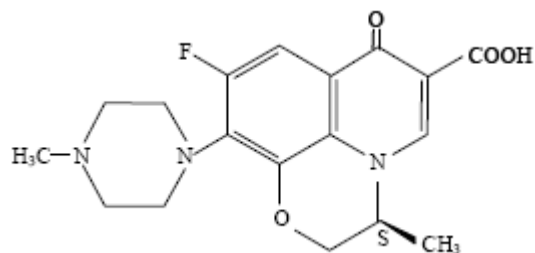
Desde finales de los 90 hasta la actualidad, en un intento por mejorar la actividad frente a bacterias grampositivas y anaerobias, se han desarrollado nuevas fluorquinolonas: clinafloxacin, trovafloxacin, moxifloxacin, levofloxacin, tosufloxacin, gemifloxacin, grepafloxacin (Emmerson y cols 2003; Owens y cols, 2000). Se caracterizan por tener una gran actividad frente a cocos grampositivos y algunos patógenos intracelulares, además de mantener actividad frente a gramnegativos (Sierra, 2005). Algunas de estas moléculas no han llegado a usarse en la práctica clínica, ya que algunas se suspendieron en los ensayos clínicos o fueron retiradas por su toxicidad o efectos adversos, como es el caso de grepafloxacin (por toxicidad cardíaca), gemifloxacin y trovafloxacin (por hepatotoxicidad), temafloxacino (por toxicidad renal y hematológica) o

clinafloxacin (Sierra, 2005). En la figura 7 se muestra la estructura química de algunas de las quinolonas mencionadas en este apartado.

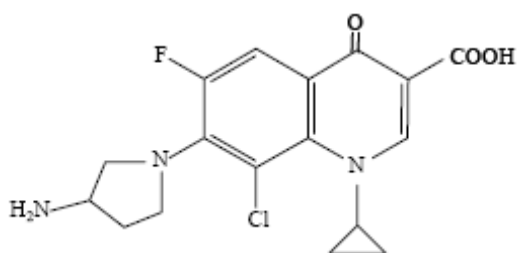
Figura 7: Estructura química de algunas de la quinolonas actuales



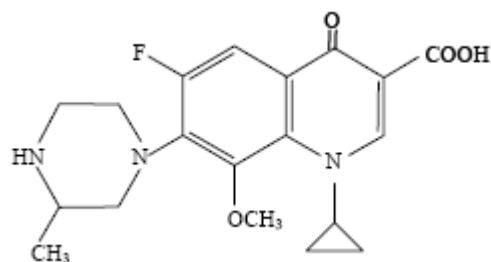
Grepafloxacin



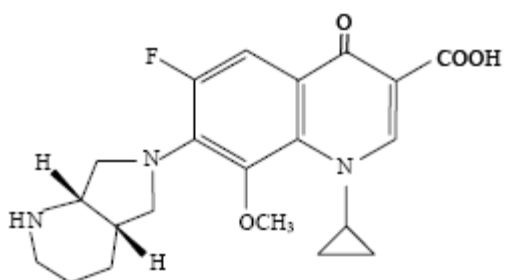
Levofloxacin



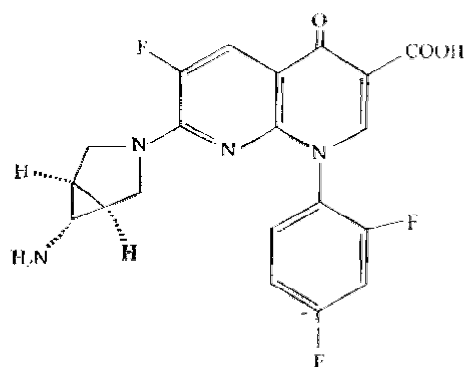
Clinafloxacin



Gatifloxacin



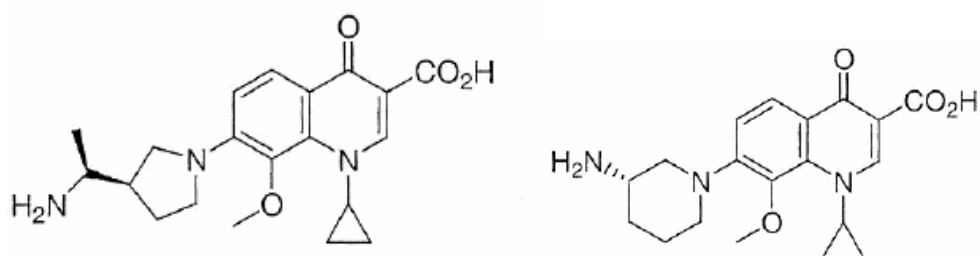
Moxifloxacin



Trovafloxacin

Por otra parte, la posibilidad de lograr una mejor actividad a partir de nuevas modificaciones de la estructura no está cerrada, como demuestra el desarrollo de las *desfluorquinolonas o quinolonas no fluoradas*, que carecen en posición 6 del átomo de flúor, que se había considerado imprescindible para mantener un grado suficiente de actividad. Presentan una elevada afinidad por las topoisomerasas y un reducido potencial de selección de resistencias. Garenoxacino, es el primer representante de este grupo (Loza y cols, 2003), aunque esta molécula si presenta dos átomos de flúor en su estructura. Presenta un amplio espectro de acción y una muy buena actividad frente a grampositivos, superior a la del ciprofloxacino. También presenta actividad frente a gramnegativos y anaerobios (Loza y cols, 2003). Otros nuevos compuestos, como PGE-9262932, PGE-9509924, PGE-4175997, o T-3912, son más activos que muchas fluorquinolonas (ciprofloxacino, trovafloxacino, gatifloxacino, etc.), si nos basamos en los datos de susceptibilidad *in vitro*, siendo su actividad comparable a clinafloxacino (García y cols, 2003; Jones y cols, 2002; Roychoudhury y cols, 2002; Sierra, 2005; Yamakawa y cols, 2002). En la figura 8 podemos ver la estructura química de estos nuevos compuestos.

Figura 8: Estructura química de nuevos compuestos

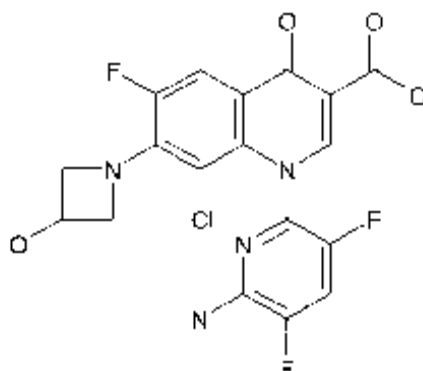


PGE 9262932

PGE 9509924

Actualmente, existen nuevas fluorquinolonas en proceso de desarrollo, como DQ 113, con una capacidad de selección de resistencias en estafilococos muy inferior a la de otras fluorquinolonas; WCK 771A, que presenta CMI <1 mg/l frente a estafilococos resistentes a moxifloxacino y levofloxacino; DK507k, activa frente al 100% de los neumococos resistentes a levofloxacino; ABT-492 (figura 9), etc. (Appelbaum y cols, 2005; Browne y cols, 2003; García y cols, 2003; Nilius y cols, 2003; Sierra, 2005).

Figura 9: Estructura química de la molécula ATB-492



Los posibles problemas planteados por cepas portadoras de mecanismos de expulsión afectan de forma muy moderada a la mayor parte de las fluorquinolonas desarrolladas en los últimos tiempos.

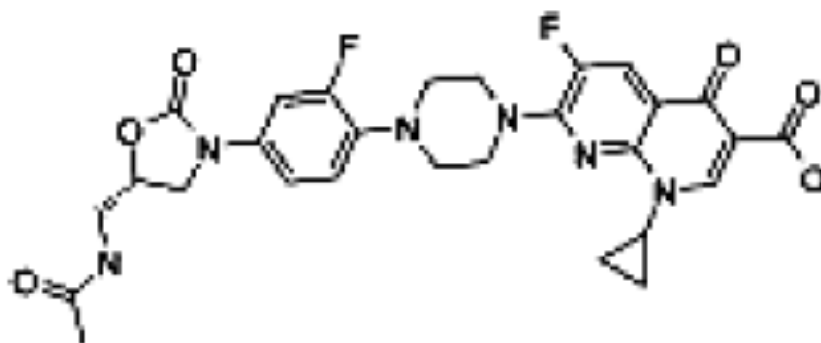
Otras nuevas quinolonas, que como clinafloxacino presentan un átomo de Cloro en su estructura, son E-4767 y E-5065 (Gargallo y cols, 2001).

El aumento de aislamientos de bacterias multirresistentes, ha puesto en marcha el desarrollo de los denominados *antibióticos híbridos*: se unen dos núcleos de dos moléculas antibacterianas en una sola, lo que permite reducir la aparición de resistencias, al tiempo de actuar sobre dos dianas de forma simultánea. Ya hace años se desarrollaron algunas moléculas derivadas de la combinación de una quinolona y una cefalosporina. En este

sentido se han diseñado y sintetizado recientemente moléculas híbridas, uniendo dos grupos de antimicrobianos: quinolonas y oxazolidinonas (figura 10). Estos híbridos, muestran buena actividad frente a gran una variedad de bacterias, incluyendo a estafilococos multirresistentes, enterococos resistentes a vancomicina, estreptococos y bacterias gramnegativas (Gordeev y cols, 2003; Hubschwerlen y cols, 2003a; Hubschwerlen y cols, 2003b; Sierra, 2005). En este grupo nos encontramos con moléculas como MCB116 y MCB1033, que combinan ciprofloxacino con linezolid. Se trata de moléculas que se comportan incluso con mayor actividad que linezolid frente a grampositivos multirresistentes y resistentes a linezolid, pero su actividad en gramnegativos es sensiblemente inferior a la de ciprofloxacino (García y cols, 2003).

La unión entre las quinolonas y las oxazolidinonas (híbridos), se realiza a través de la posición 7, y entre ambos núcleos se encuentra un espaciador, de cuya naturaleza dependerá la actividad y el espectro de acción de la nueva molécula (Hubschwerlen y cols, 2003a).

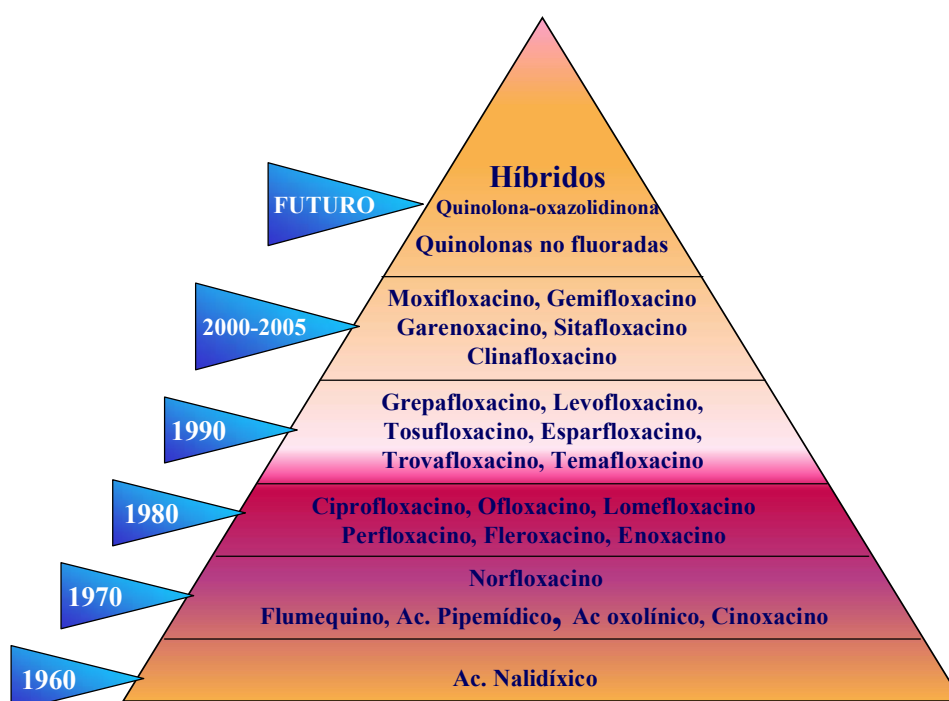
Figura 10: Estructura química de los híbridos quinolona-oxazolidinona



También se han diseñado moléculas híbridas entre quinolonas y cetólidos (Abbanat y cols, 2005), que mejoran la actividad de los estólidos, aunque no se ha demostrado que también actúen como quinolona (Sierra, 2005).

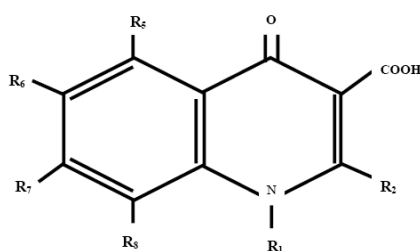
En la figura 11 se resume la evolución cronológica de las quinolonas.

Figura 11: Evolución histórica de las quinolonas



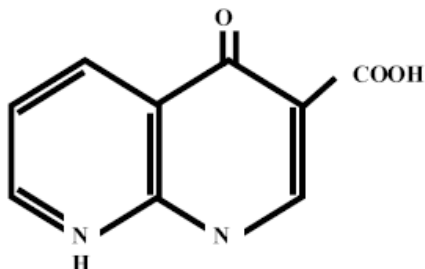
1.2. ESTRUCTURA BÁSICA DE LAS QUINOLONAS

Las quinolonas de uso clínico tienen una estructura formada por dos anillos, con un nitrógeno en posición 1, un grupo carbonilo en la posición 4 y un grupo carboxilo en la posición 3 (figura 12).

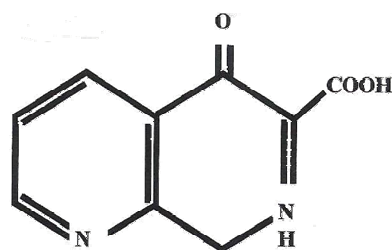
Figura 12: Estructura básica o núcleo de las quinolonas

Aunque, desde el punto de vista químico, todas las quinolonas sintetizadas se engloban en 4 grupos, tan solo las 4-quinolonas y las 4-naftiridinas han sido desarrolladas, ya que la presencia de un nitrógeno en posición 2 (4-cinolonas) o 6 (4-pirimidonas), genera una reducción notable de la actividad (Gutiérrez, 2004; Sierra, 2005).

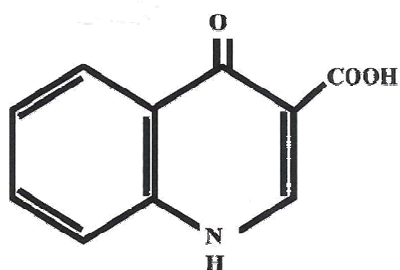
En la figura 13 se muestran las diferentes estructuras químicas que conforman el grupo de las quinolonas.

Figura 13: Estructuras químicas que conforman el grupo de quinolonas

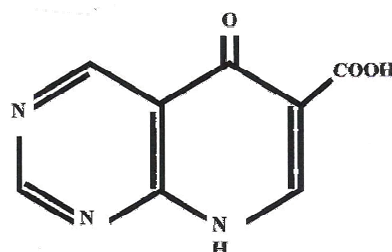
4-oxo-cinolinas o 4-cinolonas.



4-oxo-piridopirimidinas o 4-pirimidonas



4-oxo-quinolinas o 4-quinolonas.



4-oxo-naftiridinas o 4-naftiridonas.

1.3. RELACIÓN ENTRE ESTRUCTURA Y ACTIVIDAD DE LAS QUINOLONAS

La actividad de la molécula de quinolona depende de su estructura; que posea el núcleo intacto, naturaleza de los radicales periféricos que conforman la molécula así como de su relación espacial. Dicha estructura influirá en su potencia y espectro de acción.

La posición 1, ha sido, junto con la 7, las más modificadas y diferentes entre las quinolonas actuales. Ambas son fundamentales para la unión de las quinolonas con las topoisomerasas, y así bloquear su función al formar el complejo Quinolona-Enzima-DNA. En la posición 1, encontramos fundamentalmente tres radicales distintos, aunque el grupo ciclopropilo, es considerado el radical que ofrece mayor potencia a la molécula (Peterson, 2001). La adición de dicho grupo mejoró la actividad frente a gramnegativos, y es el que presentan la mayoría de las quinolonas (Appelbaum y cols, 2000). Los otros dos radicales serían: un grupo etilo (presente en las primeras quinolonas como el ácido nalidíxico, norfloxacino, etc.), y el 2,4-difluorofenilo (presente en quinolonas como el tosufloxacino, temafloxacino, etc.) (Gutiérrez, 2004; Peterson, 2001; Sierra 2005). Otros radicales en esta posición parecen generar un descenso en la actividad de la molécula, al disminuir el número de enlaces entre esta y la enzima (Gutiérrez, 2004).

En la posición 2, la mayoría de las quinolonas presentan un Hidrógeno, aunque no se sabe muy bien cual es su papel (Higgins y cols, 2003).

En posición 3 y 4 encontramos un grupo carboxilo y otro ceto, los cuales son indispensables para que la molécula presente actividad antibacteriana, al intervenir en la formación del complejo Quinolona-Enzima-DNA, no permitiendo así que las topoisomerasas ejerzan su función (Higgins y cols, 2003).

En posición 5, al igual que ocurre en la 2, la mayoría presentan un Hidrógeno, aunque un grupo amino (esparfloxacino), o un grupo hidroxilo o metilo (grefapfloxacino) incrementan la actividad frente a grampositivos (Higgins y cols, 2003; Peterson, 2001; Sierra, 2005).

La presencia de un átomo de Flúor en la posición 6, aumenta de manera significativa la potencia y el espectro de la molécula (de 5 a 100 veces), comparado con las anteriores moléculas, que no poseían esta sustitución, dando lugar a lo que conocemos como fluorquinolonas (Alós, 2003). En este caso, las quinolonas no fluoradas (QNF), cuyo principal representante es el garenoxacino (BMS-284756), presentan un Hidrógeno en esta posición, lo que permite aumentar bastante su actividad frente a grampositivos, no influyendo tanto sobre gramnegativos (Jones y cols, 2002; Roychoudhury y cols, 2002; Sierra, 2005).

Frente a bacterias gramnegativas también aumenta la potencia si en la posición 7 hay un grupo piperacínico (norfloxacino, ciprofloxacino) o un grupo metil-piperacínico (ofloxacino, levofloxacino, gatifloxacino). Además, sustituyentes metilo en el grupo piperacínico mejoran la biodisponibilidad oral. Aquellos compuestos que llevan en la posición 7 un doble anillo derivado del anillo pirrolidónico aumentan su actividad sobre bacterias grampositivas (moxifloxacino). Un grupo metoxi en la posición 7 mejora la actividad frente a anaerobios (moxifloxacino, gatifloxacino) (Alós, 2003; Peterson, 2001).

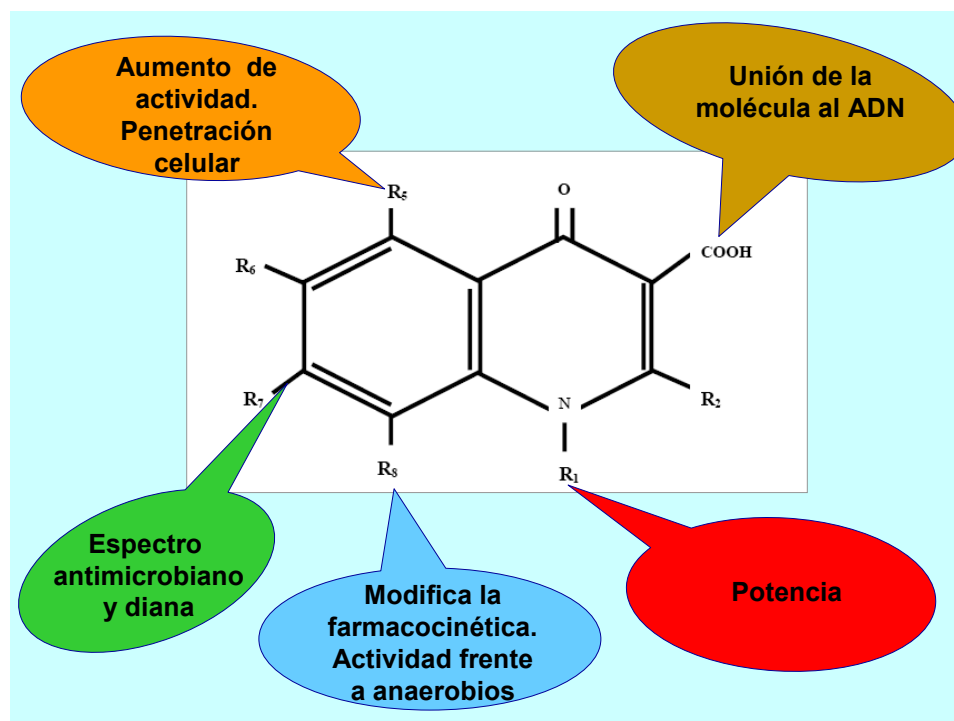
Las sustituciones en la posición 8, además de favorecer una mayor actividad frente a anaerobios y modificar parámetros farmacocinéticos, van a dar lugar a cambios en la estructura tridimensional de las moléculas (Appelbaum y cols, 2000; Gutiérrez, 2004; Higgins y cols, 2003). A diferencia de las moléculas derivadas de las 4-quinolonas, donde

podemos encontrar un radical halógeno (clinafloxacino), un grupo metoxi (moxifloxacino) o metilo (gatifloxacino) o un puente entre los radicales 1 y 8, una benzoxacina (levofloxacino), las derivadas de las 4-naftiridonas (gemifloxacino, etc.) no permiten ningún cambio en esta posición (Higgins y cols, 2003). Así pues, las moléculas con un halógeno en esta posición parecen tener como diana principal a la ADN girasa, mientras sustituyentes como un simple hidrógeno o un puente entre la posición 1 y 8 actuarían principalmente sobre la topoisomerasa IV (Sierra, 2005).

Se han descrito nuevas sustituciones en las posiciones 7 y 8 que cambian la primera diana de acción de las quinolonas de topoisomerasa IV a ADN girasa o a ambas, y por tanto mejoran en gran medida la actividad antibacteriana en comparación con las quinolonas del grupo de ciprofloxacino (Alovero y cols, 2000; Taléns, 2001). En el trabajo publicado por Alovero y cols (2000), se estudia el mecanismo de acción de una nueva serie de fluorquinolonas derivadas del ciprofloxacino por adición de un grupo bencenosulfonamida en el anillo piperacínico de la posición 7. Este trabajo establece que el aumento de la potencia que muestran estos compuestos, en especial el derivado NSFQ-105 con respecto a su homólogo, se asocia con la preferencia de la girasa como primera diana, conclusión a la que se llega tras observar que cepas mutantes en *parC* resistentes a ciprofloxacino permanecen sensibles a NSFQ-105, mientras que, por el contrario, cepas con mutaciones en *gyrA* son resistentes a NSFQ-105 y sensibles a ciprofloxacino (Taléns, 2001).

En la figura 14 se muestra un esquema que relaciona la estructura de la molécula con la actividad.

Figura 14: Relación entre estructura y actividad



1.4. CLASIFICACIÓN DE LAS QUINOLONAS

Al igual que las cefalosporinas, las quinolonas pueden clasificarse en generaciones. En 1997 se propuso una nueva clasificación de quinolonas que más adelante se fue ampliando con la aparición de nuevos compuestos. Dicha clasificación por generaciones se realiza en función de su estructura química, época de aparición y sobre todo, con el espectro antibacteriano. Aunque no existe consenso, ya que dependiendo del autor se agrupan en una u otra generación, coinciden en agruparlas en cuatro generaciones, aunque estas clasificaciones no tienen en cuenta las quinolonas no fluoradas, ni a los híbridos entre quinolona y oxazolidinona (Ball, 2000; King y cols, 2000; Naber y cols, 1998; Oliphant y cols, 2002; Owens y cols, 2000).

1.4.1. Quinolonas de primera generación

Este primer grupo está representado por el ácido nalidíxico, ácido oxolínico, cinoxacina, ácido pipemídico, cinoxacino. (King y cols, 2000; Taléns, 2001). Un caso particular lo constituye la flumequina, que, aunque posee un átomo de flúor, sin embargo, varios autores han creído conveniente incluirla dentro de esta categoría, por sus cualidades farmacológicas (Taléns, 2001).

Su utilidad, en la actualidad, es limitada. Tienen actividad frente a enterobacterias y algún otro gramnegativo, y son prácticamente inactivas frente a grampositivos, patógenos atípicos y anaerobios.

Alcanzan concentraciones bajas en suero, su distribución sistémica es baja y sólo pueden usarse para el tratamiento de algunas infecciones urinarias.

1.4.2. Quinolonas de segunda generación

Esta nueva generación incorpora un átomo de flúor en la posición 6, que permite aumentar la afinidad por sus dianas (topoisomerasas tipo II), así como la capacidad de penetración al interior de la célula (hasta sesenta veces con respecto a las quinolonas que no tienen flúor en esta posición). Dentro de este grupo se incluye: norfloxacino, ciprofloxacino, ofloxacino, pefloxacino, enoxacino, fleroxacino, tomafloxacino, lomefloxacino (también clasificada como quinolona de tercera generación), etc. (King y cols, 2000; Taléns, 2001).

Presentan mayor actividad frente a gramnegativos, incluida *Pseudomonas aeruginosa*, son activas frente a algunos patógenos atípicos, pero tienen moderada actividad frente a grampositivos y prácticamente nula frente a anaerobios. Las

concentraciones en suero y muchos tejidos son bajas, por lo que no se suelen usar en infecciones sistémicas.

1.4.3. Quinolonas de tercera generación

Dentro de este grupo se incluyen: esparfloxacino, levofloxacino, gatifloxacino, moxifloxacino y grepafloxacino. Algunas de ellas han sido retiradas del mercado después de haber sido aprobada su comercialización, o se ha restringido su uso por sus efectos tóxicos (esparfloxacino, grepafloxacino) (Taléns, 2001).

Se caracterizan por presentar una mayor complejidad estructural que sus predecesores, por contener sustituyentes fluorados adicionales y otros cambios en posiciones 1, 7 y 8, mejorando algunas de sus propiedades farmacocinéticas (lo que permite usarlas para el tratamiento de infecciones sistémicas) y el espectro antimicrobiano, presentando una mayor actividad frente a grampositivos y patógenos atípicos, en comparación a sus análogos de la segunda generación.

Levofloxacino es más activo que otras de su grupo frente a grampositivos y su pico sérico es lo suficientemente alto como para obtener un buen índice terapéutico frente a estos microorganismos. (Alós, 2003).

1.4.4. Quinolonas de cuarta generación

En la actualidad, se vienen sintetizando nuevos compuestos derivados de los señalados anteriormente que poseen nuevas propiedades; como la de presentar una buena actividad frente a anaerobios. Por otro lado, algunas de ellas poseen actividad antitumoral,

según se ha demostrado en animales de experimentación, lo cual posibilita su futura aplicación en el tratamiento de ciertos procesos tumorales (Taléns, 2001).

Entre los representantes de este grupo, se señala clinafloxacino, trovafloxacino (retirada del mercado), gemifloxacino, sitafloxacino y tosufloxacino.

No cabe duda, que el desarrollo de nuevas moléculas ampliará la clasificación actual. Si tenemos en cuenta a las quinolonas no fluoradas e híbridos, podemos hablar de una quinta generación para las QNF (garenoxacino, PGE-9262932, PGE-9509924, PGE-4175997, T-3912) y de una sexta para las moléculas híbridas o considerar estas últimas como un nuevo grupo de antimicrobianos distinto de las quinolonas (Sierra, 2005).

En la tabla 1, se muestra las quinolonas agrupadas por generaciones, así como su espectro de acción, características farmacocinéticas e indicaciones terapéuticas.

En la tabla 2, se exponen las principales quinolonas, atendiendo al núcleo central y al número de átomos de flúor que contienen.

Tabla 1: Clasificación de las quinolonas

GENERACIÓN	QUINOLONA	ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA	CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS	INDICACIONES
Primera	Ac. nalidíxico Ac. oxolinico Cinoxacino Ac. pipemídico	Organismos gramnegativos	Administración oral Baja concentración en plasma y tejido	Infecciones urinarias no complicadas
Segunda Clase I	Norfloxacino Lomefloxacino Enoxacino	Organismos gramnegativos	Administración oral Baja concentración en plasma y tejido	Infecciones urinarias no complicadas
Segunda Clase II	Ciprofloxacino Ofloxacino	Organismos gramnegativos (incluida <i>P. aeruginosa</i>), algunos grampositivos y patógenos atípicos	Administración oral e intravenosa Altas concentraciones en plasma y tejidos	Infecciones urinarias complicadas/no complicadas y sistémicas
Tercera	Esparfloxacino Levofloxacino Gatifloxacino Grepafloxacino Moxifloxacino	Organismos gramnegativos (incluida <i>P. aeruginosa</i>), algunos grampositivos y patógenos atípicos	Administración oral e intravenosa Altas concentraciones en plasma y tejidos	Infecciones sistémicas, respiratorias y urinarias
Cuarta	Clinafloxacino Trovafoxacino Gemifloxacino Sitafloxacino Tosufloxacino	Organismos gramnegativos (incluida <i>P. aeruginosa</i>), algunos grampositivos, patógenos atípicos y anaerobios	Administración oral e intravenosa Altas concentraciones en plasma y tejidos	Infecciones sistémicas, respiratorias y urinarias

Tabla 2: Clasificación de la quinolonas según su núcleo central y número de átomos de flúor

4-QUINOLONAS	
NO FLUORADAS	Ac oxolínico PGE-9262932 PGE-9509924 PGE-4175997 T-3912
MONOFLUORADAS	Flumequino Norfloxacinó Ciprofloxacino Ofloxacino Pefloxacino Amifloxacino Grepafloxacino Levofloxacino Clinafloxacino* Gatifloxacino WCK-771 E-4767* E-5065*
DIFLUORADAS	Lomefloxacino Esparfloxacino Sitafloxacino Difloxacino
TRIFLUORADAS	Fleroxacinó ABT-492*
4-PIRIDONAS	
NO FLUORADAS	Ácido pipemídico Ácido piromídico
4- NAFTIRIDONAS	
NO FLUORADA	Ácido nalidixico
MONOFLUORADAS	Enoxacinó Gemifloxacino CI-990 PD-131628 PD-138312
TRIFLUORADAS	Tosufloxacino Trovafoxacino Temafoxacino
4- CINOLONAS	
MONOFLUORADAS	Cinoxacinó

*Poseen un átomo de Cloro en posición 8

1.5. FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA

La farmacocinética es la relación que se establece entre el antimicrobiano y el paciente, e incluye los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación, que, en su conjunto, determinan una curva concentración-tiempo. Los parámetros farmacocinéticos más relevantes son la concentración máxima ($C_{\text{máx}}$) o pico (*peak*), la vida media del antimicrobiano en el plasma ($t_{1/2}$) y el área bajo la curva. Diferencias en el grado de unión a proteínas plasmáticas pueden originar cambios en la concentración de antibacteriano, determinante de la penetración a tejidos y la actividad antibiótica.

