



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN
ALIMENTOS Y BIOTECNOLOGÍA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA



Análisis genómico de los bacteriófagos líticos F6 y F14 de *Salmonella enterica*
Serovar Infantis

Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción de Proyecto de Investigación, previo a la obtención del título de Ingenieras Biotecnólogas, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Este estudio forma parte del fellowship “Bacterial genomics using Oxford Nanopore Sequencing” financiado por el Programa de Biotecnología para América Latina y el Caribe (UNU Biolac); y como parte del Proyecto de Investigación “Aplicación de Tecnologías de Secuenciación de Nueva Generación (NGS) en el Análisis de Contaminación Microbiana en Cuerpos Hídricos y en la Evaluación de Patógenos de Alta Prioridad”, aprobado mediante Resolución Nro. UTA-CONIN-2023-0294-R, por el Consejo de Investigación e Innovación de la Universidad Técnica de Ambato.

Autores: Karen Analía Altamirano Cisneros
Joselyn Micaela Gavilanes Tiban

Tutor: PhD. William Ricardo Calero Cáceres

Ambato - Ecuador

Febrero - 2024

APROBACIÓN DEL TUTOR

PhD. William Ricardo Calero Cáceres

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción de Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Titulación y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 15 de enero del 2024

PhD. William Ricardo Calero Cáceres

CI. 1714344885-9

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Nosotras, Karen Analía Altamirano Cisneros y Joselyn Micaela Gavilanes Tiban, manifestamos que los resultados obtenidos en el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción de Investigación, previo a la obtención del título de Ingenieras Biotecnólogas, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



Karen Analía Altamirano Cisneros

CI. 1804958807

AUTOR



Joselyn Micaela Gavilanes Tiban

CI. 1850073295

AUTOR

DERECHOS DE AUTOR

Autorizamos a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final del Trabajo de Titulación parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la institución.

Cedemos los derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final del Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además aprobamos la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando nuestros derechos de autor.



Karen Analía Altamirano Cisneros

CI. 1804958807

AUTOR



Joselyn Micaela Gavilanes Tiban

CI. 1850073295

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Informe Final del Trabajo de Titulación, Opción Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Por constancia firman:

Presidente de Tribunal

Mg. María Daniela Garcés Moncayo
180357158 – 5

Mg. Cristian Fernando Galarza Galarza
180316027 – 2

Ambato, 6 de febrero del 2024

DEDICATORIA

*A todos aquellos corazones inquietos y mentes curiosas
que encuentran dicha en la belleza de la ciencia.*

Karen Analía Altamirano Cisneros

La Ani

DEDICATORIA

*A Dios, fuente eterna de sabiduría, cuyo amor infinito y perfección sublime se revela
a través de la ciencia.*

Joselyn Micaela Gavilanes Tiban

AGRADECIMIENTO

La elaboración de este trabajo fue una verdadera travesía, por lo que sería egoísta decir que lo logré sola. Las personas que menciono a continuación fueron fundamentales en esta etapa, y aunque para algunos esta solo sea otra hoja tesis, para mi redactarla conllevó lágrimas, melancolía y gratitud.

Los Motores: Agradezco a mis queridos padres, Klever y Carla, por ser la razón de esta travesía. Sé que son muchas las diferencias entre nosotros, pero doy gracias por su resiliencia, paciencia y amor. Nunca duden que los amo muchísimo.

Las Guardianas: A mis primas, July y Oda, por cuidarme desde lejos durante esta travesía. Gracias por acompañarme y por ser esas hermanas que nunca tuve.

Mi Compañera de travesía: A mi amiga, Micaela Gavilanes, resulta irónico que el primer trabajo grupal de la carrera lo hicimos juntas y ahora nos graduemos juntas. Son varias las anécdotas y pesares que compartimos, y estoy feliz de haberlos vivido contigo. La etapa de hacer tesis con una amiga recomiendo no saltársela.

El Mentor de la travesía: A mi tutor, PhD. William Calero Cáceres, por su voto de confianza hacia mi persona, por su guía y consejos que quedarán perdurarán en mi vida profesional. Quiero también agradecerle por cuidar de mi bienestar y salud mental durante este año decisivo de mi vida. Muchas gracias por todo.

Mis amigos: A las increíbles personitas que conocí en esta travesía y a los que yo considero mis amigos, Meli, Pame, Lenin, Gene, Sebas, Naty, Bryan, Diani, Noe y Alexandra. Gracias por las risas y el apoyo, pero, sobre todo, gracias por su amistad.

Mis ángeles: En especial quiero mencionar a tres personas que me ayudaron a llegar viva a este momento de mi vida, Alex, Fernanda y Ricardo. No tengo palabras para expresar lo que han hecho en mí, gracias y espero tenerlos conmigo todo mi camino.

Mis maestras: A Katy y Pauli, gracias por su amistad, paciencia y enseñanzas.

¡Gracias a todos ustedes! Siempre tendrán un rincón especial en mi mente y corazón

***Con cariño,
La Ani***

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por sostenerme y levantarme en los momentos más difíciles de mi carrera. Gracias por ser mi fortaleza y por cuidarme.

A mis padres, Gabriela y Marco, por su infinita paciencia, sus consejos y enseñanzas a lo largo de esta etapa. Gracias por criarme y por contribuir a formar la mujer soy hoy. Su confianza en mí significa todo.

A mi hermana Paulette, por su constante apoyo y motivación. Gracias por confiar siempre en mí.

A mi tío Christian, por ser mi apoyo en mis debilidades, por su disposición a ayudarme y cuidar de mí.

A mi amiga y compañera Analía Altamirano, agradezco a Dios por unirnos de principio a fin de esta travesía llamada universidad. A pesar de los desafíos en el camino, gracias por tu infinita paciencia y por levantarme en los momentos más difíciles en el desarrollo de este trabajo. Espero volvernos a unir en el futuro.

A mi tutor PhD. William Calero, por su dedicación y paciencia. Por ser la guía en la elaboración de este trabajo y siempre estar presto a aclarar cualquier duda. Gracias, por cada consejo en el proceso, los llevaré por siempre en mi memoria.

A Paulina T, y Katheryne M, por cada enseñanza depositada en mí, por su paciencia y dedicación. Su presencia fue un respaldo invaluable.

A mis amigos y compañeros Michael, Kerly, Alexis, Pamela, Melissa, Lenin, Nathaly y Bryan, por su amistad y compañía en este largo trayecto de formación profesional. Los buenos recuerdos que compartimos siempre estarán en mi corazón.

A mis amigos Ñusta, Bryan y Erika por sostenerme cuando mis fuerzas flaqueaban. Su apoyo incondicional no tiene precio. Los quiero.

¡Gracias a todos, que Dios los bendiga!

Joselyn Micaela Gavilanes Tiban

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	iii
DERECHOS DE AUTOR.....	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiv
RESUMEN EJECUTIVO	xv
ABSTRACT	xvi
CAPITULO I.....	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes investigativos	1
1.1.1. Generalidades.....	1
1.1.2. Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETAs).....	2
1.1.3. <i>Salmonella</i> y su papel en la avicultura.....	3
1.1.4. Uso de antibióticos en la avicultura	4
1.1.5. Bacteriófagos.....	4
1.1.6. Bacteriófagos como agentes de control biológico	6
1.1.7. Caracterización de secuencias de bacteriófagos	7
1.1.8. Secuenciación de nueva generación (NGS).....	7
1.1.9. Análisis de secuencias de genoma completo.	9
1.2. Objetivos.....	11

1.2.1. Objetivo General	11
1.2.2. Objetivos específicos	11
CAPÍTULO II.....	12
METODOLOGÍA	12
2.1. Materiales.....	12
2.2. Métodos	16
2.2.1. Descripción de las características generales de las secuencias del genoma completo de bacteriófagos F6 y F14 de <i>S. enterica</i> serovar Infantis.....	16
2.2.2. Comparación de secuencias del genoma completo de los bacteriófagos h analizados utilizando mapas de genómica comparativa.	19
2.2.3. Análisis filogenético de los bacteriófagos analizados.....	20
CAPÍTULO III.....	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	21
3.1. Análisis y discusión de los resultados.....	21
3.1.1. Caracterización de secuencias del genoma completo de los bacteriófagos F6 y F14.....	21
3.1.2. Comparación de las secuencias del genoma completo de los bacteriófagos utilizando genómica comparativa	31
3.1.3. Análisis filogenético de los bacteriófagos analizados con secuencias de diverso origen geográfico	39
CAPÍTULO IV	43
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	43
4.1. Conclusiones.....	43
4.2. Recomendaciones.....	45
MATERIALES DE REFERENCIA	46
Referencias Bibliográficas	46
ANEXOS	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura de un bacteriófago	5
Figura 2 Tecnología Oxford Nanopore	8
Figura 3 Anotación genómica del bacteriófago F6	26
Figura 4 Anotación genómica del bacteriófago F14	27
Figura 5 Análisis comparativo F6	35
Figura 6 Análisis comparativo F14	38
Figura 7 Filogenia de bacteriófagos	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Equipos de laboratorio empleados.....	12
Tabla 2 Materiales de laboratorio empleados.....	13
Tabla 3 Reactivos de laboratorio empleados	14
Tabla 4 Recursos informáticos empleados	14
Tabla 5 Características de los bacteriófagos F6 y F14	22
Tabla 6 F6 BLAST fagos <i>Salmonella</i>	32
Tabla 7 Listado de los fagos de <i>Salmonella</i> pertenecientes al clado de F14.....	36

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1	Descripción de BLAST del bacteriófago F6 y F14.....	62
Anexo 2	Lista de proteínas anotadas de ORF en el genoma del bacteriófago F6	62
Anexo 3	Lista de proteínas anotadas de ORF en el genoma del bacteriófago F14 ...	64
Anexo 4	Genomas de bacteriófagos de <i>Salmonella</i> usados para filogenia.....	64
Anexo 5	Listado de los fagos de <i>Salmonella</i> pertenecientes al clado de F6.....	69
Anexo 6	Listado de los fagos de <i>Salmonella</i> pertenecientes al clado de F14.....	70

RESUMEN EJECUTIVO

La contaminación de alimentos por *Salmonella* representa una emergente crisis global en salud pública, con las granjas avícolas siendo los principales reservorios de este patógeno. El uso excesivo de antibióticos en estas granjas contribuye al aumento de la resistencia antibiótica. Frente a esta situación, los bacteriófagos líticos surgen como una alternativa prometedora para el biocontrol de *Salmonella*. Sin embargo, es esencial realizar un análisis detallado del genoma completo de estos bacteriófagos antes de su implementación, para identificar la presencia de genes de virulencia y resistencia a los antibióticos que podrían afectar la seguridad de su implementación *in vivo*.

En este estudio, se secuenciaron dos bacteriófagos líticos de *S. enterica* serovar Infantis, denominados F6_melonhead y F14_guaytamphage, mediante tecnología Oxford Nanopore de tercera generación. La caracterización genómica reveló que F6 tiene una longitud de 29,097 pb y un contenido de GC del 48.57 por ciento, codificando 30 proteínas funcionales, mientras que F14 tiene una longitud de 59,339 pb, un contenido de GC del 56.44 por ciento, y codifica 49 proteínas funcionales. En ambos bacteriófagos, se descartó la presencia de genes productores de toxinas, factores de virulencia bacteriana, o genes de resistencia antibiótica. La comparación genética y el análisis filogenético situaron a F6_melonhead y F14_guaytamphage dentro de los géneros *Berlinvirus* y *Chivirus*, respectivamente.

Estos hallazgos posicionan a F6_melonhead y F14_guaytamphage como candidatos prometedores para el biocontrol de *Salmonella* en el sector avícola en el Ecuador.

Palabras clave: Microbiología, patógenos alimentarios, *Salmonella enterica*, granjas avícolas, resistencia antibiótica, bacteriófagos, secuenciamiento, biocontrol.

ABSTRACT

Food contamination by *Salmonella* represents an emerging global public health crisis, with poultry farms being the principal reservoirs of this pathogen. The excessive use of antibiotics on these farms contributes to the increase in antibiotic resistance. In response to this situation, lytic bacteriophages emerge as a promising alternative for the biocontrol of *Salmonella*. However, it is essential to perform a detailed analysis of the complete genome of these bacteriophages before their implementation, in order to identify the presence of virulence and antibiotic resistance genes that could affect the safety of their *in vivo* implementation.

In this study, two lytic bacteriophages of *S. enterica* serovar Infantis, named F6_melonhead and F14_guaytamphage, were sequenced using third-generation Oxford Nanopore technology. Genomic characterization revealed that F6 has a length of 29,097 bp and a GC content of 48.57 percent, encoding 30 functional proteins, while F14 has a length of 59,339 bp, a GC content of 56.44 percent, and encodes 49 functional proteins. In both bacteriophages, the presence of genes producing toxins, bacterial virulence factors, or antibiotic resistance genes was ruled out. Genetic comparison and phylogenetic analysis placed F6_melonhead and F14_guaytamphage within the *Berlinvirus* and *Chivirus* genera, respectively.

These findings position F6_melonhead and F14_guaytamphage as promising candidates for the biocontrol of *Salmonella* in the poultry sector in Ecuador.

Key words: Microbiology, foodborne pathogens, *Salmonella*, poultry farms, antibiotic resistance, bacteriophages, complete genome sequence, biocontrol.

CAPITULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes investigativos

1.1.1. Generalidades

A nivel mundial, se estiman alrededor de 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs), que desencadenan 420.000 muertes anuales a causa del consumo de alimentos contaminados (**World Health Organization, 2021**). Entre los patógenos bacterianos causantes de esta problemática, *S. enterica* representa un agente de alto riesgo y sus reservorios principalmente están asociados a productos alimenticios de origen animal (**Lee & Yoon, 2021**). Dentro de la producción primaria de alimentos, las granjas avícolas habitualmente representan el hábitat de *Salmonella*, en todas las etapas de la cadena de suministro, desde el procesamiento en el matadero hasta la venta del producto (**Bushen et al., 2021**). En respuesta, se propone el uso de bacteriófagos como una alternativa potencial de control biológico (**Pottker et al., 2022**).

Los bacteriófagos son agentes de control biológico prometedores para la eliminación de microorganismos patógenos en alimentos, su alta especificidad y tasa de replicación con el huésped les permite actuar de forma selectiva sin afectar a la microbiota de los productos alimenticios a los que se les aplica (**Gildea et al., 2022**). Sin embargo, es indispensable analizar determinados aspectos fenotípicos y genotípicos para garantizar una selección adecuada del bacteriófago en la formulación de bioproductos (**Teng et**

al., 2019). De modo que, puedan ser empleados eficazmente para la eliminación de patógenos en los alimentos y sus entornos de producción (**United States Department of Agriculture, 2021**).

A partir de los antecedentes mencionados, en la presente investigación se plantea la caracterización de dos secuencias de bacteriófagos de *S. enterica* serovar Infantis pertenecientes a la colección del grupo de investigación UTA RAM *One Health*, mediante secuenciación de genoma completo con tecnología Oxford Nanopore y el uso de herramientas bioinformáticas en conjunto con bases de datos. Estos resultados servirán como base para el potencial desarrollo de un cóctel de bacteriófagos para la industria avícola como alternativa al tratamiento tradicional con antibióticos y otros desinfectantes.

1.1.2. Enfermedades de Transmisión Alimentaria (ETAs)

Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (ETAs) representan uno de los principales desafíos en la salud pública a nivel mundial, dado su impacto en términos de morbilidad, mortalidad y costos económicos considerables (**Li et al., 2020**). Anualmente, se estima que el 7.69% de la población contrae una ETA, con el resultado del 7.5% de las defunciones anuales (**Jang et al., 2019**). Es importante destacar que estas cifras indican solamente una fracción de la totalidad de los casos, siendo que un porcentaje significativo no se documenta, en especial en países en vías de desarrollo, como Ecuador (**Finger et al., 2019**).

Estas enfermedades desempeñan un papel crucial como indicadores de contaminación alimentaria y están asociadas a patógenos bacterianos como *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* y *Campylobacter* (**Pires et al., 2021**). En este grupo, *Salmonella* destaca como uno de los patógenos más relevantes. En años recientes, se ha registrado un aumento en el número de infecciones en la población causadas por *S. enterica* (**Cohen et al., 2020**). Situando a este patógeno entre las cuatro principales causas de

ETA's a nivel mundial, con un impacto de 155.000 muertes atribuidas anualmente (Vilela et al., 2021).

1.1.3. *Salmonella* y su papel en la avicultura

Salmonella es una bacteria anaerobia facultativa, gram negativa perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae* (“Schlossberg’s Clin. Infect. Dis.,” 2021). Las especies de *Salmonella* se clasifican en varios tipos, entre estas, *S. enterica* es la más común y puede propagarse a través de diversos medios, incluyendo alimentos de origen animal, contacto persona a persona, e interacción con animales (Chaudhari et al., 2023). Esta bacteria es el microorganismo zoonótico de mayor incidencia en granjas avícolas. Según estimaciones, aproximadamente el 17.9% de todas las ETA están relacionadas con aves de corral, y dentro de este porcentaje el 19% corresponde a infecciones causadas por *S. enterica*. (Painter et al., 2013). La Colaboración Interagencial de Análisis de Seguridad Alimentaria (IFSAC) reporta que en Estados Unidos, el 16.8% de brotes de salmonelosis están relacionados al pollo, lo cual lo posiciona como el principal causal de estas infecciones (IFSAC, 2021).

La diseminación de este patógeno en avícolas está estrechamente relacionada a prácticas higiénicas deficientes (Mpundu et al., 2019). En este ambiente, los pollos pueden adquirir *Salmonella* a través de dos vías: transmisión vertical, que implica la transferencia del patógeno de gallinas ponedoras a los huevos; y la transmisión horizontal, donde las aves son colonizadas por el patógeno a través de factores como camas, heces, alimento, agua o equipos contaminados (Ramtahal et al., 2022). En consecuencia, la transmisión de *Salmonella* puede ocurrir a lo largo de todo el proceso de producción avícola, desde la crianza y sacrificio hasta la distribución final de las aves (Muligisa-Muonga et al., 2021).

En Ecuador, estudios del 2020 reportaron una prevalencia del *S. enterica* del 41.4% en granjas avícolas y 55.5% en carcasas de pollos, evidenciando una alta incidencia de este patógeno en el área avícola del país (Mejía et al., 2020). Situación alarmante

considerando que, en el último año, el sector avícola en Ecuador alcanzó una producción de 263 millones de pollos destinados al consumo cárnico (CONAVE, 2022).