1.5.1. Absorción

Las quinolonas se absorben bien tras la administración oral, siendo su biodisponibilidad de buena a excelente, en casi todos los casos superior al 50% y en algunos casos cercana al 100% (Alós, 2003). Los niveles en suero tras la administración oral son parecidos a los que se alcanzan tras su administración intravenosa, lo que tiene como ventaja la posibilidad de uso en terapia secuencial (Alós, 2003).

Las quinolonas pueden presentar interacciones con otros fármacos. Cuando entre las 2-4 h de su administración oral se ingieren productos que contienen cationes del tipo de calcio, aluminio, magnesio, hierro o cinc, la concentración sérica de las quinolonas puede reducirse entre un 25-90%. La fracción no absorbible se elimina por las heces.

Esta absorción se realiza en un tiempo que oscila entre 1 ó 3 horas y no se ve afectada por la edad del paciente, disfunciones renales o por la presencia de alguna enfermedad de base como la fibrosis quística (Sierra, 2005).

1.5.2. Distribución

Las concentraciones máximas en suero son bajas en el caso del ácido nalidíxico, pipemídico y norfloxacino, y de 2-7mg/l para las de tercera y cuarta generación.

La unión a proteínas plasmáticas es baja, oscila entre el 20-40%, y se unen principalmente a la albúmina (Bergogne, 2002), siendo, por ejemplo, norfloxacino, quien posee una menor unión a estas proteínas plasmáticas, con un 15%, o, en el otro extremo, estarían otras quinolonas como ácido nalidíxico o garenoxacino, con unos índices del 90 y 85%, respectivamente (Andersson y cols, 2003). La vida media plasmática varía de 1.5 a 17 horas.

Las fluorquinolonas se distribuyen ampliamente por el organismo. El volumen de distribución es alto, en muchos casos superior al volumen total de agua del cuerpo, lo que supone que alcanzan concentraciones intracelulares altas. Su concentración en tejido prostático, bilis, pulmón, neutrófilos y macrófagos es superior a la sérica, en cambio, la concentración en líquido cefalorraquídeo es, en general, inferior a la mitad de la concentración sérica (Alós, 2003), aunque las concentraciones que alcanza ciprofloxacino, pueden ser iguales o superiores a la CMI para los microorganismos causantes de meningitis (Taléns, 2001). Ciprofloxacino y ofloxacino, son capaces de acceder fácilmente al tejido óseo y presentan un espectro de acción adecuado sobre microorganismos causantes de infección ósea y ortopédica (Lew y cols, 1999).

1.5.3. Eliminación

La mayoría de las quinolonas se eliminan por vía renal (ácido pipemídico, ofloxacino, levofloxacino), esto hace que se encuentren en altas concentraciones, y que su

primera indicación fuera destinada a las infecciones urinarias, favorecido también porque no son metabolizadas. Otras quinolonas se eliminan por vías no renales, como sería la hepática, (moxifloxacino) y otras se eliminan por ambas vías (norfloxacino, ciprofloxacino) (Alós, 2003).

Como parte de la eliminación de las quinolonas, éstas son modificadas, en mayor o menor grado a nivel hepático, y en algunos casos los metabolitos siguen teniendo cierta actividad bactericida, como sería el caso del ciprofloxacino (Sierra, 2005).

Dependiendo del porcentaje de eliminación renal de cada compuesto debe o no ajustarse la dosis en caso de insuficiencia renal. Cuando el aclaramiento de creatinina está por debajo de 50 ml/min. se recomienda reducir la dosis de ofloxacino y levofloxacino, y cuando está por debajo de 30 ml/min. la de norfloxacino y ciprofloxacino (Alós, 2003).

En la tabla 3 resumimos algunos de los parámetros farmacocinéticos de las quinolonas.

Tabla 3: Parámetros farmacocinéticos de las quinolonas (Alós, 2003; Sierra, 2005)

Quinolona	Dosis (mg)	C _{máx} (mg/l)	T _½ (h)	V _d (l/Kg)	Unión a proteínas (%)	Vía de eliminación
Ac. nalidíxico	400	Variable	1.5	--	90	Renal
Ac. pipedímico	400	4.0	3.0	1.4-2.0	--	Renal
Norfloxacinó	400	1.5	3.3	0.6	15	Renal y hepática
Ciprofloxacino	750	3.0	3.6	2.0-3.0	40	Renal y enteral
Ofloxacino	400	4.4	5.5	1.2-1.4	40	Renal
Levofloxacino	500	5.1	7.0	1.4	40	Renal
Temafloxacino	600	7.0	8.0	--	25	Renal
Trovafloxacino	300	2.5	12.0	--	85	Hepática
Clinafloxacino	200	1.6	6.0	--	40	Renal
Esparfloxacino	400	1.0	18.0	--	40	Renal y hepática
Grepafloxacino	400	1.4	14.0	--	50	Hepática
Moxifloxacino	400	3.1	13.0	3.0	50	Hepática
Gatifloxacino	400	4.0	9.0	--	20	Renal
Gemifloxacino	320	1.0	7.0	--	60	Renal/otros

1.6. INDICACIONES CLÍNICAS

En nuestros días, las fluorquinolonas se usan en diversos tipos de infecciones, que incluyen infecciones del tracto urinario, por su actividad frente a enterobacterias, las principales causantes de infecciones urinarias, y porque varias se eliminan de forma significativa por vía renal. En mujeres con cistitis aguda no complicada, causada por cepas de *Escherichia coli* sensibles a quinolonas, el tratamiento de tres días ha demostrado la

misma eficacia que tres días de cotrimoxazol. Dosis únicas también se han mostrado eficaces y equivalentes a tratamientos más prolongados (Auquer y cols, 2002).

Con la llegada de las nuevas fluorquinolonas, sus indicaciones se fueron diversificando, así pues, actualmente las quinolonas se utilizan en el tratamiento de bacteriemias, infecciones óseas, piel y tejidos blandos, de transmisión sexual y entéricas (en principio tenían una excelente actividad *in vitro* frente a los principales patógenos causantes de gastroenteritis, sin embargo, han surgido problemas de resistencia, sobre todo en *Campylobacter* spp., por lo que actualmente, más de la mitad de las cepas de *Campylobacter* spp. que se aíslan en España son resistentes a quinolonas) (Engberg y cols, 2001).

Por otro lado, tienen un uso profiláctico, por ejemplo, en pacientes neutropénicos, donde la combinación de un betalactámico con un aminoglucósido es una de las terapias empíricas más útiles y usadas en pacientes neutropénicos febriles, aunque en un estudio reciente el uso de tobramicina y ciprofloxacino resultó al menos tan seguro y eficaz como el uso de piperacilina y tobramicina (Peacock y cols, 2002).

Actualmente, una de las indicaciones de las modernas quinolonas (ciprofloxacino, ofloxacino, pefloxacino, levofloxacino y esparfloxacino), son las infecciones respiratorias, especialmente para el tratamiento de la neumonía, ya sea nosocomial o adquirida en la comunidad (Sierra, 2005).

El uso de las quinolonas en pediatría es controvertido, debido a que uno de los efectos secundarios que presentan las quinolonas es que afectan a los cartílagos de crecimiento (Stahlmann y cols, 1999).

1.7. EFECTOS ADVERSOS E INTERACCIONES

El perfil de seguridad de las quinolonas está basado en datos obtenidos de estudios con animales, y estudios preclínicos y clínicos, básicamente realizados por las empresas que comercializan estos fármacos y por un seguimiento después de aceptarse para su uso clínico, por lo que se conoce como farmacovigilancia (Sierra, 2005).

En general, las quinolonas son bien toleradas. Los síntomas gastrointestinales, náuseas, vómitos, dispepsia, diarrea (se asocia a una colitis por *Clostridium difficile*) y otros síntomas similares son los efectos secundarios más frecuentes.

La neurotoxicidad se refleja por mareos, cefalea, inquietud, depresión, insomnio o somnolencia, excepcionalmente pueden presentarse reacciones psicóticas, alucinaciones y convulsiones de tipo gran mal. Parece que dicha sintomatología se debe a que las quinolonas inhiben la unión del GABA con su receptor. Normalmente, estas reacciones comienzan después de pocos días de iniciado el tratamiento y desaparecen al suspender el medicamento. Los pacientes de edad avanzada y aquellos con daño del sistema nervioso central (ej. epilepsia) son susceptibles a estas complicaciones, por lo que se recomienda administrar el fármaco bajo estrecha vigilancia y no usar dosis extremadamente altas (Cordiés y cols, 1998).

También pueden aumentar el riesgo de convulsiones y de estimulación del sistema nervioso central al usarse concomitantemente con antiinflamatorios no esteroideos (la interacción entre ellos parece ser debida a la competencia que presentan estos fármacos con los receptores del GABA) (Alós, 2003; Sierra, 2005).

Existen, por otro lado, efectos secundarios de las quinolonas que sí son importantes (cardiotóxicos, hepatotóxicos, etc.), los cuales han llevado a retirar alguno de estos

fármacos del mercado y/o a suspender los ensayos clínicos y su posterior desarrollo. Uno de los más importantes, y que comparten la mayor parte de las quinolonas, es la fototoxicidad, debido a que las moléculas de quinolonas se degradan cuando se encuentran expuestas a la radiación ultravioleta, y generan “oxígeno libre” y radicales que causan daño tisular (Sierra, 2005; Stahlmann, 2002). Los síntomas que puede presentar incluyen eritema, prurito, urticaria... Con todos estos compuestos se han señalado reacciones de fotosensibilidad cutánea, siendo poco frecuentes con norfloxacin y ciprofloxacino (Cordiés y cols, 1998), mientras que otras moléculas como clinafloxacino, esparfloxacino o lomefloxacino han sido retiradas debido a dicho efecto (Sierra, 2005).

Aunque la toxicidad renal no es un hallazgo frecuente se ha informado la cristaluria de individuos que recibieron dosis altas de norfloxacin (Cordiés y cols, 1998).

La hepatotoxicidad (ocurre en un 2-3% de los pacientes), es otro de los efectos adversos relacionados con la administración de quinolonas. Ocasiona incremento en las transaminasas y la fosfatasa alcalina a nivel sérico, que generalmente vuelve a la normalidad al abandonar el tratamiento. Sólo en un porcentaje muy bajo aparece hepatitis, necrosis hepática o fallo hepático (Sierra, 2005).

Las quinolonas pueden incrementar el efecto anticoagulante de la warfarina y los niveles de cafeína, ciclosporina y teofilina (las fluorquinolonas inhiben el citocromo CYP-450 lo que provoca una reducción en la metabolización de estos fármacos, lo que requiere reajustar las dosis) (Alós, 2003; Sierra, 2005).

Además, pueden provocar hipoglucemia y/o hiperglucemia al usarse con antidiabéticos orales o con insulina (Alós, 2003).

En la tabla 4, aparecen algunos de los efectos potencialmente tóxicos de las fluorquinolonas.

Tabla 4: Efectos potencialmente tóxicos de las quinolonas

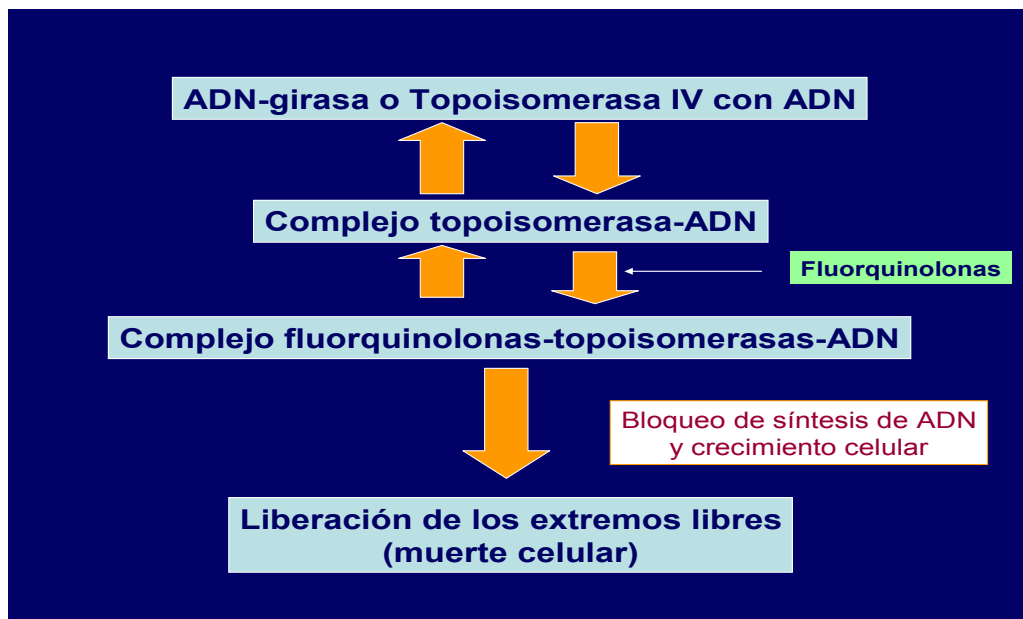
AGENTE IMPLICADO	EFEECTO ADVERSO
TODOS (en animales de experimentación)	Erosiones de los cartílagos de conjunción.
TODOS	Tendinitis grave
Esparfloxacino, Lomefloxacino, Clinafloxacino	Fototoxicidad
Lomefloxacino	Fotocarcinogenicidad
Trovafoxacino, Ofloxacino	Alteraciones de sistema nervioso central
Esparfloxacino, Grepafloxacino	Alteraciones de la conducción cardíaca
TODOS, en especial Trovafoxacino	Síndrome hepático

1.8. MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS QUINOLONAS

El mecanismo de acción de las fluorquinolonas es bastante complejo. Este tipo de fármacos penetran en bacterias gramnegativas a través de porinas, pudiendo también hacerlo directamente a través de la bicapa lipídica, y luego atraviesan la membrana interna para alcanzar el citoplasma. Posteriormente, actúan a nivel del ADN bacteriano produciendo la inhibición de las topoisomerasas (ADN girasa y topoisomerasa IV). Al unirse las fluorquinolonas a las subunidades de la ADN girasa se produce la aparición de extremos libres de ADN, sobre los cuales actuarán exonucleasas que producirán la muerte

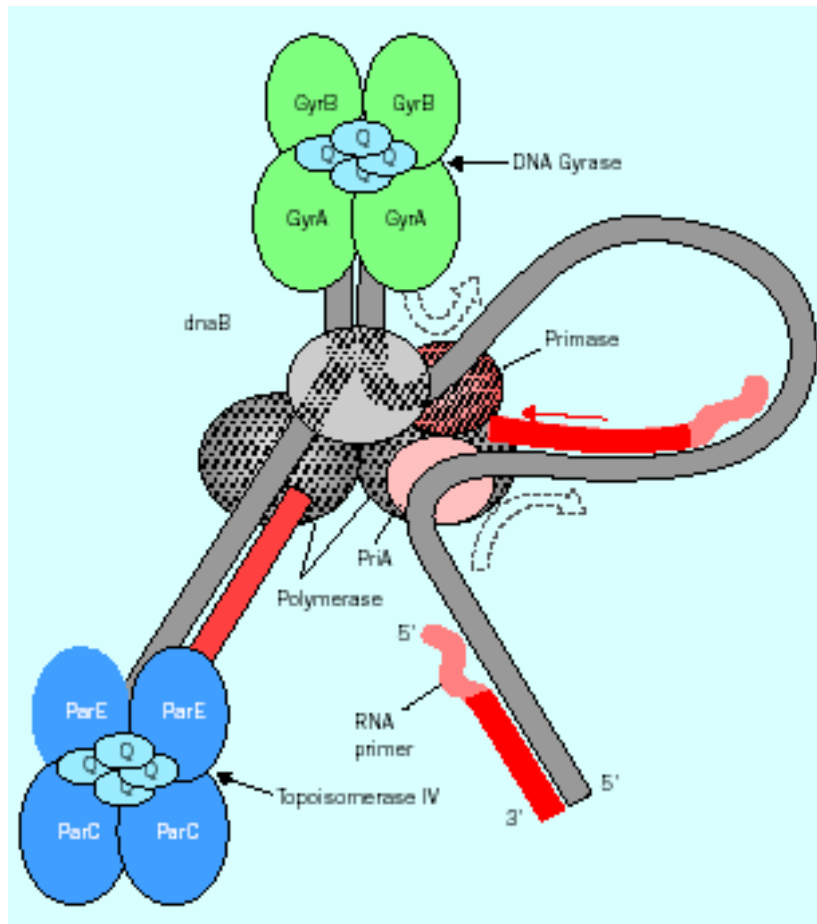
celular (Rodríguez, 2005). La figura 15, muestra un esquema de cómo actúan las quinolonas, interrumpiendo la acción de las topoisomerasas.

Figura 15: Interrupción de la acción de las topoisomerasas por quinolonas



La ADN girasa y la topoisomerasa IV son tetrámeros formados por dos subunidades A y dos subunidades B: GyrA (97 kDa) y GyrB (90 kDa) en el caso de la ADN girasa, y ParC (75 kDa) y ParE (70 kDa) para la topoisomerasa IV (figura 16).

Figura 16: Esquema de la ADN girasa y topoisomerasa IV



Todas las células tienen dos tipos de ADN topoisomerasas, que aunque se diferencian en sus propiedades, comparten un mismo mecanismo de acción. Dicho mecanismo consiste en producir una rotura en el ADN (de cadena sencilla las tipo I y de doble las de tipo II), y pasan una cadena de ADN (sencilla o doble) a través de la rotura producida, con posterior sellado de la rotura inicial. Las topoisomerasas tipo I, incluyen las topoisomerasas I y III bacterianas y la topoisomerasa I de eucariotas. Las tipo II comprenden la ADN girasa y la topoisomerasa IV bacterianas, así como las topoisomerasas II de eucariotas. Estas enzimas son esenciales para la replicación,

transcripción y recombinación, jugando un papel fundamental en la estructura del cromosoma, condensación/descondensación y segregación (Balas, 2001). La tabla 5 muestra algunas de las características de las ADN topoisomerasas de *E. coli*.

Tabla 5: Características de las ADN Topoisomerasas de *E. coli*

	TIPO I		TIPO II	
	Topo I	Topo III	ADN girasa	Topo IV
Estructura	Monómero	Monómero	GyrA ₂ GyrB ₂	ParC ₂ ParE ₂
Peso molecular (kDa)	105	74	GyrA (97) GyrB (90)	ParC (75) ParE (70)
Gen	<i>topA</i>	<i>topB</i>	<i>gyrA, gyrB</i>	<i>parC, parE</i>
Rotura en el ADN	ADN-1	ADN-1	ADN-2	ADN-2
Relajación	Sí	No	Sí	Sí
Decatenación	No	Sí	Sí	Sí
Superenrollamiento	No	No	Sí	No
Replicación	Sí	Sí	Sí	Sí
Transcripción	Sí	Sí	Sí	Sí
Segregación cromosoma	No	Sí	Sí	Sí

1.8.1. Topoisomerasa I

Fue la primera topoisomerasa que se descubrió en *E. coli* (Wang, 1971). Inicialmente conocida como proteína omega, ω , es un polipéptido de 864 residuos de aminoácidos con un peso molecular de 94 kDa (Tse y cols, 1986).

En *E. coli* el gen *topA* codifica la ADN topoisomerasa I (Trucksis y cols, 1981). Es un factor específico en la iniciación de la replicación en el *oriC*, impidiendo la iniciación en otros sitios diferentes (Balas, 2001). La evidencia *in vitro* sugiere que, el papel celular de la topoisomerasa I es relajar superenrollamientos (DiGate y cols, 1988).

1.8.2. Topoisomerasa III

La Topoisomerasa III, codificada por el gen *topB* de *E. coli*, está implicada en la estabilización del genoma bacteriano, ya que deleciones en *topB* producen un aumento de las deleciones espontáneas del ADN (Balas, 2001). Es una cadena polipeptídica, con un peso molecular de 74 kDa que provoca la decatenación del ADN en ausencia de ATP (DiGate y cols, 1988; Srivenugopal y cols, 1984). Actualmente, se ha observado que esta enzima puede actuar como ARN topoisomerasa, catalizando la interconversión del ARN circular y anudado; por ello se cree que esta topoisomerasa juega un papel importante en la topología molecular del ARN (DiGate y cols, 1992; Taléns, 2001).

1.8.3. Topoisomerasa II o ADN girasa

Los genes *gyrA* (2628 pb) y *gyrB* (2415 pb) codifican la girasa de *E. coli*, encontrándose en localización contigua en el cromosoma bacteriano (Balas, 2001). La masa molecular de la holoenzima es de 374 kDa, formando una partícula globular de 120150 Å que presenta actividad "ADN – cleavage" (Reece y cols, 1991).

Se requieren ambas subunidades para la plena actividad de la ADN girasa. La subunidad GyrA (875 aminoácidos) se une al ADN (en ausencia de la subunidad B), interviene en el corte y unión del ADN a través de la Tyr122, formando un enlace

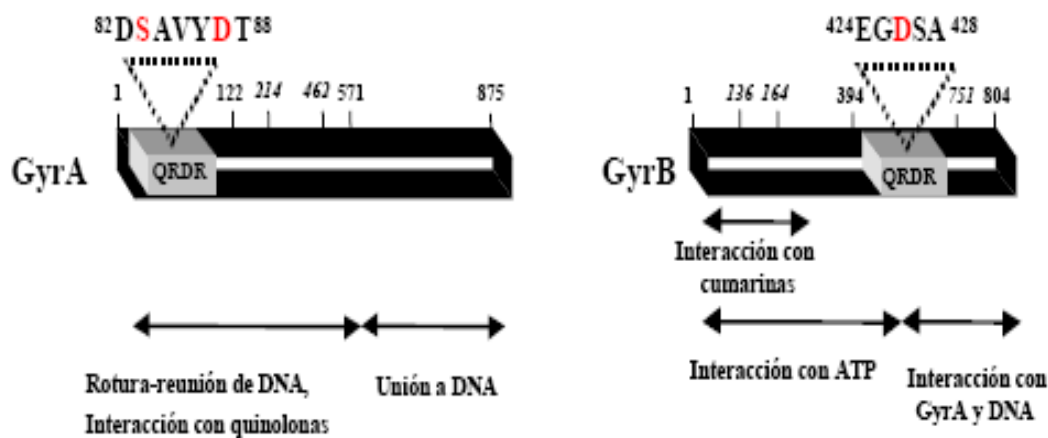
transitorio con el ADN cerrado; mientras que la subunidad GyrB (804 aminoácidos) posee actividad ATPasa, la cual se ve estimulada por la subunidad A. Cada monómero GyrA y GyrB presenta una cabeza amino terminal y una cola carboxi proximal.

El dominio N-terminal de GyrA (64 kDa) es responsable de la reacción de rotura-reunión del ADN, mientras que el dominio C-terminal (33 kDa) es la proteína de unión al ADN cuando éste envuelve a la enzima (Balas, 2001).

El dominio N-terminal de GyrB (43 kDa) permite la transducción de energía vía hidrólisis de ATP, mientras que el dominio C-terminal (47 kDa) interacciona con GyrA y con el ADN. El fragmento N-terminal de 393 aminoácidos, que contiene el dominio de la ATPasa de GyrB de *E. coli*, ha sido cristalizado en presencia de ADPNP (5'-adenilil- β , γ -imidodifosfato) y su estructura resuelta a 2,5 Å por cristalografía de rayos X (Balas, 2001).

En la figura 17, se muestra la estructura de las subunidades GyrA y GyrB de la ADN girasa de *E. coli*. Se indica la localización de la región determinante de resistencia a quinolonas de GyrA y GyrB y en rojo los residuos implicados en resistencia a quinolonas. Los aminoácidos cuya mutación produce resistencia a distintos compuestos están numerados en cursiva.

Figura 17: Estructura de las subunidades GyrA y GyrB de la ADN girasa de *E.coli*.



La ADN girasa es una enzima esencial para la viabilidad celular. Su principal función consiste en catalizar el superenrollamiento negativo del ADN circular de la bacteria, que es el estado natural en que se encuentra el cromosoma bacteriano; considerando que el ADN debe de situarse en un espacio limitado del interior de la célula, dispuesto en unos 50-80 zonas especialmente organizadas a las que se les denominó “enrollamientos” o “dominios”, adosados a un núcleo central de ARN y que a la vez estos dominios se hallan formando unos 400 “dominios de superenrollamiento”, cuyas espirales están dispuestas en sentido contrario a la hélice de ADN (Taléns, 2001).

Todas estas reacciones son dependientes de ATP y requieren un catión divalente, principalmente Mg^{2+} , aunque puede ser sustituido por Mn^{2+} (Reece y cols, 1991). En ausencia de ATP son eliminados los superenrollamientos negativos. El cociente ATP / ADP determina el grado final de superenrollamiento, por lo que sería un mecanismo homeostático para controlar el superenrollamiento (Drlica y cols, 1997). Esto hace pensar que el enrollamiento puede ser sensible a los cambios energéticos intracelulares y, a la vez,

a ciertos parámetros del entorno extracelular, como la concentración de sales, tensión de oxígeno y temperatura (Drlica y cols, 1997).

La ADN girasa es, por tanto, la única enzima capaz de introducir un superenrollamiento negativo en la cadena de ADN (Hooper, 2000).

El proceso de superenrollamiento negativo se realiza en varias etapas. El primer paso es la interacción enzima y ADN, formando un complejo que consiste en aproximadamente 130 pb localizadas en el núcleo de la proteína. La unión se realiza mediante enlaces covalentes entre la tirosina (Tyr 122) de la subunidad A con 4 bases libres que se generan después de crear una rotura en el ADN. Posteriormente, y mediante la hidrólisis de ATP (subunidad B), la ADN girasa introduce un enrollamiento negativo en el ADN, relajando la estructura producida por la horquilla de replicación y volviendo a unir las dos cadenas de ADN (Heddle y cols, 2000; Maxwell, 1997; Schmitz y cols, 2002; Sierra, 2005).

1.8.4. Topoisomerasa IV

Los genes *parC* (2259 pb) y *parE* (1893 pb) codifican la topoisomerasa IV de *E. coli*. Al igual que GyrA, ParC (752 aminoácidos) está implicada en el proceso de rotura-reunión de la doble cadena de ADN y ParE (630 aminoácidos), como GyrB, se requiere para la transducción de energía vía hidrólisis de ATP (Peng y cols, 1993). También es responsable, como todas la topoisomerasas, de la relajación del ADN (Hooper, 1998), aunque su función principal es el desencadenamiento de las dos moléculas *hijas* al finalizar la replicación del ADN, permitiendo la segregación de dos nuevos cromosomas bacterianos en dos nuevas células *hijas* (Sierra, 2005).

Las subunidades de la topoisomerasa IV y la girasa no son intercambiables, aunque la girasa puede sustituir, al menos en parte, algunas de las funciones de la topoisomerasa IV, como la partición de los cromosomas (Balas, 2001).

En concreto, las topoisomerasas I, II y IV están implicadas en la eficacia de la replicación y transcripción del ADN (Dinardo y cols, 1982) pero, mientras las topoisomerasas del tipo II son esenciales para el crecimiento bacteriano, las topoisomerasas de tipo I no lo son, puesto que su pérdida puede compensarse por alteración en los genes de las topoisomerasas del tipo II (Taléns, 2001).

1.8.5. Modelos sobre los mecanismos moleculares de acción de las quinolonas

Los primeros estudios señalaron que las quinolonas (ácido nalidíxico) eran incapaces de unirse al ADN. En cambio, publicaciones posteriores, proponen que estas moléculas sí se unían al ADN, pero no directamente a la ADN girasa. Esta propuesta, generó cierta polémica, lo que llevó al desarrollo de numerosos trabajos, con el fin de determinar cuál es la diana primaria de estas moléculas: el ADN o la ADN girasa. Actualmente se acepta que la diana funcional es la ADN girasa y que estos compuestos deben formar una interacción estable con el complejo ADN girasa-ADN para inhibir la actividad de la enzima.

El modelo propuesto, se denominó “unión cooperativa quinolona DNA” (Shen y cols, 1989), el cual propone una inhibición de la ADN girasa de modo indirecto. El principio se sustenta en la generación de un lugar de unión de la quinolona al ADN relajado de cadena sencilla, producto de la rotura del ADN por acción de la enzima. Este corte produciría un desapareamiento de 4 pb, lugar óptimo para la unión de las moléculas

de quinolonas a las bases del ADN a través de puentes de hidrógeno, y dichas moléculas se unirían cooperativamente entre sí por un proceso de autoensamblaje (González, 2004; Shen y cols, 1989).

Estudios sobre la estructura cristalina del ácido nalidíxico proponen dos posibles tipos de interacción entre las moléculas de quinolonas. Por un lado, posibles interacciones hidrofóbicas, cola con cola entre grupos laterales de N-1 y apilamientos, entre los anillos de quinolonas. Estas interacciones dan lugar a un complejo supramolecular que formaría una unidad consolidada y saturaría el espacio abierto en la molécula de ADN por la ADN girasa, impidiendo así los eventos posteriores del proceso del superenrollamiento catalizados por esta enzima.

En este modelo, donde la diana principal es el ADN, se establecen diferentes dominios funcionales en la molécula de quinolona: una región de unión al ADN a través de puentes de hidrógeno, una región lipofílica que permitiría la autoasociación de las moléculas de quinolonas, y otra región de interacción con la ADN girasa, sugiriéndose que los sustituyentes en el C-7 de la molécula de quinolona podría interactuar con GyrB de la enzima (Shen y cols, 1989). Actualmente, se acepta que el magnesio tendría algún rol en la unión de las quinolonas al ADN y que su modelo no está en contradicción con el hecho de la aparición de cepas resistentes a las quinolonas que presentan mutaciones en los genes *gyrA* o *gyrB*.

Un modelo alternativo, es el propuesto por Maxwell (1992), en el cual la ADN girasa es la diana primaria de las quinolonas, refiriendo que se requiere tanto la ADN girasa como ADN para que las quinolonas interactúen de forma estable, basándose en que la mayoría de mutantes de resistencia presentan cambios en la denominada “Región

Determinante de Resistencia a Quinolonas” (QRDR, del ingles “Quinolone Resistance Determining Region”) del gen *gyrA*, lo cual provoca una drástica reducción de la unión de la quinolona al complejo ADN girasa-ADN (González, 2004). Además, sugieren que los grupos carboxil del C-3 y oxo del C-4 de las quinolonas se unen por puentes de hidrógeno a las QRDR de la enzima.

Otro modelo es el propuesto por Yoshida y cols (1993), “quinolone pocket model”, el cual sostiene que las quinolonas interaccionan en la hendidura formada por el complejo ADN girasa-ADN durante el corte y unión del DNA. La unión estaría determinada conjuntamente por las subunidades GyrA y GyrB y muy posiblemente también por los iones Mg^{2+} . Este modelo está más acorde con las hipótesis de unión quinolona ADN girasa, que con los modelos de unión quinolona-ADN.

Sin embargo, el modelo de acción de las quinolonas más aceptado actualmente consiste en la formación de un complejo entre la Topoisomerasa-ADN-Quinolona bloqueando la acción de la enzima y provocando la muerte celular. En este modelo los radicales en posición 3 y 4 de la molécula de quinolona producirían enlaces con un átomo de Mg^{2+} y éste a su vez se uniría al ADN mediante enlaces con los grupos fosfato de los nucleótidos. Además se produciría un apilamiento entre una de las bases de la región monocatenaria de la cadena de ADN y el anillo de la molécula de quinolona (González, 2004).

1.9. MECANISMOS DE RESISTENCIA A LAS QUINOLONAS

La adquisición de resistencia a las quinolonas, en general, es gradual. Su efecto lo desarrollan cuando alcanzan su diana celular, ADN girasa o topoisomerasa IV, pero para ello previamente tienen que penetrar a través de la membrana bacteriana. Por tanto, la resistencia a quinolonas puede deberse a alteraciones que afecten a cualquier paso de este proceso.

Los mecanismos de resistencia a las quinolonas en *E. coli* pueden agruparse en cuatro categorías:

1. Resistencias de tipo cromosómico, por mutaciones en segmentos definidos de los genes que codifican la ADN girasa y/o la topoisomerasa IV (Sierra, 2005; Vila y cols, 1994). Como consecuencia, al cambiar el aminoácido en la zona de interacción entre la quinolona y la proteína diana, la quinolona pierde afinidad por la proteína diana y por tanto su actividad, mientras que la enzima sigue siendo activa.
2. Resistencia por alteraciones en la membrana externa bacteriana, lo que genera un descenso en la capacidad de penetración del fármaco en el interior de la célula. Estas modificaciones se originan en las mutaciones de los genes que codifican los canales de porinas.
3. Resistencias basadas en la expulsión del antibacteriano desde el medio intracelular al extracelular por acción de transportadores endógenos activos o bombas de expulsión activa.
4. Resistencia mediada por plásmidos.

1.9.1. Resistencias de tipo cromosómico

1.9.1.1. ADN girasa

La mayoría de las mutaciones descritas se han encontrado en el N-terminal de las proteínas GyrA y GyrB, en la región QRDR, situada entre los aminoácidos Ala67 y Gln106 en *gyrA* (ARVVGDVIGKYHPHGDSAVYDTIVRMAQPFSRLRYMLVDGQ) y Asp426 y Lys447 en *gyrB* (DSAGGSAKQGRNRKNQAILPLK) (Hopkins y cols, 2005). Las mutaciones aparecen con mayor frecuencia en los aminoácidos 83 y 87 de GyrA, los cuales están situados cerca de los sitios activos de la ADN girasa junto con un residuo de Tyr que interacciona con la hebra de ADN rota durante la reacción de la topoisomerasa. Las mutaciones en este sitio activo conducen a resistencia frente a las quinolonas (Hopkins y cols, 2005).

Mientras que, *in vitro*, se ha visto que, en los mutantes de *E. coli*, la frecuencia de mutaciones en *gyrA* son similares a las del *gyrB*, en aislados clínicos se ha observado que son mucho más prevalentes en *gyrA* que en *gyrB* (Everett y cols, 1996; Vila y cols, 1994). Estas mutaciones en *gyrA* ocasionan unos niveles de resistencia mayor que cuando las mutaciones ocurren en *gyrB*.

Los cambios de aminoácidos pueden afectar a la capacidad de formar puentes de Hidrógeno, así como la carga negativa de los mismos en estas posiciones parece ser importante para las interacciones de la quinolona con el complejo ADN girasa-ADN (Sáenz y cols, 2003). Además, algunos aminoácidos, dentro del QRDR, pueden ser más importantes para la asociación de las subunidades de GyrA y GyrB que para la actividad de la holoenzima (Hopkins y cols, 2005). Todo esto puede ayudar a entender por qué ciertas sustituciones influyen más en la resistencia a quinolonas que otras. Mutaciones en *gyrA*

confieren resistencia a estos compuestos, habiéndose demostrado que la unión de la quinolona es posterior a la ruptura del ADN, debido a la actividad de la ADN girasa; de este modo se impide el giro de la enzima (Reece y cols, 1991). Debido a ello, siempre se ha postulado que la ADN girasa es la diana funcional y los monómeros GyrA las dianas primarias, aunque en la actualidad, y, debido al aislamiento de mutantes *gyrB* resistentes a las quinolonas, se ha cuestionado que la subunidad GyrA sea la única diana primaria de unión de las quinolonas (Drlica y cols, 1997; Hooper, 2001).

Dentro de *gyrB* se han identificado mutaciones en dos posiciones, Asp426 por Asn y Lys447 por Glu (Yoshida y cols, 1991).

1.9.1.2 Topoisomerasa IV

La mayoría de las mutaciones descritas hasta la fecha se han encontrado en la región situada entre los aminoácidos 64 y 103 de *parC* (ARTVGDVVLGKYHPHGDSACYEAMVLMAQPFSYRYPLVDGQ), y los aminoácidos 420 y 441 en *parE* (DSAGGSAKQARDREYQAIMPLK).

Estudios anteriores han demostrado que estas enzimas no son tan sensibles a las quinolonas como la ADN girasa, y por tanto, se considera un blanco secundario para las quinolonas en gramnegativos (Hopkins y cols, 2005). Las mutaciones en *parC* y *parE* se han encontrado, hasta la fecha, junto con mutaciones en *gyrA* (Everett y cols, 1996; Fendukly y cols, 2003; Komp y cols, 2003; Sáenz y cols, 2003), sugiriendo que las mutaciones en la topoisomerasa IV no ocurrían a menos que la sensibilidad de la ADN girasa a las fluorquinolonas haya sido reducida, por mutaciones de la ADN girasa (Everett y cols, 1996; Hopkins y cols, 2005). Por tanto, las mutaciones en *parC* y *parE* desempeñan

un papel importante en la formación de cepas altamente resistentes, debido a la homología entre las subunidades de la ADN girasa y topoisomerasa IV (los codones 81, 83, 87 en el QRDR del *gyrA*, corresponden a los codones 78, 80 y 84 en *parC*) (Hopkins y cols, 2005).

En la tabla 6 se muestran las mutaciones detectadas en los genes de la ADN girasa y topoisomerasa IV de *E. coli*.

Tabla 6: Mutaciones detectadas en los genes de la ADN girasa y topoisomerasa IV de *E. coli* (Hopkins y cols, 2005)

GENES	POSICIÓN CODÓN	SUSTITUCIÓN		
<i>gyrA</i>	Ala51	Val		
	Ala67	Ser		
	Gly81	Cys Asp		
	Asp82	Gly		
	Ser83		Leu Trp Ala Val	
			Ala84	Pro Val
			Asp87	
	Gln106	His Arg		
	Ala196	Glu		
	Asp426	Asn		
	<i>gyrB</i>	Lys447	Glu	
<i>parC</i>		Ala56	Thr	
	Ser57	Thr		
	Gly78		Asp Lys	
			Ser80	Arg Ile
	Ser83	Leu		
	Glu84		Gly Lys Val	
			Ala108	Val
	<i>parE</i>	Leu416	Phe	
Ile444		Phe		
Leu445		His		
Ser458		Thr		
Glu460		Asp		
Ile464		Phe		
Ile529		Leu		

1.9.2. Resistencia por alteraciones en la permeabilidad bacteriana

Las quinolonas son moléculas hidrofílicas, que atraviesan la membrana externa de bacterias gramnegativas, a través de los canales de porinas OmpF y OmpC, para penetrar en el interior de la célula.

Este mecanismo de resistencia, que generalmente se da a la vez que la sobreexpresión de sistemas de expulsión activa, sólo se ha descrito en bacterias gramnegativas, y consiste en disminuir o inhibir la expresión de genes que codifican dichas porinas (Chen y cols, 2003; Martínez-Martínez y cols, 2002).

El papel que ejercen los canales de porinas en la difusión de las quinolonas hidrofílicas a través de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, quedó respaldado por la observación de que numerosos mutantes MAR (del inglés “multiple antibiotic resistant”) que mostraban resistencias a estos agentes, tenían en común la reducción del número de OmpF, la principal y mayor proteína de las porinas de membrana externa de *E. coli*. La resistencia a quinolonas que presentan los mutantes MAR, se asocia a menudo a resistencias cruzadas a muchos otros antibióticos sin relación estructural como betalactámicos, tetraciclinas, cloranfenicol, etc. Los mutantes MAR también son resistentes a disolventes orgánicos tales como el ciclohexano (Hopkins y cols, 2005). De esto se deduce que las mutaciones en los locus *marA* confieren resistencia a varios grupos de antibióticos, entre ellos las quinolonas. Las mutaciones que afectan a la permeabilidad confieren niveles de resistencia bajos.

En *E. coli*, el operón *mar* está localizado a 34 minutos en el cromosoma. Dicho operón consiste en dos unidades transcripcionales (*marC*, de función desconocida y *marRAB*, que codifica MarR (supresor), MarA (activador) y MarB (una pequeña proteína

de función desconocida), que son transcritos divergentemente desde el operador central *marO*. En *E. coli* las mutaciones pueden ocurrir en *marR* y *marO*, lo que determina un aumento o expresión constitutiva del operón *mar* (Hopkins y cols, 2005; Komp y cols, 2003; Linde y cols, 2000; Oethinger y cols, 1998). El fenotipo MAR también es inducido por compuestos como tetraciclinas, cloranfenicol, salicilatos y otras sustancias que contengan anillos fenólicos, los cuales mitigan la MarA supresión.

1.9.3. Resistencia mediada por sistemas de expulsión

Los sistemas de expulsión activa tienen principalmente una función fisiológica, estando involucrados en procesos de excreción de metabolitos tóxicos, secundarios e incluso proteínas de captación de nutrientes, como es el caso de los sideróforos (Li y cols, 2004; Sierra, 2005). Estos sistemas se sitúan en la membrana interna.

Dependiendo de la clase a la cual pertenezcan, utilizan como fuente de energía el gradiente de protones o la hidrólisis del ATP.

Existen cinco clases de sistemas de expulsión activa:

1. *MFS* (del inglés, “Major Facilitator Superfamily”): Están constituidos por proteínas que presentan 12 ó 14 segmentos transmembrana, y la fuente de energía que utilizan es el gradiente de protones (Li y cols, 2004; Pao y cols, 1998; Saier y cols, 1999; Sierra, 2005). Este tipo de transportadores se encuentran en todos los tipos celulares. En gramnegativos, generalmente se encuentran asociados a dos proteínas, MFP (del inglés “Membrana Fusion Protein”) y OMP (del inglés “Outer Membrana Protein”). Sus principales sustratos son antibióticos, aniones, etc. Se han descrito en varios microorganismos, entre ellos *E. coli* (*MdfA*, *EmrB*).

2. *SMR* (del inglés “Small Multidrug Resistance”): Constituidos por 4 segmentos transmembrana (Chung y cols, 2001; Li y cols, 2004). Utilizan como fuente de energía el gradiente de protones. Sólo se han descrito en procariontas y no se asocian a proteínas. Los sustratos principales son antibióticos, antisépticos, etc. Se han descrito en *E. coli* (EmrE), entre otros (Sierra, 2005).
3. *RND* (del inglés “Resistance-Modulation cell division family”): Presentan 12 segmentos transmembrana, utilizan el flujo de protones como fuente de energía y se asocian con MFPs y OMPs (Li y cols, 2004; Sierra, 2005). Los sustratos principales son antibióticos, ácidos grasos, etc. Se encuentran en *E. coli* (AcrB, AcrF), *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, etc., y en un plásmido transmisible (Li y cols, 2004).
4. *MATE* (del inglés “Multidrug and Toxic compound Extrusion family”): Presentan 12 segmentos transmembrana, su fuente de energía es el gradiente de protones, y se encuentran en todas las células (Li y cols, 2004; Morita y cols, 1998; Sierra, 2005). Algunos representantes son *Vibrio parahaemolyticus* (NorM) y *E. coli* (YdhE).
5. *Transportadores tipo ABC* (del inglés “ATP-Binding Cassette”): Constituidos por 6 segmentos transmembrana. Utilizan como fuente de energía la hidrólisis del ATP. Sus sustratos son similares a los anteriores. No son muy comunes entre las bacterias, aunque los podemos encontrar, entre otros, en *E. coli* (MacAB) (Fath y cols, 1993; Li y cols, 2004).

Uno de los sistemas de expulsión más conocidos en *E. coli* es el denominado AcrAB, codificado por los genes *acrAB* y parece tener una función fisiológica que consiste en proteger a la célula frente a sales biliares y ácidos grasos, tóxicos habituales del entorno

fisiológico. Este sistema está compuesto por el transportador AcrB y la proteína periplásmica accesoria AcrA, la cual parece aproximar la membrana externa e interna, formando un trímero que interacciona con el monómero AcrB, bombeando así una gran variedad de sustancias, incluida las quinolonas, presumiblemente a través del canal TolC de la membrana externa (Nikaido y cols, 2001).

Es importante destacar que la expresión de los genes *acrAB* aumenta de forma considerable en los mutantes MAR, lo que implica que el locus MarA de *E. coli* regula, no sólo la expresión de la porina OmpF, sino también la expresión de la bomba AcrAB (Helling y cols, 2002; Ma y cols, 1995).

Parece que la simple expresión de bombas de expulsión tiene un efecto limitado sobre la resistencia a fluorquinolonas, pero su expresión basal sí contribuye, de modo notable, a la resistencia causada por otros mecanismos (Rodríguez, 2005).

1.9.4. Resistencia mediada por plásmidos

Una posibilidad con la que se especuló fue la adquisición de genes cromosómicos de la ADN girasa o la topoisomerasa IV con mutaciones de resistencia a quinolonas por parte de plásmidos o elementos móviles (Rodríguez, 2005). Actualmente no se han descrito mecanismos de resistencia mediados por plásmidos en bacterias grampositivas, sin embargo, en 1998 se publicó, por primera vez, la existencia de una cepa clínica de *K. pneumoniae* aislada de un cultivo de orina, que contenía un plásmido con alto rango de hospedador, y cuyos transconjugantes en *E. coli* incrementaban la resistencia a ácido nalidíxico de 4 a 32 mg/l, y a ciprofloxacino de 0.0008 a 0.25 mg/l (Martínez-Martínez y cols, 1998). Este plásmido, denominado pMG252, aumenta de 4 a 8 veces la resistencia

debida a mutaciones definidas en la ADN girasa, porinas o bombas de expulsión activa (Martínez-Martínez y cols, 2003) y facilita la selección de mutantes resistentes a quinolonas por mecanismos que aún no se conocen (Rodríguez, 2005)

Este mecanismo está mediado por un gen plasmídico denominado *qnr* (Rodríguez y cols, 2003; Tran y cols, 2002; Wang y cols, 2003), transmisible por conjugación.

Se ha observado que la resistencia a quinolonas mediada por plásmido, aunque produce resistencia de bajo nivel, también facilita la selección de resistencias de alto nivel a quinolonas. Así, cuando *qnr* se expresa en una cepa deficiente de porinas, las CMI para ciprofloxacino, levofloxacino y moxifloxacino aumentan de 8 a 32 veces, pasando las CMI de estas quinolonas de 0.25-0.5 a 4-8 mg/l (Rodríguez y cols, 2004). Existe un efecto aditivo de los distintos mecanismos de resistencia a quinolonas con la presencia de *qnr* (Rodríguez, 2005; Martínez-Martínez y cols, 2003).

El mecanismo de acción de Qnr se basa en la unión de esta proteína a la ADN girasa (dicha unión no requiere de la presencia del complejo ADN girasa-quinolona-ADN para su formación). Se piensa que la formación del complejo Qnr-ADN girasa ocurre antes del bloqueo de la ADN girasa por parte de la quinolona. Además, se ha observado una reducción en la formación del complejo en presencia de Qnr (Tran y cols, 2005). La presencia de este gen de resistencia se ha descrito en diferentes lugares de la geografía mundial, aunque con una baja prevalencia (Jonas y cols, 2005; Mammeri y cols, 2005; Sierra, 2005; Wang y cols, 2004; Wang y cols, 2003).

Muchos genes de resistencia, como los que codifican betalactamasas plasmídicas, se encuentran localizados dentro de elementos móviles de este tipo, y también dentro de los transposones, lo cual potencia su diseminación (Arduino y cols, 2002; Rodríguez,

2005). Es importante señalar que existe una relación estadísticamente significativa entre la resistencia a quinolonas y betalactámicos (Paterson y cols, 2000), y sea circunstancial o no, pMG252 contiene la betalactamasa de espectro ampliado FOX-5 (Tran y cols, 2002). De esta manera, se establece una vía de corresponsabilidad a dos familias de antimicrobianos, sobre todo en cepas con algún mecanismo de resistencia a quinolonas como la pérdida de porinas, donde la presencia de *qnr* facilita alcanzar altos niveles de resistencia (Rodríguez, 2005).

1.10. MUTACIONES ADAPTATIVAS Y RESISTENCIA

Generalmente, se ha asociado la resistencia bacteriana a quinolonas a la selección de mutaciones cromosómicas preexistentes en una población bacteriana dada, denominándose a este tipo de sucesos mutacionales “mutaciones relacionadas con el crecimiento”. Junto a ello, cada vez hay más datos sobre otro tipo de sucesos mutacionales que ocurren al exponer las células bacterianas a un proceso selectivo. Este tipo de mutación se denomina “independiente del crecimiento celular” o también “mutación adaptativa” (González, 2004).

Las mutaciones adaptativas se caracterizan porque ocurren en células sin dividirse o dividiéndose lentamente y por estar bajo una determinada presión selectiva. Además, parece ser que sólo producen fenotipos que favorecen el crecimiento de las células en las condiciones selectivas en que se encuentran (Janion, 2001). Los mecanismos para explicar las mutaciones adaptativas siguen siendo aún desconocidos. No obstante, se sugiere que el diferente espectro mutacional de células en crecimiento y células sin dividirse (mutaciones

adaptativas) son un reflejo de actividades diferenciales de los sistemas de reparación (González, 2004; Janion, 2001).

Experimentalmente se ha descrito la aparición de mutaciones adaptativas *in vitro*, al tratar *E. coli* con ciprofloxacino. Las primeras colonias de mutantes espontáneos en aparecer son probablemente el resultado de mutaciones preexistentes en la población inicial, mientras que las colonias de mutantes que van apareciendo desde unos pocos días hasta aproximadamente un mes de incubación, serían consecuencia de mutaciones adaptativas (González, 2004).

1.11. RESISTENCIA A QUINOLONAS, UN PROBLEMA EPIDEMIOLÓGICO

Si bien la relación entre el consumo de antibióticos en humanos y la aparición de bacterias resistentes a estos fármacos es compleja, y en ocasiones difícil de establecer, parece claro que el tratamiento con un antibiótico destruye la población de bacterias sensibles y selecciona una nueva población capaz de resistir la acción del antibiótico. Son múltiples los factores que condicionan la expresión y el grado de la asociación consumo-resistencia; entre ellos, la coselección de resistencia, la diseminación epidémica de clonas, las características propias de cada clase de antibiótico y de cada especie bacteriana, y el uso de antibióticos en veterinaria como tratamiento o como promotores de crecimiento en animales de granja (Oteo y cols, 2004).

Las quinolonas son la tercera familia de antibióticos más consumidos en España después de penicilinas y macrólidos. Desde 1997 a 2002 se ha producido un incremento constante de su consumo extrahospitalario del 20%, mientras que el consumo total extrahospitalario de antibióticos ha descendido un 9% en el mismo periodo (Oteo y cols,

2004). Por otra parte, España tiene una de las tasas más altas de resistencia a quinolonas de Europa en determinados patógenos; por ejemplo, la resistencia a ciprofloxacino en aislados en sangre de *E. coli* alcanzó el 19% en 2002, sólo superada por Portugal (Oteo y cols, 2004). El aumento de la prescripción de fluorquinolonas para infecciones del tracto urinario en Holanda se asoció de manera significativa con el aumento de la resistencia a norfloxacino en *E. coli*, independientemente de otros factores como la edad, sexo o el origen del aislado (Goettsch y cols, 2000).

El consumo de fluorquinolonas en España aumentó de 1,26DDD/1000 hab/día en 1987 a 2,4 DDD/1000 hab/día en 2000 (Lázaro y cols, 2002; Ruiz y cols, 2000). En este contexto, la resistencia a fluorquinolonas en *E. coli* pasó del 8,3% al 18% entre 1992 y 1996 en cepas aisladas de sangre en un hospital de Barcelona (Garau y cols, 1999). España está entre los cinco países más consumidores; Italia y Portugal están a la cabeza con más de 3,5 DDD/1000 hab/día mientras que en Suecia, Holanda y Reino Unido no superan 1 DDD/1000 hab/día. En relación con el principio activo utilizado también se observan importantes variaciones, así más del 50% del consumo de quinolonas en Italia se debe al uso de levofloxacino mientras que en Portugal el ciprofloxacino es la quinolona más utilizada (Oteo y cols, 2004). Este aumento de la resistencia a fluorquinolonas ha ocasionado fracasos terapéuticos con estos antibióticos.

En *E. coli* aislados de orina de pacientes extrahospitalarios de España la resistencia global a ácido nalidíxico es del 20-30% y a las fluorquinolonas del 10-20%, habiéndose incrementado significativamente en los últimos años (Alós y cols, 1997). Sin embargo, es muy probable que estos datos estén sesgados, ya que los laboratorios de microbiología no reciben muchas muestras de orina de infecciones urinarias no complicadas, pero sí reciben

un importante porcentaje de muestras de orina de recurrencias y de infecciones complicadas, en las que se aíslan las bacterias más resistentes (Alós, 2003).

La pérdida progresiva de sensibilidad a quinolonas debidas a la adquisición de mutaciones aditivas tiene importantes consecuencias de tipo epidemiológico. El tratamiento con fluorquinolonas de infecciones producidas por microorganismos con alguna mutación inicial en sus topoisomerasas tiene un riesgo elevado de seleccionar resistencia de más alto nivel (aparición de nuevas mutaciones que se suman a la preexistente).

Se ha definido la concentración preventiva de mutaciones (CPM) como la concentración mínima de antibiótico necesaria para destruir todas las mutantes que presenten una primera mutación (en las ADN girasas en gramnegativos o en las topoisomerasas IV en grampositivos) que se generan con un inóculo bacteriano de 10^{10} células (Dong y cols, 1999). Con concentraciones superiores a la CPM la probabilidad de que se seleccionen cepas resistentes se reduce a la aparición de dos o más mutaciones simultáneas en una misma cepa, hecho muy infrecuente que sólo ocurre con inóculos extremadamente altos ($> 10^{14}$ células) (Soriano, 2001).

Las fluorquinolonas presentan un efecto “dependiente de la concentración”, por lo que la cantidad total de fármaco administrado es el principal factor determinante de su eficacia, tanto clínica como microbiológica (Craig, 1998). El cociente inhibitorio expresado como la concentración sérica libre máxima/CMI, y el área bajo la curva concentración sérica-tiempo (AUC)/CMI son los parámetros que mejor se correlacionan con la eficacia de estos antibióticos. Cifras elevadas de ambos se asocian a una menor probabilidad de seleccionar mutantes resistentes (Oteo y cols, 2004).

Las quinolonas, al igual que otros antibióticos, no sólo ejercen su capacidad selectora de resistencias en el ser humano; el uso de antibióticos en animales, con fines terapéuticos o como promotores de crecimiento, selecciona igualmente resistencias que posteriormente pueden diseminarse al ser humano. Así, por ejemplo, el uso de enrofloxacin en animales de granja puede explicar el hecho de que se encuentren cepas de *E. coli* resistentes a fluorquinolonas en niños que no consumen este grupo de antibióticos (Garau y cols, 1999). En un estudio realizado se observó que, el 11% de las cepas españolas de *E. coli* aisladas de sangre de niños menores de 14 años fueron resistentes a ciprofloxacino (Oteo y cols, 2002; Sierra, 2005).

1.12. RESISTENCIA A QUINOLONAS EN AISLADOS PRODUCTORES DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEEs)

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEEs) son enzimas que confieren resistencia a todas las penicilinas, cefalosporinas de primera a cuarta generación y monobactámicos (aztreonam), pero no son activas frente a ceftazidima, carbapenemas e inhibidores de betalactamasas (Bradford, 2001). Están codificadas por genes plasmídicos, pero además forman parte frecuentemente de transposones o integrones, todo lo cual facilita su asociación con otros determinantes genéticos de resistencia transferibles, como los que confieren resistencia a cotrimoxazol, aminoglucósidos, tetraciclinas y otros (Lautenbach y cols, 2001a).

Se han descrito varios tipos. Las BLEEs tipo TEM y SHV, derivan, por mutaciones puntuales, de las betalactamasas plasmídicas clásicas del grupo 2b de la clasificación de Bush y cols (1995): TEM-1, TEM-2 y SHV-1. Las sustituciones en los aminoácidos que

ocurren en la secuencia de la enzima TEM-1 se producen en un número limitado de posiciones. La combinación de estos cambios de aminoácidos produce la aparición de los fenotipos BLEEs, como la capacidad de hidrolizar oxiiimino-cefalosporinas como ceftazidima y cefotaxima. Por su parte, la mayor parte de las variantes SHV poseen un fenotipo BLEE que está generado por la sustitución de un aminoácido serina en lugar de glicina en la posición 238 de la secuencia de SHV-1. Esta mutación está asociada con un gran incremento de la CMI de cefotaxima y un incremento moderado en la CMI de ceftazidima respecto a las CMIs de SHV-1 para estos mismos antibióticos (Bradford, 2001).

Otro grupo de BLEEs son las denominadas CTX-M, caracterizadas por hidrolizar mejor cefuroxima, cefotaxima y cefepime, que ceftazidima, en comparación con los tipos TEM o SHV. Otra característica de estas enzimas es que son más sensibles a tazobactam que a otros inhibidores (Bradford, 2001).

Hasta ahora se han descrito, entre las BLEEs, más de 90 enzimas tipo SHV, 155 TEM (<http://www.lahey.org/studies/webt.asp>) (consulta 7/11/2006) y más de 58 CTX-M.

Las betalactamasas tipo OXA son otro grupo de BLEEs, en este caso pertenecientes a la clase funcional 2d de la clasificación de Bush y cols (1995). Han sido descritas principalmente en *P. aeruginosa*, inicialmente en Turquía y Francia (Danel y cols, 1999). Las betalactamasas tipo OXA confieren resistencia a ampicilina y cefalotina y se caracterizan por su alta capacidad hidrolítica sobre oxacilina y cloxacilina, y son pobremente inhibidas por ácido clavulánico.

Existen otras BLEEs (BES-1, PER-1, PER-2, VEB-1...) que no se han podido clasificar dentro de ninguno de los grupos anteriores. Todas estas enzimas confieren

resistencia a las oximiino-cefalosporinas, especialmente a ceftazidima, y a aztreonam. Muestran cierta similitud con cefalosporinasas cromosómicas de *Bacteroides* spp., pudiendo ser éste su origen filogenético (Rossolini y cols, 1999).

En España, los primeros microorganismos productores de BLEEs se describieron en 1988, aunque en estudios retrospectivos se identificaron en bacterias aisladas en Madrid entre 1985 y 1987 fenotipos de sensibilidad compatibles con la producción de BLEEs (Baquero y cols, 1988). Posteriormente, destacan los estudios realizados sobre el brote ocurrido en el hospital de Bellvitge (Barcelona) entre 1993 y 1995, durante el cual los aislados de *K. pneumoniae* productores de BLEEs supusieron el 35% del total de aislamientos de esta especie (Peña y cols, 1998).

En nuestro país se han descrito diferentes tipos de BLEEs: TEM-4, TEM-10, TEM-12, TEM-24, TEM-27, TEM-54, SHV-2, SHV-5a, SHV-12, CTX-M1, CTX-M3, CTX-M7, CTX-M9, CTX-M10, CTX-M14 y CTX-M15, entre otras (Valverde y cols, 2004). Sobretudo ha sido frecuente la descripción de BLEEs tipo CTX-M en aislados de *E. coli* (Oliver y cols, 2001; Sabaté y cols, 2000).

Su prevalencia ha ido aumentando a lo largo de los últimos años. Se detectan más en las bacterias aisladas de enfermos a los que se ha administrado antibióticos durante largos periodos de tiempo, con estancia en unidades de cuidados intensivos, ingresados en servicios de neonatología, sometidos a cirugía y ventilación mecánica, con hospitalización prolongada, afectados de enfermedades graves, que hayan recibido previamente cefalosporinas o quinolonas, con instrumentación o cateterización invasora, etc., es decir, en sujetos con enfermedades de base y factores de riesgo, con algún grado de inmunosupresión, que son vulnerables a la infección y , por tanto, reciben antibióticos de

amplio espectro, sobre todo cefalosporinas y fluorquinolonas, y que por otro lado, están durante largos periodos de tiempo en áreas donde las bacterias productoras de BLEEs están presentes (Gobernado, 2005).

En más del 90% de los hospitales españoles se detectan este tipo de enzimas. Por comunidades, las áreas con mayor prevalencia son Madrid, Cataluña, Valencia y Andalucía, del 7% al 13%; Galicia, País Vasco y Navarra con el 5% al 6%; seguidas de Castilla-León, Castilla-La Mancha y Murcia con el 3% a 4%, y en menor proporción el resto de las comunidades (Gobernado, 2005).

Además, distintos estudios nacionales confirman que la prevalencia de estos microorganismos está adquiriendo mayor importancia en el ámbito extrahospitalario, así como que en España parecen prevalecer las enzimas del grupo CTX-M (64%), con una frecuencia sensiblemente superior a las de los grupos TEM (18%) y SHV (18%) (Rodríguez-Baño y cols, 2004).

Los datos disponibles, tanto en España, como de otros países europeos, sugieren dos tendencias claras: por una parte, un rápido incremento de las enzimas del grupo CTX-M frente a las de origen TEM y SHV que predominaron inicialmente, y por otra parte una prevalencia creciente en el medio extrahospitalario. Esta situación del medio extrahospitalario se asocia preferentemente a infecciones urinarias, pero puede encontrarse también en infecciones más graves (Muñoz, 2004).

Entre los últimos estudios realizados hay que destacar los que se han llevado a cabo en 125 aislados clínicos de *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca* productores de BLEEs procedentes de muestras clínicas obtenidas en el Hospital “San Cecilio” de Granada. Es

importante analizar qué características demográficas o epidemiológicas presentan estas betalactamasas en nuestro medio (Sorlózano, 2004):

1. Distribución por especies bacterianas: De entre los aislados productores de BLEEs el 92% correspondieron a la especie *E. coli*, 6% a *K. pneumoniae* y 2% a *K. oxytoca*.
2. Distribución por sexos: 69% de mujeres entre los aislados productores de BLEEs.
3. Distribución por el origen de las muestras: El 74% de los aislados productores de BLEEs fueron de origen extrahospitalario. Las muestras extrahospitalarias procedieron fundamentalmente de centros de Atención Primaria y de consultas hospitalarias (97,8%).
4. Distribución por tipo de muestras: Hubo un claro predominio de la orina entre los aislados productores de BLEEs (86,4%) frente a otras muestras. Este claro predominio de la orina se debe a que ésta es la muestra más frecuente recibida en los laboratorios de microbiología, la infección de orina es más frecuente en mujeres que en varones y *E. coli* es la enterobacteria más frecuentemente implicada en las ITUs. Así, el 65% de los aislados productores de BLEEs procedieron de estudios de infección urinaria en mujeres.
5. Cabe destacar que el 10,2% de los aislados pertenecientes a las especies en estudio presentaron una BLEE, predominando *E. coli* (9,4% del total de estas especies), el origen extrahospitalario de las muestras (79,6% de los aislados productores) y la orina como muestra predominante (90,7% de los aislados productores de BLEEs).