1.1.4. Uso de antibióticos en la avicultura

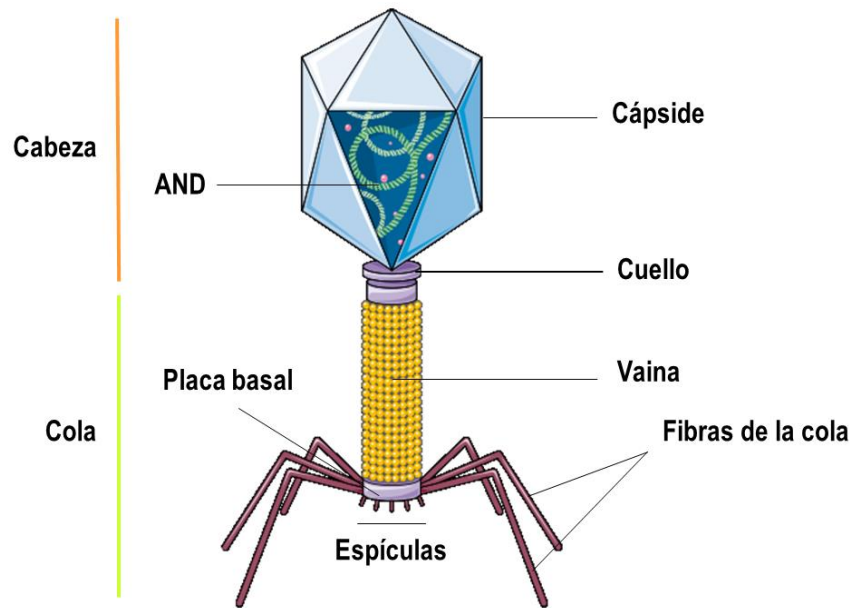
Salmonella no solo figura como uno de los principales causantes de ETA's a nivel mundial, sino que también exhibe un preocupante aumento en niveles de resistencia antibiótica (Chandra et al., 2021). En las granjas avícolas, una práctica común para prevenir y combatir las infecciones por *Salmonella* es la aplicación de antibióticos, los cuales, a su vez son usados como promotores de crecimiento de pollos de engorde (Mejía et al., 2020). Sin embargo, el uso desmedido de antibióticos en la industria avícola ha desencadenado en la aparición de cepas de *Salmonella* multirresistentes (Gargano et al., 2021). Estas cepas se diseminan en el entorno a través del consumo de productos contaminados de origen aviar, generando riesgos en la salud y contribuyendo al incremento de resistencia antibiótica a nivel mundial (Castro-Vargas et al., 2020). Ante esta creciente problemática, se han propuesto diferentes estrategias como alternativas al uso de antibióticos, destacando entre ellas el empleo de bacteriófagos como agentes de biocontrol (Chandra et al., 2021).

1.1.5. Bacteriófagos

Los bacteriófagos, o denominados comúnmente fagos, exhiben una estructura compuesta por una cápside (cabeza) y/o cola, con algunas excepciones. Esta conformación se caracteriza por una cápside proteica que rodea su material genético, y una cola adjunta a la cápside del fago, compuesta por fibras que facilitan la unión y la transferencia del material genético a las células bacterianas (Kasman & Porter, 2022).

Figura 1

Estructura de un bacteriófago



Nota: Adaptado de Bacteriófagos: una visión general de las estrategias de control contra múltiples infecciones bacteriana en diferentes campos, por **Jamal et al., 2019**, *Microbiological Research*.

Estos organismos son virus altamente especializados capaces de infectar, destruir y eliminar células bacterianas con un marcado nivel de especificidad hacia su hospedador (**Necel et al., 2020**). Asimismo, presentan una alta capacidad de autorreplicación, lo que les posibilita un aumento significativo de su concentración en el sitio de infección durante su replicación en el huésped bacteriano (**Loh et al., 2021**). El rango de huéspedes del bacteriófago está determinado por la forma específica en que interactúa con el hospedador. Esta interacción está condicionada por la presencia de receptores presentes en la superficie de la bacteria, que incluye una variedad de carbohidratos, lipopolisacáridos y lipoproteínas (**Batinovic et al., 2019**). Esta característica evita que el fago erradique bacterias diferentes a la bacteria de interés, y, por lo tanto, la proliferación de patógenos secundarios (**Sarkar et al., 2021**).

Los bacteriófagos poseen dos mecanismos de acción sobre la bacteria: lítico y lisogénico. En el primero, el genoma del fago se inyecta en el huésped, donde se

apodera de sus sistemas metabólicos para producir múltiples copias de sí mismo, las cuales posteriormente serán liberadas de la bacteria **(Ho et al., 2023)**. Por otro lado, en el mecanismo lisogénico, el genoma del fago se inserta en el genoma del huésped y se replica a la par de este. No obstante, esto genera una respuesta inmunológica frente a la infección debido a la expresión de genes de resistencia del huésped **(Tang et al., 2023)**. Los fagos líticos se destacan como la opción de biocontrol más efectiva, ya que su mecanismo impide la persistencia de las bacterias en comparación del ciclo lisogénico dado a su respuesta inmune por parte de la bacteria **(Gildea et al., 2022)**.

1.1.6. Bacteriófagos como agentes de control biológico

El empleo de bacteriófagos como agentes de control biológico emerge como una alternativa para garantizar la seguridad alimentaria de manera eficaz, gracias a su especificidad y habilidades de autorreplicación sin ocasionar efectos adversos sobre células humanas o la microbiota beneficiosa **(Sonalika et al., 2020)**. La aplicación de bacteriófagos abarca diversos ámbitos, incluyendo la producción primaria, con el empleo de fagos para el control de patógenos bacterianos en animales vivos; la biosanitización, destinada a la desinfección de superficies o equipos en instalaciones de producción; y la biopreservación, con la finalidad de prolongar la vida útil de productos alimenticios al combatir bacterias oportunistas **(Polaska & Sokolowska, 2019)**.

En la actualidad, se ha demostrado la eficacia de los bacteriófagos como agentes de biocontrol, emergiendo como una alternativa segura frente a los antibióticos **(Chung et al., 2023)**. Ejemplos notables de la aplicación de bacteriófagos con propósitos de biocontrol incluyen SalnonelexTM, SalmoFreshTM y SamoProTM, los cuales han sido reconocidos como GRAS (Generalmente reconocidos como seguro) por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA de EE. UU) y el Servicio de Inspección y Seguridad Alimentaria del Departamento de Agricultura de EE. UU. (USDA-FSIS) **(Wei et al., 2019)**. Este reconocimiento demuestra la importancia de llevar a cabo la secuenciación completa del genoma de

los bacteriófagos, asegurando así que estos no codifiquen genes potencialmente dañinos, tales como, toxinas, genes de resistencia a los antibióticos o aquellos relacionados a la lisogenia (Owen et al., 2019).

1.1.7. Caracterización de secuencias de bacteriófagos

El secuenciamiento del genoma completo de bacteriófagos se lleva a cabo con el objetivo principal de garantizar la ausencia de genes que codifiquen factores de virulencia bacteriana y genes de resistencia microbiana (ARGs, del inglés *Antibiotic Resistance Genes*) (Guitor et al., 2019). Además, la caracterización detallada del genoma permite una comprensión más profunda de los rasgos biológicos a nivel molecular de los bacteriófagos. Este conocimiento desempeña un papel crucial para verificar su viabilidad como herramienta para el diseño de bioproductos destinados a la industria alimentaria (Bardina et al., 2016).

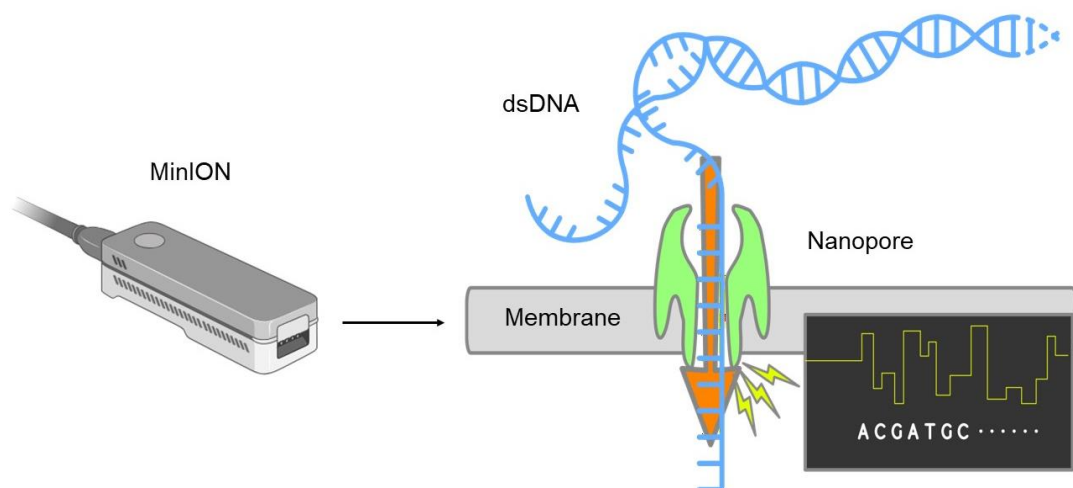
1.1.8. Secuenciación de nueva generación (NGS)

La secuenciación de nueva generación (NGS) es una tecnología que posibilita la secuenciación masiva y paralela de alto rendimiento de miles de millones de fragmentos de ADN o ARN de manera independiente y simultánea (Mitchell & Simner, 2019). Esta tecnología es empleada para el secuenciamiento del genoma completo de organismos debido a que permite un análisis de secuencias en un período de tiempo corto y a un costo asequible (Mosele et al., 2020). La NGS posee dos tipos de secuenciación: secuenciación de lectura corta y secuenciación de lectura larga. Para la secuenciación de lectura corta, se emplean tecnologías de segunda generación como Ion Torrent e Illumina, mientras que para la secuenciación de lectura larga se utilizan tecnologías de tercera generación como Pacific biosciences (PacBio) y Oxford Nanopore (Kumar et al., 2019).

La tecnología Oxford Nanopore se destaca entre otras tecnologías de secuenciamiento al otorgar mejoras significativas en diversas aplicaciones como el ensamble del genoma *de novo* y en la caracterización más profunda de elementos de ADN repetitivos que los secuenciamientos de corta lectura no permiten (De Roeck et al., 2019). La base de esta tecnología es un poro de proteína a nanoescala denominada como “nanoporo”, el cual actúa como biosensor y se encuentra incrustado en una membrana de polímero resistente a la electricidad (Ciuffreda et al., 2021). La membrana se somete a un voltaje constante, generando así una corriente iónica a través del nanoporo, de tal forma que, impulsa las moléculas de ADN/ARN monocatenarias cargadas negativamente a través del nanoporo desde el lado “cis” cargado negativamente, hasta el lado “trans” cargado positivamente (Wang et al., 2021). La presencia de las moléculas de ADN o ARN en el nanoporo provoca una desviación de la corriente y este cambio de corriente específico es relacionado con las bases presentes en el poro en ese preciso momento (Leggett & Clark, 2017).

Figura 2

Tecnología Oxford Nanopore



Nota: Autoría propia.

Una vez completado el proceso de secuenciamiento como tal, se continúa con el análisis de datos, este proceso implica una secuencia de pasos que abarcan el análisis primario (control de calidad), el análisis secundario (alineación con bases de datos específicas, ensamblaje de referencia o *de novo*) y el análisis terciario (generación de datos basados en resultados de la etapa de análisis secundario, que incluye anotación, búsqueda de SNPs, determinantes de resistencia y/o virulencia, etc.) (**Hernández et al., 2020**).

1.1.9. Análisis de secuencias de genoma completo.

El análisis de conjuntos de datos NGS incluyen: (i) limpieza de datos, (ii) ensamblaje *de novo*, (iii) anotaciones, (iv) lectura de mapeo, y (vi) análisis filogenético y visualización de árboles (**Singh et al., 2022**). En la actualidad, existen diversas herramientas bioinformáticas que permiten el análisis de datos de secuencias completas. A continuación, se describen algunas de ellas:

- **Galaxy**

La plataforma de Galaxy consta con herramienta bioinformáticas, y base de datos diseñados para el análisis de datos de NGS, destacándose funciones como ensamblaje, mapeo de lectura, alineamiento de secuencias, entre otros. Esto posibilita el análisis de datos generados a través de tecnologías como Oxford Nanopore (**Galaxy, 2023**).

- **PHASTER**

Es un servidor bioinformático que facilita la ágil identificación y anotación de secuencias de profagos en genomas y plásmidos bacterianos (**PHASTER, 2023**).

- **Proksee**

Sistema experto para llevar a cabo el ensamblaje, anotación y visualización de genomas (**Proksee, 2023**).

- **DiGAlign**

Servidor de alineación genómica, diseñado para facilitar la visualización de los resultados de genómica comparativa y exploración de la estructura del genoma (**DiGAlign, 2024**).

- **ViPTree**

Servidor que genera árboles proteómicos virales para la clasificación de virus en función de similitudes en todo el genoma, a partir de secuencias del genoma viral (**Nishimura et al., 2017**).

- **iTOL**

Herramienta empleada para la visualización, manipulación y anotación de árboles filogenéticos y de otro tipo (**Letunic & Bork, 2021**).

- **HMMER**

Servidor web encargado en búsquedas de homología rápidas y sensibles de secuencias de proteínas, utilizando métodos probabilísticos (**Finn et al., 2011**).

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

Analizar por técnicas genómicas a los bacteriófagos líticos F6 y F14 de *S. enterica* serovar Infantis.

1.2.2. Objetivos específicos

- Describir las características generales de las secuencias de genoma completo de los bacteriófagos F6 y F14 de *S. enterica* serovar Infantis.
- Comparar las secuencias del genoma completo de los bacteriófagos analizados utilizando genómica comparativa.
- Realizar un análisis filogenético de los bacteriófagos analizados con secuencias de diverso origen geográfico.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Materiales

En el presente proyecto de investigación, se emplearon los siguientes equipos materiales, reactivos y recursos informáticos, presentados en las Tablas 1, 2, 3 y 4.

Tabla 1

Equipos de laboratorio empleados

EQUIPOS	CANTIDAD
Autoclave	1
Balanza analítica	1
Microondas	1
Mechero Bunsen	2
Nevera	1
Incubadora	1
Termobloque	1
Cabina de flujo laminar Bioseguridad II	1
Microcentrífuga	1
Vórtex	1
Baño termostático	1
Liofilizador	1
Nanodrop	1

EQUIPOS	CANTIDAD
Termociclador	1
Cámara de electroforesis	1
Computadora	2
Router de internet	1

Tabla 2

Materiales de laboratorio empleados

MATERIALES	CANTIDAD
Botellas de autoclave (100 – 500 mL)	4
Espátula	1
Asa de inoculación	2
Cajas mono Petri plásticas	350
Pipeta de vidrio (10mL)	1
Pera	1
Gasas	20
Gradilla	1
Juego de micropipetas	1
Puntas para micropipetas	20 de cada tipo
Tubos de ensayo con tapa	30
Filtros Syringe Filters de 0.22 µm	30
Jeringas de 3mL	100
Eppendorfs de 1,5 mL y 200 µL	100
Tubos falcom de 50 mL	15
Parafilm	1
Guantes de nitrilo	2 cajas
Mascarillas	1 caja
Cofias	2

Tabla 3*Reactivos de laboratorio empleados*

REACTIVOS	CANTIDAD
Extracto de levadura	30 gr
Agua peptonada	30 gr
Cloruro sódico (Na ₂ CO ₃)	1,5 mL
Cloruro de magnesio	1,5 mL
Cloruro de calcio (CaCl ₂)	1,5 mL
Agar -agar	30 gr
Agarosa	20 gr
DNAsa	5µL
Agua destilada	10 L
Agua libre de nucleasas	10 mL
Etanol al 70%	10 mL
Kit de extracción de ADN genómico	1
TBE 1X	TBE 1X

Tabla 4*Recursos informáticos empleados*

RECURSOS	DESARROLLADOR
<i>Base de datos</i>	
NCBI	Biblioteca Nacional de Medicina, Departamento de Salud y Servicios Humanos EE. UU, Gobierno Federal de los EE. UU

RECURSOS	DESARROLLADOR
HMMER project	Sean Eddy en HHMI/Universidad de Harvard, y el equipo de servicios web HMMER, dirigido por Rob Finn en EMBL – EBI.
<i>Herramientas bioinformáticas</i>	
Galaxy Sciensano	Laboratorio de Nekrutenko en el Centro de Genómica Comparada y Bioinformática de Penn State, Laboratorio.
HMMER	Instituto Europeo de Bioinformática del EMB.
Proksee	Genome Canada y Genome Alberta.
PHASTER	Institutos Canadiense de Investigación en Salud (CIHR), Genome Alberta, Universidad de Alberta. David Arndt, Jason Grant, Ana Marcu, Tanvir Sajed, Allison Pon, Yongjie Liang, David Wishart.
iTOL	Ivica Letunic y Peer Bork (Letunic & Bork, 2007).
ViPTree	GenomeNet/Virus Host BD (Nishimura et al., 2017).
PhageAI	Expertos en fagos e inteligencia artificial dirigido por Bruno Maineult.
DiGAlign	Laboratorio de Ciencias Químicas de la Vida, Centro de Bioinformática, Instituto de Investigación Química, Universidad de Kioto – Japón.
Secuencias de genoma completo de bacteriófagos líticos F6 y F14 de <i>S. enterica</i> serovar Infantis.	

2.2. Métodos

La presente investigación planteó realizar un análisis *in silico* de secuencias del genoma de bacteriófagos de *S. enterica* serovar Infantis originarios de la colección del grupo de investigación UTA RAM *One Health*, específicamente los bacteriófagos líticos F6 y F14 provenientes de estudios preliminares que no incluyeron el análisis de genoma completo. La colección de bacteriófagos está compuesta por un total de 27 bacteriófagos aislados a partir de muestras de agua provenientes de diversas fuentes hídricas de las provincias de Tungurahua y Cotopaxi. Posteriormente, se llevó a cabo una evaluación del perfil lítico y estabilidad de cada bacteriófago, siendo que los bacteriófagos F6 y F14 demostraron resultados prometedores. Razón por la cual, ambos bacteriófagos fueron elegidos para la secuenciación y caracterización de su genoma completo.

2.2.1. Descripción de las características generales de las secuencias del genoma completo de bacteriófagos F6 y F14 de *S. enterica* serovar Infantis.

2.2.1.1. Obtención del ADN genómico y secuenciamiento.

La metodología empleada para la expresión de alto título fágico se basó en una adaptación del protocolo de agar de doble capa descrito por **Adams (1959)**. En primera instancia, se emplearon bacteriófagos previamente purificados, los cuales fueron recuperados hasta alcanzar un título alto fágico de 10^8 unidades formadoras de placas (UFP mL⁻¹). Luego, con la finalidad de concentrar el bacteriófago para la extracción de ADN genómico, las calvas en alto título fágico fueron filtradas, liofilizadas y rehidratadas con agua libre de nucleasas. A continuación, para eliminar remanentes del hospedador, el liofilizado rehidratado fue tratado con 1 µL de DNAsa y 39 µL de 10X de tampón a 37°C por 1 hora. Seguidamente la enzima fue inactivada en una plancha de calor a 80°C por 10 minutos. La extracción de ADN genómico se llevó a cabo

utilizando el kit de extracción “Genomic DNA Mini Kit” siguiendo el protocolo descrito por el fabricante **Life Technologies (2023)**. Finalmente, se verificó la integridad del ADN mediante una electroforesis y se evaluó su calidad empleando el Nanodrop.

La secuenciación de Nanopore WGS se realizó como parte del fellowship de UNU Biolac del Dr. William Calero, en los laboratorios del Instituto de Biociencias, Biotecnología y Biología Traslacional (iB3) de la Universidad de Buenos Aires, a cargo de la Dra. Laura Kamenetzky, y con asistencia de las doctoras Natalia Macchiaroli e Inés Sananez. La biblioteca de ADN se preparó con un kit de secuenciación de ligación (SQKRAD004, Oxford Nanopore Technologies, Oxford, Reino Unido) según las instrucciones del fabricante. Las bibliotecas se secuenciaron con celdas de flujo PromethION Flow Cell Packs (R10.4.1), durante 16 h en un secuenciador PromethION 2 Solo (Oxford Nanopore Technologies). Los archivos .fast5 generados fueron sometidos a un proceso de basecalling SUP. Posteriormente, los archivos de lecturas .fastq fueron analizados en el Laboratorio de Investigación en Patógenos de la FCIAB.