Algunos autores han insistido en el posible papel de antibióticos distintos de las cefalosporinas en la aparición y diseminación de estos microorganismos. Se ha observado una asociación frecuente entre la presencia de BLEEs y la resistencia a fluorquinolonas en aislados de *K. pneumoniae*, a pesar de que la codificación de la resistencia se ubica en el caso de las BLEEs en un plásmido, y en el de las quinolonas en el cromosoma (Paterson y cols, 2000). Sin embargo, Martínez-Martínez ya demostró la transferencia de resistencia a fluorquinolonas a través de plásmidos en cepas de *K. pneumoniae* (Martínez-Martínez y cols, 1998).

Es importante identificar cuáles son los factores de riesgo asociados a la resistencia a fluorquinolonas en microorganismos poseedores de BLEEs, porque así se podría preservar la utilidad de estos antibióticos en el uso de infecciones producidas por estas enzimas, reducir la dependencia a carbapenemas y limitar la aparición de microorganismos resistentes a estos últimos (Lautenbach y cols, 2001b). Según este mismo estudio, la resistencia a fluorquinolonas en *E. coli* y *K. pneumoniae* productores de BLEEs es más frecuente entre los aislados de pacientes que han recibido fluorquinolonas en los 30 días previos a la infección y también entre los pacientes que proceden de una residencia de larga estancia. Se desprende también de este estudio que la resistencia a aminoglucósidos está significativamente asociada con la resistencia a quinolonas en microorganismos productores de BLEEs, lo cual puede ser debido a que el uso de aminoglucósidos puede causar alteración de la permeabilidad de membrana y eso puede ayudar a la resistencia a fluorquinolonas.

Cuando los microorganismos productores de BLEEs son sensibles a las fluorquinolonas, éstos son antibióticos útiles en su tratamiento (Karas y cols, 1996). Sin

embargo, estudios recientes demuestran que hasta un 55% de estos aislados son resistentes a fluorquinolonas (Lautenbach y cols, 2001b), alcanzando en el Hospital “San Cecilio” de Granada cifras superiores al 70% (Sorlózano, 2004)

2. OBJETIVOS

Como se ha dicho anteriormente, cuando los microorganismos productores de betalactamasas de espectro extendido son sensibles a quinolonas, éstos son antibióticos útiles en su tratamiento. Sin embargo, la elevada prevalencia de resistencias a quinolonas en aislados productores de BLEEs ha reducido notablemente las posibilidades terapéuticas, haciendo que aumente la dependencia a los antibióticos carbapenémicos, con el consiguiente problema de aparición de microorganismos resistentes a estos últimos.

La descripción, en nuestro medio, de unas tasas elevadas de resistencia a quinolonas entre aislados clínicos de *Escherichia coli* productores de BLEEs hace interesante determinar cuáles son los mecanismos moleculares implicados.

Por todo lo anteriormente expuesto, nos hemos planteado los siguientes objetivos en este trabajo:

1. Investigar, en aislados clínicos de *Escherichia coli* productores de betalactamasas de espectro extendido, la presencia de mutaciones en las regiones que codifican resistencia a quinolonas en los genes cromosómicos *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*; así como los cambios en las proteínas codificadas por los mismos.
2. Relacionar la presencia de las mutaciones anteriores con los cambios en la concentración mínima inhibitoria de ciprofloxacino y levofloxacino.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. SELECCIÓN DE LOS AISLADOS BACTERIANOS

Se estudiaron 30 aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos a partir de muestras clínicas procesadas en el Servicio de Microbiología del Hospital Universitario “San Cecilio” de Granada y que forman parte de un estudio más amplio que se está realizando sobre 115 aislados clínicos de esta especie productores de betalactamasas de espectro extendido (BLEEs); algunos de cuyos resultados han sido previamente publicados.

De entre los resultados principales de dichos estudios cabe destacar los siguientes:

1. Elevada presencia, en nuestro medio (Hospital “San Cecilio” y su área sanitaria), de aislados clínicos de *E. coli* productores de BLEEs, con una prevalencia del 14% en esta especie (Sorlózano y cols, 2004a) y el 10,2% si consideramos además las especies *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*. Estos datos son reflejo de la actual tendencia ascendente de las cifras descritas en diversas publicaciones nacionales e internacionales.
2. Presencia de BLEEs de los tipos CTX-M9 y SHV con un predominio importante de la primera (Sorlózano y cols, 2004b). Distribución que es coincidente con los estudios realizados en otros centros hospitalarios del país en los que se ha descrito aumento de la presencia de enzimas del grupo CTX-M.
3. La mayor parte se aislaron a partir de muestras de origen extrahospitalario (77,4%), con un predominio de la orina (86,1%) y de enfermos de género femenino (Sorlózano y cols, 2006a).
4. Los estudios de clonalidad de los aislados hospitalarios de *E. coli* pusieron de manifiesto la ausencia de una distribución clonal, incluso entre aislados productores de la misma BLEE y procedentes del mismo servicio hospitalario (Sorlózano y cols, 2006a).

5. Los aislados clínicos estudiados mostraron una resistencia asociada importante a fluorquinolonas: El 73% presentaron algún grado de resistencia a levofloxacino y el 72,2% a ciprofloxacino (Sorlózano, 2004).

Por tanto, de los 115 aislados anteriores, se seleccionaron treinta, que formaron parte del actual estudio. Estos 30 aislados se caracterizaron por:

- Todos fueron aislados clínicos de la especie *E. coli*.
- Todos ellos poseyeron una enzima tipo BLEE, que les confiere resistencia a antibióticos betalactámicos, a excepción de las combinaciones de betalactámicos con inhibidores de betalactamasas y carbapenémicos.
- Diecinueve aislados fueron portadores de una enzima CTX-M9 y 11 fueron portadores de una enzima SHV.
- Todos presentaron resistencia a fluorquinolonas según un procedimiento previo de microdilución en caldo Mueller-Hinton.

En la tabla 7 aparecen los valores de Concentración Mínima Inhibitoria y Categoría Clínica para ciprofloxacino y levofloxacino obtenidos mediante microdilución en caldo Mueller-Hinton en los 30 aislados de *E. coli* productores de BLEEs, junto al tipo de enzima detectado en cada uno de ellos.

Tabla 7: CMI y categoría clínica para ciprofloxacino y levofloxacino

Aislado	Tipo BLEE	CMI		CC	
		Ciprofloxacino	CC Ciprofloxacino	Levofloxacino	CC Levofloxacino
1	CTX-M9	16	R	8	R
25	CTX-M9	8	R	4	R
26	CTX-M9	32	R	16	R
41	CTX-M9	32	R	8	R
46	SHV	64	R	16	R
58	CTX-M9	4	R	4	I
65	CTX-M9	8	R	8	R
101	SHV	8	R	8	R
102	SHV	8	R	8	R
115	CTX-M9	8	R	4	I
140	CTX-M9	4	R	4	I
141	CTX-M9	8	R	4	I
153	CTX-M9	16	R	8	R
159	CTX-M9	64	R	16	R
179	SHV	64	R	16	R
180	SHV	32	R	16	R
185	CTX-M9	32	R	16	R
189	SHV	128	R	16	R
191	CTX-M9	32	R	16	R
195	CTX-M9	64	R	16	R
200	CTX-M9	128	R	32	R
207	CTX-M9	64	R	16	R
217	SHV	16	R	8	R
219	SHV	16	R	8	R
224	SHV	128	R	8	R
226	SHV	32	R	8	R
232	CTX-M9	64	R	16	R
237	CTX-M9	32	R	32	R
245	CTX-M9	32	R	16	R
255	SHV	8	R	8	R

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria (en mg/l)

CC: Categoría clínica según NCCLS, 2004

3.2. AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES *gyrA, gyrB, parC* Y *parE* MEDIANTE PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, polymerase chain reaction) (Mullis y cols, 1986) es una técnica que permite la amplificación de un fragmento de ADN específico mediante síntesis enzimática *in vitro* a partir de mínimas cantidades de material de partida. La técnica copia la doble cadena de ADN consiguiendo, por repetición del proceso, una amplificación exponencial del material genético. Usa dos oligonucleótidos sintéticos (complementarios a los extremos de la secuencia diana y en sentido antiparalelo uno respecto a otro) como cebadores o iniciadores (primers) de una reacción de replicación catalizada por una DNA polimerasa termoestable. La amplificación es el resultado de la repetición de una serie de ciclos compuestos de tres fases: desnaturalización (ruptura, mediante la aplicación de temperatura elevada seguida de un enfriamiento rápido, de los puentes de hidrógeno que mantienen la doble cadena de ADN, dando lugar a dos cadenas sencillas sobre las cuales pueda actuar la DNA polimerasa), hibridación (se hace descender la temperatura para que los primers puedan unirse específicamente a las secuencias complementarias en el ADN diana) y elongación (la Taq-DNA polimerasa utiliza los dNTPs presentes en el medio para sintetizar la cadena complementaria a partir del cebador hibridado con su secuencia diana en sentido 5' a 3'). Antes de comenzar los ciclos se programa una fase de desnaturalización inicial larga, con el fin de asegurar que todo el ADN (fragmento diana y primers) quede en forma monocatenaria, y después del último ciclo de PCR se suele realizar una elongación final prolongada con el fin de terminar todas las elongaciones parciales en curso.

Las nuevas cadenas de ADN, producidas en cada ciclo, sirven de molde en el ciclo siguiente, por lo que la repetición de un ciclo de PCR produce una amplificación exponencial del material de partida igual a 2^n , siendo “n” el número de ciclos realizados.

Una vez finalizada la PCR la detección del producto amplificado se realiza mediante electroforesis en gel de agarosa. Los fragmentos de ADN se separan según su tamaño. El gel se tiñe con bromuro de etidio, que se une al ADN de cadena doble de forma inespecífica y se visualiza con luz ultravioleta.

En los 30 aislados se realizaron cuatro procedimientos de PCR para amplificar las regiones “QRDR” (Apéndice I) de los genes *gyrA* (189-pb), *gyrB* (447-pb), *parC* (264-pb) y *parE* (266-pb), respectivamente, siguiendo para ello un procedimiento previamente descrito por Everett y cols (1996) y Vila y cols (1994).

3.2.1. Extracción del ADN bacteriano

Las muestras se sembraron en agar-sangre e incubaron al aire 24 horas a 37° C. Se puso 1 ml de agua destilada en cada eppendorf (uno por muestra), y en cada uno de ellos se resuspendieron varias colonias de la muestra. Los eppendorf se pusieron 15 minutos en un baño a 100° C y posteriormente se centrifugaron 15 minutos a 15000 r.p.m.

3.2.2. Amplificación del ADN bacteriano

Se utilizó una mezcla de PCR con buffer (1x), $MgCl_2$ (3 mM), dNTPs (200 μ M), primers (0,25 μ M) y Taq polimerasa (1 U) (Roche, Alemania) en un volumen final de 50 μ l (Everett y cols, 1996).

Los primers usados para cada determinación (Tib Molbiol, Alemania) se muestran en la tabla 8.

Tabla 8: Primers usados para la detección por PCR de los genes *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* (Everett y cols, 1996) y Vila y cols. (1994).

Gen	Referencia	Nucleótidos		Primers
QRDR <i>gyrA</i>	Everett y cols, 1996	166 a 355	<i>gyrA</i> -F	5'-ACGTACTAGGCAATGACTGG-3'
			<i>gyrA</i> -R	5'-AGAAGTCGCCGTCGATAGAAC-3'
QRDR <i>gyrB</i>	Vila y cols, 1994	995 a 1442	<i>gyrB</i> -F	5'-CTCCTCCCAGACCAAAGACA -3'
			<i>gyrB</i> -R	5'-TCACGACCGATACCACAGCC -3'
QRDR <i>parC</i>	Everett y cols, 1996	137 a 401	<i>parC</i> -F	5'-TGTATGCGATGTCTGAACTG-3'
			<i>parC</i> -R	5'-CTCAATAGCAGCTCGGAATA-3'
QRDR <i>parE</i>	Everett y cols, 1996	1232 a 1498	<i>parE</i> -F	5'-TACCGAGCTGTTTCCTTGTGG-3'
			<i>parE</i> -R	5'-GGCAATGTGCAGACCATCAG-3'

Las condiciones empleadas en el termociclador (Eppendorf Mastercycler personal) fueron (Everett y cols, 1996):

94°C 5 minutos (desnaturalización inicial larga)

30 ciclos de:

94°C 1 minutos (desnaturalización)

55°C 1 minutos (hibridación)

72°C 1 minutos (elongación)

72°C 10 minutos (elongación final prolongada)

3.2.3. Electroforesis en gel de agarosa

Se realizaron geles de agarosa al 0,7% en un tampón de Tris-Borato-EDTA 0,5x (Tris 0,1 M; ácido bórico 0,08 M; EDTA 0,1 mM) con bromuro de etidio y en ellos se depositaron las muestras, tras lo cual el gel se sometió a electroforesis a 90 V durante 30 minutos y se visualizó mediante luz ultravioleta.

Las muestras se corrieron en el gel junto a un marcador de peso molecular con un rango entre 19 y 1140-pb (Roche Diagnostics, España).

3.3. PURIFICACIÓN DEL PRODUCTO DE PCR

Una vez obtenido el amplificado éste debe secuenciarse. Previo a la secuenciación es necesario realizar la purificación del producto de PCR, pues éste posee restos de primers, dNTPs y enzima, procedentes de la amplificación, que pueden interferir en la reacción de secuenciación. Para ello se pueden utilizar kits de filtración o minicolumnas.

Se utilizó el sistema Wizard[®] PCR Preps DNA Purification System de Promega (Madison, E.E.U.U.), que consta de los siguientes pasos fundamentales para cada muestra:

1. Mezclar 100 µl de Direct PCR Purification Buffer con 50 µl del producto de PCR.
2. Añadir 1 ml de Purification Resin y mezclar.
3. Filtrar el contenido a través de una minicolumna.
4. Añadir 2 ml de isopropanol al 80% y filtrarlos a través de la minicolumna.
5. Centrifugar la minicolumna a 10.000 rpm durante 2 minutos.
6. Añadir 50 µl de agua desionizada a la minicolumna.
7. Centrifugar la minicolumna a 10.000 rpm 20 segundos a temperatura ambiente.

8. Conservar el ADN a -20°C o menos.

Así, al final de la purificación, los productos de PCR deben quedar resuspendidos en agua. Hay que evitar el TE (Tris-EDTA) porque éste puede interferir en la secuenciación.

3.4. CUANTIFICACIÓN DEL AMPLIFICADO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE LUZ ULTRAVIOLETA

La obtención de un buen resultado de secuenciación está condicionado a una cuantificación precisa del producto de PCR. Poca cantidad de ADN en la reacción de secuenciación produce datos de secuencias con baja señal, ruido de fondo, errores y ambigüedades. Demasiado ADN también puede producir efectos similares. Por lo tanto, la cuantificación de la muestra es un paso previo muy importante para la secuenciación.

Se cuantificó la concentración de ADN amplificado en cada muestra mediante espectrofotometría de luz ultravioleta utilizando el sistema SmartSpecTM Plus Spectrophotometer (Bio-Rad, España) (figura 18).

Procedimiento:

1. Seleccionar en el espectrofotómetro el tipo de material que queremos detectar. En nuestro caso, ADN de cadena doble (dsDNA). De esta forma el espectrofotómetro se ajusta automáticamente a la longitud de onda necesaria para la detección (260 nm, longitud de onda del espectro ultravioleta). A esta longitud de onda un valor de densidad óptica (D.O.) de la unidad (1,0) equivale a 50,00 ng/ml de ADN de cadena doble.
2. Indicar el factor de dilución de la muestra que vamos a usar (1:20).

3. Introducir una celdilla de cuarzo con 100 μ l de agua desionizada (blanco) para ajustar el sistema a cero.
4. Depositar 95 μ l de agua desionizada en una nueva celdilla de cuarzo, adicionar 5 μ l de amplificado de ADN y mezclar (dilución de la muestra 1:20).
5. Introducir la celdilla con la mezcla en el espectrofotómetro y leer la DO de la muestra a 260 nm.

Automáticamente el sistema calcula la concentración de ADN a partir de los datos obtenidos: La cantidad de ADN (en ng/ml) se calcula multiplicando el valor de la DO obtenida a 260 nm por 50 (concentración de ADN que equivale a 1,0 DO a 260 nm) y por 20 (factor de dilución).

Figura 18: SmartSpec™ Plus Spectrophotometer



3.5. SECUENCIACIÓN DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES *gyrA, gyrB, parC* Y *parE*

La muestra para la secuenciación debe contener el ADN amplificado (y purificado) y el primer (en este caso se utilizó uno de los dos primers usados para cada PCR) en agua desionizada, según las siguientes cantidades para un producto de PCR de entre 200 y 500-pb: 10 ng de ADN y 6,4 pmol de primer, en un volumen final de 12 µl.

La alícuota fue posteriormente enviada al Instituto “López Neyra” de Granada, perteneciente al CSIC (Centro Superior de Investigaciones Científicas), donde se realizó un procedimiento de secuenciación automática capilar.

La mayoría de los métodos de secuenciación automática utilizados actualmente son modificaciones del método desarrollado por Sanger y cols (1977). En este método, el ADN que va a ser secuenciado funciona como un molde para la síntesis enzimática de un nuevo ADN que comienza en un sitio definido por la unión de un primer. En la reacción se utiliza una mezcla de desoxinucleótidos (dNTPs) y didesoxinucleótidos (ddNTPs) a unas concentraciones que crean una probabilidad finita de que un didesoxinucleótido se incorpore en lugar del correspondiente desoxinucleótido en cada posición de la cadena que está siendo sintetizada.

La incorporación de un didesoxinucleótido bloquea la elongación de la cadena. La incorporación al azar de un ddNTP en competición con el dNTP correspondiente, implica la formación de una mezcla de cadenas de distintas longitudes, todas ellas empezando en el extremo 5' y acabando en todas las diferentes posiciones posibles donde un ddNTP puede incorporarse en lugar de un dNTP. La identidad del nucleótido que termina la cadena en cada posición se puede determinar con una única reacción de elongación combinando los 4

didesoxinucleótidos (ddATP, ddCTP, ddTTP y ddGTP) pero marcando cada uno de estos específicamente con un fluorocromo.

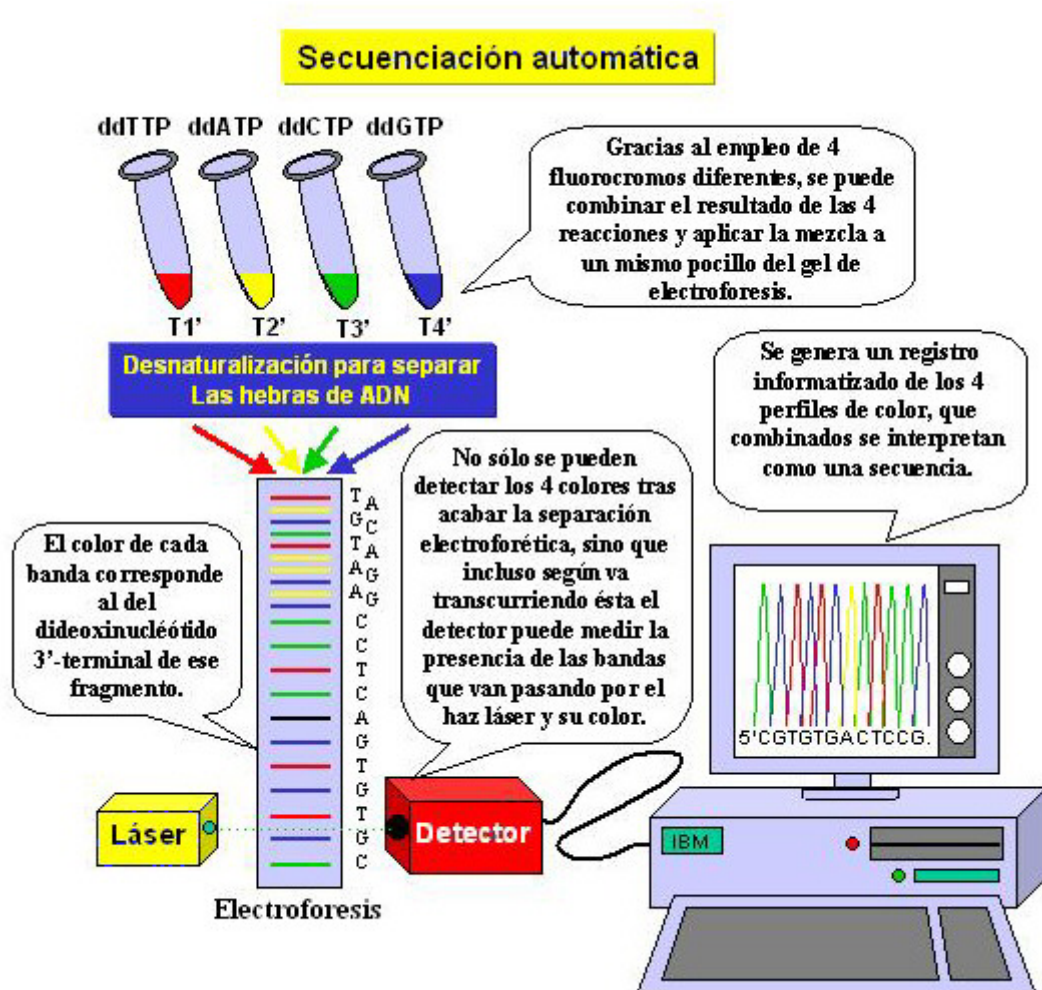
En secuenciación automática, la utilización del marcaje fluorescente permite la detección del ADN durante la electroforesis. Si se utilizan 4 fluorocromos diferentes para cada uno de los 4 didesoxinucleótidos, las reacciones se pueden llevar a cabo en un sólo tubo y analizar en una única calle de un gel.

Una característica de la secuenciación automática, que la distingue de la secuenciación manual, es la utilización, para la extensión de las nuevas cadenas de ADN, de una Taq-polimerasa termoestable. Es lo que se denomina secuenciación cíclica. En este método, rondas sucesivas de desnaturalización, hibridación y extensión en un termociclador (PCR de secuenciación) dan como resultado una amplificación lineal de los productos de extensión. Estos productos, bien se cargan en un gel, bien se inyectan en un capilar, para la obtención de su secuencia de bases.

La secuencia se obtiene correlacionando el orden de los fragmentos en la electroforesis con el didesoxinucleótido que termina cada uno de ellos.

La figura 19 representa, de forma abreviada, el método automático de secuenciación, con electroforesis en gel.

Figura 19. Representación esquemática del proceso de secuenciación



En el instituto “López Neyra”, la PCR de secuenciación se realizó con un termociclador GeneAmp PCR System 9700 de Applied Biosystems (California, E.E.U.U.), siguiendo un procedimiento estándar, en el que la temperatura de hibridación fue de 55°C, y la de extensión, de 60°C. La secuenciación se realizó mediante un equipo automatizado de electroforesis capilar (ABI PRISM 3100 Genetic Analyzer) de Applied Biosystems, que utiliza capilares de 80 cm, el polímero POP-4 y los reactivos de secuenciación BigDye®

Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits de Applied Biosystems. Dicha electroforesis se realizó a 14,6 kV.

Como control del procedimiento de secuenciación se usó la cepa *E. coli* 1-319 perteneciente al estudio realizado por el doctor Jordi Vila del Departamento de Microbiología del Hospital Clinic y Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona (Vila y cols, 1996). Dicha cepa se caracteriza por presentar una CMI de ciprofloxacino de 64 µg/ml, y las mutaciones S83L y D87N en *gyrA*, y S80I y E84V en *parC*.

3.6. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE SECUENCIACIÓN

Una vez realizada la secuenciación, el Instituto “López Neyra” nos remitió el resultado de la misma en formato “.ab 1” y se interpretaron los resultados para cada muestra en el programa informático “FinchTV”, disponible en <http://www.geospiza.com/finchtv/>.

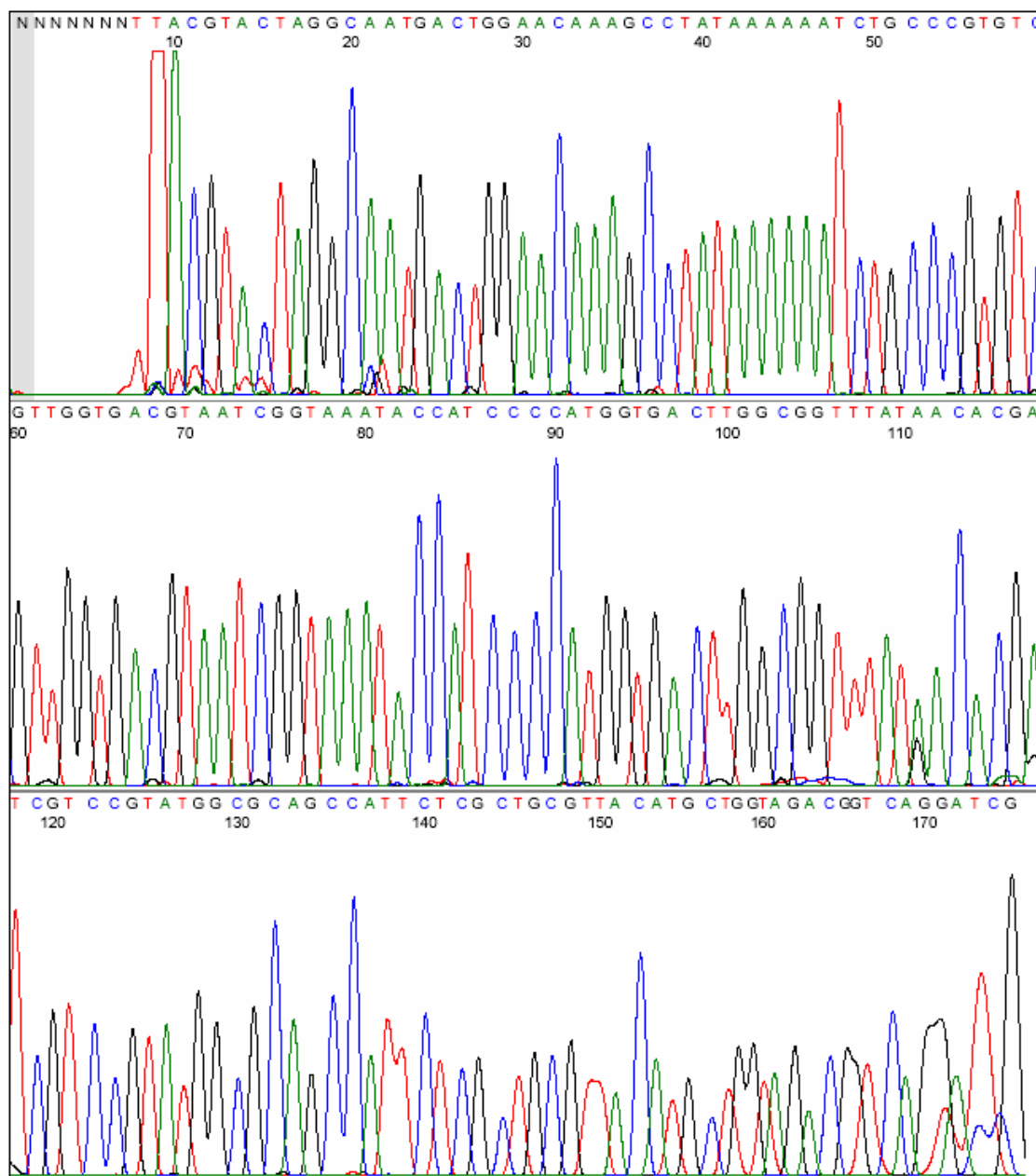
Para llevar a cabo dicha interpretación, se comparó la secuencia obtenida para cada uno de los cuatro genes, pertenecientes a cada una de las 30 muestras, con la secuencia de nucleótidos de la región QRDR de la cepa patrón: *Escherichia coli* K12 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?db=nucleotide&val=49175990>; 19 de julio de 2006) (Apéndices I y III).

En la figura 20 se puede observar un ejemplo de secuenciación del gen *gyrA*. La comparación, uno a uno, de la secuencia de nucleótidos del ejemplo, con la secuencia de la cepa patrón (Apéndice III), nos permite observar cambios en los nucleótidos y, por tanto, en los codones, de los cuales, unos se traducen en cambio del aminoácido codificado y otros, no.

Así, por ejemplo, el nucleótido que aparece en la posición 248 de la secuencia patrón es C, que, en la secuencia ejemplo es T (posición 98). Esta modificación del codón TCG a TTG, se traduce en una mutación de la secuencia de aminoácidos en la posición 83, de Serina (S) a Leucina (L) (Apéndices IV y V).

Sin embargo, la modificación del nucleótido C de la posición 255 de la secuencia patrón, a T (posición 105 de la secuencia ejemplo), y por tanto, la modificación del codón GTC a GTT, no se traduce en cambio de la Valina (V) de la posición 85 (Apéndices IV y V).

Cuando aparece la letra N significa que no ha sido posible determinar el nucleótido existente en esa posición de la secuencia.

Figura 20: Secuencia del QRDR del gen *gyrA*

3.7. MÉTODO ESTADÍSTICO

Con objeto de conocer si existía relación entre los valores de CMI de ciprofloxacino y levofloxacino, y el número de mutaciones presentes en cada uno de los genes, y en total, en los 30 aislados clínicos, y, en caso afirmativo, el sentido de dicha relación, se usó el coeficiente de correlación de Spearman.

Para el análisis estadístico se consideraron cinco variables: el número de mutaciones presentes en cada gen (*gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*), y en el conjunto de los mismos. Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman entre cada una de esas cinco variables y los dos valores de CMI (para ciprofloxacino y para levofloxacino).

APÉNDICE I**SECUENCIA DE NUCLEÓTIDOS DE LOS GENES *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* DE LA CEPA
PATRÓN *Escherichia coli* K12**

En rojo, la secuencia de nucleótidos amplificada por los correspondientes primers (tabla 8)

gyrA

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=6622&view=gbwithparts;>

19 de julio de 2006)

```

1 atgagcgacc ttgcgagaga aattacaccg gtcaacattg aggaagagct gaagagctcc
61 tatctggatt atgcatggtc ggtcattggt ggccgtgctc tgccagatgt ccgagatggc
121 ctgaagccgg tacaccgtcg cgtactttac gccatgaacg tactaggcaa tgactggaac
181 aaagcctata aaaaatctgc ccgtgctggt ggtgacgtaa tcggtaata ccatcccat
241 ggtgactcgg cggctctatga cacgatcgtc cgcatggcgc agccattctc gctgcttat
301 atgctggtag acggtcaggg taacttcggt tctatcgacg gcgactctgc ggcgcaatg
361 cgttatacgg aaatccgtct ggcgaaaatt gccatgaac tgatggcga tctcgaaaa
421 gagacggtcg atttcgttga taactatgac ggacggaaa aaattccgga cgtcatgcca
481 accaaaattc ctaacctgct ggtgaacggt tcttcggta tcgccgtagg tatggcaacc
541 aacatcccgc cgcacaacct gacggaagtc atcaacggtt gtctggcga tattgatgat
601 gaagacatca gcattgaagg gctgatggaa cacatcccgg ggccggactt cccgacggcg
661 gcaatcatta acggtcgtcg cggtattgaa gaagcttacc gtaccggtcg cggcaaggtg
721 tatatccgcg ctccgacgaga agtggaaagt gacgcaaaa ccggtcgtga aaccattatc
781 gtccacgaaa ttccgtatca ggtaaacaaa gcgcgctga tcgagaagat tgcggaactg
841 gtaaaagaaa aacgcgtgga aggcatcagc gcgctgctg acgagtctga caaagacggt
901 atgcatcgtc tgattgaagt gaaacgcgat gcggtcgggt aagttgtgct caacaacctc
961 tactcccaga cccagttgca ggtttctttc ggtatcaaca tgggtggcatt gcaccatggt
1021 cagccgaaga tcatgaacct gaaagacatc atcgcggcgt ttgttcgtca ccgccgtgaa
1081 gtggtgacct gtcgtactat tttcgaactg cgtaaagctc gcgatcgtgc tcatatcctt
1141 gaagcattag ccgtggcgtc ggcgaacatc gaccgatca tcgaactgat ccgtcatgcg
1201 ccgacgcctg cagaagcga aactgcgctg gttgctaacc cgtggcagct gggcaacggt
1261 gccgcgatgc tcgaacgtgc tggcgacgat gctgcgctc cggaatggct ggagccagag
1321 ttccgctgct gtgatggtct gtactacctg accgaacagc aagctcaggc gattctggat
1381 ctgctgttgc agaaactgac cgtcttgag cacgaaaaac tgctcgacga atacaagag
1441 ctgctggatc agatcgcgga actggtgctg attcttgga gcgccgatcg tctgatggaa
1501 gtgatccgtg aagagctgga gctggttcgt gaacagttcg gtgacaaagc tcgtactgaa
1561 atcaccgcca acagcgcaga catcaacctg gaagatctga tcaccagga agatgtggtc
1621 gtgacgctct ctcaccaggg ctacgttaag tatcagccgc tttctgaata cgaagcgcag
1681 cgtcgtggcg ggaaaggtaa atctgccgca cgtattaag aagaagactt tatcgaccga
1741 ctgctggtgg cgaacactca cgaccatatt ctgtgcttct ccagccgtgg tcgctctat
1801 tcgatgaaaag tttatcagtt gccggaagcc actcgtggcg cgcgcggtcg tccgatcgtc
1861 aacctgctgc cgctggagca ggacgaacgt atcactgca tcctgccagt gaccgagttt
1921 gaagaaggcg tgaaagtctt catggcgacc gctaaccgta ccgtgaagaa aactgtcctc
1981 accgagttca accgtctgcg taccgccggt aaagtggcga tcaaactggt tgacggcgat
2041 gagctgatcg gcgttgacct gaccagcggc gaagacgaag taatgctggt ctccgctgaa
2101 ggtaaagtgg tgcgctttaa agagtcttct gtccgtgca tgggctgcaa caccaccggt
2161 gttcgcggta ttcgcttagg tgaaggcgat aaagtcgtct ctctgatcgt gcctcgtggc
2221 gatggcgcaa tcctcaccgc aacgcaaac ggttacggt aacgtaccgc agtggcggaa
2281 taccacaacca agtcgcgtgc gacgaaagg gttatctcca tcaaggttac cgaacgtaac
2341 ggtttagttg ttggcgcggt acaggtatgat gactgcgacc agatcatgat gatcaccgat
2401 gccggtacgc tggtagctac tcgctttcgc gaaatcagca tcgtgggccc taacaccag
2461 ggcgtgatcc tcatccgtac tgcggaagat gaaaacgtag tgggtctgca acgtgttctc
2521 gaaccggttg acgaggaaga tctggatacc atcgacggca gtgcccgga aggggacgat
2581 gaaatcgctc cggaaagtgga cgttgacgac gagccagaag aagaataa

```

gyrB

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=8085&view=gbwithparts;>

19 de julio de 2006)

```
1 atgtcgaatt cttatgactc ctccagtatc aaagtcctga aagggctgga tgcggtgcgt
61 aagcgcccgg gtatgtatat cggcgacacg gatgacggca ccggtctgca ccacatggta
121 ttcgaggtgg tagataacgc taticgacgaa gcgctcgcgg gtcactgtaa agaaattatc
181 gtcaccattc acgccgataa ctctgtctct gtacaggatg acgggcgcgg cattccgacc
241 ggtattcacc cggaagaggg cgtatcggcg gcggaagtga tcatgaccgt tctgcacgca
301 ggcggtaaat ttgacgataa ctccataaaa gtgtccggcg gtctgcacgg cgttggtggt
361 tcggtagtaa acgccctgtc gcaaaaactg gagctgggta tccagcgcga gggtaaaatt
421 caccgtcaga tctacgaaca cgggtgtacc caggccccgc tggcggttac cggcgagact
481 gaaaaaacgg gcaccatggt gcgtttctgg cccagcctcg aaaccttcac caatgtgacc
541 gagttcgaat atgaaattct ggcgaaacgt ctgcgtgagt tgtcgttcct caactccggc
601 gtttccattc gtctgcgcga caagcgcgac ggcaaagaag accacttcca ctatgaaggc
661 ggcacaaagg cgttcggtga atatctgaac aagaacaaaa cgccgatcca cccgaatatac
721 ttctacttct ccaactgaaaa agacgggtatt ggcgtcgaag tggcgttgca gtggaacgat
781 ggcttccagg aaaacatcta ctgctttacc aacaacattc cgcagcgtga cggcgggtact
841 cacctggcag gcttccgtgc ggcgatgacc cgtaccctga acgcctacat ggacaaagaa
901 ggctacagca aaaaagccaa agtcagcgcg accgggtgacg atgcgcgtga aggcctgatt
961 gcggtcggtt ccgtgaaagt gccggaccgg aaattctcct cccagaccaa agacaaaactg
1021 gtttcttctg aggtgaaatc ggcggttgaa cagcagatga acgaaactgct ggcagaatac
1081 ctgctggaaa acccaaccga cgcgaaaaatc gtggttggca aaattatcga tgctgcccgct
1141 gcccgtagag cggcgcgctg cgcgcgtgaa atgaccgccg gtaaagggtgc gctcgaactta
1201 gcgggcctgc cgggcaaaact ggcagactgc caggaacgcg atccggcgct ttccgaactg
1261 tacctgggtg aaggggactc cgcggggcgg tctgcgaagc aggggcgtaa ccgcaagaac
1321 caggcgatcc tgccgtgaa gggtaaaaatc ctcaacgtcg agaaagcgcg cttcgataag
1381 atgctctctt ctcaggaagt ggcgaagctt atcaccgcgc ttggctgtgg taccggtcgt
1441 gacgagtaca acccggacaa actgcgttat cacagcatca tcatcatgac cgatgcggac
1501 gtcgacggct cgcacattcg tacgctgctg ttgaccttct tctatcgtca gatgccggaa
1561 atcgttgaac gcggtcacgt ctacatcgct cagccgccgc tgtacaaagt gaagaaaggc
1621 aagcaggaac agtacattaa agacgacgaa gcgatggatc agtaccagat ctctatcgcg
1681 ctggacggcg caacgctgca caccaacgcc agtgcaccgg cattggctgg cgaagcgta
1741 gagaaactgg tatctgagta caacgcgacg cagaaaatga tcaatcgtat ggagcgtcgt
1801 tatccgaaag caatgctgaa agagcttatac tatcagccga cgttgacgga agctgacctt
1861 tctgatgagc agaccgttac ccgctgggtg aacgcgctgg tcagcgaact gaacgacaaa
1921 gaacagcacg gcagccagtg gaagtttgat gttcacacca atgctgagca aaacctgttc
1981 gagccgattg ttcgcgtgcg taccacgggt gtggatactg actatccgct ggatcacgag
2041 tttatcaccg gtggcgaata tcgtcgtatc tgcacgctgg gtgagaaact gcgtggcttg
2101 ctggaagaag atgcgtttat cgaacgtggc gagcgtcgtc agccggtagc cagcttcgag
2161 caggcgtggt actggctggt gaaagagtcc cgtcgcggcc tctccatcca gcgttataaa
2221 ggtctgggcg agatgaacct ggaacagctg tgggaaacca ctatggacct ggaaagtcgt
2281 cgtatgctgc gcgttaccgt taaagatgcg attgctgccg accagttggt caccacgctg
2341 atgggcgacg ccgttgaaac gcgcgctgcg tttattgaag agaacgcctt gaaagcggcg
2401 aatatcgata tttaa
```

parC

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=7406&view=gbwithparts;>

19 de julio de 2006)

```

1 atgagcgata tggcagagcg cettgcgcta catgaattta cggaaaacgc ctacttaaac
61 tactccatgt acgtgatcat ggaccgtgcg ttgccgttta ttggtgatgg tctgaaacct
121 gttcagcgcc gcattgtgta tgcgatgtct gaactggggcc tgaatgccag cgccaaatth
181 aaaaaatcgg cccgtaccgt cggtgacgta ctgggtaaat accatccgca cggcgatagc
241 gcctggtatg aagcgatggc cctgatggcg caaccgttct cttaccgcta tccgctggth
301 gatggtcagc ggaactgggg cgcgccggac gatccgaaat cgttcgctgc aatgcgthac
361 accgaatccc ggttgtcgaa atattccgag ctgctattga gcgagctggg gcaggggacg
421 gctgactggg tgccaaactt cgacggcact ttgcaggagc cgaaaatgct acctgcccgt
481 ctgccaaaaca ttttgcttaa cggcaccacc ggtattgccg tcggcatggc gaccgatatt
541 ccaccgcata acctgcgtga agtggctcag gcggcaatcg cattaatcga ccagccgaaa
601 accacgctcg atcagctgct ggatatcgtg caggggcccgg attatccgac tgaagcggaa
661 attatcactt cgcgcgccga gatccgtaaa atctacgaga acggacgtgg ttcagtgcgt
721 atgcgcgcgg tgtggaagaa agaagatggc gcggtggtta tcagcgcatt gccgcacag
781 gtttcagggtg cgcgcgtact ggagcaaat gctgcgcaa tgcgcaaaa aaagctgccg
841 atggttgacg atctgcgcga tgaatctgac cacgagaacc cgaccgcctt ggtgattgtg
901 ccgcgttcca accgcgtgga tatggatcag gtgatgaacc acctcttcgc taccaccgat
961 ctggaaaaga gctatcgtat taaccttaat atgatcggtc tggatggctg tccggcgggtg
1021 aaaaacctgc tggaaatcct ctccgaatgg ctggtgttcc gccgcgatac cgtgcgccgc
1081 cgactgaact atcgtctgga gaaagtcctc aagcgcctgc atatectcga aggtttgctg
1141 gtggcgthttc tcaatatcga cgaagtgatt gagatcattc gtaatgaaga tgaaccgaaa
1201 ccggcgctga tgtcgcggth ttggcttacg gaaaccagc cgaagcgcgt cctcgaactg
1261 aaactgcgtc atcttgccaa actggaagag atgaagattc gcggtgagca gactgaactg
1321 gaaaaagagc gcgaccagth gcagggcatt ttggcttccg agcgtaaaa gaataacctg
1381 ctgaagaaaag aactgcaggc agacgcgcaa gcctacggth acgatcgtc ttcgccgthg
1441 caggaacgcg aagaagcgaag agcgcgcgac gagcacgaca tgctgccgth tgaacctgth
1501 accattgtgc tgtcgcagat gggctgggta cgcagcgcata aaggccatga tatcgacgcg
1561 ccgggcctga attataaagc gggatgatagc ttcaaagcgg cggtgaaagg taagagcaac
1621 caaccggtag tgtttgthga ttccaccggt cgtagctatg ccattgacc gattacgctg
1681 ccgtcggcgc gtggtcaggg cgagccgctc accggcaaat taacgthgct gcctggggcg
1741 accgthgacc atatgctgat ggaaagcgc gatcagaaac tgctgatggc ttccgatgcg
1801 ggttacggth tgcgtctgcac ctthaacgat ctggtggcgc gtaaccgthc aggtaggct
1861 ttgatcacct taccgaaaa tgcccatgth atgccgccgg ttggtgattga agatgcttcc
1921 gatatgctgc tggcaatcac tcaggcaggc cgtatgthga tgttcccggt aagtgatctg
1981 ccgcagctgt cgaagggcaa aggcacaagc attatcaaca ttccatcggc agaagccgcg
2041 cgtggagaag atggtctggc gcaattgtac gthctgccgc cgaaagcac gctgaccatt
2101 catgthggga aacgcaaaat taaactgcgc ccggaagagt tacagaaagt cactggcgaa
2161 cgtggacgcc gcggtacgth gatgcgcggt ttgcagcgtat tcgatcgtg thgatcgac
2221 tctcctcgcg gtgccagcag cggatgatagc gaagagtaa

```


parE

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=7417&view=gbwithparts;>

19 de julio de 2006)

```
1 atgacgcaaa cttataacgc tgatgccatt gaggtactca ccgggcttga gccggttcgc
61 cgccgtccgg ggatgtatac cgataccact cgccctaacc atttggggca agaagtcatt
121 gataacagtg tggatgaagc actggcgggt cacgcaaac gcgtggacgt tattttacat
181 gctgaccagt cgttagaagt tattgacgat gggcgcgga tgccgggtga tattcacccg
241 gaagaggggtg taccggcggg tgaactgatt ctttgccgtc tgcatgcagg cggtaaattc
301 tctaacaaaa attaccagtt ctctggcggc ctgcatggcg tggggatttc ggtggttaac
361 gccctgtcga agcgcgtaga agttaacgtg cgcccgcatg gtcaggttta taacatcgcc
421 tttgaaaatg gcgaaaaggt gcaggattta cagggtgtcg gcacttgccg taaacgcaat
481 actggtacca gtgtgcactt ctggccggat gaaaccttct ttgacagccc gcgattttct
541 gtttcacgcc tgacgcattg gctgaaagcc aaagcgggat tgtgccctgg cgttgagatc
601 acttttaag atgagatcaa caataccgaa caacgctggg gctatcagga cggctcgaat
661 gattacctgg cgggaagcgg aaatggctctg ccgacgctgc cggaaaaacc gtttatcggg
721 aatttcgctg gtgatactga agctgtggac tgggcgctac tgtggctgcc ggaaggcggg
781 gaactgctga ccgaaagcta cgtcaacctt atcccaacga tgcaggcggg taccatggtt
841 aatggctctg gtcagggcct gttggacgcg atgctgagat tctgtgaata ccgcaatatt
901 ctgccgcgcg gtgtaaagct gtcggcggaa gatatctggg atcgtctgct ctatgtgctg
961 tcagtaaaaa tgcaggatcc gcagtttgcc gggcagacga aagagcgtct ctcttcgctg
1021 caatgcgcgg cattcgtttc tggcgtgggt aaagatgcct ttatcctgtg gctgaaccag
1081 aacgttcagg cggctgaact gctggcggag atggcgattt ccagcgccca gcgccgatg
1141 cgtgcggcca aaaaagtggg gcgtaaaaag ctgaccagcg gcccgcggtt gcctggcaaa
1201 ctggctgatt gtaccgcgca ggaccttaac cgtaccgagc tgttccttgt ggaaggtgac
1261 tccgcagggc gatctgcca gcaggcgccc gatcgcgat atcaggcgat catgccactg
1321 aaaggtgaaga tccttaacac ctgggaagtc tcttccgacg aagtgctggc ttgcaggaa
1381 gtgcacgata tttcggtagc gatcggatc gatcctgaca gcgacgatct gagccagctt
1441 cgttatggca aaatctgtat cctcgcggat gcggactctg atggtctgca cattgccacg
1501 ctgctctgcg ctttgttcgt aaaacatttc cgcgcttggt tgaaacacgg tcacgtttac
1561 gtcgcactgc caccgctcta ccgtattgat ctccggaaag aggtttatta cgcgctgacg
1621 gaagaagaga aagagggcgt acttgagcaa ttaaaacgca agaaaggcaa gccgaacgct
1681 cagcgtttta aaggtctggg ggaaatgaac ccgatgcaat tgcgcgaaac cacgcttgat
1741 ccgaacactc gccgtctggg gcagttgact atcgatgatg aagacgatca gcgtactgac
1801 gcgatgatgg atatgctgct ggcaagaaa cgctcggaa atcgccgcaa ctggttgcaa
1861 gagaaaggcg acatggcggg gattgaggtt taa
```

APÉNDICE II

**SECUENCIA DE AMINOÁCIDOS DE LOS GENES *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* DE LA CEPA
PATRÓN *Escherichia coli* K12**

En rojo, la secuencia de aminoácidos codificada por el fragmento amplificado

gyrA

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=6622&view=gbwithparts>;
19 de julio de 2006)

MSDLAREITPVNIEEELKSSYLDYAMSVIVGRALPDVRDGLKPVHRRVLYAMNVL
GNDWNKAYKKSARVVGDVIGKYHPHGDSA VYDTIVRMAQPFSRLRYMLVDGQGN
FGSIDGDSAAAMRYTEIRLAKIAHELMADLEKETVDFVDNYDGTAKIPDVMPTKIP
NLLVNGSSGIAVGMATNIPPHNLTEVINGCLAYIDDEDISIEGLMEHIPGPDFPTAAII
NGRRGIEEAYRTGRGKVYIRARAEEVDAKTGRETIIVHEIPYQVNKARLIEKIAEL
VKEKRVEGISALRDESDKDGMRIVIEVKRDAVGEVVLNNLYSQTQLQVSFGINMV
ALHHGQPKIMNLKDIIAAFVRHRREVVTRRTIFELRKARDRAHILEALAVLANID
PIIELIRHAPTPAEAKTALVANPWQLGNVAAMLERAGDDAARPEWLEPEFGVRDG
LYYLTEQQAQAILDLRLQKLTGLEHEKLLDEYKELLDQIAELLRILGSADRLMEVI
REELELVREQFGDKRRTEITANSADINLEDLITQEDVVVTLSSHQGYVKYQPLSEYE
AQRGGKKGKSAARIKEEDFIDRLLVANTHDHILCFSSRGRVYSMKVYQLPEATRG
ARGRPVNLPLEQDERITAILPVTEFEEGVKVFMATANGTVKKTVLTEFNRLRTA
GKVAIKLVDGDELIGVDLTSGEDEVMLFSAEGKVVRFKESSVRAMGCNTTGVRGI
RLGEGDKVVSLIVPRGDGAILTATQNGYGKRTAVAEYPTKSRATKGVISIKVTERN
GLVVGAVQVDDCDQIMMITDAGTLVRTRVSEISIVGRNTQGVILIRTAEDENVVGL
QRVAEPVDEEDLDTIDGSA AEGDDEIAPEVDVDDEPEEE

gyrB

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=8085&view=gbwithparts;>
19 de julio de 2006)

MSNSYDSSSIKVLKGLDAVRKRPGMYIGDTDDGTGLHHMVFEVVDNAIDEALAG
HCKEIIVTIHADNSVSVQDDGRGIPTGIHPPEGVSAAEVIMTVLHAGGKFDDNSYK
VSGGLHGVGVSVVNALSQKLELVIQREGKIHQRQIYEHGVPQAPLAVTGETEKTGT
MVRFWPSLETFTNVTEFEYEILAKRLRELSFLNSGVSIRLRDKRDGKEDHFHYEGG
IKAFVEYLNKNKTPIHPNIFYFSTEKDGIGVEVALQWNDGFQENIYCFTNNIPQRDG
GTHLAGFRAAMRTLNAAYMDKEGYSKKAKVSATGDDAREGLIAVVSVKVPDPK
FSSQTKDKLVSSEVKSAVEQQMNELLAEYLLNPTDAKIVVGKIIDAARAREAR
RAREMTRRKGALDLAAGLPKGLADCQERDPALSELYLVEGDSAGGSAKQGRNRKN
QAILPLKGKILNVEKARFDKMLSSQEVATLITALGCGIGRDEYNPDKLRYHSIIIMT
DADVDGSHIRTLTLLTFFYRQMPEIVERGHVYIAQPPLYKVKKKGKQEYIKDDEAM
DQYQISIALDGATLHTNASAPALAGEALEKLVSEYNATQKMINRMERRYPKAML
KELIYQPTLTEADLSDEQTVTRWVNALVSELNDKEQHGSQWKFDVHTNAEQNLF
EPIVRVRTHGVDTDYPLDHEFITGGGEYRRICTLGEKLRGLLEEDAFIERGERRQVA
SFEQALDWLVKESRRGLSIQRYKGLGEMNPEQLWETTMDPESRRMLRVTVKDAI
AADQLFTTLMGDAVEPRRAFIEENALKAANIDI

parC

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=7406&view=gbwithparts;>

19 de julio de 2006)

MSDMAERLALHEFTENAYLNYSMYVIMDRALPFIGDGLKPVQRRIVYAMSELGL
NASAKFKKSARTVGDVLGKYHPHGDSACYEAMVLMMAQPFSYRYPLVDGQGNW
GAPDDPKSFAAMRYTESRLSKYSELLSELGQGTADWVPNFDGTLQEPKMLPARL
PNILLNGTTGIAVGMATDIPPHNLREVAQAAIALIDQPKTTLDQLLDIVQGPDYPT
AEIITSRAEIRKIYENGRGSVRMRAVWKKEDGAVVISALPHQVSGARVLEQIAAQ
MRNKKLPMVDDLDES DHENPTLRLVIVPRSNRVDMDQVMNHLFATTDLEKSYRI
NLNMIGLDGRPAVKNLLEILSEWLVFRRD TVRRRLNYRLEKVLKRLHILEGLL VAF
LNIDEVIEIIRNEDEPKPALMSRFGLTETQAE AILELKLRLHLAKLEEMKIRGEQSELE
KERDQLQGILASERKMNNLLKKELQADAQAYGDDRRSPLQEREEAKAMSEHDM
LPSEPVTIVLSQMGWVRS AKGHDIDAPGLNYKAGDSFKA AVKKGKSNQPVV FVDS
TGRSYAIDPITLPSARGQGEPLTGKLTLP PGATVDHMLMESDDQKLLMASDAGYG
FVCTFN DLVARNRAGKALITLPENAHVMPPV VIEDASDMLLAITQAGRMLMFPVS
DLPQLSKGKGNKIINIPSAEAARGEDGLAQLYVLP PQSTLTIHV GKRKIKLRPEELQ
KVTGERGRRGTLMRGLQRIDRVEIDSPRRASSGDSEE

parE

(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/viewer.fcgi?val=49175990&itemID=7417&view=gbwithparts;>

19 de julio de 2006)

MTQTYNADAIEVLTGLEPVRRRPGMYTDTTRPNHLGQEVIDNSVDEALAGHAKR
VDVILHADQSLEVIDDGRGMPVDIHPEEGVPAVELILCRLHAGGKFSNKNYQFSGG
LHGVGISVVNALSKRVEVNVRRDGQVYNIAFENGEKVQDLQVVGTCGKRNTGTS
VHFWPDETFDSPRFSVSRLTHVLKAKAVLCPGVEITFKDEINNTEQRWCYQDGL
NDYLAEAVNGLPTLPEKPFIGNFAGDTEAVDWALLWLPEGGELLTESYVNLIPTM
QGGTHVNGLRQGLLDAMREFCEYRNILPRGVKLSAEDIWDRCAVLSVKMQDPQ
FAGQTKERLSSRQCAAFVSGVVKDAFILWLNQNVQAAELLAEMAISQAQRMRRA
AKKVVRKKLTSGPALPGKLADCTAQDLNR **TELFLVEGDSAGGSAKQARDREYQA**
IMPLKGGKILNTWEVSSDEVLASQEVHDISVAIGIDPDSDDLSQLRYGKICILADADS
DGLHIATLLCALFVKHFRALVKHGHVYVALPPLYRIDLGKEVYYALTEEEKEGVL
EQLKRKKGKPNVQRFKGLGEMNPMQLRETTLDPNTRRLVQLTIDDEDDQRTDAM
MDMLLAKKRSEDRRNWLQEKGDMAEIEV

APÉNDICE III

SECUENCIA DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* DE LA
CEPA PATRÓN *Escherichia coli* K12

En rojo, la secuencia de aminoácidos codificada por el fragmento amplificado

gyrA

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	gac	gta	atc	ggt	
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	tcg	gcg	gtc	tat	gac	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	S	A	V	Y	D	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgc	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tat	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	ggt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	ggt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

parC

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggg	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	agc	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	S	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggg	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
491	492	493	494	495	496	497	498	499	500					

APÉNDICE IV
CODIFICACIÓN CODÓN-AMINOÁCIDO

TTT Phe	TCT Ser	TAT Tyr	TGT Cys
TTC Phe	TCC Ser	TAC Tyr	TGC Cys
TTA Leu	TCA Ser	TAA stop	TGA stop
TTG Leu	TCG Ser	TAG stop	TGG Trp
CTT Leu	CCT Pro	CAT His	CGT Arg
CTC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg
CTA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg
CTG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg
ATT Ile	ACT Thr	AAT Asn	AGT Ser
ATC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser
ATA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg
ATG Met	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg
GTT Val	GCT Ala	GAT Asp	GGT Gly
GTC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly
GTA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly
GTG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly

APÉNDICE V
AMINOÁCIDOS, CÓDIGOS A UNA Y TRES LETRAS

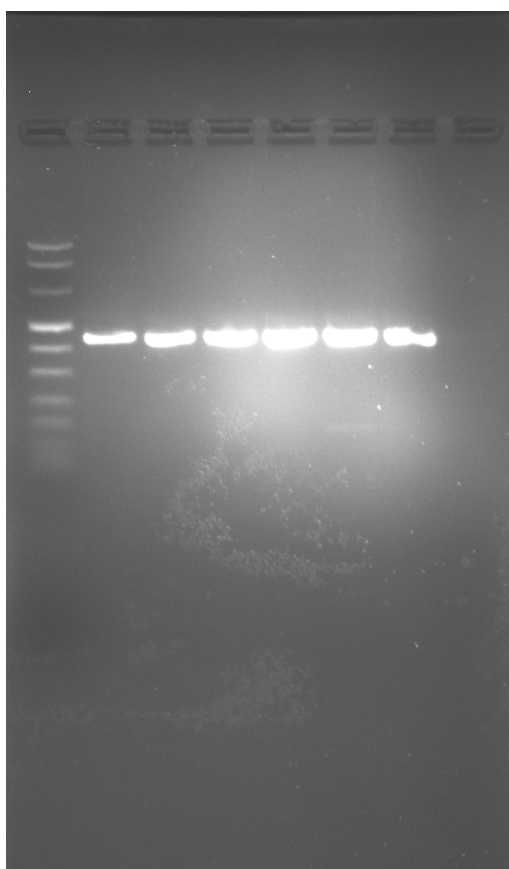
Aminoácidos	Código a tres letras	Código a una letra
Alanina	ala	A
Arginina	arg	R
Asparagina	asn	N
Ácido aspártico	asp	D
Asparagina o Ácido aspártico	asx	B
Cisteína	cys	C
Fenilalanina	phe	F
Glicina	gly	G
Glutamina	gln	Q
Ácido glutámico	glu	E
Glutamina o Ácido glutámico	glx	Z
Histidina	his	H
Isoleucina	ile	I
Leucina	leu	L
Lisina	lys	K
Metionina	met	M
Prolina	pro	P
Serina	ser	S
Tirosina	tyr	Y
Treonina	thr	T
Triptófano	try	W
Valina	val	V

4. RESULTADOS

4.1. AMPLIFICACIÓN DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* DE *ESCHERICHIA COLI*

Tras realizar la técnica de PCR descrita previamente, los cuatro genes (*gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE*) se pudieron detectar, mediante electroforesis en gel de agarosa, en los 30 aislados del estudio (figura 21).

Figura 21: Detección del gen *gyrB* (447 pb) mediante electroforesis en gel de agarosa.



- 1 Marcador de peso molecular VIII (Roche Diagnostics, España)
- 2 Gen *gyrB* del aislado 1
- 3 Gen *gyrB* del aislado 25
- 4 Gen *gyrB* del aislado 26
- 5 Gen *gyrB* del aislado 41
- 6 Gen *gyrB* del aislado 46
- 7 Gen *gyrB* del aislado 58
- 8 Control negativo

4.2. MUTACIONES DETECTADAS

En la tabla 9 se reflejan las mutaciones detectadas en cada gen.

Tabla 9: Mutaciones detectadas en cada uno de los genes, para los 30 aislados clínicos.

Aislado	Gen <i>gyrA</i>	Gen <i>gyrB</i>	Gen <i>parC</i>	Gen <i>parE</i>
1	S83L, D87N	wt	S80I	wt
25	S83L, D87N	wt	E84K	wt
26	S83L, D87N	wt	S80I	wt
41	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
46	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
58	S83L, D87N	wt	S80I	wt
65	S83L, D87N	wt	S80I	wt
101	S83L, D87N	wt	S80I	wt
102	S83L, D87N	wt	S80I	wt
115	S83L, D87N	wt	S80I	wt
140	S83L, D87N	wt	S80R	wt
141	S83L, D87N	wt	S80R	wt
153	S83L, D87N	wt	S80I	wt
159	S83L, D87N	wt	S80I	wt
179	S83L, D87N	wt	S80I, E84V	wt
180	S83L, D87N	wt	S80I, E84G	wt
185	S83L, D87N	wt	S80I	wt
189	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
191	S83L, D87N	wt	S80I, A108V	wt
195	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
200	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
207	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
217	S83L, D87N	wt	S80I, A108V	wt
219	S83L, D87N	wt	S80I	wt
224	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
226	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
232	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
237	S83L, D87N	wt	S80I	wt
245	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
255	S83L, D87N	wt	S80I	wt

wt: Wild Type

En los apartados siguientes se muestran las imágenes obtenidas con el programa “FinchTV” para cada una de las mutaciones detectadas en los genes *gyrA*, *parC* y *parE*.