El análisis bioinformático fue realizado en la interfaz de Linux, con paquetes disponibles en la biblioteca Bioconda. El procedimiento inició con la organización de los archivos .fastq crudos proporcionados, logrando combinar los archivos de cada barcode en uno solo. Posteriormente, las secuencias fueron sometidas a un filtrado mediante el software Filtrlong, con el propósito de examinar su calidad. En una etapa subsiguiente, las lecturas fueron ensambladas de *novo* en la plataforma bioinformática Galaxy (<https://usegalaxy.org/>) haciendo uso de la herramienta “flye” y “medaka consensus pipeline”, a partir de las cuales se pudo obtener la secuencia consenso para cada bacteriófago en formato FASTA.

A continuación, las secuencias del genoma completo ensambladas fueron depositadas en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) como biomuestras (BioSample) individuales.

2.2.1.2. Análisis del genoma completo

Para generar el mapa circular con las anotaciones correspondientes a cada bacteriófago, se empleó la plataforma PROKSEE (<https://proksee.ca/>). Como primer paso, los archivos de secuencias ensambladas fueron cargados en la plataforma en formato FASTA. Posteriormente, se accedió a la sección herramientas, donde se seleccionaron las herramientas “Prokka” y “GC Content”, para la predicción de genes que codifican proteínas (anotación), y la determinación del contenido guanina - citosina (GC) de cada secuencia respectivamente. En esta sección, se mantuvieron las opciones predeterminadas proporcionadas por la plataforma. Una vez completados los análisis seleccionados, se incorporaron las características resultantes al mapa circular previamente generado.

Cabe mencionar que la herramienta “Prokka” realiza comparaciones exclusivamente con organismos procariotas. Por lo tanto, fue necesario buscar una base de datos que emplee bacteriófagos en su conjunto de datos para realizar comparaciones específicas. Para este propósito, se usó el servidor web PHASTER (<https://proksee.ca/>). Los archivos consenso en formato FASTA se cargaron de manera individual a la plataforma, manteniendo los ajustes predeterminados proporcionados por el servidor. Al completarse la carga de los archivos, la plataforma identificó diversos parámetros que incluyen: contigs, longitud en pares de base de la secuencia, contenido GC, genes que codifican proteínas, puntuación, tRNA, número total de proteínas, cantidad de proteínas hipotéticas, número de proteínas bacterianas, y bacteriófagos con proteínas similares. Además, PHASTER elaboró un mapa lineal con las anotaciones correspondientes a los genes que codifican proteínas (**PHASTER, 2023**).

A partir del mapa lineal de anotaciones obtenido en PHASTER, se realizaron anotaciones manuales en el mapa circular generado en la plataforma PROKSEE. Para ello se clasificaron las funciones proteicas en 6 categorías: (1) proteínas terminasas, (2) proteínas de lisis, (3) proteínas de la cola, (4) proteínas hipotéticas, (5) proteínas

de la cabeza y (6) otras proteínas. En el apartado “legend”, se agregó cada una de las funciones definidas, asignando un color específico a cada categoría para mejorar la visualización y comprensión del mapa. A continuación, para cada gen, se realizó una comparación detallada con los genes predichos en la plataforma PROKSEE y PHASTER. Esta comparación, implicó que la longitud, inicio y final de cada gen sea el mismo en cada plataforma para asegurar una correspondencia precisa. Con la finalidad de verificar las anotaciones generadas en las herramientas mencionadas, se llevó a cabo un análisis BLASTp para cada gen, utilizando las plataformas H

MMER (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/hmmer/>), e NCBI virus (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/>). Durante este análisis se consideraron el porcentaje de cobertura e identidad como criterios fundamentales para la selección de la función proteica a asignar.

2.2.2. Comparación de secuencias del genoma completo de los bacteriófagos analizados utilizando mapas de genómica comparativa.

Para el análisis comparativo del genoma de fagos, se seleccionaron las secuencias con mayor porcentaje de identidad tanto para F6 como para F14. En el caso de F6, se incluyeron las secuencias: fago *Salmonella* BP12A, fago *Salmonella* vB_SalS_PC192, fago *Salmonella* vB_SalM-LPST153, fago *Salmonella* LPST144 y fago *Salmonella* vB_STy-RN5i1. Para F14, se tomaron las secuencias de: fago *Salmonella* 118970_sal1, fago *Salmonella* 35, fago *Salmonella* 37 y fago *Salmonella* BP12C. Estas secuencias se combinaron y se guardaron en un archivo multifasta para cada fago. Para ilustrar las similitudes de nucleótidos entre todos los genomas de fagos analizados, se empleó la plataforma DigAlign (<https://www.genome.jp/digalign/>). En esta plataforma, se llevaron a cabo comparaciones genómicas y alineamientos de nucleótidos (BLASTn) prediciendo así genes y funciones asociadas (**DiGAlign, 2024**).

2.2.3. Análisis filogenético de los bacteriófagos analizados

En la construcción del árbol filogenético, se emplearon un total de 64 WGS de bacteriófagos de *Salmonella*, incluyendo las secuencias de los bacteriófagos F6 y F14. Las secuencias se seleccionaron en función de los siguientes criterios: año de aislamiento, país de origen y la fuente de aislamiento (ambiental, animal, humana y aguas residuales). Para llevar a cabo esta selección, se descargó la base de datos completa de bacteriófagos de *Salmonella* disponible en el NCBI. A partir de esta base de datos, se consideraron las secuencias que proporcionaran información completa de los aspectos mencionados anteriormente. Para cada país, se eligieron 5 secuencias diferentes, asegurándose de que la información sobre cada aspecto no sea la misma entre secuencias. Este enfoque se adoptó con el objetivo de ampliar la diversidad representada en el árbol filogenético. Una vez definidas las secuencias a emplear, estas se descargaron del NCBI en formato FASTA, ya sea en la base de datos Genbank o Refseq, según su disponibilidad. Las secuencias descargadas se guardaron con el siguiente formato “ID_localización_año” (Ejem: NC_048819_China_2018), y compiladas en un solo documento de texto. La información referente a los datos de las secuencias descargadas es expuesta en el **Anexo 4**.

En la plataforma web “ViPTREE” (<https://www.genome.jp/viptree>), se cargó el documento de texto con todas las secuencias compiladas, manteniendo los ajustes predeterminados proporcionados por el servidor. La plataforma generó un árbol filogenético rectangular en el que las secuencias de los bacteriófagos se agruparon según su género. El árbol filogenético generado se descargó en formato BIONJ (Newick) para posteriormente ser cargado en la plataforma “iTOL” (<https://itol.embl.de>). En esta plataforma se realizaron las anotaciones referentes a año de aislamiento, país de origen y fuente de aislamiento, lo que permitió una construcción más detallada y entendible del árbol. Los resultados detallados se presentan en el capítulo “Resultados y Discusión”.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

El desarrollo de este trabajo proporcionó un avance en la caracterización, genómica comparativa y estudio filogenético de dos bacteriófagos líticos de *S. enterica* serovar Infantis, identificados como F6 y F14. Estos bacteriófagos fueron previamente aislados durante investigaciones de bioprospección centradas en fuentes avícolas en la provincia de Tungurahua (**Morales & Topa 2023**). A continuación, se presenta una síntesis de los resultados obtenidos en la caracterización, comparativa y filogenia de los bacteriófagos. Estas secuencias fueron analizadas utilizando diversas bases de datos y plataformas bioinformáticas, incluyendo NCBI, HAMMER, PHASTER, ViPTREE, iTOL, Proksee, DigAlign y PhageAI.

3.1.1. Caracterización de secuencias del genoma completo de los bacteriófagos F6 y F14.

En la actualidad, el progresivo avance de las herramientas bioinformáticas, combinado con el aumento de secuencias de bacteriófagos disponibles en las bases de datos, ha simplificado el proceso de caracterización genética de nuevos bacteriófagos de *Salmonella*. Este proceso contribuye de manera significativa a la obtención de información sobre el genoma y relaciones filogenéticas de estos bacteriófagos (**Martinez-Vaz & Mickelson, 2020**). Como parte de la caracterización *in silico*, se llevó a cabo la identificación de la clasificación taxonómica, búsqueda de marcos de

lectura abierta (ORF), y análisis de la presencia de genes relacionados a la resistencia y virulencia. La calidad del genoma viral se ha estandarizado mediante la evaluación de factores clave que incluyen el número de contigs, ORFs, el porcentaje guanina - citosina (GC) y la profundidad del genoma (**Ladner et al., 2014**).

Tabla 5

Características de los bacteriófagos F6 y F14

	F6	F14
No. acceso NCBI	SAMN38765859	SAMN38765678
Taxonomía		
Clase	<i>Caudoviricete</i>	<i>Caudoviricete</i>
Orden	<i>Caudovirales</i>	<i>Caudovirales</i>
Familia	<i>Autographiviridae</i>	<i>Siphoviridae</i>
Género	<i>Berlinvirus</i> sp.	<i>Chivirus</i> sp.
Cepa	Melonhead	Guaytamphage
Tipo de fago	Virulento (97.61%)	Virulento (97.09%)
Características genómicas		
Integridad (score > 90)	Intacta (150)	Intacta (150)
Longitud (pb)	29,097	59,339
Contigs	1	1
Contenido GC (%)	48,57	56,44
ORF	41	69
Proteínas hipotéticas	11	20
Proteínas funcionales	30	49
tARN	0	0

Nota: ORFs, marco abierto de lectura; CDS, región de codificación; GC contenido de guanina – citosina; tARN: ARN de transferencia.

Los genomas completos de los bacteriófagos F6 y F14 presentan una longitud de 29.097 Kb y 59.339 Kb, respectivamente. Estos valores demuestran una longitud adecuada en relación con el rango de 3.3 Kb a 500 Kb, mencionado en la literatura **(Thompson et al., 2019)**. En cuanto al contenido GC, el F6 registra un porcentaje del 48.57 %, mientras que el F14 un 56.44 %. Frecuentemente, en los genomas de los bacteriófagos se observa un contenido GC inferior en comparación con el hospedador **(Almpanis et al., 2018)**. La literatura reporta que los aislamientos de *S. enterica* serovar Infantis de origen avícola en la sierra centro de Ecuador poseen un %GC que ronda el 52 %, siendo este valor mayor en el caso del F6 y menor en el F14 **(Calero-Cáceres et al., 2020)**. En nuestro caso, los fagos F6 y F14 fueron aislados considerando el hospedador *S. enterica* serovar Infantis S11V23, por lo que sería requerido contar con el análisis de su secuencia de genoma completo para complementar estas observaciones.

En relación con el número de contigs, se destaca la presencia de un único contig tanto para el F6 como para el F14. Es deseable que, en la secuenciación de un genoma fágico mediante lecturas largas, este esté representado por un solo contig, ya que esto sugiere la integridad del genoma completo del fago **(Russell, 2018)**. Otro criterio evaluado por la plataforma PHASTER fue la integridad del genoma. Según sus estándares, un genoma se considera incompleto si su puntuación de completitud es menor a 60, cuestionable si se sitúa entre 60 y 90, e intacto si alcanza una puntuación superior a 90 **(PHASTER, 2023)**. En este contexto, se demostró que la integridad es intacta para ambas secuencias, alcanzando un puntaje de 150.

En términos de clasificación taxonómica, el análisis realizado mediante BLAST determinó que el bacteriófago F6 pertenece a la clase *Caudoviricete* y al género *Berlinvirus* sp. con un porcentaje de 92.46% de identidad. Por otro lado, el fago F14 también pertenece a la familia *Caudoviricete* y al género *Chivirus* sp. con un porcentaje de 98.91% con las secuencias de referencia **(Anexo 1)**.

Dentro de la clase *Caudoviricete*, todos los miembros codifican la misma proteína principal de la cápside (MCP) **(Dion et al., 2020; Gulyaeva et al., 2022)**. De acuerdo con los análisis de genomas realizados, F6 y F14 codifican esta proteína,

específicamente a través del ORF23 y ORF7, respectivamente. (**Anexo 2 y 3**). Este hallazgo permite suponer que estos dos bacteriófagos pertenecen a la clase *Caudoviricete*. Sin embargo, a manera general, los bacteriófagos recién secuenciados pueden no alinearse con ninguna familia de genes marcadores y, por ende, no asignarse a una clase conocida (**Zhu et al., 2022**). Este hecho subraya la complejidad y cautela al interpretar la clasificación taxonómica en presencia de características genéticas singulares.

El género *Chivirus* pertenece a la familia *Siphoviridae*, la cual tiene un amplio rango de huéspedes que incluyen *Serratia*, *Enterobacter*, *E. coli*, *Klebsiella* y principalmente *Salmonella* (**Zhan et al., 2018**). Este género posee un genoma lineal de ADN bicatenario (ADNbc) con una extensión aproximada de 59 kb que codifica alrededor de 75 genes (**Hulo et al., 2011**). Estas características son evidenciadas en el fago F14, el cual tiene una longitud de 59.339 kb y que codifica 69 genes. Por otro lado, el género *Berlinvirus*, está adscrito a la familia *Autographiviridae* (**Sofy et al., 2021**). Todos los miembros de esta familia codifican su propia subunidad única de ARN polimerasa, codificando así su propia maquinaria transcripcional para la replicación viral (**George et al., 2022**). En el genoma del F6, se ha identificado el ORF4, el cual codifica una enzima ARN polimerasa (**Anexo 2**). Además, según la base de datos del NCBI, se han identificado hospedadores de este género que comprenden *E. coli*, *Shigella*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Erwinia*, *Kluyvera*, *Pectobacterium*, *Enterobacter* (**NCBI, 2023**).

Resultados adicionales clasifican a F6 y F14 como virulentos. Los fagos virulentos, también conocidos como fagos líticos, generan infecciones líticas en las que la replicación viral libera la progenie, provocando la muerte bacteriana (**Moura de Sousa et al., 2021**). La literatura sostiene que el fago terapéutico óptimo es exclusivamente virulento (**Petrovic Fabijan et al., 2020**). De hecho, las estrategias actuales en la terapia con fagos se centra en uso de fagos líticos, todos los cuales pertenecen a *Caudoviriales* (**Malik, 2019**).

3.1.1.1. Elaboración del mapa circular de las secuencias del genoma completo de los bacteriófagos F6 y F14.

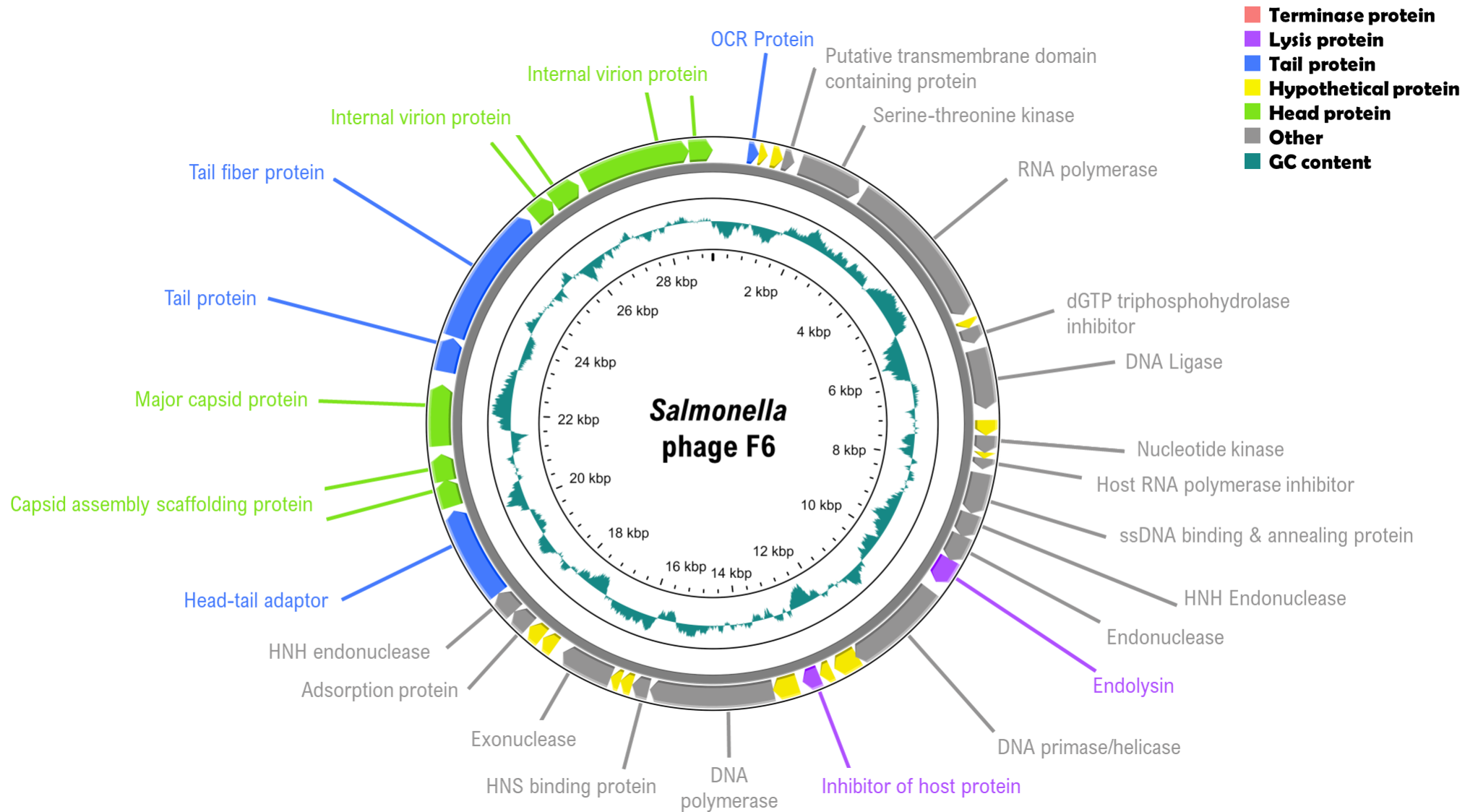
El enfoque principal de esta sección se centró en la anotación de las dos secuencias de genoma completo de bacteriófagos. Es cierto que, existen varios obstáculos para la anotación precisa del genoma de los fagos, especialmente la asignación de funciones a proteínas desconocidas y la identificación de proteínas pequeñas en el genoma (McNair et al., 2018). Por esta razón, se emplearon diversas herramientas bioinformáticas para la anotación genómica.

En las **Figura 3 y 4** se presentan los mapas circulares de las secuencias del genoma completo de los bacteriófagos. Para la elaboración del mapa circular, se agrupó a las proteínas en 6 categorías diferentes: (1) proteínas terminasas, (2) proteínas de lisis, (3) proteínas de la cola, (4) proteínas hipotéticas, (5) proteínas de la cabeza -cápside-, y (6) otras proteínas. Este enfoque permite una representación clara y organizada de la distribución de funciones proteicas en ambos bacteriófagos.

Según la alineación realizada con BLASTp, se ha identificado que el genoma del bacteriófago F6 codifica un total de 41 proteínas, de las cuales 30 tienen funciones conocidas. En contraste, el bacteriófago F14 exhibe una mayor diversidad proteica, al albergar un total de 69 proteínas, de las cuales 49 están asociadas con funciones conocidas.