4.2.1. Mutaciones S83L y D87N del gen *gyrA* del aislado 1

File: 1_B05_1A_03_copy.ab1



Sample Name: 1A

Signal Strengths: A = 566, C = 476, G = 684, T = 513

Mobility: DT3100POP4{BDv3}v1.mob

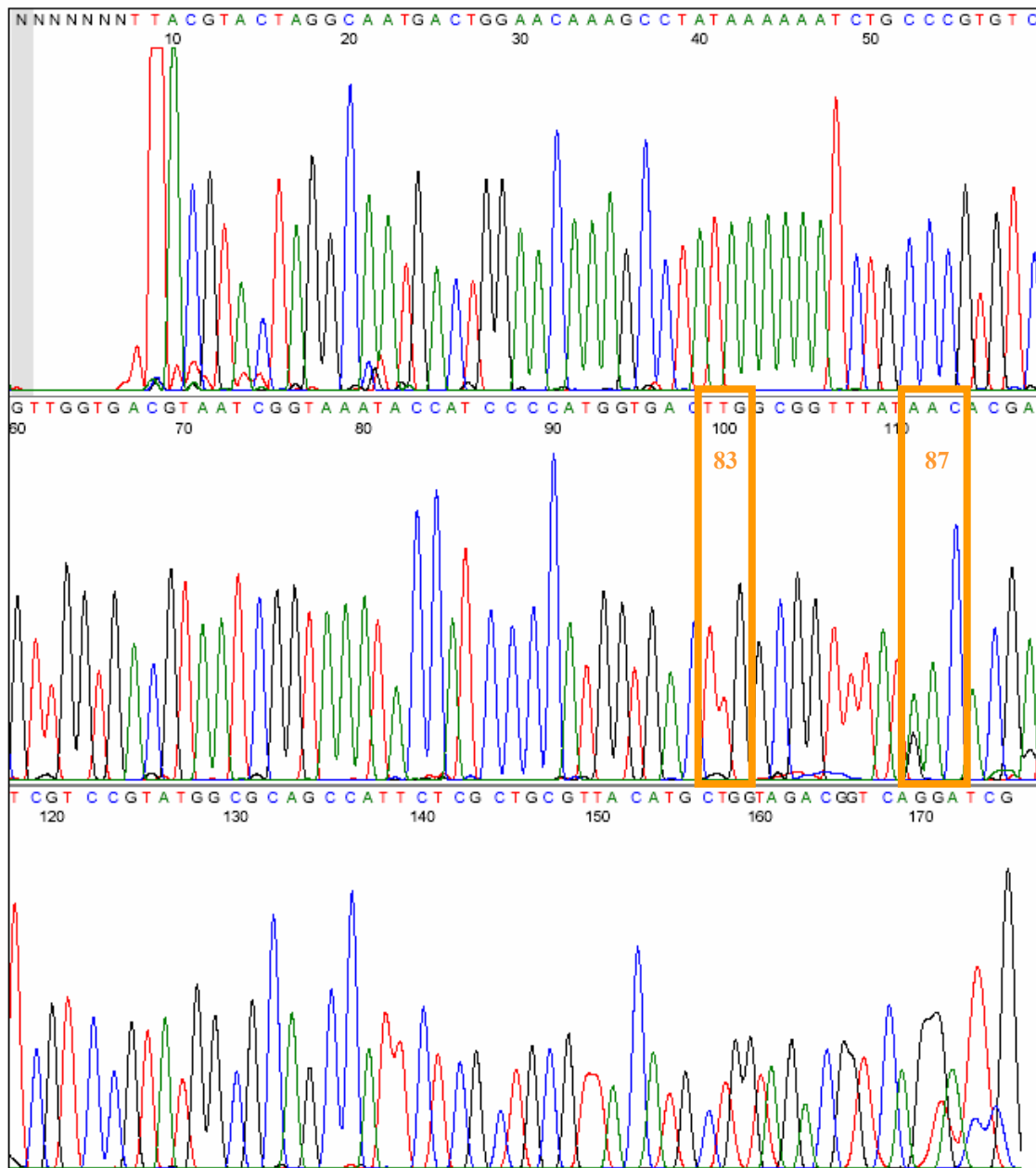
Lane/Cap#: 3

Spacing: 15.06

Matrix: n/a

Comment: n/a

Direction: Reverse Complement



4.2.2. Mutaciones S80I y A108V del gen *parC* del aislado 191

File: 1_G06_191C_14_copy.ab1



Sample Name: 191C

Signal Strengths: A = 53, C = 57, G = 77, T = 54

Mobility: DT3100POP4{BDv3}v1.mob

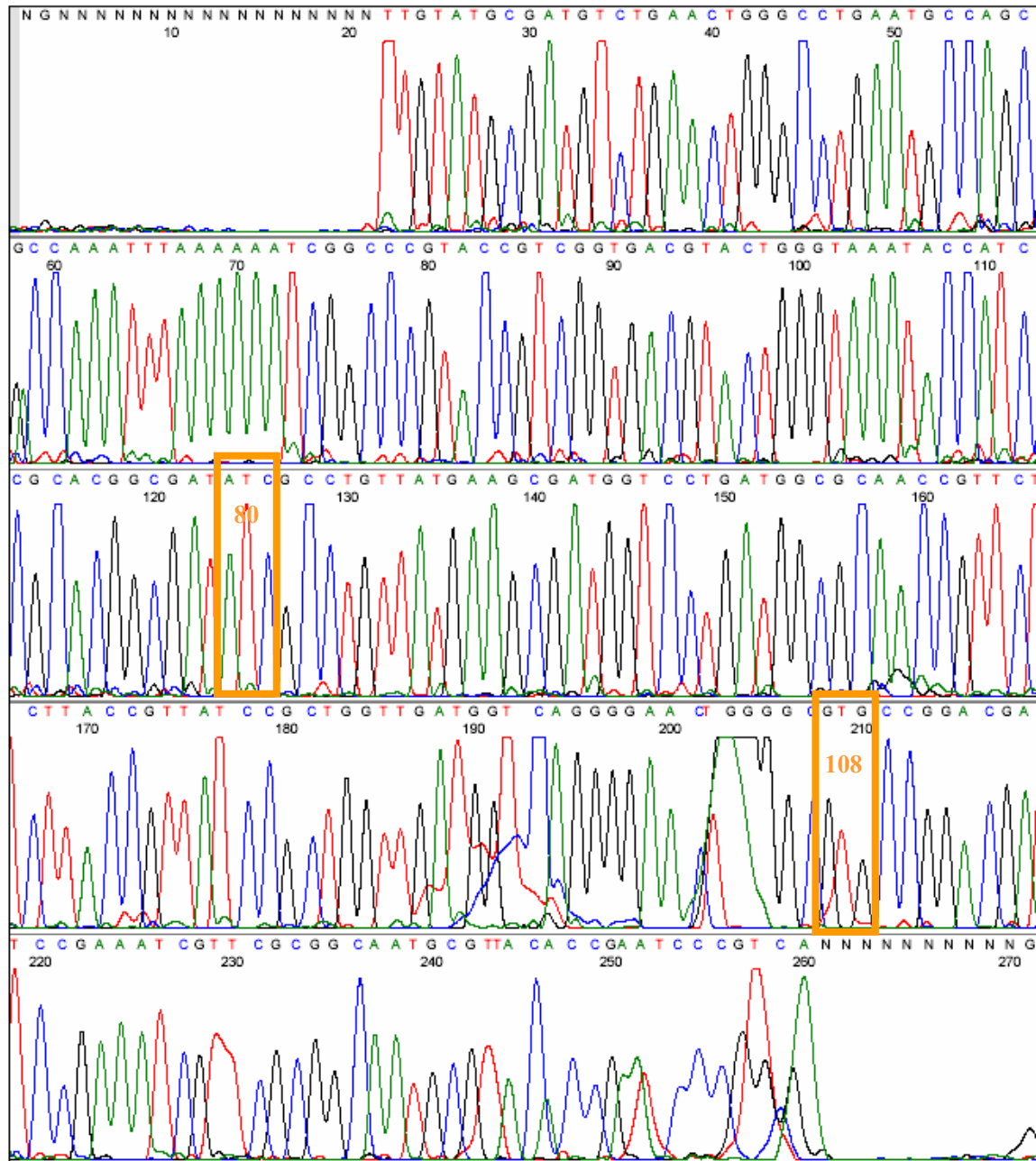
Lane/Cap#: 14

Spacing: 15.52

Matrix: n/a

Comment: n/a

Direction: Reverse Complement



4.2.3. Mutaciones S80I y E84G del gen *parC* del aislado 180

File: 1_D06_180C_08_copy.ab1



Sample Name: 180C

Signal Strengths: A = 86, C = 106, G = 118, T = 82

Mobility: DT3100POP4{BDv3}v1.mob

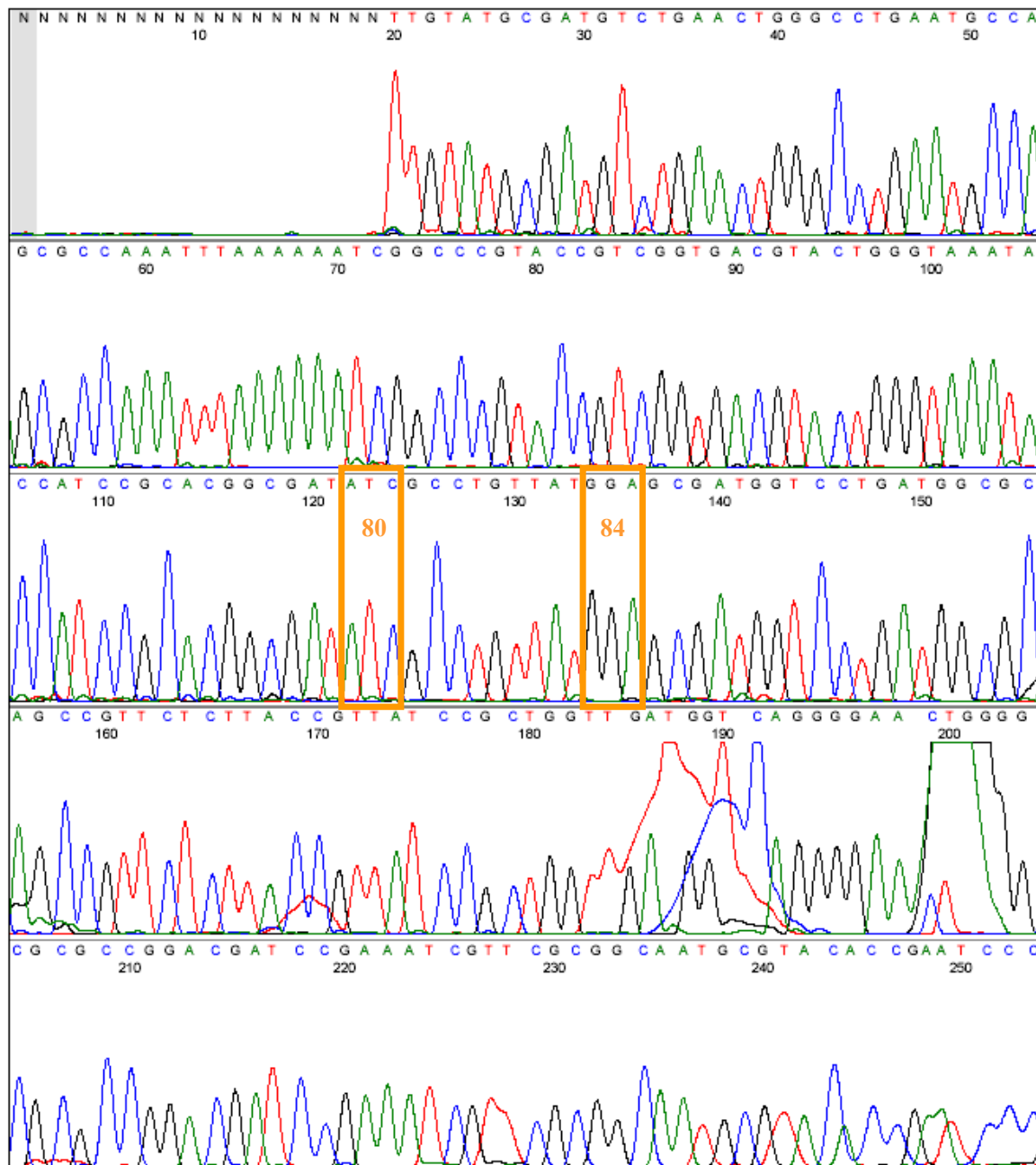
Lane/Cap#: 8

Spacing: 15.52

Matrix: n/a

Comment: n/a

Direction: Reverse Complement

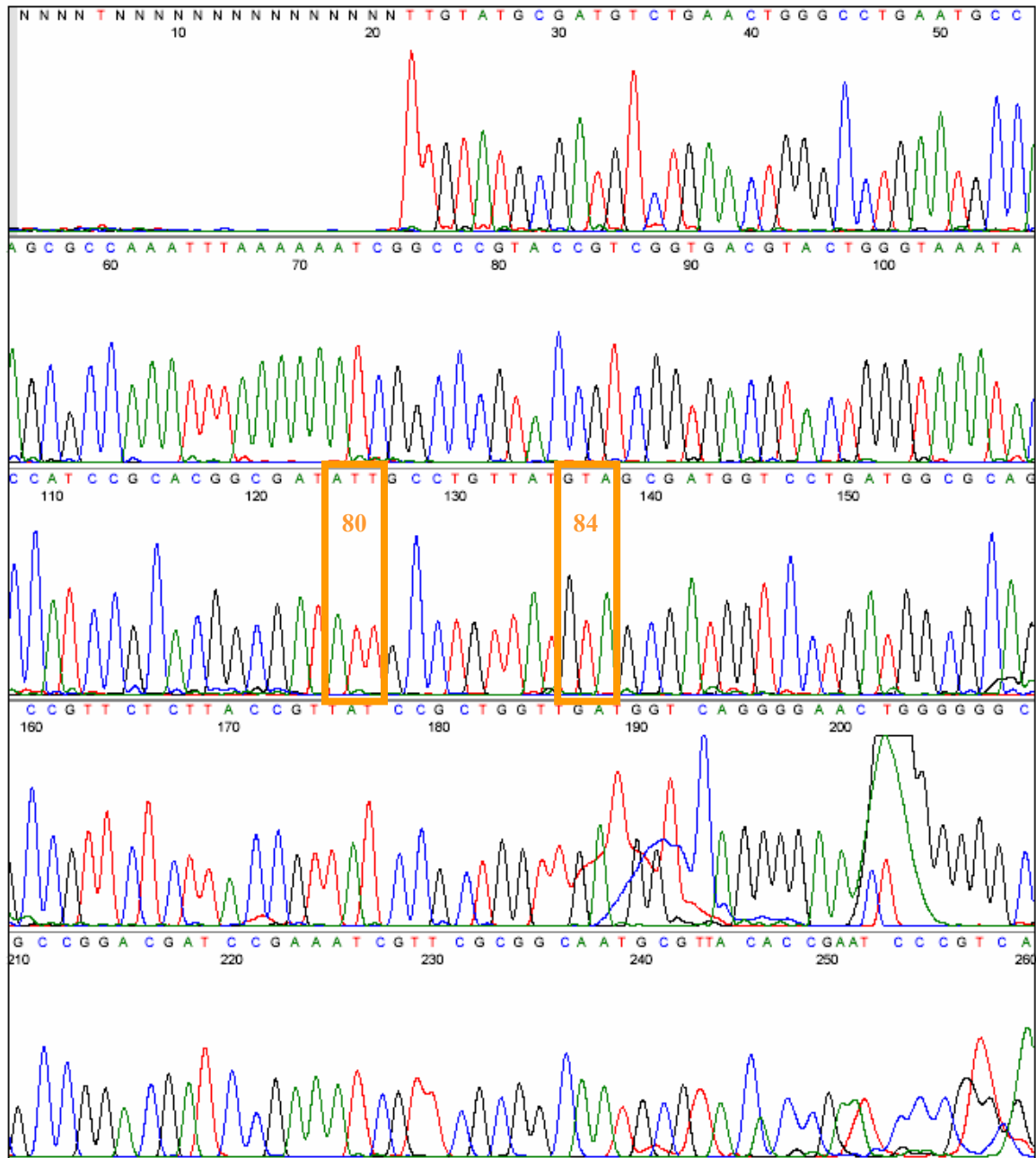


4.2.4. Mutaciones S80I y E84V del gen *parC* del aislado 179

File: 1_C06_179C_06_copy.ab1



Sample Name: 179C
Mobility: DT3100POP4{BDv3}v1.mob
Spacing: 15.52
Comment: n/a
Signal Strengths: A = 53, C = 56, G = 74, T = 50
Lane/Cap#: 6
Matrix: n/a
Direction: Reverse Complement

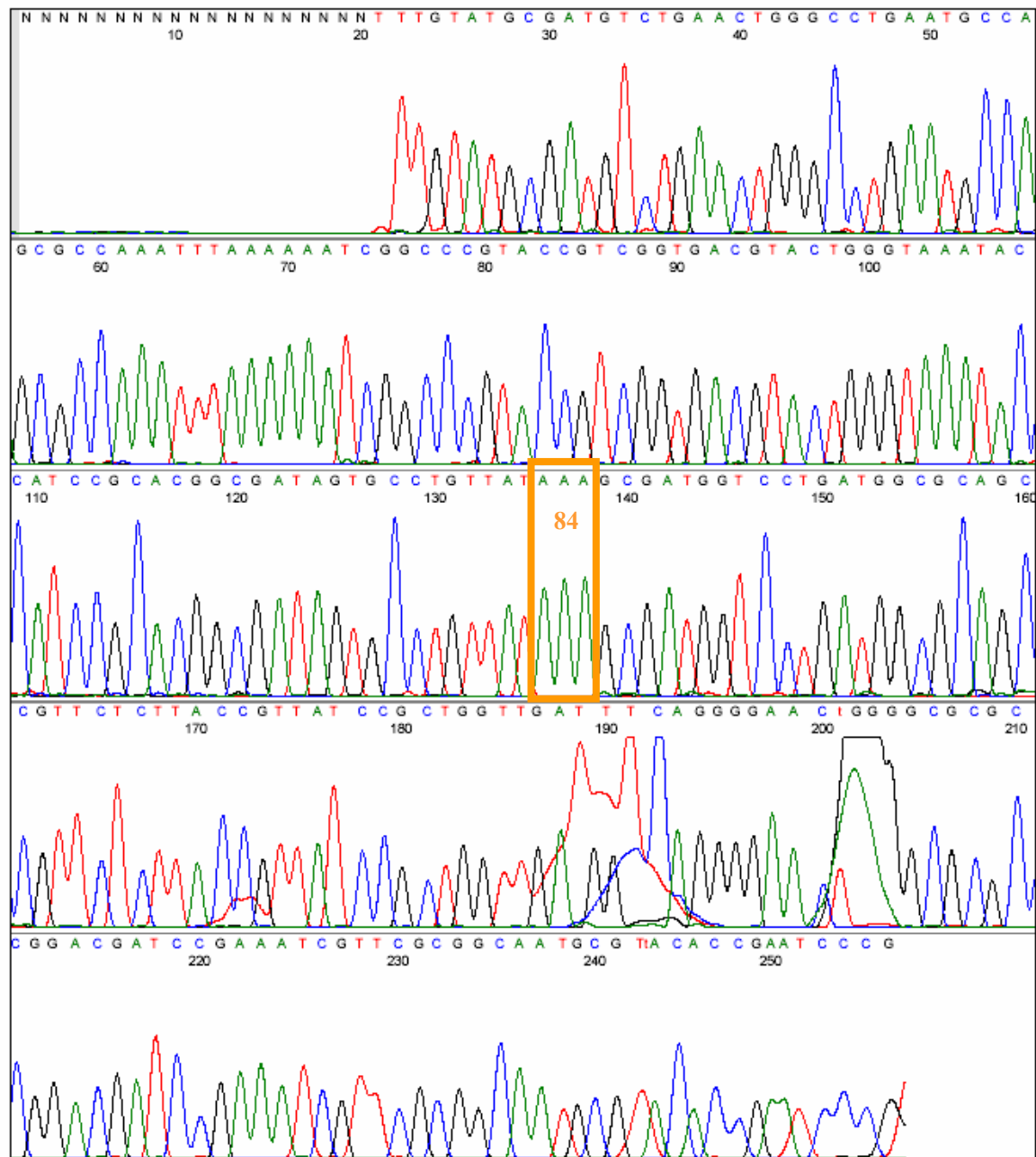


4.2.5. Mutación E84K del gen *parC* del aislado 25

File: 1_E07_25C_09_copy.ab1



Sample Name: 25C
 Mobility: DT3100POP4{BDv3}v1.mob
 Spacing: 16
 Comment: n/a
 Signal Strengths: A = 126, C = 142, G = 191, T = 127
 Lane/Cap#: 9
 Matrix: n/a
 Direction: Reverse Complement



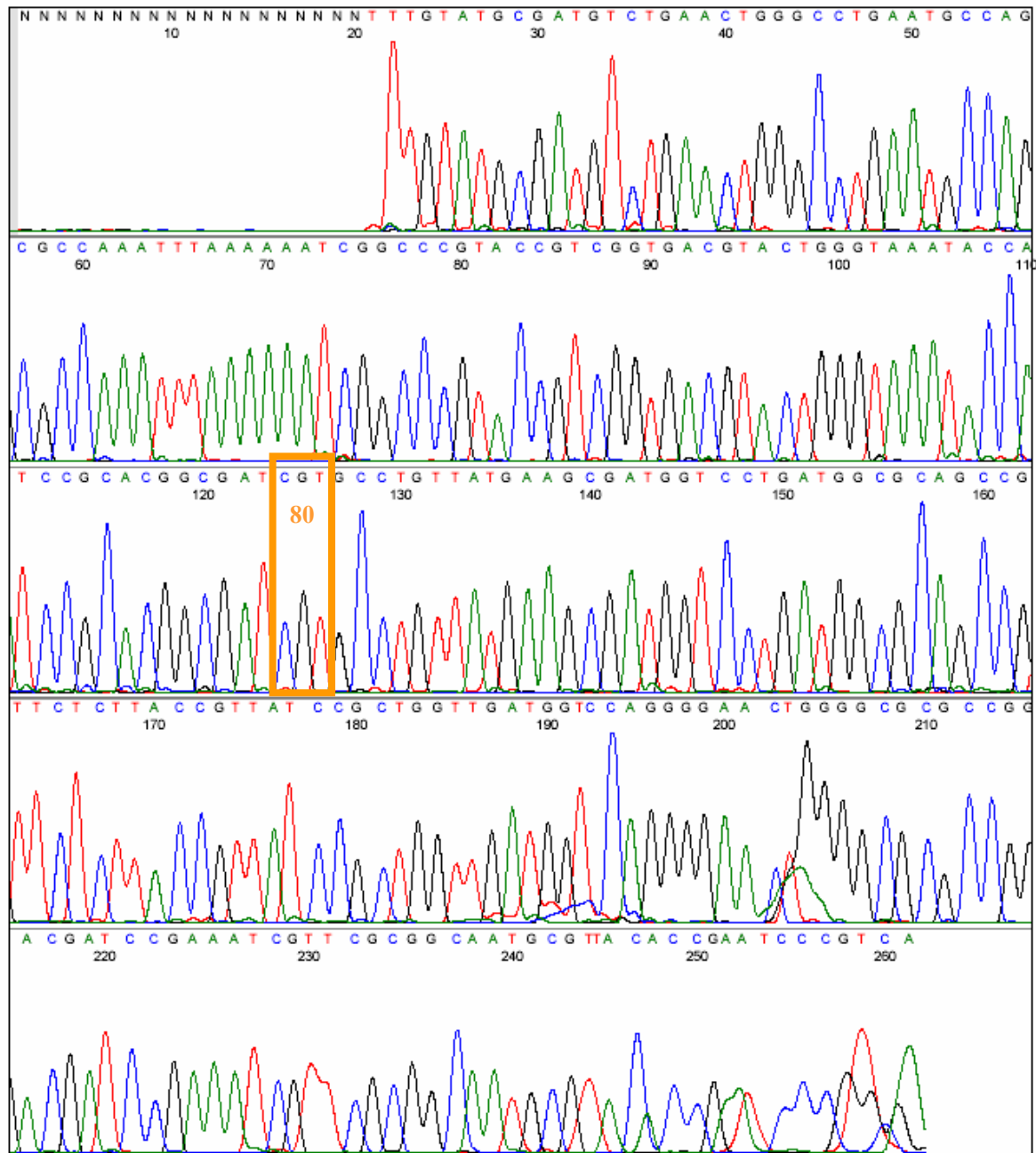
4.2.6. Mutación S80R del gen *parC* del aislado 141

File: 1_H05_141C_15_copy.ab1



Sample Name: 141C
Mobility: DT3100POP4{BDv3}v1.mob
Spacing: 15.52
Comment: n/a

Signal Strengths: A = 125, C = 141, G = 191, T = 123
Lane/Cap#: 15
Matrix: n/a
Direction: Reverse Complement



4.2.7. Mutación S458A del gen *parE* del aislado 245

File: 1_C03_245E_05_copy.ab1



Sample Name: 245E

Signal Strengths: A = 37, C = 38, G = 50, T = 38

Mobility: DT3100POP4{BDv3}v1.mob

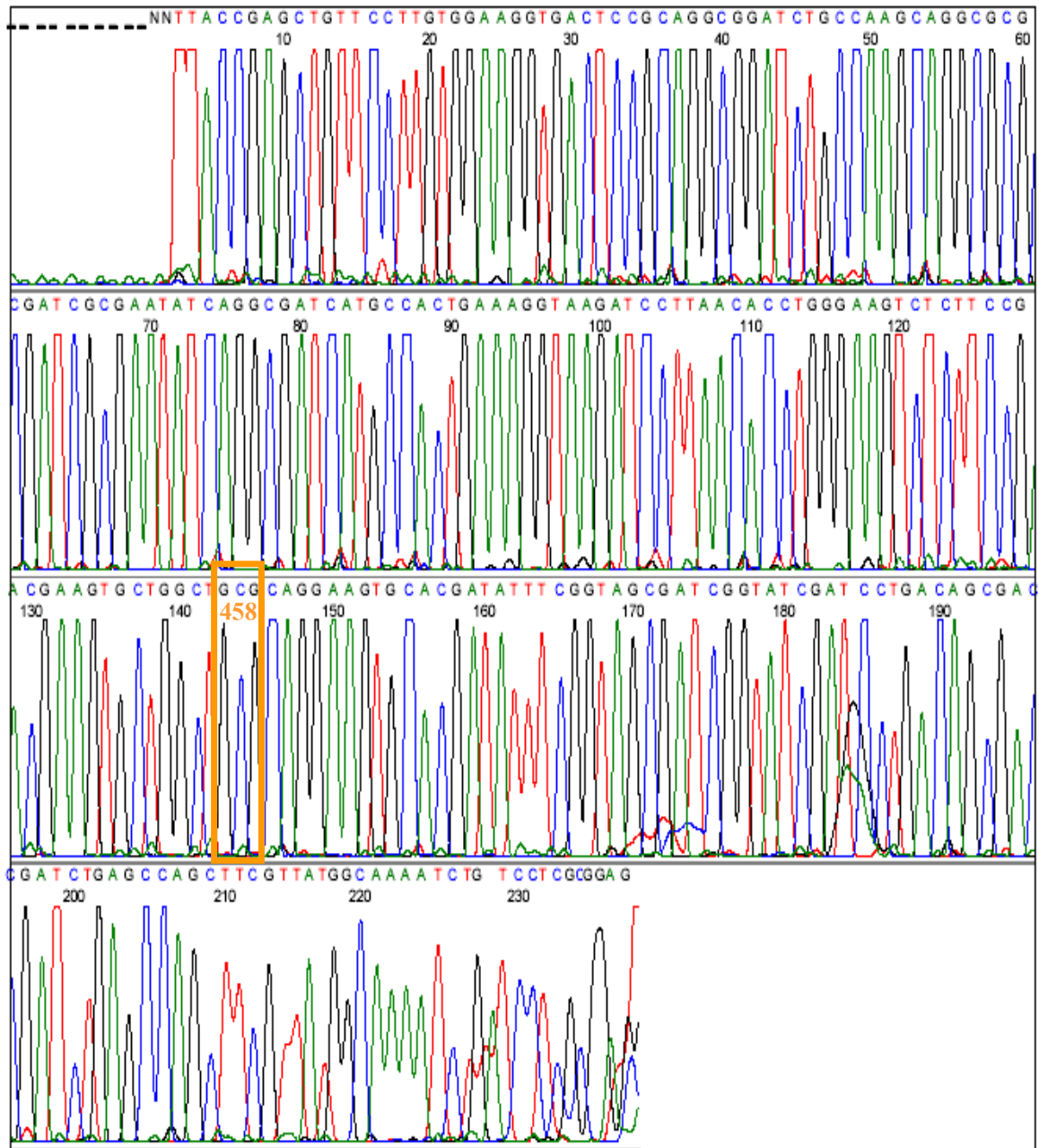
Lane/Cap#: 5

Spacing: 15.06

Matrix: n/a

Comment: n/a

Direction: Reverse Complement



4.3. SECUENCIA DE LA REGIÓN QRDR DE LOS GENES *gyrA*, *gyrB*, *parC* y *parE* DE LOS TREINTA AISLADOS, CON SUS MUTACIONES CORRESPONDIENTES

En las tablas siguientes se muestra el resultado de la secuenciación en cada uno de los genes, para cada uno de los aislados, señalando, por un lado, las mutaciones que codifican cambio de aminoácido (celdillas con fondo gris más oscuro y letras en blanco), y, por tanto, cambio en la estructura de la proteína, y, por otro, aquellas mutaciones silentes (celdillas con fondo gris más claro y letras en negro), que no producen cambio de aminoácidos y, por tanto, tampoco en la proteína.

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 1

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	gac	gta	atc	ggt	
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 1

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gta	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gct	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	caa	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 1

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 1

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 25

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggc	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 25

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtc	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gct	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctg	gat	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gct	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gcc	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 25

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	agt	gcc	tgt	tat	AAA	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	S	A	C	Y	K	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 25

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 26

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 26

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctt	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	gga	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gac	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 26

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 26

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gct	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tcc	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 41

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 41

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 41

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 41

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 46

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggc	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 46

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gct	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	ggt	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 46

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 46

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 58

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 58

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 58

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 58

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 65

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 65

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gta	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gca	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tcc	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 65

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 65

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 101

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 101

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tca	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 101

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 101

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 102

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB aislado 102

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tca	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 102

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 102

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 115

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 115

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gct	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctc	tct	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtt	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctg	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 115

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATT	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 115

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 140

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 140

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	act	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gac	cca
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	cta	tac	ctt	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 140

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	CGT	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	R	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 140

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 141

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 141

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	act	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gac	cca
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	cta	tac	ctt	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 141

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	CGT	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	R	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 141

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 153

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 153

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gct	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctc	tct	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	ggt	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctg	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 153

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATT	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 153

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 159

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggc	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 159

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctt	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	gga	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gac	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 159

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 159

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gct	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tcc	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 179

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	gtt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 179

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	act	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gac	cca
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	cta	tac	ctt	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 179

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATT	gcc	tgt	tat	GTA	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	V	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 179

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 180

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 180

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tca	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 180

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	GGA	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	V	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 180

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgt	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	ccg	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 185

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggc	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 185

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gta	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 185

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 185

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgt	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	ccg	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gac	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 189

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 189

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctc	tct	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtt	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctg	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 189

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATT	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggt	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 189

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 191

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtc	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 191

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 191

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	gtt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	GTG	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	V	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 191

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 195

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 195

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 195

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 195

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 200

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 200

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 200

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 200

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 207

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 207

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 207

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 207

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 217

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	gtc	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 217

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 217

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	GTG	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	V	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 217

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 219

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 219

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gta	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gca	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tcc	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 219

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 219

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 224

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggt	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 224

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gcg	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctc	tct	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtt	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctg	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 224

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATT	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggt	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 224

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gct	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ttg	agc	cag	ctt	cgt	tac	ggc	aag	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 226

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 226

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tca	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 226

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 226

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 232

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 232

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 232

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 232

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 237

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggt	gac	gta	atc	ggt
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggc	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggt
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggt	aac	ttc	ggt	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 237

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 237

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 237

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 245

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 245

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gtt	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gcg	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tct	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 245

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	gtt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
caa	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 245

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	gtc	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gct	GCG	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	A	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cac	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4. RESULTADOS

gyrA, aislado 255

atg	agc	gac	ctt	gcg	aga	gaa	att	aca	ccg	gtc	aac	att	gag	gaa
M	S	D	L	A	R	E	I	T	P	V	N	I	E	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
gag	ctg	aag	agc	tcc	tat	ctg	gat	tat	gcg	atg	tcg	gtc	att	gtt
E	L	K	S	S	Y	L	D	Y	A	M	S	V	I	V
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ggc	cgt	gcg	ctg	cca	gat	gtc	cga	gat	ggc	ctg	aag	ccg	gta	cac
G	R	A	L	P	D	V	R	D	G	L	K	P	V	H
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
cgt	cgc	gta	ctt	tac	gcc	atg	aac	gta	cta	ggc	aat	gac	tgg	aac
R	R	V	L	Y	A	M	N	V	L	G	N	D	W	N
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	gcc	tat	aaa	aaa	tct	gcc	cgt	gtc	ggt	ggg	gac	gta	atc	ggg
K	A	Y	K	K	S	A	R	V	V	G	D	V	I	G
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
aaa	tac	cat	ccc	cat	ggg	gac	TTG	gcg	ggt	tat	AAC	acg	atc	gtc
K	Y	H	P	H	G	D	L	A	V	Y	N	T	I	V
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cgt	atg	gcg	cag	cca	ttc	tcg	ctg	cgt	tac	atg	ctg	gta	gac	ggg
R	M	A	Q	P	F	S	L	R	Y	M	L	V	D	G
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
cag	ggg	aac	ttc	ggg	tct	atc	gac	ggc	gac	tct	gcg	gcg	gca	atg
Q	G	N	F	G	S	I	D	G	D	S	A	A	A	M
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120

gyrB, aislado 255

aaa	gtg	ccg	gac	ccg	aaa	ttc	tcc	tcc	cag	acc	aaa	gac	aaa	ctg
K	V	P	D	P	K	F	S	S	Q	T	K	D	K	L
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338	339	340
gtt	tct	tct	gag	gtg	aaa	tcg	gcg	gta	gaa	cag	cag	atg	aac	gaa
V	S	S	E	V	K	S	A	V	E	Q	Q	M	N	E
341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351	352	353	354	355
ctg	ctg	gca	gaa	tac	ctg	ctg	gaa	aac	cca	acc	gac	gcg	aaa	atc
L	L	A	E	Y	L	L	E	N	P	T	D	A	K	I
356	357	358	359	360	361	362	363	364	365	366	367	368	369	370
gtg	gtt	ggc	aaa	att	atc	gat	gct	gcc	cgt	gcc	cgt	gaa	gcg	gcg
V	V	G	K	I	I	D	A	A	R	A	R	E	A	A
371	372	373	374	375	376	377	378	379	380	381	382	383	384	385
cgt	cgc	gcg	cgt	gaa	atg	acc	cgc	cgt	aaa	ggt	gcg	ctc	gac	tta
R	R	A	R	E	M	T	R	R	K	G	A	L	D	L
386	387	388	389	390	391	392	393	394	395	396	397	398	399	400
gcg	ggc	ctg	ccg	ggc	aaa	ctg	gca	gac	tgc	cag	gaa	cgc	gat	ccg
A	G	L	P	G	K	L	A	D	C	Q	E	R	D	P
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
gca	ctt	tcc	gaa	ctg	tac	ctg	gtg	gaa	ggg	gac	tcc	gcg	ggc	ggc
A	L	S	E	L	Y	L	V	E	G	D	S	A	G	G
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
tct	gcg	aag	cag	ggg	cgt	aac	cgc	aag	aac	cag	gcg	att	ctg	ccg
S	A	K	Q	G	R	N	R	K	N	Q	A	I	L	P
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
ctg	aag	ggt	aaa	atc	ctc	aac	gtc	gag	aaa	gcg	cgc	ttc	gat	aag
L	K	G	K	I	L	N	V	E	K	A	R	F	D	K
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
atg	ctc	tct	tcc	cag	gaa	gtg	gcg	acg	ctt	atc	acc	gcg	ctt	ggc
M	L	S	S	Q	E	V	A	T	L	I	T	A	L	G
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
tgt	ggt	atc	ggt	cgt	gac	gag	tac	aac	ccg	gac	aaa	ctg	cgt	tat
C	G	I	G	R	D	E	Y	N	P	D	K	L	R	Y
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490

4. RESULTADOS

parC, aislado 255

atg	agc	gat	atg	gca	gag	cgc	ctt	gcg	cta	cat	gaa	ttt	acg	gaa
M	S	D	M	A	E	R	L	A	L	H	E	F	T	E
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
aac	gcc	tac	tta	aac	tac	tcc	atg	tac	gtg	atc	atg	gac	cgt	gcg
N	A	Y	L	N	Y	S	M	Y	V	I	M	D	R	A
16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
ttg	ccg	ttt	att	ggt	gat	ggt	ctg	aaa	cct	ggt	cag	cgc	cgc	att
L	P	F	I	G	D	G	L	K	P	V	Q	R	R	I
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
gtg	tat	gcg	atg	tct	gaa	ctg	ggc	ctg	aat	gcc	agc	gcc	aaa	ttt
V	Y	A	M	S	E	L	G	L	N	A	S	A	K	F
46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
aaa	aaa	tcg	gcc	cgt	acc	gtc	ggt	gac	gta	ctg	ggt	aaa	tac	cat
K	K	S	A	R	T	V	G	D	V	L	G	K	Y	H
61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
ccg	cac	ggc	gat	ATC	gcc	tgt	tat	gaa	gcg	atg	gtc	ctg	atg	gcg
P	H	G	D	I	A	C	Y	E	A	M	V	L	M	A
76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
cag	ccg	ttc	tct	tac	cgt	tat	ccg	ctg	ggt	gat	ggt	cag	ggg	aac
Q	P	F	S	Y	R	Y	P	L	V	D	G	Q	G	N
91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
tgg	ggc	gcg	ccg	gac	gat	ccg	aaa	tcg	ttc	gcg	gca	atg	cgt	tac
W	G	A	P	D	D	P	K	S	F	A	A	M	R	Y
106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
acc	gaa	tcc	cgg	ttg	tcg	aaa	tat	tcc	gag	ctg	cta	ttg	agc	gag
T	E	S	R	L	S	K	Y	S	E	L	L	L	S	E
121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135

parE, aislado 255

ctg	gct	gat	tgt	acc	gcg	cag	gac	ctt	aac	cgt	acc	gag	ctg	ttc
L	A	D	C	T	A	Q	D	L	N	R	T	E	L	F
401	402	403	404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415
ctt	gtg	gaa	ggt	gac	tcc	gca	ggc	gga	tct	gcc	aag	cag	gcg	cgc
L	V	E	G	D	S	A	G	G	S	A	K	Q	A	R
416	417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429	430
gat	cgc	gaa	tat	cag	gcg	atc	atg	cca	ctg	aaa	ggt	aag	atc	ctt
D	R	E	Y	Q	A	I	M	P	L	K	G	K	I	L
431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442	443	444	445
aac	acc	tgg	gaa	ggt	tct	tcc	gac	gaa	gtg	ctg	gcc	tcg	cag	gaa
N	T	W	E	V	S	S	D	E	V	L	A	S	Q	E
446	447	448	449	450	451	452	453	454	455	456	457	458	459	460
gtg	cat	gat	att	tcg	gta	gcg	atc	ggt	atc	gat	cct	gac	agc	gac
V	H	D	I	S	V	A	I	G	I	D	P	D	S	D
461	462	463	464	465	466	467	468	469	470	471	472	473	474	475
gat	ctg	agc	cag	ctt	cgt	tat	ggc	aaa	atc	tgt	atc	ctc	gcg	gat
D	L	S	Q	L	R	Y	G	K	I	C	I	L	A	D
476	477	478	479	480	481	482	483	484	485	486	487	488	489	490
gcg	gac	tct	gat	ggt	ctg	cac	att	gcc	acg					
A	D	S	D	G	L	H	I	A	T					
500	501	502	503	504	505	506	507	508	509					

4.4. RELACIÓN ESTADÍSTICA ENTRE LAS MUTACIONES DETECTADAS Y LA CMI DE CIPROFLOXACINO Y LEVOFLOXACINO

En las tablas 10 y 11 se muestran las mutaciones detectadas para cada uno de los 30 aislados, ordenados éstos según el valor creciente de CMI de ciprofloxacino (tabla 10) y de levofloxacino (tabla 11)

Tabla 10: Relación entre el número de mutaciones detectadas y la CMI (en mg/l) de ciprofloxacino

Aislado	CMI Ciprofloxacino	Gen <i>gyrA</i>	Gen <i>gyrB</i>	Gen <i>parC</i>	Gen <i>parE</i>
58	4	S83L, D87N	wt	S80I	wt
140	4	S83L, D87N	wt	S80R	wt
25	8	S83L, D87N	wt	E84K	wt
65	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
101	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
102	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
115	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
141	8	S83L, D87N	wt	S80R	wt
255	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
1	16	S83L, D87N	wt	S80I	wt
153	16	S83L, D87N	wt	S80I	wt
217	16	S83L, D87N	wt	S80I, A108V	wt
219	16	S83L, D87N	wt	S80I	wt
26	32	S83L, D87N	wt	S80I	wt
41	32	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
180	32	S83L, D87N	wt	S80I, E84G	wt
185	32	S83L, D87N	wt	S80I	wt
191	32	S83L, D87N	wt	S80I, A108V	wt
226	32	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
237	32	S83L, D87N	wt	S80I	wt
245	32	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
46	64	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
159	64	S83L, D87N	wt	S80I	wt
179	64	S83L, D87N	wt	S80I, E84V	wt
195	64	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
207	64	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
232	64	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
189	128	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
200	128	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
224	128	S83L, D87N	wt	S80I	S458A

wt: Wild Type

Tabla 11: Relación entre el número de mutaciones detectadas y la CMI (en mg/l) de levofloxacino

Aislado	CMI Levofloxacino	Gen <i>gyrA</i>	Gen <i>gyrB</i>	Gen <i>parC</i>	Gen <i>parE</i>
58	4	S83L, D87N	wt	S80I	wt
140	4	S83L, D87N	wt	S80R	wt
25	4	S83L, D87N	wt	E84K	wt
115	4	S83L, D87N	wt	S80I	wt
141	4	S83L, D87N	wt	S80R	wt
65	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
101	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
102	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
255	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
1	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
153	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
217	8	S83L, D87N	wt	S80I, A108V	wt
219	8	S83L, D87N	wt	S80I	wt
41	8	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
226	8	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
224	8	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
26	16	S83L, D87N	wt	S80I	wt
180	16	S83L, D87N	wt	S80I, E84G	wt
185	16	S83L, D87N	wt	S80I	wt
191	16	S83L, D87N	wt	S80I, A108V	wt
245	16	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
46	16	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
159	16	S83L, D87N	wt	S80I	wt
179	16	S83L, D87N	wt	S80I, E84V	wt
195	16	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
207	16	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
232	16	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
189	16	S83L, D87N	wt	S80I	S458A
237	32	S83L, D87N	wt	S80I	wt
200	32	S83L, D87N	wt	S80I	S458A

wt: Wild Type

Los resultados del análisis estadístico figuran en la tabla 12, y como se ve, los únicos coeficientes de correlación que fueron significativamente distintos de cero son los del número de mutaciones en *parE* con las dos CMI, y el número de mutaciones totales con las dos CMI. Las otras correlaciones no son significativamente distintas de cero.

Tabla 12: Valores del coeficiente Rho de Spearman y significación al estudiar la relación entre los valores de CMI de ciprofloxacino y levofloxacino y el número de mutaciones acumuladas para cada aislado

Número de mutaciones	Parámetros estadísticos	CMI Ciprofloxacino	CMI Levofloxacino
Gen <i>gyrA</i>	Coeficiente Rho de Spearman	ND	ND
	Significación (bilateral)	ND	ND
Gen <i>gyrB</i>	Coeficiente Rho de Spearman	ND	ND
	Significación (bilateral)	ND	ND
Gen <i>parC</i>	Coeficiente Rho de Spearman	0.104	0.199
	Significación (bilateral)	0.584	0.292
Gen <i>parE</i>	Coeficiente Rho de Spearman	0.689 (**)	0.370 (*)
	Significación (bilateral)	0.000	0.044
Totales	Coeficiente Rho de Spearman	0.722 (**)	0.485 (**)
	Significación (bilateral)	0.000	0.007

* La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

** La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

ND: Valor no determinado porque el número de mutaciones es el mismo para todos los aislados (2 en *gyrA*, y ninguno en *gyrB*)

5. DISCUSIÓN

La resistencia de *Escherichia coli* a los antibióticos se relaciona con el consumo de éstos, ya que la presión selectiva que ejercen sobre las poblaciones bacterianas, favorece la creación, adaptación y posterior diseminación de mecanismos de resistencia a los antibacterianos. La prevalencia creciente de resistencias hace imprescindible que, para orientar racionalmente el tratamiento empírico de la infección urinaria, entre otras, en el medio extrahospitalario, los laboratorios de Microbiología informen periódicamente a los clínicos de los patrones de sensibilidad de las bacterias potencialmente causantes de infección (Sánchez, 2003).

La resistencia a fluorquinolonas en aislados clínicos de *E. coli*, no comienza a ser descrita hasta la década de los años 90, cuando el consumo de estos antibióticos se extendió, entre otras cosas, porque las fluorquinolonas se convirtieron en una buena alternativa para el tratamiento de las infecciones por *E. coli* (infecciones del tracto urinario, profilaxis de las infecciones en pacientes con granulocitopenia o con cirrosis hepática...), debido a la elevada frecuencia de resistencias de este microorganismo a ampicilina o cotrimoxazol (Alós y cols, 1988).

Desde entonces, la frecuencia de aparición de dicha resistencia se ha incrementado considerablemente por todo el mundo, y, así, por ejemplo, en varios estudios españoles podemos constatar esta realidad. Queipo y cols (2000) informaron de un significativo aumento de las cifras de prevalencia de resistencia a quinolonas en aislados clínicos de *E. coli* entre 1990 (3%) y 1998 (23%). A su vez, Peña y cols (1995) describieron un incremento desde el 0% en 1988 al 7,5% en 1992 entre aislados de *E. coli* procedentes de bacteriemias. Y Pérez-Trallero y cols (1993) encontraron un importante aumento, desde el

0,8% en 1989 al 7,1% en 1992, de resistencia a quinolonas entre aislados obtenidos de muestras clínicas procedentes de infecciones del tracto urinario.

Las cifras de resistencia a las fluorquinolonas se han visto incrementadas debido a su uso masivo en la práctica clínica. Su amplio espectro de acción, potencia bactericida, propiedades farmacocinéticas (buena disponibilidad oral, baja unión a proteínas plasmáticas y eliminación renal) y su buena tolerancia, las han convertido en uno de los grupos de antibióticos de más amplia aceptación. También se ha implicado en esta elevada tasa de resistencias la ingesta de pequeñas dosis dentro de la cadena alimentaria, por consumo de carne procedente de animales tratados con estos antibióticos (Sánchez, 2003).

Finalmente, distintos estudios han demostrado que el uso de fluorquinolonas es un importante factor de riesgo para la aparición de resistencias a estos antibióticos en microorganismos gramnegativos, especialmente en pacientes con ingresos prolongados en servicios hospitalarios o en residencias (Richard y cols, 1994), lo que se relaciona, evidentemente, con fallo terapéutico (Truong y cols, 1995).

Si analizamos datos sobre el consumo de fluorquinolonas, observamos que muchas de las prescripciones de estos antibióticos en pacientes hospitalizados se han realizado para tratamientos empíricos, infecciones del trato urinario no complicadas, o para profilaxis de manipulaciones urológicas (especialmente sondas uretrales) (Ena y cols, 1998). Así, las fluorquinolonas en España se han usado como antibióticos de primera línea, en el tratamiento de infecciones del tracto urinario no complicadas y adquiridas en la comunidad. De esta forma, en las zonas donde se ha producido un consumo elevado de fluorquinolonas ha habido un significativo incremento de *E. coli* resistente a las mismas (Ena y cols, 1998). En resumen, la aparición de resistencia a fluorquinolonas se produce,

fundamentalmente, por haber realizado un uso indiscriminado de estos antibióticos. Por lo tanto, restringir el uso de los mismos, tanto en el hospital como en la comunidad, a aquellas indicaciones en los que son antibióticos de primera elección, puede reducir su uso y la aparición de resistencias.

Paralelamente al incremento del uso de fluorquinolonas para el tratamiento de infecciones por *E. coli*, se ha producido un aumento en la utilización de betalactámicos, especialmente, de cefalosporinas de segunda y tercera generación o aztreonam, y esto ha propiciado, a su vez, la aparición de fenotipos BLEE en esta especie bacteriana.

La asociación entre la producción de BLEEs y la resistencia a fluorquinolonas es un hecho bien conocido (Lautenbach y cols, 2001b) y, en parte, se podría deber a la transferencia conjunta de ambos mecanismos a través de plásmidos, como se ha descrito por algunos autores (Poirel y cols, 2006; Wang y cols, 2004). No obstante, este hecho sólo debe justificar una mínima parte de la corresponsabilidad encontrada, ya que básicamente, los mecanismos de resistencia a fluorquinolonas pueden clasificarse en dos tipos: alteraciones en la diana (por mutaciones puntuales en los genes que codifican las topoisomerasas) y reducción de los niveles de fluorquinolonas dentro de la bacteria (disminución de la expresión de porinas o incremento de la expulsión activa), siendo, de entre ellos, el primero, el mecanismo más relevante implicado en la adquisición de resistencia a fluorquinolonas (Ruiz y cols, 2000).

Estudios realizados en nuestro hospital han demostrado que el porcentaje de resistencias a fluorquinolonas en aislados clínicos de *E. coli* productores de BLEEs es superior al 70% (Sorlózano, 2004); sin embargo, en un estudio previo realizado en el

mismo laboratorio y con aislados clínicos que no incluyeron la producción de BLEEs, hubo sólo un 22% de aislados resistentes a ciprofloxacino (Daza y cols, 2001).

Un posible aumento del uso de fluorquinolonas en infecciones por microorganismos productores de BLEEs, que no responden al tratamiento con betalactámicos, podría justificar que la corresponsencia haya aumentado entre éstos (Sorlózano y cols, 2006a).

5.1. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN *gyrA*

En el presente estudio se han detectado dos mutaciones en la región QRDR del gen *gyrA* en los 30 aislados de *E. coli* estudiados: Ser83Leu y Asp87Asn, en el 100% de los aislados. Dichas mutaciones son, en parte, evidentemente, responsables de la resistencia a fluorquinolonas en los 30 aislados, sin embargo, estadísticamente, considerando que todos los aislados poseen las dos mutaciones, no se puede decir que dichos cambios sean responsables de la diferencia de CMI's para ciprofloxacino y levofloxacino entre los distintos aislamientos.

Actualmente hay 19 mutaciones descritas en 9 codones diferentes de la región QRDR de este gen (tabla 6).

De todas ellas, la sustitución Ser83Leu es la mutación más frecuente encontrada en *gyrA* de *E. coli*. Heisig y cols (1993) realizaron la primera descripción de las mutaciones Ser83Leu y Asp87Gly en esta bacteria.

En un estudio español, Vila y cols (1994) demostraron que las mutaciones en la región QRDR del gen *gyrA* se relacionan con elevados niveles de resistencia a ácido nalidíxico y variables niveles de resistencia a fluorquinolonas, dependiendo de la presencia

de uno o más cambios en dicha región. En dicho trabajo todos los aislados clínicos de *E. coli* con una CMI de ácido nalidíxico ≥ 8 mg/l poseían un cambio en la secuencia de *gyrA*, Ser83Leu, sugiriendo que un solo cambio es suficiente para generar alto nivel de resistencia a este antibiótico; sin embargo, eran variables los valores de CMI para ciprofloxacino (de 0,25 a 128 mg/l).

Si en este mismo estudio (Vila y cols, 1994) consideramos los 15 aislados que poseyeron una CMI de ácido nalidíxico ≥ 8 mg/l y una CMI de ciprofloxacino entre 0,25 mg/l y 4 mg/l, advertimos que presentaron una sola mutación, Ser83Leu; mientras que en los 11 aislados con una CMI ≥ 8 mg/l para ácido nalidíxico y una CMI ≥ 8 mg/l para ciprofloxacino, se encontró un doble cambio en la secuencia de *gyrA*, 8 aislados poseyeron las mutaciones Ser83Leu y Asp87Asn y 3 aislados las mutaciones Ser83Leu y Asp87Tyr. Por tanto, todos los aislados clínicos de *E. coli* con una CMI de ácido nalidíxico ≥ 8 mg/l poseían un cambio en Ser83 de *gyrA*, sugiriendo que sólo un cambio es suficiente para generar alto nivel de resistencia a este antibiótico pero bajos niveles de resistencia a fluorquinolonas, mientras que la mutación adicional en el codón Asp87 de *gyrA* se asocia a un mayor incremento de la resistencia a fluorquinolonas (Vila y cols, 1994).

Sin embargo, se ha descrito que los aislados con una sola mutación en Ser83 son significativamente más resistentes a fluorquinolonas que aquellos que sólo tienen una mutación en Asp87 (Ozeki y cols, 1997).

En nuestro trabajo, todos los aislados clínicos de *E. coli* presentaron una CMI de ciprofloxacino ≥ 4 mg/l (categoría clínica: Resistente) y de levofloxacino ≥ 4 mg/l (categoría clínica: Intermedio) (tabla 7).

Pero estos resultados para la especie *E. coli*, no se confirman para otros microorganismos. Así, por ejemplo, Wang y cols (1993) asociaron la presencia de un sólo cambio en Asp87 de *gyrA* en *Campylobacter jejuni* a altos niveles de resistencia a ácido nalidíxico y bajo nivel de resistencia a ciprofloxacino.

Hay estudios que sugieren que no todas las mutaciones en *gyrA* confieren el mismo nivel de resistencia a todas las fluorquinolonas (Hopkins y cols, 2005). Las mutaciones en los codones Ser83 y Asp87 confieren altos niveles de resistencia a fluorquinolonas, superiores a las mutaciones en otros codones del QRDR. Incluso, en lo que se refiere a las mutaciones en el codón Asp87, Asp87Tyr y Asp87Gly se asocian, individualmente, con niveles más bajos de CMI de ciprofloxacino (0,06 mg/l) que la mutación Asp87Asn, con una CMI de ciprofloxacino (0,5 mg/l) (Sáenz y cols, 2003). En el codón Ser83, la mutación Ser83Ala se asocia con niveles más bajos de CMI para ciprofloxacino que la mutación Ser83Leu (Tavio y cols, 1999).

Las sustituciones de aminoácidos en otras posiciones de *gyrA* como Ala67, Gly81, Asp82, Ala84 o Gln106 se han detectado sólo *in vitro* y con una frecuencia mucho menor. Solamente la sustitución Ala196Glu, en un aislado clínico de *E. coli*, se ha detectado fuera del QRDR de *gyrA* (Komp y cols, 2003), aunque *in vitro* también se ha obtenido la sustitución Ala51Val fuera de dicha región (Friedman y cols, 2001).

Por tanto, la mutación en el codón Ser83 de *gyrA*, la que con más frecuencia se encuentra en aislados clínicos de *E. coli*, puede, por sí sola, hacer que un aislado clínico de esta especie sea resistente a ácido nalidíxico y sensible a fluorquinolonas (Ruiz y cols, 2000). Esto explicaría por qué el uso de fluorquinolonas no debe ser recomendado en el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias resistentes a ácido nalidíxico,

aunque sean sensibles a fluorquinolonas, ya que esta primera mutación en la diana de las quinolonas estará presente en dicho aislado (Ruiz y cols, 2000).

Desde el punto de vista del laboratorio, por tanto, es también imprescindible utilizar el ácido nalidíxico en el antibiograma como marcador de estas mutaciones, y por tanto, predictor de posibles fracasos terapéuticos si se emplean quinolonas (Ruiz y cols, 2000)

5.2. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN *gyrB*

En este estudio no se han detectado mutaciones en la región QRDR del gen *gyrB* en ninguno de los 30 aislados de *E. coli* estudiados.

Las mutaciones en *gyrB* aparecen con mucha menos frecuencia que las que aparecen en el gen *gyrA* (Vila y cols, 1996) y no juegan un papel especialmente relevante en la adquisición de resistencias a fluorquinolonas (Tavio y cols, 1999).

Actualmente hay 2 mutaciones descritas en 2 codones diferentes de la región QRDR de este gen (tabla 6): Asp426Asn y Lys447Glu.

Yoshida y cols (1991) describieron por primera vez ambas mutaciones. El cambio Asp426Asn generó un incremento de las CMI de las quinolonas anfotéricas ensayadas en dicho estudio (ácido pipemídico, norfloxacin, enoxacin, ofloxacin, ciprofloxacino, tosufloxacin y sparfloxacin), con un rango entre 0,05 a 12,5 mg/l, significativamente mayor que el rango de CMI que, para las mismas quinolonas, generó la mutación Lys447Glu (0,0031 a 0,39 mg/l). Sin embargo, para otro grupo de quinolonas (ácido nalidíxico, ácido oxolínico, cinoxacin y flumequinol), los valores de CMI fueron más elevados (rango entre 1,56 y 100 mg/l), y no fueron significativamente distintos entre los dos tipos de mutaciones.

Herrera y cols (1993) demostraron que la presencia de una mutación en *gyrA* era capaz de enmascarar la hipersensibilidad a las quinolonas anfotéricas de las mutaciones en *gyrB*.

En definitiva, la mutación Asp426Asn confiere mayor nivel de resistencia a las quinolonas anfotéricas, que la mutación Lys447Glu.

5.3. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN *parC*

En este estudio se han detectado seis mutaciones distintas en la región QRDR del gen *parC* en los 30 aislados de *E. coli* estudiados: Ser80Ile (76,7% de los aislados), Ser80Arg (6,7%), Glu84Lys (3,3 %), Ser80Ile y Glu84Gly (3,3%), Ser80Ile y Glu84Val (3,3%), Ser80Ile y Ala108Val (6,7 %).

Dichas mutaciones contribuyen también a la resistencia a fluorquinolonas en los 30 aislados, sin embargo, estadísticamente, aún considerando que hay 4 aislados que poseen dos mutaciones, y el resto sólo una sustitución, no se puede decir que dichos cambios, por sí mismos, sean responsables de la diferencia de CMIs para fluorquinolonas entre los distintos aislamientos.

Actualmente hay 11 mutaciones descritas en 7 codones diferentes de la región QRDR de este gen (tabla 6)

La mutación en el codón Ser80 (homólogo al codón Ser83 de *gyrA*) ha sido la que se ha detectado con mayor frecuencia en el gen *parC*, siendo Ser80Ile la sustitución más común. Mutaciones en el codón Glu84 (homólogo al codón Asp87 de *gyrA*) a Gly, Lys o Val son relativamente comunes también (Hopkins y cols, 2005).

Vila y cols (1996), en un estudio realizado sobre 15 aislados *E. coli* con CMI de ciprofloxacino ≥ 1 mg/l detectaron mutaciones en los codones Ser80 y Glu84, mientras que no detectaron mutaciones en 12 aislados de la misma especie para los que la CMI era $\leq 0,25$ mg/l. De los 15 aislados resistentes a fluorquinolonas, 8 tenían un solo cambio en Ser80, 4 un solo cambio en Glu84, y 3 tenían cambios en ambos codones, además de, al menos, una mutación en el gen *gyrA* en todos ellos.

Distintos estudios han demostrado que las mutaciones en *parC* sólo aparecen en aislados con valores de CMI de ciprofloxacino $\geq 0,5$ mg/l (Everett y cols, 1996), y siempre se asocian a mutaciones en el gen *gyrA*. Soussy y cols (1993) demostraron que para que las mutaciones en *parC* expresasen resistencia a quinolonas era necesaria, al menos, una mutación previa en *gyrA*. Nuestros datos confirman este hecho. En este estudio las mutaciones en *parC* aparecen en todos los aislados, que, como hemos visto, además, poseen una doble mutación en *gyrA*.

La mutación Gly78Asp de *parC* tiene un efecto similar a la mutación Gly81Asp en *gyrA* sobre la resistencia fenotípica, ya que son homólogas (Hopkins y cols, 2005). Otras mutaciones en este gen son Ala56Thr o Ser57Thr, ambas fuera del QRDR (Fendukly y cols, 2003, Sáenz y cols, 2003), o la mutación A108V (Domínguez y cols, 2002), que también aparece en dos de los aislados del presente estudio.

5.4. MUTACIONES DETECTADAS EN EL GEN *parE*

En este estudio se ha detectado una sola mutación en el gen *parE* en 10 de los 30 aislados de *E. coli* estudiados (33,3%): Ser458Ala, mutación que está fuera de la región QRDR y que no ha sido descrita en otros estudios, hasta el momento.

Actualmente hay 7 mutaciones descritas en 7 codones diferentes de este gen (tabla 6), si bien, todas ellas son cambios que ocurren en codones fuera de la región QRDR.

Cuando analizamos estadísticamente la relación entre el incremento de CMI a ciprofloxacino y levofloxacino entre los aislados del presente estudio y la presencia de la mutación Ser458Ala en los mismos, observamos que existe significación, es decir, el incremento de CMI se relaciona, estadísticamente, con la presencia de dicho cambio. Por tanto, son necesarias nuevas investigaciones, como la mutagénesis inducida, por ejemplo, para comprobar si dicho cambio es el responsable real de dicho incremento del nivel de resistencia a quinolonas.

Soussy y cols (1993) demostraron, al igual que para el gen *parC*, que para que las mutaciones en *parE* expresasen resistencia a quinolonas era necesaria, al menos, una mutación previa en *gyrA*.

En un trabajo de Ruiz y cols (1997) sobre 20 aislados clínicos de *E. coli* previamente caracterizados para mutaciones en los genes *gyrA*, *gyrB* y *parC*, y en los que se estudió la presencia de cambios en la secuencia del gen *parE*, ninguno de los 20 aislados estudiados mostraron mutaciones en ningún nucleótido de este gen, por lo que los autores concluyeron que la expresión de resistencia a fluorquinolonas en *E. coli* dependía de mutaciones en los genes *gyrA*, *gyrB* y *parC* y no de mutaciones en *parE*, cuyo papel en la adquisición de resistencias en *E. coli* a fluorquinolonas se consideró irrelevante.

Más recientemente, sí se han descrito cambios en la secuencia de *parE*, aunque fuera de la región QRDR. Komp y cols (2003) en un estudio sobre aislados de *E. coli* obtenidos de pacientes con infecciones del tracto urinario, han descrito varias mutaciones en *parE* (Ile444Phe, Ser458Thr o Ile529Leu), presentes junto a dos mutaciones en *gyrA*, y

además, en dos aislados, una mutación adicional en *parC*. Sin embargo, como estas mutaciones están fuera del QRDR de *parE*, su contribución real a la resistencia a fluorquinolonas (no derivada de las mutaciones en *gyrA* y *parC*) debe ser evaluada con nuevas investigaciones (Hopkins y cols, 2005).