Figura 3

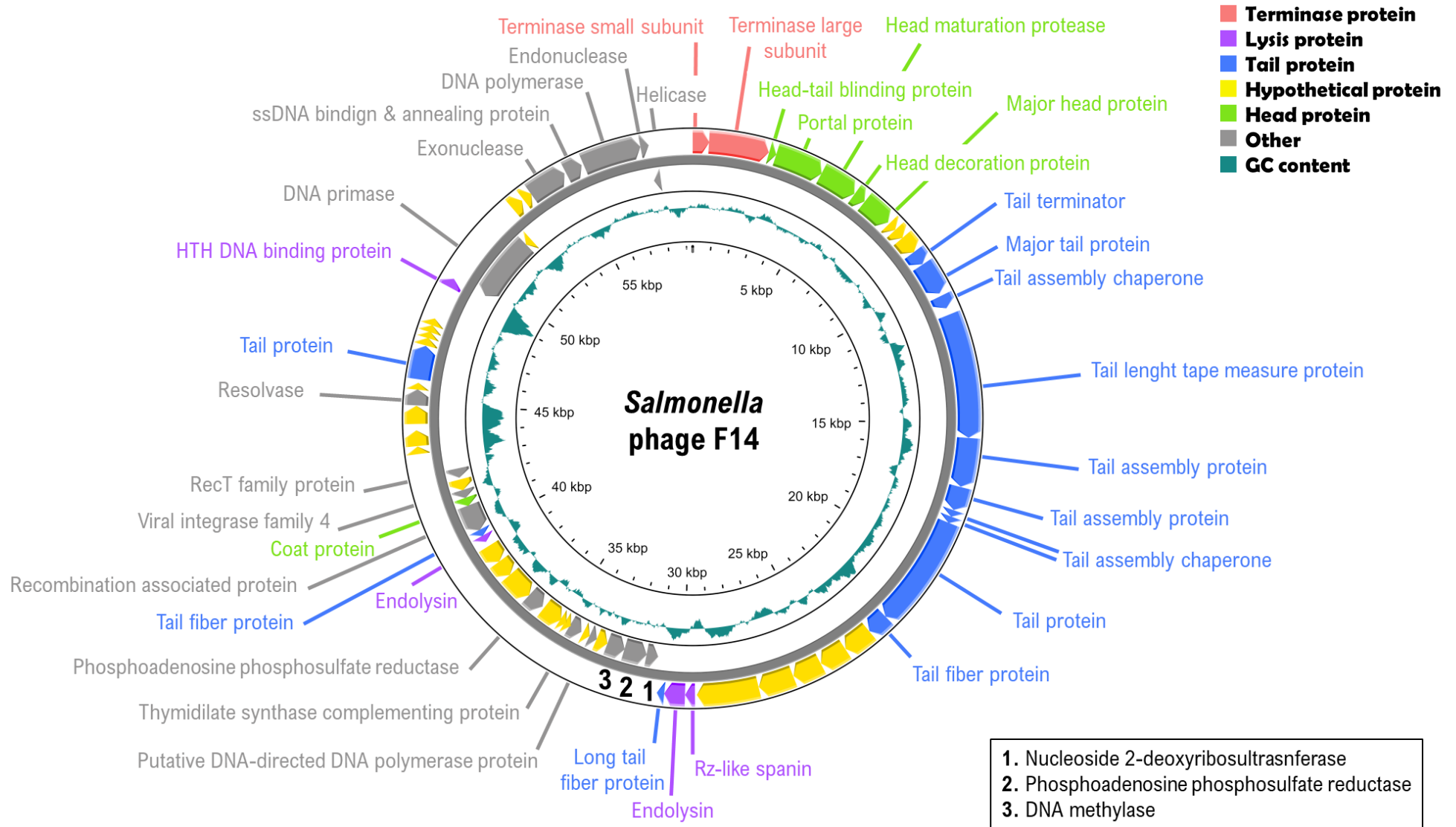
Anotación genómica del bacteriófago F6



Nota: El holograma interno color turquesa indica el contenido de GC. El círculo externo representa los 41 ORF codificados por el genoma, y diferentes colores representan diferentes funciones (en el sentido de las manecillas del reloj). Rosado: proteínas de la terminasa. Morado: proteínas de lisis. Azul: proteínas de la cola. Amarillo: proteínas hipotéticas. Verde: proteínas de la cabeza. Gris: otras proteínas. *Autoría propia.*

Figura 4

Anotación genómica del bacteriófago F14



Nota: El holograma interno color turquesa indica el contenido de GC. El círculo externo representa los 69 ORF codificados por el genoma, y diferentes colores representan diferentes funciones (en el sentido de las manecillas del reloj). Rosado: proteínas de la terminasa. Morado: proteínas de lisis. Azul: proteínas de la cola. Amarillo: proteínas hipotéticas. Verde: proteínas de la cabeza. Gris: otras proteínas. *Autoría propia.*

En la categoría de terminasas, se observa una disparidad significativa entre ambos bacteriófagos. El F6 no dispone de ningún ORF de esta clase. En cambio, el F14 codifica dos subunidades de terminasas, una larga (ORF1) y una pequeña (ORF2). Estas subunidades desempeñan la función de reconocer el ADN fágico para su empaquetamiento, lo cual implica la unión y el corte del material genético en un sitio específico (**Lokareddy et al., 2022**). Cabe destacar que las terminasas, además de su función específica en el proceso de empaquetamiento del ADN, son notablemente conservadas entre los genomas fágicos (**Bardina et al., 2016**).

En el conjunto de proteínas de lisis, en el genoma del F6 se encontró una endolisina (ORF17) y un inhibidor de la toxina huésped (ORF21). Asimismo, en el F14 se identificó tres proteínas de lisis, entre las cuales se encontraron dos endolisinas (ORF 43 y 27) y una espanina (ORF26). Para los huéspedes gramnegativos, como *Salmonella*, el proceso de lisis del hospedador implica la participación de tres tipos de proteínas, holinas, endolisinas y espaninas, codificadas por el agente viral (**Young, 2014**). La endolisina tiene la capacidad de hidrolizar el peptidoglicano bacteriano después de la replicación fágica, liberando así partículas virales en célula huésped (**Lu et al., 2020**). En cuanto a las espaninas, codificadas por fagos, son esenciales en la lisis al alterar la membrana externa (OM) de la bacteria. La falta de esta función resulta en el bloqueo de la lisis, con los viriones de la progenie quedando atrapados en células esféricas muertas, evitando la infección al huésped (**Cahill et al., 2017**).

La cola de los virus F6 (ORF1 y ORF36) y F14 (ORF19, ORF41, ORF55) exhiben una composición caracterizada por proteínas generales de la cola. En específico, se identifica fibras de la cola en F6 (ORF36) y F14 (ORF20, ORF28 y ORF44), así como adaptadores de cabeza – cola en F6 (ORF32) y F14 (ORF3). Entre las proteínas exclusivas de cada fago, se destaca la proteína de absorción (ORF30) para el F6, mientras que el F14 exhibe un conjunto diverso que incluye la proteína terminadora de la cola (ORF11), la proteína principal de la cola (ORF12), la proteína de ensamblaje de la cola (ORF15 y ORF16), la chaperona de ensamblaje de la cola (ORF13, ORF17, y ORF18), y la proteína de longitud de la cola (ORF14).

Las proteínas de la cola cumplen el rol de reconocer y transferir ADN fágico al citoplasma bacteriano (**Linares et al., 2020**). Este proceso se ve facilitado por la presencia de fibras de la cola, las cuales reconocen receptores en la superficie de las células bacterianas, estableciendo así una interacción específica entre los sitios de unión de la cola y las moléculas presentes en la superficie bacteriana (**Filik et al., 2022**). La transferencia de este ADN se lleva a cabo mediante los adaptadores cabeza – cola, desencadenando la apertura del cuello del fago, para que el ADN pase a través del tubo de la cola y se introduzca en la célula huésped (**Chaban et al., 2015**). Las proteínas de la cola de los fagos son importantes para la interacción con su bacteria huésped (**Z. Zhang et al., 2018**). En este contexto, es relevante destacar que tanto el F6 como el F14 comparten estas funcionalidades, subrayando la importancia de estas proteínas en su genoma.

Al caracterizar el F14, se identifica una particularidad relacionada con la presencia de las proteínas de longitud de la cola y de la chaperona de ensamblaje. La proteína de longitud es característica para la formación de colas largas en fagos (**Linares et al., 2020**). Esto se complementa por la presencia simultánea de la chaperona de ensamblaje, que cumple la función de recubrir la proteína de longitud, evitando la precipitación del tubo de la cola (**Vladimirov et al., 2022**). La presencia de la proteína de longitud en el F14 indica la probabilidad de la existencia de una cola larga en su morfología, suposición que se ve respaldada por la función de la chaperona. En contraste, la ausencia de estas proteínas en el F6 sugiere una menor posibilidad de que presente una cola larga.

La estructura de la cabeza de los virus se compone de una proteína principal de la cabeza, tanto para el F6 (ORF 35) como para el F14 (ORF 7). Esta proteína asegura a que el genoma vírico quede bien empaquetado en su interior, protegiendo al material genético y proporcionando integridad estructural fágica (**Huet et al., 2016**). Además de la proteína principal, la cabeza viral también incluye proteínas menores, que desempeñan funciones análogas. En este conjunto de proteínas comprenden: la proteína andamio de ensamblaje de la cápside (ORF 33 y 34) y la proteína interna del virión (ORF 26-30) propias del F6. Mientras que para el F14 se encuentra la proteína de la cabeza (ORF 37), la proteína portal (ORF 4), la proteasa de maduración de la

cabeza (ORF 5), la proteína putativa de decoración de la cabeza (ORF 6) y la proteína de cubierta (ORF 46). Estas proteínas secundarias contribuyen a mantener la estabilidad de la cabeza viral y participa en el reconocimiento de células del huésped **(White et al., 2012)**.

La proteína andamio de ensamblaje de la cápside actúa como catalizador y chaperona dirigiendo el proceso de formación y cierre de la cubierta hacia una estructura icosaédrica **(Medina et al., 2011)**. Esta función permite suponer que el F6 exhibe una cabeza con la mencionada morfología. Además, es relevante destacar que los miembros de la clase *Caudoviricetes*, a la que pertenece el F6, tienden a expresar una cabeza de cápside con forma icosaédrica **(Malik, 2019)**.

En la última categoría se incluyen diversas proteínas relacionadas con diferentes funciones. En el caso del F6, cabe destacar la presencia de la ADN ligasa (ORF9), la cual se posiciona como la enzima más importante codificada por el genoma del fago, desempeñando su función en el metabolismo, replicación, recombinación y reparación del genoma **(Al-Manasra & Al-Razem, 2012)**. Otro componente relevante es la HNH endonucleasa (ORF 15, 16 y 31), elemento clave como maquinaria de empaquetamiento del ADN de los fagos **(L. Zhang et al., 2017)**.

En el F14 se distinguen tres componentes: la integrasa viral de la familia 4 (ORF 47), la proteína de la familia RecT (ORF 49) y la proteína de unión e hibridación de ADN monocatenario (ssADN) (ORF 66). La integrasa viral cataliza la integración del material genético viral en la cromatina del hospedador, para instaurar una infección permanente en la célula diana **(Passos et al., 2021)**. Por otro lado, la proteína RecT actúa como mediadora en el proceso de intercambio monocatenario durante la recombinación del ADN, emparejando regiones monocatenarias complementarias **(Long et al., 2022)**. La proteína de unión e hibridación ssADN es una proteína de unión al ssADN que desempeña funciones esenciales en la replicación y recombinación del ADN **(Hernandez & Richardson, 2019)**.

Finalmente, 11 proteínas en el F6 y 20 en el F14, son clasificadas como hipotéticas, lo que indica que su función biológica aún no ha sido caracterizada **(Sen & Verma,**

2020). Sin embargo, es importante destacar que, a pesar de la diversidad de funciones proteicas identificadas, el análisis del genoma de los bacteriófagos no reveló la presencia de genes que codifiquen resistencia a los antimicrobianos o toxinas. Este hallazgo es significativo para ser considerado como agente de control biológico (**Khan et al., 2021**).

3.1.2. Comparación de las secuencias del genoma completo de los bacteriófagos utilizando genómica comparativa

Se llevó a cabo un análisis de genómica comparativa de los bacteriófagos F6 y F14, con el propósito de obtener información acerca de las relaciones existentes con otros genomas de bacteriófagos. Los análisis se realizaron empleando secuencias que presentaban un alto porcentaje de identidad y cobertura con los bacteriófagos F6 y F14. Este enfoque permitió la obtención de cinco secuencias completas pertenecientes a el género *Berlinvirus*, específicamente asociadas al fago F6. Entre estas secuencias se incluye: fago *Salmonella* BP12A, fago *Salmonella* vB_SalS_PC192, fago *Salmonella* vB_SalM-LPST153, fago *Salmonella* LPST144 y fago *Salmonella* vB_STy-RN5i1. De manera similar, se identificaron cuatro secuencias completas del género *Chivirus* vinculadas al fago F14: fago *Salmonella* 118970_sal1, fago *Salmonella* 35, fago *Salmonella* 37 y fago *Salmonella* BP12C. Este enfoque analítico permitió conocer la diversidad de estos bacteriófagos, proporcionando una perspectiva más completa de su genoma.

Sumado a esto, se realizó un estudio comparativo genómico entre los bacteriófagos F6 y F14, donde el resultado mostró que ambos genomas no comparten similitudes en la codificación de sus proteínas. Esta disparidad se justifica a partir de la diversidad que caracteriza a los bacteriófagos en cuanto a tamaño, morfología y organización genómica (**Kasman & Porter, 2022**). Esta amplia variabilidad genómica se atribuye a su capacidad para infectar diversos huéspedes, resultando en una baja similitud entre fagos. Es relevante destacar que incluso cuando infectan al mismo huésped, como es

el caso de F6 y F14 en *S. enterica* serovar Infantis, estos bacteriófagos pueden exhibir notables diferencias en sus genomas (Zhu et al., 2022).

Tabla 6

F6 BLAST fagos Salmonella

Nombre	Género	N° de acceso	E value	Coverage (%)	Identidad (%)
Fago <i>Salmonella</i> BP12A	<i>Berlinvirus</i>	NC_031258.1	0.0	88	85.55
Fago <i>Salmonella</i> vB_SalS_PC192		ON922920.1	0.0	85	89.47
Fago <i>Salmonella</i> vB_SalM-LPST153		MK907285.1	0.0	85	83.71
Fago <i>Salmonella</i> LPST144		MN252582.1	0.0	85	83.71
Fago <i>Salmonella</i> vB_STy-RN5i1		NC_071037.1	0.0	87	89.07

En la **Figura 5** proporcionada, se presenta un esquema de genómica comparativa del fago F6, revelando una disposición genómica similar basada en función de los genes predichos. Al analizar las seis secuencias comparadas, se destacan regiones altamente conservadas ubicadas en las regiones cercanas a los 20 kb para las secuencias en sentido forward, y en las regiones aledañas a los 4 kb para las secuencias en sentido reverse. Estas regiones conservadas están relacionadas con proteínas de ensamblaje de la cola, proteínas conexión cabeza – cola, proteínas de andamio de ensamblaje de la cápside, proteínas tubulares de la cola y proteínas principales de la cápside y cabeza.

Una observación fundamental es que el fago F6, con un tamaño de 29 kb, se diferencia notablemente de los bacteriófagos homólogos del género *Berlinvirus* sp. comparados en este estudio (**Figura 5**). F6 carece de ciertos genes presentes en estos a partir de los 28 kb, incluyendo proteínas líticas, proteínas terminasas, algunas proteínas de la cabeza y de la cola. Las principales divergencias entre estos genomas se deben a la pérdida o al reemplazo de genes individuales (**Korn et al., 2021**). En el caso de las proteínas relacionadas con la cola, muestran cierta diversidad que puede influir a su longitud (**Barron-Montenegro et al., 2021**). Asimismo, estas podrían desempeñar un papel significativo en la interacción fago – bacteria, lo que conduce a las diferencias fenotípicas observadas entre los fagos, a pesar de ser genéticamente similares entre sí (**Mutusamy et al., 2023**). Esta disparidad se evidenció claramente en el presente estudio, donde los fagos exhiben aproximadamente un rango del 85 al 88 % de similitud entre las secuencias (**Tabla 6**).

Adicionalmente, se encontraron diferencias en los genes asociados a las fibras de la cola, conocidos también como proteínas de unión a receptores (RBP). Estas proteínas reconocen receptores específicos de la superficie bacteriana, lo que controla el rango de huéspedes del fago (**Ge et al., 2020**). El género *Berlinvirus* exhibe una amplia variedad de huéspedes, infectando diversos géneros bacterianos incluyendo distintos serovares de *Salmonella*, como Infantis, Hadar y Typhimurium correspondientes a los fagos empleados en la comparación genómica (**NCBI, 2023**).

La endolisina ha sido identificada como el único gen de lisis presente en el fago F6. En comparación con el resto de bacteriófagos, esta endolisina se ubica cerca de los 8 kb en la dirección forward y 28 kb en la dirección reverse. A diferencia de los fagos analizados, el F6 no presenta codificación para otras proteínas de lisis, como holina o espaninas. Este hallazgo sugiere la posibilidad de clasificar esta endolisina dentro del dominio de las endolisinas SAR (señal – arresto – liberación) (**Gontijo et al., 2022**). Dicha proteína de lisis opera mediante señales que interactúan con la vía de secreción general del huésped (**Oechslein et al., 2022**). Investigaciones recientes demuestran una función lítica similar, como es el caso del bacteriófago Mu (**Chamblee et al., 2022**). Otra explicación para la ausencia de los demás genes líticos en el F6 podría ser que los

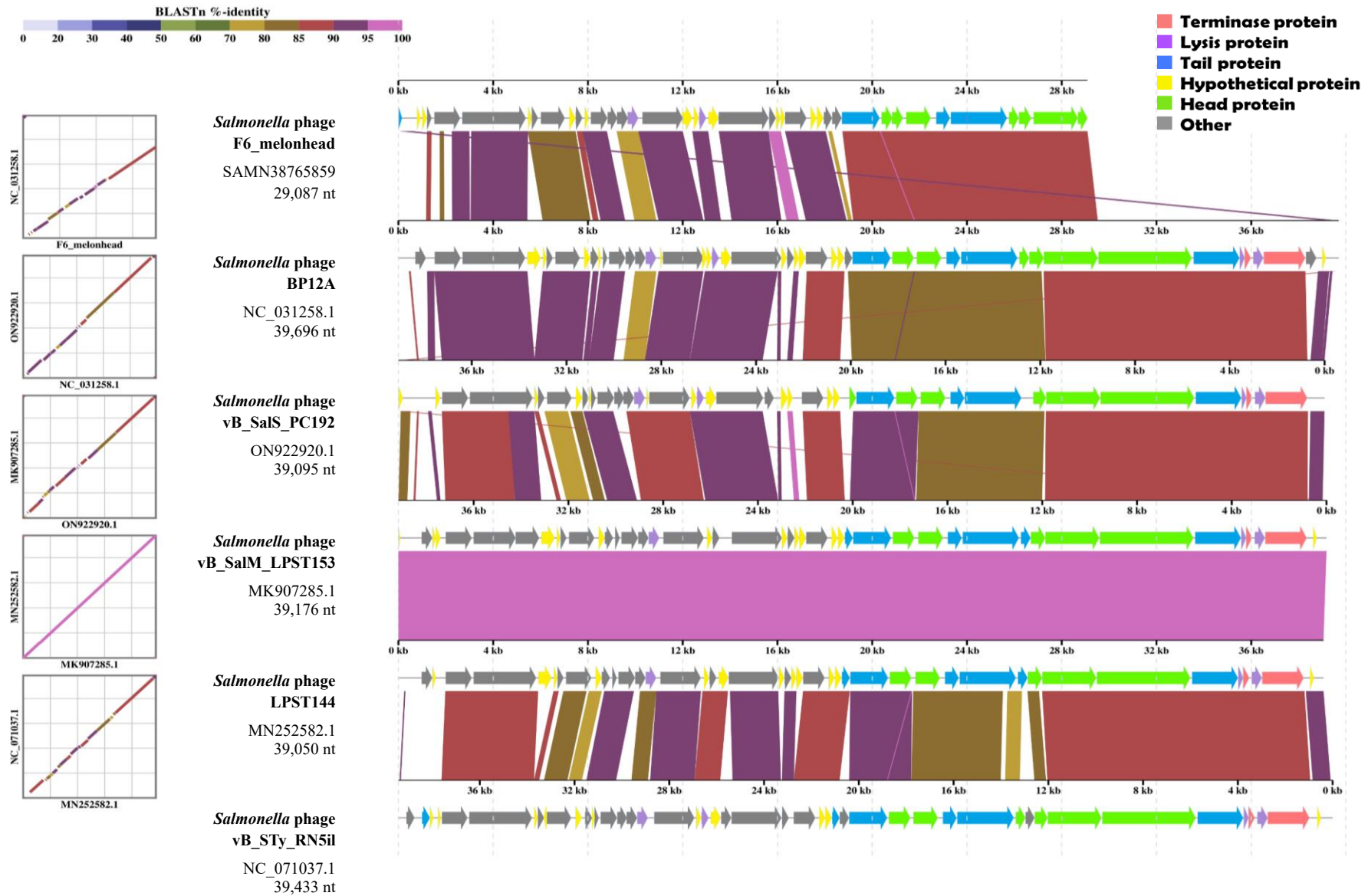
bacteriófagos pierden genes característicos, los cuales tienden a mantenerse en la bacteria en forma de plásmidos (**Tikhe & Husseneder, 2018**).

Una característica distintiva del F6, es la presencia de una proteína inhibidora de la toxina huésped, encargada de la defensa del fago contra las toxinas de defensa de la bacteria (**Leroux & Laub, 2022**). Probablemente, esta actúa en conjunto con la endolisina SAR para llevar a cabo la lisis en el huésped. Este resultado destaca el proceso lítico del fago y su singularidad en comparación con otros fagos.

La proteína serina – treonina quinasa se ha identificado en tres de los seis genomas analizados (fago F6; fago *Salmonella* BP12A y fago *Salmonella* vB_SalS_PC192). Aunque esta proteína ha sido primordialmente asociada con bacterias (**H. Li et al., 2022**), su presencia se extiende a diversos complejos víricos de ADN, apuntando a su posible codificación por virus de ADN evolutivamente antiguos (**Jacob et al., 2011**). La existencia de esta proteína en bacteriófagos podría explicarse mediante la transferencia horizontal del huésped al fago (Bellas et al., 2020). Desempeñando una función en el ciclo de replicación del virus, al mismo tiempo que evade el sistema de defensa bacteriano (**X. Li et al., 2023**). Esta observación destaca la conexión evolutiva entre bacterias y bacteriófagos, evidenciando cómo ciertos elementos genéticos pueden ser compartidos y adaptados a través de la transferencia horizontal de genes.

Figura 5

Análisis comparativo F6



Nota: Alineación de aminoácidos de los seis fagos *Berlinvirus* de *Salmonella*. Los genes fueron marcados con colores acorde a su función, genes de terminasa (rosa), genes de lisis (morado), genes de la cola (azul), genes hipotéticos (amarillo), genes de la cabeza (verde) y otros genes (gris). *Autoría propia.*

Tabla 7*Listado de los fagos de Salmonella pertenecientes al clado de F14*

Nombre	Género	N° de acceso	E value	Coverage (%)	Identidad (%)
Fago <i>Salmonella</i> 118970_sal1	<i>Chivirus</i>	NC_031930.1	0.0	98	98.42
Fago <i>Salmonella</i> 35		NC_048632.1	0.0	92	94.60
Fago <i>Salmonella</i> 37		NC_029045.1	0.0	96	94.45
Fago <i>Salmonella</i> BP12C		NC_031228.1	0.0	98	94.18

En la **Figura 6** correspondiente al F14, se observa una notable homogeneidad visual entre las secuencias de bacteriófagos *Chivirus* de *Salmonella* (**Tabla 7**). La primera similitud identificada entre estas secuencias corresponde a la terminasa. En el fago F14, esta se ubica en el inicio de la secuencia, mientras que, en el caso de las demás secuencias, se localiza a partir de los 6.5 kb en el sentido forward y los 45.5 kb en el sentido reverse. La terminasa es una proteína que se expresa en dos subunidades, una grande y otra pequeña, ambas altamente coevolucionadas y con una conservación funcional (**Wangchuk et al., 2021**). Es destacable que los cinco fagos analizados presentan secuencias genómicas similares en la subunidad terminasa, sugiriendo la posibilidad que compartan un mecanismo similar en el proceso de empaquetamiento del ADN (**Yang et al., 2020**). Adicionalmente, en todos los genomas comparados, la terminasa se ve acompañada de un gen de endonucleasa, los cuales, según la literatura **L. Zhang et al. (2017)**, se mantienen de manera constante a lo largo de la evolución. Esta observación propone la posibilidad de que la endonucleasa desempeñe un papel

biológico en la estimulación de la recombinación homóloga del fago, contribuyendo así de manera significativa a la preservación de sus genes.

Uno de los rasgos mejor conservados dentro de la familia *Siphoviridae*, como se evidencia en esta comparación, son los genes que componen la cola del fago (**Hatfull, 2012**). En el caso del F14 estos genes están posicionados antes de los 13 kb, mientras que en los otros fagos se sitúan antes de los 19.5 kb en sentido forward y antes de los 39 kb en sentido reverse. Entre las proteínas compartidas se encuentran aquellas relacionadas con la longitud de la cola, las proteínas principales de la cola y las proteínas chaperonas del ensamblaje de la cola. La persistencia de estas proteínas comunes sugiere una conexión evolutiva entre bacteriófagos de cola larga, proporcionando así evidencia que respalda el argumento de un origen común para este tipo de fagos (**Veesler & Cambillau, 2011**).

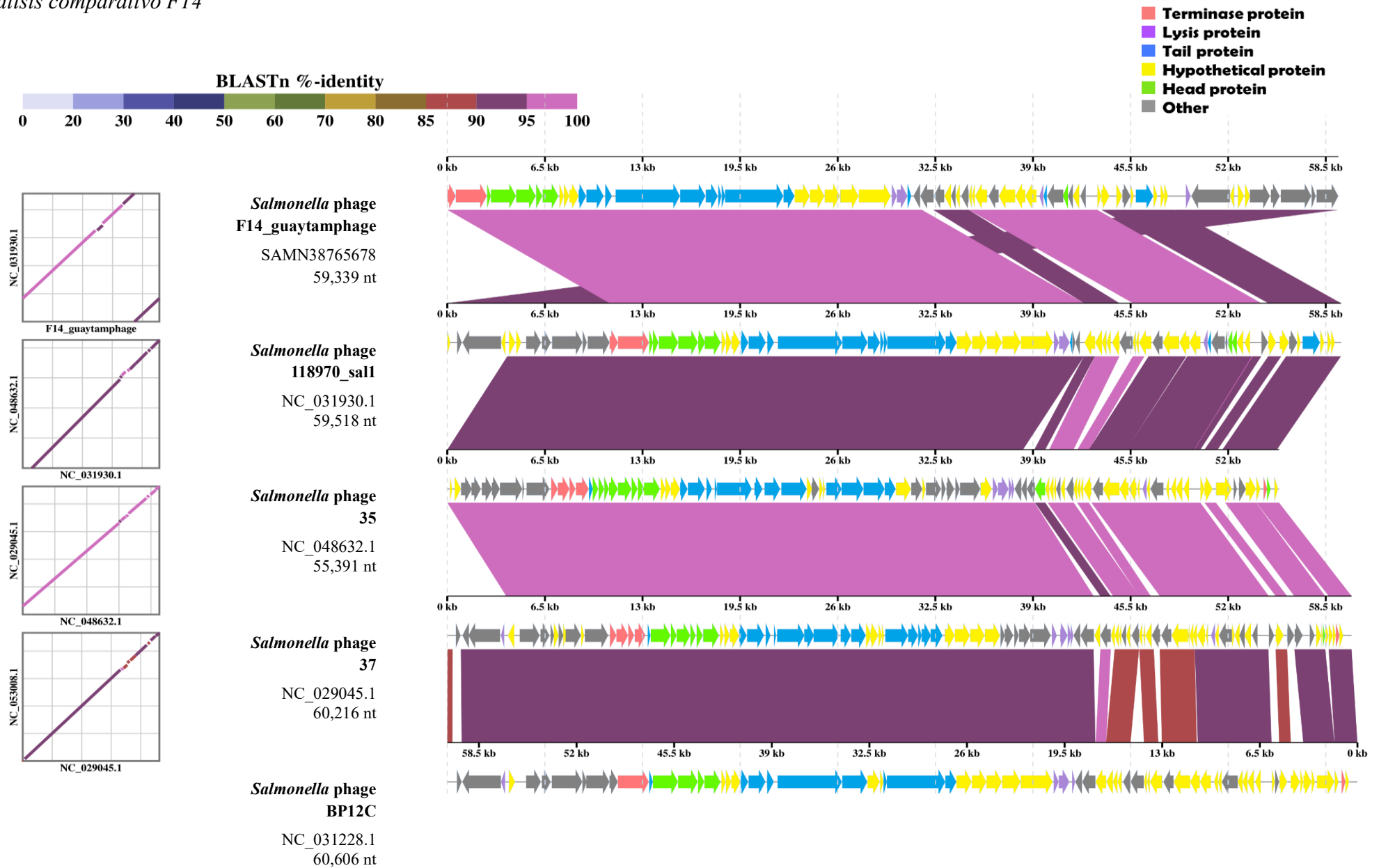
Otras proteínas altamente conservadas son las proteínas de la cabeza, las cuales están ubicadas a inicios del F14, y entre los 6.5 a 19.5 kb en sentido forward, o antes de los 45.5 kb en sentido reverse. Es probable que estas proteínas se conserven debido a que desempeñan interacciones proteína – proteína en la cápside del fago (**Chibani-Chennoufi et al., 2004**).

Con respecto a las proteínas de lisis, el fago F14 y los demás fagos, codifican una endolisina y una espanina. Como se mencionó anteriormente ambas proteínas ayudan a la lisis de la pared bacteriana de las bacterias Gram negativas durante el proceso de infección (**Young, 2014**). Así también, los cinco fagos conservan genes relacionados con la replicación y regulación del ADN. En los que se incluye ADN primasa – helicasa, ADN ligasa, ARN polimerasa, exonucleasas, endonucleasas y ADN polimerasa, considerando a esta última como un gen característico para la identificación de secuencias víricas (**Evseev et al., 2020**).

Además, la alineación de las secuencias demostró que los cinco fagos, poseen algunas regiones con reordenamientos significativos altamente homólogos. Este resultado señala que, aunque las posiciones de sus genes son diferentes, estos fagos comparten una organización genómica común (**Cong et al., 2021**).

Figura 6

Análisis comparativo F14



Nota: Alineación de aminoácidos de los cinco fagos *Chivirus* de *Salmonella*. Los genes fueron marcados con colores acorde a su función, genes de terminasa (rosa), genes de lisis (morado), genes de la cola (azul), genes hipotéticos (amarillo), genes de la cabeza (verde) y otros genes (gris). *Autoría propia.*

3.1.3. Análisis filogenético de los bacteriófagos analizados con secuencias de diverso origen geográfico

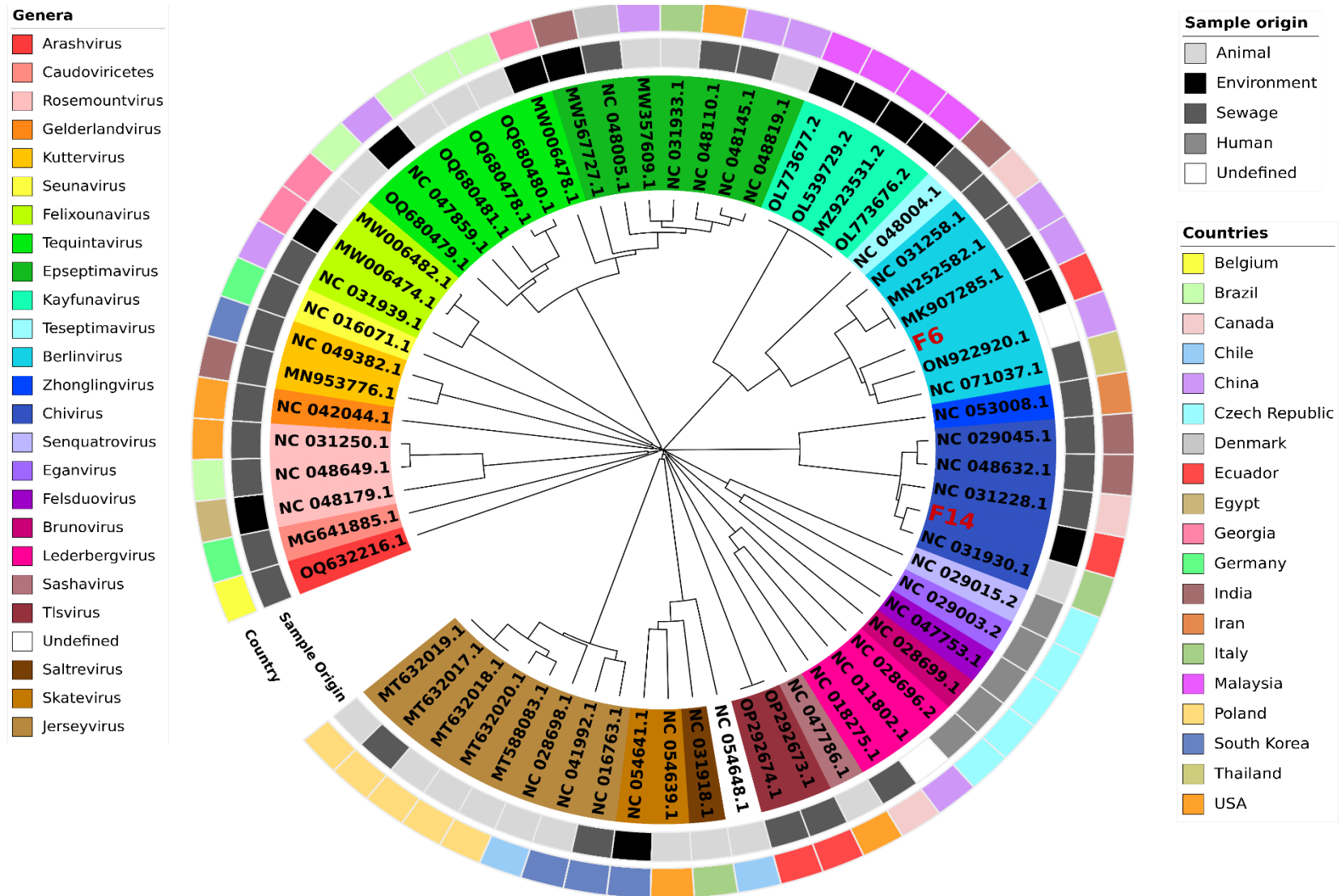
Se llevó a cabo un análisis filogenético empleando las plataformas iTOL y ViPTree, con el propósito de explorar las relaciones y diferencias entre los genomas de los bacteriófagos caracterizados en el presente estudio y aislamientos de diverso origen geográfico. Este análisis empleó 64 secuencias de genoma completo de bacteriófagos de *Salmonella*, recopiladas de distintos orígenes y países. Entre estas secuencias se incluyeron aquellas que fueron caracterizadas en el curso de la presente investigación. Para acceder a información detallada de las secuencias de genomas completos utilizadas, se presenta un anexo que se encuentra debidamente identificado como **Anexo 4**.

En la **figura 7**, se presenta un esquema general de la filogenia de los 64 bacteriófagos de *Salmonella* pertenecientes a 19 países, como Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, China, República Checa, Dinamarca, Ecuador, Egipto, Georgia, Alemania, India, Irán, Italia, Malasia, Polonia, Corea del Sur, Tailandia, y Estados Unidos. Estos bacteriófagos fueron aislados de diversas fuentes, que incluyen origen animal, ambiental, humano, aguas residuales y desconocido.

En el grupo de bacteriófagos de F6 pertenecientes al género *Berlinvirus*, se han identificado fagos aislados de diferentes fuentes de origen. Estos fagos provienen de entornos ambientales en China y Ecuador, así como de muestras de aguas residuales recolectadas en China, Canadá y Tailandia. Además, se identificó un fago en China cuyo origen aún es desconocido. Por otro lado, en el género *Chivirus* correspondiente al F14, se encuentran fagos aislados de aguas residuales en Irán, India y Canadá, así como de entornos ambientales en Ecuador y de entornos animales en Italia.

Figura 7

Filogenia de bacteriófagos



Nota: El árbol de filogenia circular se compone de tres secciones. La sección interna identifica al género al que pertenece, seguida por la fuente de aislamiento en la parte central, y en la sección externa, se presenta los países de origen. Este análisis reveló la presencia de 24 géneros diferentes. *Autoría propia*

En particular, el análisis del F6, se observa una estrecha relación dentro de un clado compuesto por tres géneros: *Teseptimavirus*, *Kayfunavirus* y *Berlinvirus*, siendo este último el género en el que se clasifica el F6. Este hallazgo respalda la discutida taxonomía previa que sugiere la pertenencia del F6 al género *Berlinvirus*. En el **Anexo 5** se encuentra a mayor detalle las similitudes más cercanas de F6. Dentro del género *Berlinvirus*, se identifica que el F6 comparte similitud con otros fagos de dicho género, como el fago *Salmonella* BP12A, fago *Salmonella* vB_SalS_PC192, fago *Salmonella* vB_SalM-LPST153, fago *Salmonella* LPST144 y fago *Salmonella* vB_STy-RN5i1. Asimismo, se evidencia afinidad del F6 con el género *Teseptimavirus* a través del fago *Salmonella* 3A_8767. Y, por último, en el mismo clado, se establece conexión con el género *Kayfunavirus*, manifestando similitud con los fagos: fago *Salmonella* PRF-SP5, fago *Salmonella* PRF-SP3, fago *Salmonella* PRF-SP1 y fago *Salmonella* PRF-SP4.

El fago F6 presenta una proximidad filogenética con el género *Epseptimavirus*, donde algunos de estos bacteriófagos, como fago de *Salmonella* 1-19 y fago de *Salmonella* 3-29 tienen un mismo origen de aislamiento, el cual es aguas residuales. La relación filogenética proporcionada revela que los genomas de estos fagos han evolucionado a partir de un ancestro en común, a pesar de que provienen de distintos géneros y ubicaciones geográficas. Es destacable que los genomas de fagos similares pueden reaparecer a grandes distancias geográficas y con varios años de diferencia, sugiriendo una estabilidad a lo largo del tiempo (**Bellas et al., 2020**). Es importante señalar que el hospedador de estos fagos es un patógeno de alcance mundial, lo que sugiere que los fagos que infectan esta bacteria también poseen una distribución global (**Barron-Montenegro et al., 2021**).