Como podemos apreciar, existe una importante similitud entre la mutación detectada por nosotros, Ser458Ala, y la mutación Ser458Thr, previamente descrita por Komp y cols (2003)

5.5 INFLUENCIA DE OTROS MECANISMOS EN LA RESISTENCIA A FLUORQUINOLONAS

Aunque en el presente estudio no se han considerado otros mecanismos implicados en la resistencia a fluorquinolonas, no se debe olvidar que éstos también influyen, evidentemente, en dicho proceso. Estos mecanismos pueden ser los responsables de las diferencias de CMI para fluorquinolonas encontradas entre aislados clínicos con el mismo tipo de mutaciones en todos los genes.

Al igual que nosotros, en los distintos estudios que hemos analizado hasta ahora observamos que sólo se ha examinado la resistencia a quinolonas determinada por las mutaciones puntuales detectadas en los genes de las dianas de las quinolonas. Podemos concluir, según éstos, que una sola mutación en el gen *gyrA* (más frecuentemente Ser83Leu) confiere resistencia a ácido nalidíxico, y una mutación adicional en *gyrA* (Asp87) y/o en *parC* (Ser80 ó Glu84), que ocurre en un paso posterior, es necesaria para obtener altos niveles de resistencia a fluorquinolonas. Las mutaciones en *gyrB* y *parE* confieren bajos niveles de resistencia y son mucho menos frecuentes (Cattoir y cols, 2006).

Sin embargo, es obvio, que sobre la resistencia a fluorquinolonas intervienen otros factores que modulan la CMI real.

En los trabajos de Jordi Vila encontramos claros ejemplos. En el estudio publicado en 1994 (Vila y cols, 1994) encontramos que la mutación en el codón Ser83Leu de *gyrA* explica la baja resistencia a ciprofloxacino (CMI entre 0,25 y 4 mg/l), mientras que la doble mutación Ser83Leu y Asp87Asn (o Tyr) incrementa la CMI de ciprofloxacino en *E. coli* a valores de entre 8 mg/l y 128 mg/l. Sin embargo, la diferencia de CMI que existe entre los aislados que poseen la doble mutación debe explicarse por otro fenómeno. Una posibilidad sería la presencia de mutaciones adicionales en *gyrB*, sin embargo, estos aislados no presentaban otras mutaciones en este gen (no se realizó estudio en el gen *parC*). Se puede pensar que mecanismos que modifiquen los niveles de fluorquinolonas dentro del microorganismo (alteraciones de las porinas y mecanismos de expulsión activa) pueden ser los responsables de esas diferentes CMIs.

Posteriormente, en el trabajo publicado en 1996 (Vila y cols, 1996), se tuvieron en cuenta los cambios en el gen *parC*. En este otro estudio una sustitución en *gyrA* se asoció con bajos niveles de resistencia a ciprofloxacino (CMI de 0,25 mg/l); dos cambios, uno en *gyrA* y otro en *parC* se asoció con un moderado incremento de la CMI de ciprofloxacino (1 a 4 mg/l); tres sustituciones (dos en *gyrA* y una en *parC*) se asoció con altos niveles de resistencia a ciprofloxacino (8 a 64 mg/l), y cuatro cambios (dos en *gyrA* y dos en *parC*) se asociaron a los niveles más altos de resistencia a ciprofloxacino (128 mg/l). Sin embargo, esto no explica todos los casos. Hay aislados con muchas mutaciones acumuladas que presentan CMIs bajas, respecto a otros aislados con menos mutaciones y CMIs más elevadas. Los primeros casos se pueden explicar por un aumento del acúmulo de

antibiótico en el interior de la bacteria (incremento de la permeabilidad o disminución del eflujo), mientras que el otro caso puede asociarse a una disminución de la concentración interna del antibiótico (reducción de la permeabilidad o incremento de la expulsión activa). Serían, por tanto, necesarios estudios de permeabilidad a fluorquinolonas.

En definitiva, la adquisición de un alto nivel de resistencia debería ser un proceso multifactorial. Las mutaciones en la ADN girasa, asociadas o no a mutaciones en la topoisomerasa IV, son el principal factor determinante de altos niveles de resistencia a fluorquinolonas. Las alteraciones de la permeabilidad, causados por cambios en las OMPs (fundamentalmente disminución de la expresión de OmpF), la expulsión activa del antibiótico, y, en menor medida, la presencia de plásmidos, son mecanismos complementarios, que no pueden ser excluidos, y que pueden facilitar el desarrollo de resistencia y contribuir a la selección de aislados resistentes a fluorquinolonas en el curso del tratamiento con estos antibióticos (Tavio y cols, 1999).

6. CONCLUSIONES

1. Todos los aislados clínicos de *Escherichia coli* resistentes a ciprofloxacino y levofloxacino mostraron mutaciones en los genes *gyrA* y *parC*.
2. La sustitución del aminoácido Serina en la posición 83 por Leucina, así como de Ácido aspártico en la posición 87 por Asparragina, en la proteína *gyrA*, estuvo presente en todos los aislados estudiados.
3. Todas las cepas mostraron, al menos, un cambio en la secuencia de aminoácidos de *parC*, la sustitución de Serina en la posición 80 por Isoleucina o Arginina. Además, en algunos aislados se describieron los cambios de Ácido glutámico en la posición 84 por Lisina, Glicina o Valina, o de Alanina en la posición 108 por Valina.
4. Entre los cambios en *parC*, el más frecuente fue la sustitución de Serina en la posición 80 por Isoleucina.
5. No se observó presencia de mutaciones en el gen *gyrB*.
6. Sólo se ha descrito un cambio en la secuencia de aminoácidos de *parE*, en un tercio de los casos, la sustitución de Serina en la posición 458 por Alanina.

7. La presencia del cambio de Serina por Alanina en la posición 458 de parE se asoció, de una forma estadísticamente significativa, con incrementos de los valores de la concentración mínima inhibitoria para ciprofloxacino y levofloxacino. Son necesarias nuevas investigaciones para determinar la participación real de dicha mutación en los incrementos del nivel de resistencia a quinolonas.

8. En nuestros aislados no se descarta la participación de otros mecanismos responsables de los incrementos de resistencia a quinolonas, tales como alteraciones de la permeabilidad, bombas de expulsión activa y/o la presencia de genes en plásmidos que codifican esta resistencia.

7.BIBLIOGRAFÍA

Abbanat D, Webb G, Foleno B, y cols. In vitro activities of novel 2-fluoro-naphthyridine containing ketolides. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 309-315.

Alós JI. Quinolonas. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2003; 21: 261-268.

Alós JI, Balas D y Grupo de Estudio de Infección en Atención Primaria. Prevalencia de susceptibilidad a quinolonas y otros antibióticos en microorganismos aislados de bacteriurias extrahospitalarias de Madrid en 1995. *Rev Clin Esp* 1997; 197: 167-171.

Alós JI y Chacón. Bacteriología de las infecciones urinarias extrahospitalarias. *Med Clin (Barc)* 1988; 90: 395-398.

Alovero FL, Pan XS, Morris JE, y cols. Engineering the specificity of antibacterial fluorquinolones: Benzenesulfonamide modifications at C-7 of ciprofloxacin change its primary target in *Streptococcus pneumoniae* from topoisomerase IV to gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 320-325.

Andersson MI y MacGowan AP. Development of the quinolones. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1-11.

Appelbaum PC y Hunter PA. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives. *Int J Antimicrob Agents* 2000; 16: 5-15.

Appelbaum PC, Pankuch GA, Bozdogan BG, y cols. Activity of the new quinolone WCK 771 against pneumococci. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 9-14.

Arduino SM, Roy PH, Jacoby GA, y cols. Bla_{CTX-M-2} is located in an unusual class 1 integron (In 35) wich includes Orf513. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 2303-2306.

Auquer F, Cerdón F, Gorina E, y cols. Single-dose ciprofloxacin versus 3 days of norfloxacin in uncomplicated urinary tract infections in women. *Clin Microbiol Infect* 2002; 8: 50-54.

Bagel S, Hüllen V, Wiedemann B, y cols. Impact of *gyrA* and *parC* mutations on quinolone resistance, doubling time, and supercoiling degree of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 868-875.

Balas D. Caracterización del gen GyrA de *Streptococcus pneumoniae* y regulación de su expresión. Memoria de doctorado, Madrid; 2001.

Ball P. Quinolone generations: natural history or natural selection? *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 17-24.

Baquero F, Reguera JA, Ojeda M, y cols. *Escherichia coli* con resistencia a cefalosporinas de tercera generación codificadas por betalactamasas de tipo plasmídico: primer brote en España. *Rev Esp Microbiol Clin* 1988; 581-582.

Barton N, Crowther AF, Hesworth W, y cols. Quinolones and therapeutic compositions containing them. UK patent; 1960: 830-832.

Bergogne E. Clinical role of protein binding of quinolones. *Clin Pharmacokinet* 2002; 41: 741-750.

Bradford PA. Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 933-951.

Browne FA, Bozdogan B, Clark C, y cols. Antipneumococcal activity of DK-507k, a new quinolone, compared with the activities of 10 other agents. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3815-3824.

- Bryskier A y Chantot JF Classification and structure-activity relationships of fluoroquinolones. *Drugs* 1995; 49: 16-28.
- Bush K, Jacoby GA y Medeiros AA. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 1211-1233.
- Cattoir V, Lesprit P, Lascols C, y cols. In vivo selection during ofloxacin therapy of *Escherichia coli* with combined topoisomerase mutations that confer high resistance to ofloxacin but susceptibility to nalidixic acid. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 1054-1057.
- Chen FJ, Lauderdale TL, Ho M, y cols. The roles of mutations in *gyrA*, *parC*, and *OmpK35* in fluoroquinolone resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Drug Resist* 2003; 9: 265-271.
- Chung YJ y Saier MH Jr. SMR-type multidrug resistance pumps. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2001; 4: 237-245.
- Craig WA. Pharmacokinetics and pharmacodynamics parameters: Rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998; 26: 1-10.
- Cordiés L, Machado LA, Hamilton M. Quinolonas y terapia antimicrobiana. *Actas Médicas* 1998; 8: 58-65
- Danel F, Hall LMC, Duke B, y cols. OXA-17, a further extended-spectrum β -lactamase variant of OXA-10 β -lactamase isolated from *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1362-1366

Daza R, Gutiérrez J y Piédrola G. Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from patients with community-acquired urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2001; 18: 211-215.

DiGate RJ y Mariani KJ. Identification of a potent decatenating enzyme from *Escherichia coli*. *J Biol Chem* 1988; 263: 13366-13373.

DiGate RJ y Mariani KJ. *Escherichia coli* topoisomerase III-catalyzed cleavage of RNA. *J Biol Chem* 1992; 267: 20532-20535.

Dinardo S, Voelkel KA, Sternglanz R, y cols. *Escherichia coli* DNA topoisomerase I mutants have compensatory mutation in DNA gyrase genes. *Cell* 1982; 31: 43-52.

Domínguez E, Zarazaga M, Sáenz Y, y cols. Mechanism of antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from healthy children in Spain. *Microb Drug Resist* 2002; 8: 321-327.

Dong Y, Zhao X, Domagal J, y cols. Effect of fluorquinolone concentration on selection of resistant mutants of *Mycobacterium bovis* BCG and *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 1756-1758.

Drlica K y Zhao X. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiol Mol Biol Rev* 1997; 61: 377-392.

Emmerson AM y Jones AM. The quinolones: decades of development and use. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 13-20.

Ena J, López-Perezagua MM, Martínez-Peinado C, y cols. Emergence of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolates after widespread use of fluoroquinolones. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 30: 103-107.

- Engberg J, Aarestrup M, Taylor DE, y cols. Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*: Resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 24-34.
- Everett MJ, Jin YF, Ricci V, y cols. Contributions of individual mechanisms to fluorquinolone resistance in 36 *Escherichia coli* strains isolated from humans and animals. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 2380-2386.
- Fath MJ y Kolter R. ABC transporters: bacterial exporters. *Microbiol Rev* 1993; 57: 995-1017.
- Fendukly F, Karisson I, Hanson HS, y cols. Patterns of mutations in target genes in septicemia isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* with resistance or reduced susceptibility to ciprofloxacin. *APMIS* 2003; 111: 857-866.
- Friedman SM, Lu T y Drlica K. Mutation in the DNA gyrase A gene of *Escherichia coli* that expands the quinolone resistance-determining region. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 2378-2380.
- Garau J, Xercavins M, Rodríguez M, y cols. Emergence and dissemination of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the community. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2736-2741.
- Gargallo D, Ferrer S, Tudela E, y cols. Antibacterial activities and pharmacokinetics of E-4767 and E-5065, two new 8-chlorofluoroquinolones with a 7-azetidino ring substituent. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 3113-3121.
- García JA y Muñoz JL. ¿Qué nuevas quinolonas podemos esperar?. *Rev Esp Quimioter* 2003; 16: 49-54.

Giuliano M, Pantosti A, Gentile G, y cols. Effects on oral and intestinal microflora of norfloxacin and pefloxacin for selective decontamination in bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1709-1713.

Gobernado M. Betalactamasas de espectro extendido en aumento. *Rev Esp Quimioterap* 2005; 18: 115-117.

Goettsch W, Van Pelt W, Nagelkerke N, y cols. Increasing resistance to fluorquinolones in *Escherichia coli* from urinary tract infections in the Netherlands. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 223-228.

González JG. Estudio de los mecanismos de mutagénesis y potencia mutagénica de quinolonas. Tesis doctoral, Departamento de genética y microbiología, Facultad de ciencias, Barcelona; 2004.

Gordeev MF, Hackbarth C, Barbachyn MR, y cols. Novel oxazolidinone-quinolone hybrid antimicrobials. *Bioorg Med Chem Lett* 2003; 13: 4213-4216.

Gutiérrez N. Relation between structure, activity and adverse effects of quinolones. *Rev Esp Quimioter* 2004; 17: 232-243.

Heddle JG, Barnard FM, Wentzell LM, y cols. The interaction of drugs with DNA gyrase: a model for the molecular basis of quinolone action. *Nucleos Nucleot Nucleic Acids* 2000; 19: 1249-1264.

Heisig P, Schedletzky H y Falkenstein-Paul H. Mutations in the *gyrA* gene of a highly fluoroquinolone-resistant clinical isolate of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 696-701.

Helling RB, Janes BK, Kimball H, y cols. Toxic waste disposal in *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 2002; 184: 3699-3703.

- Herrera G, Aleixandra V, Urios A, y cols. Quinolone action in *Escherichia coli* cells carrying *gyrA* and *gyrB* mutations. FEMS Microbiol Lett 1993; 106: 187-191.
- Higgins PG, Fluit AC y Schmitz FJ. Fluoroquinolones: Structure and target sites. Current Drug Targets 2003; 4: 181-190.
- Hooper DC. Bacterial topoisomerases, anti-topoisomerases, and anti-topoisomerase resistance. Clin Infect Dis 1998; 27: 54-63.
- Hooper DC. Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones. Clin Infect Dis 2000; 31: 24-28.
- Hooper DC. Mechanisms of action of antimicrobials: focus on fluoroquinolones. Clin Infect Dis 2001; 32: 9-15.
- Hopkins KL, Davies RH y Threlfall EJ. Mechanisms of quinolone resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella*: Recent developments. Int J Antimicrob Agents 2005; 25: 358-373.
- Hubschwerlen C, Specklin JL, Baeschlin DK, y cols. Structure-activity relationship in the oxazolidinone-quinolone hybrid series: influence of the central spacer on the antibacterial activity and the mode of action. Bioorg Med Chem Lett 2003a; 13: 4229-4233.
- Hubschwerlen C, Specklin JL, Sigwalt C, y cols. Design, synthesis and biological evaluation of oxazolidinone-quinolone hybrids. Bioorg Med Chem Lett 2003b; 11: 2313-2319
- Ito A, Hirai K, Inoue M, y cols. In vitro antibacterial activity of AM-715, a new nalidixic acid analog. Antimicrob Agents Chemother 1980; 17: 103-108.

Janion C. Some aspects of the SOS response system--a critical survey. *Acta Biochim Pol* 2001; 48: 599-610

Jonas D, Biehler K, Hartung D, y cols. Plasmid-mediated quinolone resistance in isolates obtained in german intensive care units. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 773-775.

Jones ME, Critchley IA, Karlowsky JA, y cols. In vitro activities of novel nonfluorinated quinolones PGE 9262932 and PGE 9509924 against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pneumoniae* with defined mutations in DNA gyrase and topoisomerase IV. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1651-1657.

Karas JA, Pillay DG, Muckart D y cols. Treatment failure due to extended-spectrum β -lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1996; 37: 203-204.

King A, Warren C, Shannon K, y cols. In vitro antibacterial activity of norfloxacin (MK-0366). *Antimicrob Agents Chemother* 1982; 21: 604-607.

King D, Malone R y Lilley S. New classification and update on the quinolone antibiotics. *Am Fam Physician* 2000; 61: 2741-2748.

Komp LP, Karlsson A y Hughes D. Mutation rate and evolution of fluorquinolone resistance in *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 3222-3232.

Lautenbach E, Patel JB, Bilker WB, y cols. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001a; 32: 1162-1171.

- Lautenbach E, Strom BL, Bilker WB, y cols. Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Clin Infect Dis 2001b; 33: 1288-1294.
- Lázaro E, Madurga M y De Abajo FJ. Evolución del consumo de antibióticos en España, 1985-2000. Med Clin (Barc) 2002; 118: 561-568.
- Leshner GY, Froelich EJ, Gruett MD, y cols. 1,8-naphthyridine derivatives. A new class of chemotherapeutic agents. J Med Pharm Chem 1962; 91: 1063-1065.
- Lew DP y Waldvogel FA. Use of quinolones in osteomyelitis and infected orthopaedic prosthesis. Drugs 1999; 58: 85-91.
- Li XZ y Nikaido H. Efflux-mediated drug resistance in bacteria. Drugs 2004; 64: 159-204.
- Linde HJ, Notka F, Metz M, y cols. In vivo increase in resistance to ciprofloxacin in *Escherichia coli* associated with deletion of the C-terminal part of MarR. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 1865-1868.
- Loza E, Cantón R, Pascual A, y cols. Comparative in vitro activity of garenoxacin (BMS-284756). Sentry program, Spain (1999-2000). Enferm Infecc Microbiol Clin 2003; 21: 404-409.
- Ma D, Cook DN, Alberti M, y cols. Genes *acrA* y *acrB* encode a stress-induced efflux system of *Escherichia coli*. J Mol Microbiol 1995; 16: 45-55.
- Mammeri H, Van De LM, Poirel L, y cols. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. Antimicrob Agents Chemother 2005; 49: 71-76.

Martínez-Martínez L, Pascual A, Conejo MC, y cols. Energy-dependent accumulation of norfloxacin and porin expression in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and relationship to extended-spectrum beta-lactamase production. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3926-3932.

Martínez-Martínez L, Pascual A, García I, y cols. Interaction of plasmid and host quinolone resistance. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1037-1039.

Martínez-Martínez L, Pascual A y Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998; 351: 797-799.

Maxwell A. The molecular basis of quinolone action. *J Antimicrob Chemother* 1992; 30: 409-414.

Maxwell A. DNA gyrase as a drug target. *Trends Microbiol* 1997; 5: 102-109.

Morita Y, Kodama K, Shiota S, y cols. NorM, a putative multidrug efflux protein, of *Vibrio parahaemolyticus* and its homolog in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 1778-1782.

Mullis J, Faloona K, Scharf S y cols. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symp Quant Bio.* 1986; 51: 263-271.

Muñoz JL. Betalactamasas de espectro extendido. ¿son hoy un serio problema en España? *Rev Esp Quimioterap* 2004; 17: 314-316

Naber KB y Adam D. Classification of fluorquinolones. *Int J Antimicrob Agents* 1998; 10: 255-257.

National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Sixth edition. Approved standard. NCCLS publication M7-A6. NCCLS 2004, Wayne, Pa.

Nikaido H y Zgurskaya HI. AcrAB and related multidrug efflux pumps of *Escherichia coli*. J Mol Microbiol Biotechnol 2001; 3: 215-218.

Nilius AM, Shen LL, Hensey-Rudloff D, y cols. In vitro antibacterial potency and spectrum of ABT-492, a new fluoroquinolone. Antimicrob Agents Chemother 2003; 47: 3260-3269.

Oethinger M, Podglajen I, Kern WV, y cols. Overexpression of the *marA* or *soxS* regulatory gene in clinical topoisomerase mutants of *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 1998; 42: 2089-2094.

Oliphant CM y Green GM. Quinolones: a comprehensive review. Am Fam Physician 2002; 65: 455-464.

Oliver A, Pérez-Díaz JC, Coque TM, y cols. Nucleotide sequence and characterization of a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-10) isolated in Spain. Antimicrob Agents Chemother 2001; 45: 616-620.

Oteo J y Campos J. Uso de quinolonas y resistencia. Enferm Infecc Microbiol Clin 2004; 22: 201-203.

Oteo J, Campos J, Baquero F, y cols. Antibiotic resistance in 1962 invasive isolates of *Escherichia coli* in 27 Spanish hospitals participating in the European Antimicrobial Resistance Surveillance System (2001). J Antimicrob Chemother 2002; 50: 945-952.

Owens RC y Ambrose PG. Clinical use of the fluorquinolones. *Med Clin North Am* 2000; 84: 1447-1469.

Ozeki S, Deguchi T, Yasuda M y cols. Development of a rapid assay for detecting *gyrA* mutations in *Escherichia coli* and determination of incidence of *gyrA* mutations in clinical strains isolated from patients with complicated urinary tract infections. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2315-2319.

Pao SS, Paulsen IT y Saier MH. Major facilitator superfamily. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62: 1-34.

Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, y cols. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum betalactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 473-478.

Peacock JE, Herrington DA, Wade JC, y cols. Ciprofloxacin plus piperacillin compared with tobramycin plus piperacillin as empirical therapy in febrile neutropenic patients. A randomized, double-blind trial. *Ann Intern Med* 2002; 137: 77-87.

Peng H y Mariani J. *Escherichia coli* topoisomerase IV. Purification, characterization, subunit structure, and subunit interactions. *J Biol Chem* 1993; 268: 24481-24490.

Peña C, Albareda JM, Pallarés R, y cols. Relationship between quinolone use and emergence of ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* in bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39: 520-524.

Peña C, Pujol M, Ardanuy C, y cols. Epidemiology and successful control of a large outbreak due to *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 53-58.

Pérez-Trallero E, Urbieta M, Jiménez K, y cols. Ten-year survey of quinolone resistance in *Escherichia coli* causing urinary tract infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1993; 2: 349-351.

Peterson LR. Quinolone molecular structure-activity relationships: What we have learned about improving antimicrobial activity?. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 180-186.

Poirel L, Pitout JDD, Calvo L, y cols. In vivo selection of fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* isolates expressing plasmid-mediated quinolone resistance and expanded-spectrum β -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50: 1525-1527.

Price JR. Some reactions of 1-methyl- γ -quinolone-3-carboxylic acid, a degradation product of the alkaloids. *Aust J Sci Res* 1949; 217: 272-281.

Queipo JA, Budía A, Mascaros MJ, y cols. Evolución de la resistencia microbiana a fluorquinolonas en un hospital terciario. *Actas Urol Esp* 2000; 24: 381-387.

Reece R y Maxwell A. DNA gyrase: structure and function. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1991; 26: 335-375.

Richard P, Delangle MH, Merrien D, y cols. Fluoroquinolone use and fluoroquinolone resistance: is there an association? *Clin Infect Dis* 1994; 19: 54-59.

Rodríguez JM. Mecanismos de resistencia a quinolonas mediada por plásmidos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2005; 23: 25-31.

Rodríguez JM, Pascual A, García I, y cols. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnr* among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producing AmpC-type beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother* 2003; 52: 703-706.

Rodríguez JM, Pascual A, Martín A, y cols. Bactericidal activity of fluorquinolones against *Klebsiella pneumoniae* containing the plasmid mediated resistance determinant *qnr*. 13th ESCMID (Glasgow, Escocia) 2004; P1555.

Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, y cols. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum betalactamase-producing *Escherichia coli* in non hospitalized patients. J Clin Microbiol 2004; 42: 1089-1094.

Rohlfing SR, Gerster JR y Kvam DC. Bioevaluation of the antibacterial flumequine for urinary tract use. Antimicrob Agents Chemother 1976; 10: 20-24.

Rossolini GM, Franceschini N, Lauretti L, y cols. Cloning of a *Chryseobacterium (Flavobacterium) meningosepticum* chromosomal gene (*bla_{CME}*) encoding an extended-spectrum class A β -lactamase related to the *Bacteroides* cephalosporinases and the VEB-1 and PER β -lactamases. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43: 2193-2199.

Roychoudhury S y Ledoussal B. Non-fluorinated quinolones (NFQs): New antibacterials with unique properties against quinolone-resistant gram-positive pathogens. Curr Drug Targets Infect Disord 2002; 2: 51-65.

Ruiz J, Casellas S, Jiménez de Anta MT, y cols. The region of the *parE* gene, homologous to the quinolone-resistant determining region of the *gyrB* gene, is not linked with the acquisition of quinolone resistance in *Escherichia coli* clinical isolates. J Antimicrob Chemother 1997; 39: 839-840.

Ruiz A, Ruiz M, Pérez B, y cols. Non-hospital consumption of antibiotics in Spain: 1987-1997. J Antimicrob Chemother 2000; 45: 395-400.

- Sabaté M, Tarrago R, Navarro F, y cols. Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing β -lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 1970-1973.
- Sáenz Y, Zarazaga M, Briñas L, y cols. Mutations in *gyrA* and *parC* genes in nalidixic acid-resistant *Escherichia coli* strains from food products, humans and animals. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1001-1005.
- Saier MH Jr., Beatty JT, Goffeau A, y cols. The major facilitator superfamily. *J Mol Microbiol Biotechnol* 1999; 1: 257-279.
- Sánchez JM, Guillán C, Fuster C, y cols. Sensibilidad microbiana de *Escherichia coli* en infecciones urinarias extrahospitalarias. *Actas Urol Esp* 2003; 27: 783-787.
- Sanger F, Nicklen S y Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1977; 74: 5463-5468
- Schmitz FJ, Higgins PG, Mayer S, y cols. Activity of quinolones against gram-positive cocci: Mechanisms of drug action and bacterial resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21: 647-659.
- Shen LL, Mitscher LA, Sharma PN, y cols. Mechanism of inhibition of DNA gyrase by quinolone antibacterials: A cooperative drug DNA binding model. *Biochemistry* 1989; 28: 3886-3894.
- Sierra JM. Bases moleculares de resistencia a quinolonas en *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Corynebacterium* spp. Tesis doctoral. Departamento de microbiología y parasitología. Facultad de Barcelona; 2005.
- Soriano F. Selección de bacterias resistentes a los antibióticos: factores microbiológicos y farmacológicos. *Med Clin (Barc)* 2001; 117: 632-636.

Sorlózano A. Betalactamasas de espectro extendido en nuestro medio: Aportaciones científicas. Tesis doctoral. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Granada; 2004.

Sorlózano A, Gutiérrez J, Palanca M, y cols. High incidence of extended-spectrum beta-lactamases among outpatient clinical isolates of *Escherichia coli*: a phenotypic assessment of NCCLS guidelines and a commercial method. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004a; 50: 131-134.

Sorlózano A, Gutiérrez J, Fernández F, y cols. A preliminary study on the presence of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in clinical isolates of *Escherichia coli* in Granada (Spain). *Ann Microbiol* 2004b; 54: 227-232.

Sorlózano A, Gutiérrez J, Luna JD, y cols. High presence of extended-spectrum β -lactamases and resistance to quinolones in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Microbiol Res* 2006a; (en prensa).

Sorlózano A, Gutiérrez J, Luna JD, y cols. In vitro activity of β -lactam and non- β -lactam antibiotics in extended-spectrum β -lactamase-producing clinical isolates of *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2006b; 54: 135-139.

Soussy CJ, Wolfson JS, Ng EY y cols. Limitations of plasmid complementation test for determination for quinolone resistance due to changes in the gyrase A protein and identification of conditional quinolone resistance locus. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 2588-2592.

Srivenugopal KS, Lockshon D y Morris DR. *Escherichia coli* DNA topoisomerase III: purification and characterization of a new type I enzyme. *Biochemistry* 1984; 23: 1899-1906.

Stahlmann R y Lode H. Toxicity of quinolones. *Drugs* 1999; 58: 37-42.

Stahlmann R. Clinical toxicological aspects of fluoroquinolones. *Toxicol Lett.* 2002; 127: 269-277.

Taléns, R. Actividad antimicrobiana in vitro de nuevas 6-fluoroquinolonas de administración por vía oral. Relación estructura – actividad. Tesis doctoral. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Valencia; 2001.

Tavio MM, Vila J, Ruiz J, y cols. Mechanism involved in the development of resistance to fluorquinolones in *Escherichia coli* isolates. *J Antimicrob Chemother* 1999; 44: 735-742.

Tran JH y Jacoby GA. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 5638-5642.

Tran JH, Jacoby GA y Hooper DC. Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 118-125.

Trucksis M y Depew R. Identification and localization of a gene that specifies production of *Escherichia coli* DNA topoisomerase I. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 2164-2168.

Truong QC, Ouabdesselam S, Hooper DC, y cols. Sequential mutations of *gyrA* in *Escherichia coli* associated with quinolone therapy. *J Antimicrob Chemother* 1995; 36: 1055-1059.

Tse YC y Wang JC. Complete nucleotide sequence of the *topA* gene encoding *Escherichia coli* DNA topoisomerase I. *J Mol Biol* 1986; 191: 321-331.

- Valverde A, Coque TM, Sánchez MP, y cols. Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* during nonoutbreak situations in Spain. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 4769-4775.
- Vila J, Ruiz J, Goñi P, y cols. Detection of mutations in *parC* in quinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 491-493.
- Vila J, Ruiz J, Marco F, y cols. Association between double mutation in *gyrA* gene of ciprofloxacin resistant clinical isolates of *Escherichia coli* and MICs. *Antimicrob Agents Chemother* 1994; 38: 2477-2479.
- Wang JC. Interaction between DNA and an *Escherichia coli* protein omega. *J Mol Biol* 1971; 55: 523-533.
- Wang Y, Huang WH y Taylor DE. Cloning and nucleotide sequence of the *Campylobacter jejuni gyrA* gene and characterization of quinolone resistance mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 457-463.
- Wang M, Sahm DF, Jacoby GA, y cols. Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the *qnr* gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1295-1299.
- Wang MJ, Tran H, Jacoby GA, y cols. Plasmid-mediated quinolone resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* from Shanghai, China. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 2242-2248.
- Weigel LM, Steward CD y Tenover FC. *GyrA* mutations associated with fluorquinolone resistance in eight species of *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 2661-2667.

Wise R, Andrews JM y Edwards LJ. In vitro activity of Bay 09867, a new quinoline derivative, compared with those of other antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1983; 23: 559-564.

Yamakawa T, Mitsuyama J y Hayashi K. In vitro and in vivo antibacterial activity of T-3912, a novel non-fluorinated topical quinolone. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49: 455-465.

Yoshida H, Bogaki M, Nakamura M, y cols. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35: 1647-1650.

Yoshida H, Nakamura M, Bogaki M, y cols. Mechanism of action of quinolones against *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37: 839-845.