En contraste, el F14, se sitúa en un clado compuesto por dos géneros: *Zhonglingvirus* y *Chivirus*, siendo este último la categoría taxonómica asignada al F14. De igual manera que en el F6, esta observación refuerza la hipótesis previa de la asignación del F14 al género *Chivirus*. El **Anexo 6** proporciona a mayor detalle las similitudes más cercanas del F14. En el grupo *Chivirus*, el F14 presenta una marcada similitud con otros fagos del mismo género, entre los cuales se incluyen: fago *Salmonella* 118970_sal1, fago *Salmonella* 35, fago *Salmonella* 37 y fago *Salmonella* BP12C. En

el caso del género *Zhonglingvirus*, el F14 exhibe similitudes con el fago *Salmonella* SAP012. Hasta la fecha de redacción del presente trabajo de investigación no existe información acerca del género *Zhonglingvirus* por lo que se procede a realizar una comparación con el clado más cercano.

Fuera del clado de F14, este guarda una relación más cercana con los bacteriófagos del género *Senquatrovirus*, *Eganvirus* y *Felsduovirus* Específicamente con el fago de *Salmonella* Sen4, fago de *Salmonella* Sen1 y fago de *Salmonella* Sen8, respectivamente. Cabe mencionar que todos estos bacteriófagos provienen de un mismo aislamiento de muestras de origen humano en República Checa. El artículo menciona y compara a estos bacteriófagos con los fagos prototipo P2 (**Mikalová et al., 2017**). El fago P2 de tipo templado, fue aislado en 1951 empleando como hospedador a *E.coli* (**Skaar et al., 2015**). No obstante, se ha demostrado que puede infectar otros hospedadores, entre los que se incluye *Salmonella* (**Dokland, 2013**). Una característica destacada es la similitud en la estructura del virión compartida entre todos los miembros de estos fagos (**Eriksson, 2005**). En consonancia, investigaciones señalan que los bacteriófagos que infectan bacterias similares o relacionadas, muestran una mayor proximidad filogenética en los genes de virión en comparación con aquellos que infectan a huéspedes más distantes filogenéticamente (**Tetart et al., 2001**).

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Este estudio de las secuencias de genoma completo de los bacteriófagos F6 y F14 de *S. enterica* serovar Infantis, reveló información sustancial sobre su clasificación, características genéticas, análisis comparativo y relaciones filogenéticas. Estos hallazgos han contribuido a una comprensión más detallada de la biología, composición y propiedades, lo que los posicionó como prometedores candidatos para ser utilizados como agentes de biocontrol contra *S. enterica* serovar Infantis.
- Se efectuó la caracterización de las secuencias de genoma completo de los bacteriófagos F6 y F14 de *S. enterica* serovar Infantis, mediante el empleo de diferentes plataformas y herramientas bioinformáticas. Taxonómicamente ambos fagos se clasificaron dentro de la clase *Caudoviricete* y el orden *Caudovirales*. El bacteriófago F6 perteneciente a la familia *Autographiviridae*, al género *Berlinvirus* sp. denominado Melonhead, mientras que el bacteriófago F14 se situó en la familia *Siphoviridae*, en el género *Berlinvirus* sp., denominado Guaythamphage. Además de su clasificación, se detallaron otras características genómicas, donde F6 exhibió una longitud de 29.097 kb, con un contenido GC del 48,57%, y codificó 41 proteínas, de las cuales 30 tenían funciones conocidas. En contraste, F14 presentó una longitud de 59.339 kb, un contenido GC del 56,44%, y un total de 69 proteínas, de las cuales 49 registraban funciones conocidas. Es importante destacar que, en ninguno de los dos fagos se encontró la presencia de genes relacionados con la virulencia y resistencia a antibióticos.

- Se comparó genómicamente a los bacteriófagos F6 y F14 con secuencias del genoma completo de bacteriófagos de *Salmonella*, empleando cinco y cuatro secuencias respectivamente. El bacteriófago F6 mostró regiones conservadas en genes que codifican proteínas de ensamblaje de la cola, proteínas conexión cabeza – cola, proteínas de andamio de ensamblaje de la cápside, proteínas tubulares de la cola y proteínas principales de la cápside y cabeza. Así mismo, mostró divergencia en zonas que codifican proteínas líticas, proteínas terminasas, y algunas proteínas de cabeza y cola. Estas diferencias entre genomas pueden darse como resultado de la evolución, interacción fago – huésped o transferencia horizontal de genes. Por otro lado, el bacteriófago F14 presentó una mayor similitud entre secuencias, específicamente en genes que codifican proteínas terminasas, proteínas de la cola, proteínas de la cabeza, proteínas de lisis, y proteínas relacionadas con la replicación y regulación del ADN. Esta similitud demostró que el F14 compartió una organización genómica común con el resto de los fagos.
- En el análisis filogenético de bacteriófagos de *Salmonella*, F6 se ubicó en género *Berlinvirus*, mientras que F14 se clasificó en el género *Chivirus*. Dentro del grupo *Berlinvirus*, se identificó bacteriófagos aislados de diversas fuentes, abarcando entornos ambientales y aguas residuales. Estos provenían de países como China, Canadá y Tailandia. Por otra parte, en el género *Chivirus* se encontraron bacteriófagos aislados a partir de aguas residuales, entornos ambientales y animales, con registros en países como Irán, India, Canadá e Italia. Estas relaciones filogenéticas revelaron que los bacteriófagos han evolucionado de un ancestro en común a pesar de que provienen de distintos géneros y ubicaciones geográfica.

4.2. Recomendaciones

- El uso de ensamblajes híbridos en la secuenciación de genomas completos de bacteriófagos posibilitaría la unión eficiente de fragmentos tanto largos como cortos, facilitando así la generación de secuencias consenso de alta calidad.
- Se propone secuenciar genomas completos de bacteriófagos de *S. enterica* serovar Infantis del resto del banco de fagos pertenecientes al grupo de investigación UTA RAM *One Health* con el objetivo de profundizar las relaciones evolutivas entre aislamientos de origen ecuatoriano.
- La importancia de ampliar el conocimiento genético mediante secuenciación de los bacteriófagos logrará impulsar la implementación de estrategias de biocontrol mediante la biotecnología. Este enfoque permitirá diseñar bioproductos enfocados en frenar la diseminación de patógenos que puedan representar una amenaza para la salud humana a escala global.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

- Adams, M. H. (1959). *Bacteriophages*. Interscience Publisher
- Al-Manasra, A. M., & Al-Razem, F. (2012). Cloning and expression of a new bacteriophage (SHPh) DNA ligase isolated from sewage. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 10(2), 177–184.
<https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2012.05.005>
- Almpanis, A., Swain, M., Gatherer, D., & McEwan, N. (2018). Correlation between bacterial G+C content, genome size and the G+C content of associated plasmids and bacteriophages. *Microbial Genomics*, 4(4).
<https://doi.org/10.1099/mgen.0.000168>
- Bardina, C., Colom, J., Spricigo, D. A., Otero, J., Sánchez-Osuna, M., Cortés, P., & Llagostera, M. (2016). Genomics of Three New Bacteriophages Useful in the Biocontrol of *Salmonella*. *Frontiers in Microbiology*, 7.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00545>
- Barron-Montenegro, R., García, R., Dueñas, F., Rivera, D., Opazo-Capurro, A., Erickson, S., & Moreno-Switt, A. I. (2021). Comparative Analysis of Felixounavirus Genomes Including Two New Members of the Genus That Infect *Salmonella* Infantis. *Antibiotics*, 10(7), 806.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10070806>
- Batinovic, S., Wassef, F., Knowler, S. A., Rice, D. T. F., Stanton, C. R., Rose, J., Tucci, J., Nittami, T., Vinh, A., Drummond, G. R., Sobey, C. G., Chan, H. T., Seviour, R. J., Petrovski, S., & Franks, A. E. (2019). Bacteriophages in natural and artificial environments. In *Pathogens* (Vol. 8, Issue 3).
<https://doi.org/10.3390/pathogens8030100>
- Bellas, C. M., Schroeder, D. C., Edwards, A., Barker, G., & Anesio, A. M. (2020). Flexible genes establish widespread bacteriophage pan-genomes in cryoconite

- hole ecosystems. *Nature Communications*, 11(1), 4403.
<https://doi.org/10.1038/s41467-020-18236-8>
- Bushen, A., Tekalign, E., & Abayneh, M. (2021). Drug- and multidrug-resistance pattern of enterobacteriaceae isolated from droppings of healthy chickens on a poultry farm in southwest Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*, 14.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S312185>
- Cahill, J., Rajaure, M., O’Leary, C., Sloan, J., Marrufo, A., Holt, A., Kulkarni, A., Hernandez, O., & Young, R. (2017). Genetic analysis of the lambda spanins Rz and Rz1: Identification of functional domains. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 7(2). <https://doi.org/10.1534/g3.116.037192>
- Calero-Cáceres W, Villacís J, Ishida M, Burnett E, Vinueza-Burgos C. Whole-Genome Sequencing of *Salmonella enterica* Serovar Infantis and Kentucky Isolates Obtained from Layer Poultry Farms in Ecuador. *Microbiol Resour Announc*. 2020 May;9(13).
- Castro-Vargas, R. E., Herrera-Sánchez, M. P., Rodríguez-Hernández, R., & Rondón-Barragán, I. S. (2020). Antibiotic resistance in *Salmonella* spp. isolated from poultry: A global overview. *Veterinary World*, 13(10).
<https://doi.org/10.14202/vetworld.2020.2070-2084>
- Chaban, Y., Lurz, R., Brasilès, S., Cornilleau, C., Karreman, M., Zinn-Justin, S., Tavares, P., & Orlova, E. V. (2015). Structural rearrangements in the phage head-to-tail interface during assembly and infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(22), 7009–7014.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1504039112>
- Chamblee, J. S., Ramsey, J., Chen, Y., Maddox, L. T., Ross, C., To, K. H., Cahill, J. L., & Young, R. (2022). Endolysin Regulation in Phage Mu Lysis. *MBio*, 13(3).
<https://doi.org/10.1128/mbio.00813-22>
- Chandra, P., Unnikrishnan, M. K., Vandana, K. E., Mukhopadhyay, C., Dinesh Acharya, U., Surulivel Rajan, M., & Rajesh, V. (2021). Antimicrobial resistance and the post antibiotic era: better late than never effort. In *Expert Opinion on Drug Safety* (Vol. 20, Issue 11).

<https://doi.org/10.1080/14740338.2021.1928633>

- Chaudhari, R., Singh, K., & Kodgire, P. (2023). Biochemical and molecular mechanisms of antibiotic resistance in *Salmonella* spp. In *Research in Microbiology* (Vol. 174, Issues 1–2). <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2022.103985>
- Chibani-Chennoufi, S., Canchaya, C., Bruttin, A., & Brüßow, H. (2004). Comparative Genomics of the T4-Like *Escherichia coli* Phage JS98: Implications for the Evolution of T4 Phages. *Journal of Bacteriology*, 186(24), 8276–8286. <https://doi.org/10.1128/JB.186.24.8276-8286.2004>
- Chung, K. M., Nang, S. C., & Tang, S. S. (2023). The Safety of Bacteriophages in Treatment of Diseases Caused by Multidrug-Resistant Bacteria. *Pharmaceuticals*, 16(10), 1347. <https://doi.org/10.3390/ph16101347>
- Ciuffreda, L., Rodríguez-Pérez, H., & Flores, C. (2021). Nanopore sequencing and its application to the study of microbial communities. In *Computational and Structural Biotechnology Journal* (Vol. 19). <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.02.020>
- Cohen, E., Rahav, G., & Gal-Mor, O. (2020). Genome Sequence of an Emerging *Salmonella enterica* Serovar Infantis and Genomic Comparison with Other *S. Infantis* Strains. *Genome Biology and Evolution*, 12(3), 223–228. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa048>
- CONAVE. (2022). Información Sector Avícola (Público) – CONAVE. Revisado el 20 de junio de 2023 en <https://conave.org/informacion-sector-avicola-publico/>
- Cong, C., Wei, B. D., Cui, H. J., Li, X. Y., Yuan, Y. Y., Wang, L. L., Li, S. Y., & Xu, Y. P. (2021). Isolation, characterization and comparison of lytic Epseptimavirus phages targeting *Salmonella*. *Food Research International*, 147. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110480>
- De Roeck, A., De Coster, W., Bossaerts, L., Cacace, R., De Pooter, T., Van Dongen, J., D’Hert, S., De Rijk, P., Strazisar, M., Van Broeckhoven, C., & Slegers, K. (2019). NanoSatellite: Accurate characterization of expanded tandem repeat length and sequence through whole genome long-read sequencing on

- PromethION. *Genome Biology*, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1856-3>
- DiGAlign. (2024). *DiGAlign*. <https://www.genome.jp/digalign/>
- Dion, M. B., Oechslin, F., & Moineau, S. (2020). Phage diversity, genomics and phylogeny. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 18, Issue 3). <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0311-5>
- Dokland, T. (2013). Chapter 788 - gpO Peptidase (Enterobacteria phage P2) A2 - Rawlings, Neil D. In *Handbook of Proteolytic Enzymes*.
- Eriksson, J. (2005). Structure-Function Studies of Bacteriophage P2 Integrase and Cox Protein. *Department of Genetics, Microbiology and Toxicology Stockholm University*.
- Evseev, P. V., Lukianova, A. A., Shneider, M. M., Korzhenkov, A. A., Bugaeva, E. N., Kabanova, A. P., Miroshnikov, K. K., Kulikov, E. E., Toshchakov, S. V., Ignatov, A. N., & Miroshnikov, K. A. (2020). Origin and Evolution of Studiervirinae Bacteriophages Infecting Pectobacterium: Horizontal Transfer Assists Adaptation to New Niches. *Microorganisms*, 8(11), 1707. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8111707>
- Filik, K., Szermer-Olearnik, B., Oleksy, S., Brykała, J., & Brzozowska, E. (2022). Bacteriophage Tail Proteins as a Tool for Bacterial Pathogen Recognition—A Literature Review. In *Antibiotics* (Vol. 11, Issue 5). <https://doi.org/10.3390/antibiotics11050555>
- Finger, J. A. F. F., Baroni, W. S. G. V., Maffei, D. F., Bastos, D. H. M., & Pinto, U. M. (2019). Overview of foodborne disease outbreaks in Brazil from 2000 to 2018. In *Foods* (Vol. 8, Issue 10). <https://doi.org/10.3390/foods8100434>
- Finn, R. D., Clements, J., & Eddy, S. R. (2011). HMMER web server: interactive sequence similarity searching. *Nucleic Acids Research*, 39(suppl), W29–W37. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr367>
- Galaxy. (2023). *Galaxy*.
- Gargano, V., Gambino, D., Migliore, S., Vitale, M., Sciortino, S., Costa, A., & Vicari,

- D. (2021). Can human handling increase the presence of multidrug resistance (Mdr) in *Salmonella* spp. isolated from food sources? *Microorganisms*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9102018>
- Ge, H., Hu, M., Zhao, G., Du, Y., Xu, N., Chen, X., & Jiao, X. (2020). The “fighting wisdom and bravery” of tailed phage and host in the process of adsorption. In *Microbiological Research* (Vol. 230). <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126344>
- George, I., Raveendran, K., Vaiyapuri, M., Sherin, A., Sanjeev, D., Kumar, S., Sivam, V., Benala, M., Mothadaka, M. P., & Badireddy, M. R. (2022). Gene sequencing analysis of tailed phages identified diverse (Kayfunavirus and Berlinvirus) coliphages in aquatic niche against AMR *Escherichia coli*. *Archives of Microbiology*, 204(7), 429. <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03055-w>
- Gildea, L., Ayariga, J. A., & Robertson, B. K. (2022). Bacteriophages as Biocontrol Agents in Livestock Food Production. *Microorganisms*, 10(11), 1–19. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112126>
- Gontijo, M. T. P., Teles, M. P., Vidigal, P. M. P., & Brocchi, M. (2022). Expanding the Database of Signal-Anchor-Release Domain Endolysins Through Metagenomics. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(4), 603–612. <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09948-y>
- Guitor, A. K., Raphenya, A. R., Klunk, J., Kuch, M., Alcock, B., Surette, M. G., McArthur, A. G., Poinar, H. N., & Wright, G. D. (2019). Capturing the Resistome: a Targeted Capture Method To Reveal Antibiotic Resistance Determinants in Metagenomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(1). <https://doi.org/10.1128/AAC.01324-19>
- Gulyaeva, A., Garmaeva, S., Kurilshikov, A., Vich Vila, A., Riksen, N. P., Netea, M. G., Weersma, R. K., Fu, J., & Zhernakova, A. (2022). Diversity and Ecology of Caudoviricetes Phages with Genome Terminal Repeats in Fecal Metagenomes from Four Dutch Cohorts. *Viruses*, 14(10). <https://doi.org/10.3390/v14102305>
- Hatfull, G. F. (2012). *The Secret Lives of Mycobacteriophages* (pp. 179–288). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394621-8.00015-7>

- Hernandez, A. J., & Richardson, C. C. (2019). Gp2.5, the multifunctional bacteriophage T7 single-stranded DNA binding protein. In *Seminars in Cell and Developmental Biology* (Vol. 86). <https://doi.org/10.1016/j.semdb.2018.03.018>
- Ho, S. F. S., Wheeler, N. E., Millard, A. D., & van Schaik, W. (2023). Gauge your phage: benchmarking of bacteriophage identification tools in metagenomic sequencing data. *Microbiome*, *11*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/S40168-023-01533-X/FIGURES/5>
- Huet, A., Duda, R. L., Hendrix, R. W., Boulanger, P., & Conway, J. F. (2016). Correct Assembly of the Bacteriophage T5 Procapsid Requires Both the Maturation Protease and the Portal Complex. *Journal of Molecular Biology*, *428*(1). <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2015.11.019>
- Hulo, C., De Castro, E., Masson, P., Bougueleret, L., Bairoch, A., Xenarios, I., & Le Mercier, P. (2011). ViralZone: A knowledge resource to understand virus diversity. *Nucleic Acids Research*, *39*(SUPPL. 1). <https://doi.org/10.1093/nar/gkq901>
- IFSAC. (2021). Foodborne illness source attribution estimates for 2019 for *Salmonella*, *Escherichia coli* O157, *Listeria monocytogenes*, and *Campylobacter* using multi-year outbreak surveillance data, United States. *US Department of Health and Human Services, CDC, October*.
- Jacob, T., Van den Bciue, C., & Favoreel, H. W. (2011). Viral Serine/Threonine Protein Kinases. *Journal of Virology*, *85*(3). <https://doi.org/10.1128/jvi.01369-10>
- Jamal, M., Bukhari, S. M. A. U. S., Andleeb, S., Ali, M., Raza, S., Nawaz, M. A., Hussain, T., Rahman, S. u., & Shah, S. S. A. (2019). Bacteriophages: an overview of the control strategies against multiple bacterial infections in different fields. *Journal of Basic Microbiology*, *59*(2), 123–133. <https://doi.org/10.1002/jobm.201800412>
- Jang, A., Kim, H. J., Kim, D., Kim, J. S., & Lee, S. K. (2019). Effects of doneness on the microbial, nutritional, and quality properties of pork steak of different thicknesses. *Food Science of Animal Resources*, *39*(5). <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e63>

- Kasman, L. M., & Porter, L. D. (2022). Bacteriophages. *Brenner's Encyclopedia of Genetics: Second Edition*, 280–283. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374984-0.00131-5>
- Khan, M. S. I., Gao, X., Liang, K., Mei, S., & Zhan, J. (2021). Virulent Drexlervirial Bacteriophage MSK, Morphological and Genome Resemblance With Rtp Bacteriophage Inhibits the Multidrug-Resistant Bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.706700>
- Korn, A. M., Hillhouse, A. E., Sun, L., & Gill, J. J. (2021). Comparative Genomics of Three Novel Jumbo Bacteriophages Infecting *Staphylococcus aureus*. *Journal of Virology*, 95(19). <https://doi.org/10.1128/jvi.02391-20>
- Kumar, K. R., Cowley, M. J., & Davis, R. L. (2019). Next-Generation Sequencing and Emerging Technologies. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 45(07), 661–673. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1688446>
- Ladner, J. T., Beitzel, B., Chain, P. S. G., Davenport, M. G., Donaldson, E., Frieman, M., Kugelman, J., Kuhn, J. H., O'Rear, J., Sabeti, P. C., Wentworth, D. E., Wiley, M. R., Yu, G.-Y., Sozhamannan, S., Bradburne, C., & Palacios, G. (2014). Standards for Sequencing Viral Genomes in the Era of High-Throughput Sequencing. *MBio*, 5(3). <https://doi.org/10.1128/mBio.01360-14>
- Lee, H., & Yoon, Y. (2021). Etiological agents implicated in foodborne illness world wide. *Food Science of Animal Resources*, 41(1). <https://doi.org/10.5851/KOSFA.2020.E75>
- Leggett, R. M., & Clark, M. D. (2017). A world of opportunities with nanopore sequencing. *Journal of Experimental Botany*, 68(20). <https://doi.org/10.1093/jxb/erx289>
- Leroux, M., & Laub, M. T. (2022). Toxin-Antitoxin Systems as Phage Defense Elements. In *Annual Review of Microbiology* (Vol. 76). <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-020722-013730>
- Letunic, I., & Bork, P. (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research*, 49(W1), W293–W296. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab301>

- Life Technologies. (2013). PureLink ® Genomic DNA Kits For purification of genomic DNA. *Invitrogen by Life Technologies*, 25.
- Li, H., Li, T., Hu, Q., Yao, Z., Li, L., Huang, Q., & Zhou, R. (2022). Inhibitors targeting the autophosphorylation of serine/threonine kinase of *Streptococcus suis* show potent antimicrobial activity. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.990091>
- Li, X., Long, X., Chen, L., Guo, X., Lu, L., Hu, L., & He, Z. G. (2023). Mycobacterial phage TM4 requires a eukaryotic-like Ser/Thr protein kinase to silence and escape anti-phage immunity. *Cell Host and Microbe*, 31(9). <https://doi.org/10.1016/j.chom.2023.07.005>
- Li, W., Pires, S. M., Liu, Z., Ma, X., Liang, J., Jiang, Y., Chen, J., Liang, J., Wang, S., Wang, L., Wang, Y., Meng, C., Huo, X., Lan, Z., Lai, S., Liu, C., Han, H., Liu, J., Fu, P., & Guo, Y. (2020). Surveillance of foodborne disease outbreaks in China, 2003–2017. *Food Control*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107359>
- Linares, R., Arnaud, C.-A., Degroux, S., Schoehn, G., & Breyton, C. (2020). Structure, function and assembly of the long, flexible tail of siphophages. *Current Opinion in Virology*, 45, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2020.06.010>
- Loh, B., Gondil, V. S., Manohar, P., Khan, F. M., Yang, H., & Leptihn, S. (2021). Encapsulation and Delivery of Therapeutic Phages. *Applied and Environmental Microbiology*, 87(5). <https://doi.org/10.1128/AEM.01979-20>
- Lokareddy, R. K., Hou, C. F. D., Doll, S. G., Li, F., Gillilan, R. E., Forti, F., Horner, D. S., Briani, F., & Cingolani, G. (2022). Terminase Subunits from the *Pseudomonas*-Phage E217. *Journal of Molecular Biology*, 434(20). <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2022.167799>
- Long, X., Zhang, H., Wang, X., Mao, D., Wu, W., & Luo, Y. (2022). RecT Affects Prophage Lifestyle and Host Core Cellular Processes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(18). <https://doi.org/10.1128/aem.01068-22>
- Lu, N., Sun, Y., Wang, Q., Qiu, Y., Chen, Z., Wen, Y., Wang, S., & Song, Y. (2020).

- Cloning and characterization of endolysin and holin from *Streptomyces avermitilis* bacteriophage phiSASD1 as potential novel antibiotic candidates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 980–989. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.065>
- Malik, D. J. (2019). Targeted Delivery of Bacteriophages to the Gastrointestinal Tract and Their Controlled Release. In *Microbiome and Metabolome in Diagnosis, Therapy, and other Strategic Applications* (pp. 185–194). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815249-2.00019-1>
- Martinez-Vaz, B. M., & Mickelson, M. M. (2020). In silico Phage Hunting: Bioinformatics Exercises to Identify and Explore Bacteriophage Genomes. *Frontiers in Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.577634>
- McNair, K., Aziz, R. K., Pusch, G. D., Overbeek, R., Dutilh, B. E., & Edwards, R. (2018). *Phage Genome Annotation Using the RAST Pipeline* (pp. 231–238). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7343-9_17
- Medina, E. M., Andrews, B. T., Nakatani, E., & Catalano, C. E. (2011). The Bacteriophage Lambda gpNu3 Scaffolding Protein Is an Intrinsically Disordered and Biologically Functional Procapsid Assembly Catalyst. *Journal of Molecular Biology*, 412(4), 723–736. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.07.045>
- Mejía, L., Medina, J. L., Bayas, R., Salazar, C. S., Villavicencio, F., Zapata, S., Matheu, J., Wagenaar, J. A., González-Candelas, F., & Vinuesa-Burgos, C. (2020). Genomic Epidemiology of *Salmonella* Infantis in Ecuador: From Poultry Farms to Human Infections. *Frontiers in Veterinary Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.547891>
- Mikalová, L., Bosák, J., Hříbková, H., Dědičová, D., Benada, O., Šmarda, J., & Šmajš, D. (2017). Novel temperate phages of *Salmonella enterica* subsp. *salamae* and subsp. *diarizonae* and their activity against pathogenic *S. enterica* subsp. *enterica* isolates. *PLoS ONE*, 12(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170734>
- Mitchell, S. L., & Simner, P. J. (2019). Next-Generation Sequencing in Clinical Microbiology. *Clinics in Laboratory Medicine*, 39(3), 405–418. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2019.05.003>

- Morales, K., & Topa, P. (2023). *Bioprospección de bacteriófagos líticos de Salmonella enterica multirresistente de origen avícola de la provincia de Tungurahua*. Universidad Técnica de Ambato.
- Mosele, F., Remon, J., Mateo, J., Westphalen, C. B., Barlesi, F., Lolkema, M. P., Normanno, N., Scarpa, A., Robson, M., Meric-Bernstam, F., Wagle, N., Stenzinger, A., Bonastre, J., Bayle, A., Michiels, S., Bièche, I., Rouleau, E., Jezdic, S., Douillard, J. Y., ... André, F. (2020). Recommendations for the use of next-generation sequencing (NGS) for patients with metastatic cancers: a report from the ESMO Precision Medicine Working Group. *Annals of Oncology*, *31*(11), 1491–1505. <https://doi.org/10.1016/J.ANNONC.2020.07.014>
- Moura de Sousa, J. A., Pfeifer, E., Touchon, M., & Rocha, E. P. C. (2021). Causes and consequences of bacteriophage diversification via genetic exchanges across lifestyles and bacterial taxa. *Molecular Biology and Evolution*, *38*(6). <https://doi.org/10.1093/molbev/msab044>
- Mpundu, P., Mbewe, A. R., Muma, J. B., Zgambo, J., & Munyeme, M. (2019). Evaluation of bacterial contamination in dressed chickens in Lusaka abattoirs. *Frontiers in Public Health*, *7*(FEB). <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00019>
- Muligisa-Muonga, E., Mainda, G., Mukuma, M., Kwenda, G., Hang'ombe, B., Flavien, B. N., Phiri, N., Mwansa, M., Munyeme, M., & Muma, J. B. (2021). Antimicrobial resistance of Escherichiacoli and Salmonella isolated from retail broiler chicken carcasses in Zambia. *Journal of Epidemiological Research*, *6*(1). <https://doi.org/10.5430/jer.v6n1p35>
- Musto, H. (2023). How Many Factors Influence Genomic GC Content Among Prokaryotes? In *Journal of Molecular Evolution* (Vol. 91, Issue 1). <https://doi.org/10.1007/s00239-022-10077-x>
- Mutusamy, P., Banga Singh, K. K., Su Yin, L., Petersen, B., Sicheritz-Ponten, T., Clokie, M. R. J., Loke, S., Millard, A., Parimannan, S., & Rajandas, H. (2023). Phenotypic Characterization and Comparative Genomic Analysis of Novel Salmonella Bacteriophages Isolated from a Tropical Rainforest. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(4). <https://doi.org/10.3390/ijms24043678>

- NCBI. (2023). *NCBI*. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/doc/blast-help/>
- Necel, A., Bloch, S., Nejman-Faleńczyk, B., Grabski, M., Topka, G., Dydecka, A., Kosznik-Kwaśnicka, K., Grabowski, Ł., Jurczak-Kurek, A., Wołkowicz, T., Węgrzyn, G., & Węgrzyn, A. (2020). Characterization of a bacteriophage, vB_Eco4M-7, that effectively infects many *Escherichia coli* O157 strains. *Scientific Reports* 2020 10:1, 10(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60568-4>
- Nishimura, Y., Yoshida, T., Kuronishi, M., Uehara, H., Ogata, H., & Goto, S. (2017). ViPTree: the viral proteomic tree server. *Bioinformatics*, 33(15), 2379–2380. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx157>
- Oechslin, F., Zhu, X., Dion, M. B., Shi, R., & Moineau, S. (2022). Phage endolysins are adapted to specific hosts and are evolutionarily dynamic. *PLoS Biology*, 20(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001740>
- Owen, S. V., Perez-Sepulveda, B. M., & Adriaenssens, E. M. (2019). Detection of Bacteriophages: Sequence-Based Systems. In *Bacteriophages* (pp. 1–25). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40598-8_19-1
- Painter, J. A., Hoekstra, R. M., Ayers, T., Tauxe, R. V., Braden, C. R., Angulo, F. J., & Griffin, P. M. (2013). Attribution of foodborne illnesses, hospitalizations, and deaths to food commodities by using outbreak data, United States, 1998-2008. *Emerging Infectious Diseases*, 19(3). <https://doi.org/10.3201/eid1903.111866>
- Passos, D. O., Li, M., Craigie, R., & Lyumkis, D. (2021). Retroviral integrase: Structure, mechanism, and inhibition. In *Enzymes* (Vol. 50). <https://doi.org/10.1016/bs.enz.2021.06.007>
- Petrovic Fabijan, A., Khalid, A., Maddocks, S., Ho, J., Gilbey, T., Sandaradura, I., Lin, R. C. Y., Ben Zakour, N., Venturini, C., Bowring, B., & Iredell, J. R. (2020). Phage therapy for severe bacterial infections: a narrative review. In *Medical Journal of Australia* (Vol. 212, Issue 6). <https://doi.org/10.5694/mja2.50355>
- PHASTER. (2023). *PHASTER*. <https://phaster.ca/>

- Pires, S. M., Desta, B. N., Mughini-Gras, L., Mmbaga, B. T., Fayemi, O. E., Salvador, E. M., Gobena, T., Majowicz, S. E., Hald, T., Hoejskov, P. S., Minato, Y., & Devleeschauwer, B. (2021). Burden of foodborne diseases: think global, act local. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 39). <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.01.006>
- Pońska, M., & Sokołowska, B. (2019). Bacteriophages—a new hope or a huge problem in the food industry. *AIMS Microbiology*, 5(4), 324. <https://doi.org/10.3934/MICROBIOL.2019.4.324>
- Pottker, ES, Rodrigues, LB, Borges, KA, de Souza, SO, Furian, TQ, Pippi Salle, CT, ... & do Nascimento, VP (2022). Los bacteriófagos como alternativa para el control biológico de *Salmonella enterica* formadora de biopelículas. *Internacional de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 10820132221144341
- Proksee. (2023). *Proksee*. <https://proksee.ca/>
- Ramtahal, M. A., Somboro, A. M., Amoako, D. G., Abia, A. L. K., Perrett, K., Bester, L. A., & Essack, S. Y. (2022). Molecular Epidemiology of *Salmonella enterica* in Poultry in South Africa Using the Farm-to-Fork Approach. *International Journal of Microbiology*, 2022, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2022/5121273>
- Reichenberger, E. R., Rosen, G., Hershberg, U., & Hershberg, R. (2015). Prokaryotic nucleotide composition is shaped by both phylogeny and the environment. *Genome Biology and Evolution*, 7(5). <https://doi.org/10.1093/gbe/evv063>
- Russell, D. A. (2018). Sequencing, assembling, and finishing complete bacteriophage genomes. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 1681). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7343-9_9
- Sarkar, R., Poran Bordoloi, K., Deka, C., Jyoti Sonowal, P., & Dutta, S. (2021). Bacteriophage therapy to combat antibiotic resistance: A brief review. ~ 389 ~ *The Pharma Innovation Journal*, 10(5).
- Schlossberg's Clinical Infectious Disease. (2021). In Cunha; Cheston B. (ed.) (Ed.), *Schlossberg's Clinical Infectious Disease* (3rd ed.). <https://doi.org/10.1093/med/9780190888367.001.0001>

- Sen, T., & Verma, N. K. (2020). Functional annotation and curation of hypothetical proteins present in a newly emerged serotype 1c of *Shigella flexneri*: Emphasis on selecting targets for virulence and vaccine design studies. *Genes*, *11*(3). <https://doi.org/10.3390/genes11030340>
- Singh, R., Kusalik, A., & Dillon, J.-A. R. (2022). Bioinformatics tools used for whole-genome sequencing analysis of *Neisseria gonorrhoeae*: a literature review. *Briefings in Functional Genomics*, *21*(2), 78–89. <https://doi.org/10.1093/bfgp/elab028>
- Skaar, K., Claesson, M., Odegrip, R., Högbom, M., Haggård-Ljungquist, E., & Stenmark, P. (2015). Crystal structure of the bacteriophage P2 integrase catalytic domain. *FEBS Letters*, *589*(23). <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2015.09.026>
- Sofy, A. R., El-DougDoug, N. K., Refaey, E. E., Dawoud, R. A., & Hmed, A. A. (2021). Characterization and Full Genome Sequence of Novel KPP-5 Lytic Phage against *Klebsiella pneumoniae* Responsible for Recalcitrant Infection. *Biomedicines*, *9*(4), 342. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9040342>
- Sonalika, J., Srujana, A. S., Akhila, D. S., Juliet, M. R., & Santhosh, K. S. (2020). Application of bacteriophages to control *Salmonella* Enteritidis in raw eggs. *Iranian Journal of Veterinary Research*, *21*(3), 221. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2020.36349.5307>
- Tang, X., Zhong, L., Tang, L., Fan, C., Zhang, B., Wang, M., Dong, H., Zhou, C., Rensing, C., Zhou, S., & Zeng, G. (2023). ARTICLE Lysogenic bacteriophages encoding arsenic resistance determinants promote bacterial community adaptation to arsenic toxicity. *The ISME Journal*. <https://doi.org/10.1038/s41396-023-01425-w>
- Teng, T., Li, Q., Liu, Z., Li, X., Liu, Z., Liu, H., Liu, F., Xie, L., Wang, H., Zhang, L., Wu, D., Chen, M., Li, Y., & Ji, A. (2019). Characterization and genome analysis of novel *Klebsiella* phage Henu1 with lytic activity against clinical strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Archives of Virology*, *164*(9). <https://doi.org/10.1007/s00705-019-04321-x>
- Tetart, F., Desplats, C., Kutateladze, M., Monod, C., Ackermann, H. W., & Krisch, H.

- M. (2001). Phylogeny of the major head and tail genes of the wide-ranging T4-type bacteriophages. *Journal of Bacteriology*, 183(1). <https://doi.org/10.1128/JB.183.1.358-366.2001>
- Thompson, D. W., Casjens, S. R., Sharma, R., & Grose, J. H. (2019). Genomic comparison of 60 completely sequenced bacteriophages that infect *Erwinia* and/or *Pantoea* bacteria. *Virology*, 535, 59–73. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2019.06.005>
- Tikhe, C. V., & Husseneder, C. (2018). Metavirome Sequencing of the Termite Gut Reveals the Presence of an Unexplored Bacteriophage Community. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02548>
- United States Department of Agriculture, (2021). Characterization and gene-editing of bacteriophages as biocontrol agents of foodborne pathogens. <https://www.nal.usda.gov/research-tools/food-safety-research-projects/characterization-and-gene-editing-bacteriophages>
- Veesler, D., & Cambillau, C. (2011). A Common Evolutionary Origin for Tailed-Bacteriophage Functional Modules and Bacterial Machineries. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 75(3), 423–433. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00014-11>
- Vilela, F. P., Pribul, B. R., Rodrigues, D. dos P., Balkey, M., Allard, M., & Falcão, J. P. (2021). Draft Genome Sequences of 80 *Salmonella enterica* Serovar Infantis Strains Isolated from Food, Environmental, Human, and Veterinary Sources in Brazil. *Microbiology Resource Announcements*, 10(24). <https://doi.org/10.1128/MRA.00313-21>
- Vladimirov, M., Gautam, V., & Davidson, A. R. (2022). Identification of the tail assembly chaperone genes of T4-Like phages suggests a mechanism other than translational frameshifting for biogenesis of their encoded proteins. *Virology*, 566. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.11.003>
- Wang, Y., Zhao, Y., Bollas, A., Wang, Y., & Au, K. F. (2021). Nanopore sequencing technology, bioinformatics and applications. In *Nature Biotechnology* (Vol. 39, Issue 11). <https://doi.org/10.1038/s41587-021-01108-x>

- Wangchuk, J., Chatterjee, A., Patil, S., Madugula, S. K., & Kondabagil, K. (2021). The coevolution of large and small terminases of bacteriophages is a result of purifying selection leading to phenotypic stabilization. *Virology*, *564*, 13–25. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2021.09.004>
- Wei, S., Chelliah, R., Rubab, M., Oh, D. H., Uddin, M. J., & Ahn, J. (2019). Bacteriophages as potential tools for detection and control of *Salmonella* spp. In food systems. In *Microorganisms* (Vol. 7, Issue 11). <https://doi.org/10.3390/microorganisms7110570>
- White, H. E., Sherman, M. B., Brasilès, S., Jacquet, E., Seavers, P., Tavares, P., & Orlova, E. V. (2012). Capsid Structure and Its Stability at the Late Stages of Bacteriophage SPP1 Assembly. *Journal of Virology*, *86*(12), 6768–6777. <https://doi.org/10.1128/JVI.00412-12>
- World Health Organization. (2021). Estimating the burden of foodborne diseases: A practical handbook for countries. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240012264>
- Yang, Q., Ding, Y., Nie, R., Yao, L., Wang, X., Zhou, M., Wang, J., & Wang, X. (2020). Characterization of a novel T7-like *Salmonella* Typhimurium (ATCC13311) bacteriophage LPST144 and its endolysin. *LWT*, *123*, 109034. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109034>
- Young, R. (2014). Phage lysis: Three steps, three choices, one outcome. In *Journal of Microbiology* (Vol. 52, Issue 3). <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4087-z>
- Zhang, L., Xu, D., Huang, Y., Zhu, X., Rui, M., Wan, T., Zheng, X., Shen, Y., Chen, X., Ma, K., & Gong, Y. (2017). Structural and functional characterization of deep-sea thermophilic bacteriophage GVE2 HNH endonuclease. *Scientific Reports*, *7*(1), 42542. <https://doi.org/10.1038/srep42542>
- Zhang, Z., Tian, C., Zhao, J., Chen, X., Wei, X., Li, H., Lin, W., Feng, R., Jiang, A., Yang, W., Yuan, J., & Zhao, X. (2018). Characterization of Tail Sheath Protein of N4-Like Phage phiAxp-3. *Frontiers in Microbiology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00450>
- Zhu, Y., Shang, J., Peng, C., & Sun, Y. (2022). Phage family classification under

Caudoviricetes: A review of current tools using the latest ICTV classification framework. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1032186>

ANEXOS

Anexo 1

Descripción de BLAST del bacteriófago F6 y F14

Descripción	Nombre científico	Query cover (%)	E – value	Identidad (%)	Número de acceso
F6_Melonhead	<i>Chivirus</i> chi	97	0,0	98,91	NC_025442.1
F14_Guaytamphage	<i>Berlinvirus</i> sp.	88	0,0	85,55	KM366096.1

Anexo 2

Lista de proteínas anotadas de ORF en el genoma del bacteriófago F6

ORF	Tamaño (pb)	Función proteica	Identidad (%)	Cobertura (%)
ORF01	189	Proteína de la cola	89,5	91
ORF02	153	Proteína hipotética	96,08	100
ORF03	198	Proteína hipotética	98,97	100
ORF04	198	Proteína con dominio transmembrana putativo	89,2	100
ORF05	1 104	Serina-treonina cinasa	79,4	100
ORF06	2 697	ARN polimerasa	95,6	100
ORF07	150	Proteína hipotética	95,92	100
ORF08	273	Inhibidor de la dGTP trifosfohidrolasa	88,9	100
ORF09	1 023	ADN ligasa	84,1	100
ORF10	264	Proteína hipotética	96,1	96

ORF	Tamaño (pb)	Función proteica	Identidad (%)	Cobertura (%)
ORF11	297	Nucleótido quinasa	87,8	100
ORF12	99	Proteína hipotética	98,09	100
ORF13	192	Inhibidor de la ARN polimerasa del huésped	98,4	100
ORF14	705	Proteína de unión al ssADN/proteína de reconocimiento	95,3	100
ORF15	420	HNH Endonucleasa	56,1	100
ORF16	468	Endonucleasa	97,97	100
ORF17	456	Endolisina	94,7	100
ORF18	1 707	ADN primasa/helicasa	96,49	100
ORF19	444	Proteína hipotética	100	100
ORF20	213	Proteína hipotética	94,29	100
ORF21	303	Inhibidor de la toxina huésped	95	100
ORF22	435	Proteína hipotética	99,44	100
ORF23	2115	ADN polimerasa	98,24	100
ORF24	294	Proteína de unión a HNS	100	100
ORF25	210	Proteína hipotética	97,06	98
ORF26	180	Proteína hipotética	99,01	100
ORF27	915	Exonucleasa	97,37	100
ORF28	249	Proteína hipotética	96,34	100
ORF29	279	Proteína hipotética	93,55	100
ORF30	354	Proteína de absorción	97,44	100
ORF31	411	HNH Endonucleasa	48,53	100
ORF32	1 599	Proteína de conexión cabeza – cola	98,97	99
ORF33	471	Proteína andamio de ensamblaje de la cápside	96,15	100
ORF34	462	Proteína andamio de ensamblaje de la cápside	98,62	94

ORF	Tamaño (pb)	Función proteica	Identidad (%)	Cobertura (%)
ORF35	1 044	Proteína principal de la cápside	97,69	100
ORF36	591	Proteína de la cola	98,47	100
ORF37	2 382	Proteína de fibra de la cola	97,96	100
ORF38	411	Proteína interna del virión	87,5	100
ORF39	525	Proteína interna del virión	91,36	93
ORF40	1875	Proteína interna del virión	96,30	93
ORF41	408	Proteína interna del virión	96,04	97

Anexo 3

Lista de proteínas anotadas de ORF en el genoma del bacteriófago F14

ORF	Tamaño (pb)	Función proteica	Identidad (%)	Cobertura (%)
ORF01	569	Proteína terminasa	99,47	100
ORF02	2 075	Subunidad grande de la terminasa	99,86	100
ORF03	254	Proteína de unión cabeza - cola	98,91	100
ORF04	1682	Proteína portal	100	100
ORF05	1317	Proteasa de maduración de la cabeza	100	100
ORF06	420	Proteína putativa de decoración de la cabeza	99,28	100
ORF07	1065	Proteína principal de la cabeza	99,72	100
ORF08	294	Proteína hipotética	98,97	100
ORF09	366	Proteína hipotética	99,17	100
ORF10	627	Proteína hipotética	100	100
ORF11	504	Terminador de la cola	100	100
ORF12	1146	Proteína principal de la cola	100	100

ORF	Tamaño (pb)	Función proteica	Identidad (%)	Cobertura (%)
ORF13	462	Chaperona de ensamblaje de la cola	96,73	100
ORF14	4296	Proteína de longitud de la cola	99,79	100
ORF15	1689	Proteína de ensamblaje de la cola	98,93	100
ORF16	819	Proteína de ensamblaje de la cola	100	100
ORF17	231	Chaperona de ensamblaje de la cola	100	100
ORF18	240	Chaperona de ensamblaje de la cola	100	100
ORF19	3891	Proteína de la cola	99,38	100
ORF20	741	Proteína de fibra de la cola	100	100
ORF21	1008	Proteína hipotética	100	100
ORF22	963	Proteína hipotética	100	100
ORF23	1020	Canal de potencial receptor transitorio corto 6 isoforma X1	98,53	100
ORF24	1230	Proteína hipotética	99,02	100
ORF25	2130	Proteína hipotética	99,44	100
ORF26	339	Espanina parecida a Rz	97,32	100
ORF27	714	Endolisina	98,31	100
ORF28	255	Proteína de fibra larga de la cola	96,43	100
ORF29	462	Nucleósido 2-desoxirribosiltransferasa	98,69	100
ORF30	900	Fosfoadenosina fosfosulfato reductasa	98,66	100
ORF31	714	ADN metilasa	99,44	100
ORF32	453	Proteína hipotética	96	100
ORF33	312	Proteína ADN polimerasa putativa dirigida por ADN	93,2	100

ORF	Tamaño (pb)	Función proteica	Identidad (%)	Cobertura (%)
ORF34	282	Proteína hipotética	98,92	100
ORF35	513	Proteína complementaria de la timidilato sintasa	100	100
ORF36	216	Proteína hipotética	100	100
ORF37	195	Proteína de la cabeza	98,44	100
ORF38	819	Proteína hipotética	97,79	100
ORF39	687	ADN adenina metiltransferasa	99,56	100
ORF40	1101	Proteína hipotética	97,54	100
ORF41	675	Proteína de la cola	97,77	100
ORF42	741	Proteína hipotética	98,78	100
ORF43	276	Endolisina	98,36	100
ORF44	234	Proteína de fibra de la cola	98,28	100
ORF45	1074	Proteína asociada a la recombinación	100	100
ORF46	342	Proteína de cubierta	99,12	100
ORF47	336	Integrasa viral de la familia 4	97,77	100
ORF48	441	Proteína hipotética	100	100
ORF49	372	Proteína de la familia RecT	99,19	100
ORF50	261	Proteína hipotética	100	100
ORF51	540	Proteína hipotética	99,44	100
ORF52	624	Proteína hipotética	100	100
ORF53	549	Resolvasa	94,51	100
ORF54	222	Proteína hipotética	97,26	100
ORF55	1170	Proteína de la cola	95,89	100
ORF56	273	Proteína hipotética	100	100
ORF57	207	Proteína hipotética	98,53	100
ORF58	255	Proteína terminasa	92,45	100
ORF59	252	Proteína hipotética	96,8	100
ORF60	324	Proteína HTH de unión al ADN	97,2	100
ORF61	2586	ADN primasa	98,95	100

ORF	Tamaño (pb)	Función proteica	Identidad (%)	Cobertura (%)
ORF62	282	Proteína hipotética	100	100
ORF63	417	Proteína hipotética	100	100
ORF64	330	Proteína hipotética		
ORF65	1341	Exonucleasa	99,33	100
ORF66	597	Proteína de unión e hibridación del ssADN	100	100
ORF67	2040	AND polimerasa	98,67	100
ORF68	288	Endonucleasa	100	100
ORF69	273	Helicasa		

Anexo 4

Genomas de bacteriófagos de Salmonella usados para filogenia

Genoma	País	Fuente de aislamiento	Fecha de aislamiento	Género	Número de acceso NCBI
<i>Salmonella</i> phage PMBT28	Alemania	Aguas residuales	2018	<i>Caudoviricetes</i>	MG641885.1
<i>Salmonella</i> phage PMBT28	Alemania	Aguas residuales	2018	<i>Caudoviricetes</i>	MG641885.1
<i>Salmonella</i> phage PVPSE1	Alemania	Aguas residuales	2009	<i>Seunavirus</i>	NC_016071
<i>Salmonella</i> phage Arash	Bélgica	Aguas residuales	2022	<i>Arashvirus</i>	OQ632216.1
<i>Salmonella</i> phage UPF_BP2	Brasil	Aguas residuales	8/4/2015	<i>Rosemountvirus</i>	NC_048649
<i>Salmonella</i> phage phA11	Brasil	Animal	2020	<i>Tequintavirus</i>	OQ680478
<i>Salmonella</i> phage phB7	Brasil	Animal	2020	<i>Tequintavirus</i>	OQ680479
<i>Salmonella</i> phage phC11	Brasil	Animal	2020	<i>Tequintavirus</i>	OQ680480
<i>Salmonella</i> phage phC17	Brasil	Animal	2020	<i>Tequintavirus</i>	OQ680481
<i>Salmonella</i> phage vB_SemP_Emek	Canadá	Aguas residuales	2008	<i>Lederbergvirus</i>	NC_018275
<i>Salmonella</i> phage BP12C	Canadá	Aguas residuales	2003	<i>Chivirus</i>	NC_031228.1
<i>Berlinvirus</i> BP12A	Canadá	Aguas residuales	2003	<i>Berlinvirus</i>	NC_031258.1

Genoma	País	Fuente de aislamiento	Fecha de aislamiento	Género	Número de acceso NCBI
<i>Salmonella</i> phage f18SE	Chile	Animal	1/6/2002	<i>Jerseyvirus</i>	NC_028698
<i>Salmonella</i> phage vB_Se_STGO-35-1	Chile	Animal	2015	-	NC_054648.1
<i>Salmonella enterica</i> bacteriophage SE1	China	Desconocido	2020	<i>Lederbergvirus</i>	NC_011802.1
<i>Salmonella</i> phage BPS15Q2	China	Aguas residuales	1/7/2015	<i>Felixounavirus</i>	NC_031939
<i>Salmonella</i> phage SP01	China	Medioambiental	4/1/2016	<i>Tequintavirus</i>	NC_047859
<i>Salmonella</i> phage 3-29	China	Aguas residuales	29/7/2018	<i>Epseptimavirus</i>	NC_048145
<i>Salmonella</i> phage 1-19	China	Aguas residuales	29/7/2018	<i>Epseptimavirus</i>	NC_048819
<i>Salmonella</i> phage vB_SalM-LPST153	China	Mediambiental	Desconocido	<i>Berlinvirus</i>	MK907285.1
<i>Salmonella</i> phage LPST144	China	Aguas residuales	Desconocido	<i>Berlinvirus</i>	MN252582.1
<i>Salmonella</i> Phage vB_SabS_Sds2	China	Animal	2021	<i>Epseptimavirus</i>	MW357609
<i>Salmonella</i> phage vB_SalS_PC192	China	Desconocido	2021	<i>Berlinvirus</i>	ON922920.1
<i>Salmonella</i> phage SEN8	República Checa	Humano	1/12/2014	<i>Felsduovirus</i>	NC_047753
<i>Salmonella</i> phage S113	Dinamarca	Aguas residuales	2015	<i>Epseptimavirus</i>	NC_048005

Genoma	País	Fuente de aislamiento	Fecha de aislamiento	Género	Número de acceso NCBI
<i>Salmonella</i> phage F14_guaytamphage	Ecuador	Medioambiental	2023	<i>Chivirus</i>	F14
<i>Salmonella</i> phage F6_melonhead	Ecuador	Medioambiental	2023	<i>Berlinvirus</i>	F6_melonhead
<i>Salmonella</i> phage F115	Ecuador	Aguas residuales	12/2/2019	<i>Tlsvirus</i>	OP292673
<i>Salmonella</i> phage F61	Ecuador	Aguas residuales	12/2/2019	<i>Tlsvirus</i>	OP292674
<i>Salmonella</i> phage ZCSE2	Egipto	Medioambiental	2020	<i>Rosemountvirus</i>	NC_048179
<i>Salmonella</i> phage GEC_vB_B1	Georgia	Medioambiental	2013	<i>Felixounavirus</i>	MW006474.1
<i>Salmonella</i> phage GEC_vB_N3	Georgia	Medioambiental	2013	<i>Tequintavirus</i>	MW006478.1
<i>Salmonella</i> phage GEC_vB_NS7	Georgia	Animal	2015	<i>Felixounavirus</i>	MW006482.1
<i>Salmonella</i> phage Chennai	India	Aguas residuales	21/7/2014	<i>Kutternavirus</i>	MN953776
<i>Salmonella</i> phage STWB21	India	Medioambiental	1/6/2019	<i>Epseptimavirus</i>	MW567727.1
<i>Salmonella</i> phage 37	India	Aguas residuales	19/3/2002	<i>Chivirus</i>	NC_029045
<i>Salmonella</i> phage 3A_8767	India	Aguas residuales	25/7/2014	<i>Teseptimavirus</i>	NC_048004.1
<i>Salmonella</i> phage 35	India	Aguas residuales	29/1/2002	<i>Chivirus</i>	NC_048632
<i>Salmonella</i> phage SAP012	Irán	Aguas residuales	2021	<i>Zhonglingvirus</i>	NC_053008
<i>Salmonella</i> phage 64795_sal3	Italia	Animal	15/9/2014	<i>Saltrevirus</i>	NC_031918
<i>Salmonella</i> phage 118970_sal1	Italia	Animal	15/9/2014	<i>Chivirus</i>	NC_031930.1

Genoma	País	Fuente de aislamiento	Fecha de aislamiento	Género	Número de acceso NCBI
<i>Salmonella</i> phage 118970_sal2	Italia	Animal	15/9/2014	<i>Epseptimavirus</i>	NC_031933
<i>Salmonella</i> phage PRF-SP1	Malasia	Medioambiental	2019	<i>Kayfunavirus</i>	MZ923531.2
<i>Salmonella</i> phage PRF-SP3	Malasia	Medioambiental	2019	<i>Kayfunavirus</i>	OL539729.2
<i>Salmonella</i> phage PRF-SP4	Malasia	Medioambiental	2019	<i>Kayfunavirus</i>	OL773676
<i>Salmonella</i> phage PRF-SP5	Malasia	Medioambiental	2019	<i>Kayfunavirus</i>	OL773677
<i>Salmonella</i> phage UPWr_S1	Polonia	Animal	2017	<i>Jerseyvirus</i>	MT588083.1
<i>Salmonella</i> phage UPWr_S2	Polonia	Aguas residuales	2017	<i>Jerseyvirus</i>	MT632017.1
<i>Salmonella</i> phage UPWr_S3	Polonia	Animal	2017	<i>Jerseyvirus</i>	MT632018.1
<i>Salmonella</i> phage UPWr_S4	Polonia	Animal	2017	<i>Jerseyvirus</i>	MT632019.1
<i>Salmonella</i> phage UPWr_S5	Polonia	Animal	2017	<i>Jerseyvirus</i>	MT632020.1
<i>Salmonella</i> phage SEN22	República Checa	Humano	1/12/2014	<i>Lederbergvirus</i>	NC_028696
<i>Salmonella</i> phage SEN34	República Checa	Humano	1/12/2014	<i>Brunovirus</i>	NC_028699
<i>Salmonella</i> phage SEN1	República Checa	Humano	1/12/2014	<i>Eganvirus</i>	NC_029003
<i>Salmonella</i> phage SEN4	República Checa	Humano	1/12/2014	<i>Senquatrovirus</i>	NC_029015
<i>Salmonella</i> phage wksl3	Sur Corea	Animal	2018	<i>Jerseyvirus</i>	NC_041992
<i>Salmonella</i> phage BSP101	Sur Corea	Aguas residuales	20/1/2014	<i>Kutternavirus</i>	NC_049382
<i>Salmonella</i> virus KFS-SE2	Sur Corea	Medioambiental	7/12/2016	<i>Skatevirus</i>	NC_054641

Genoma	País	Fuente de aislamiento	Fecha de aislamiento	Género	Número de acceso NCBI
<i>Salmonella</i> phage SE2	Sur Corea	Aguas residuales	10/3/2011	<i>Jerseyvirus</i>	NC_016763
<i>Salmonella</i> phage vB_STy-RN5i1	Tailandia	Aguas residuales	2016	<i>Berlinvirus</i>	NC_071037.1
<i>Salmonella</i> phage BP63	EE. UU	Aguas residuales	2002	<i>Rosemountvirus</i>	NC_031250
<i>Salmonella</i> phage Melville	EE. UU	Aguas residuales	1/8/2016	<i>Gelderlandvirus</i>	NC_042044
<i>Salmonella</i> phage vB_SenS_Sasha	EE. UU	Animal	1/2/2014	<i>Sashavirus</i>	NC_047786
<i>Salmonella</i> phage Seafire	EE. UU	Aguas residuales	2015	<i>Epseptimavirus</i>	NC_048110
<i>Salmonella</i> phage Skate	EE. UU	Animal	1/8/2016	<i>Skatevirus</i>	NC_054639

Anexo 5

Listado de los fagos de *Salmonella* pertenecientes al clado de F6

Nombre	Género	N° de acceso	E value	Coverage (%)	Identidad (%)
Fago <i>Salmonella</i> BP12A	<i>Berlinvirus</i>	NC_031258.1	0.0	88	85.55
Fago <i>Salmonella</i> vB_SalS_PC192		ON922920.1	0.0	85	89.47
Fago <i>Salmonella</i> vB_SalM-LPST153		MK907285.1	0.0	85	83.71
Fago <i>Salmonella</i> LPST144		MN252582.1	0.0	85	83.71
Fago <i>Salmonella</i> vB_STy-RN5i1		NC_071037.1	0.0	87	89.07
Fago <i>Salmonella</i> 3A_8767	<i>Teseptimavirus</i>	NC_048004.1	0.0	76	68.68
Fago <i>Salmonella</i> PRF-SP5	<i>Kayfunavirus</i>	OL773677.2	0.0	40	70.14
Fago <i>Salmonella</i> PRF-SP3		OL539729.2	0.0	40	70.14
Fago <i>Salmonella</i> PRF-SP1		MZ923531.2	0.0	40	70.14
Fago <i>Salmonella</i> PRF-SP4		OL773676.2	0.0	40	70.14

Anexo 6

Listado de los fagos de *Salmonella* pertenecientes al clado de F14

Nombre	Género	N° de acceso	E value	Coverage (%)	Identidad (%)
Fago <i>Salmonella</i> 118970_sal1	<i>Chivirus</i>	NC_031930.1	0.0	98	98.42
Fago <i>Salmonella</i> 35		NC_048632.1	0.0	92	94.60
Fago <i>Salmonella</i> 37		NC_029045.1	0.0	96	94.45
Fago <i>Salmonella</i> BP12C		NC_031228.1	0.0	98	94.18
Fago <i>Salmonella</i> SAP012	<i>Zhonglingvirus</i>	NC_053008.1	0.0	23	73.26