



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

**Caracterización fenotípica y molecular de las
betalactamasas en aislados de Salmonella spp.
remitidas al Instituto Nacional de Salud durante el
2015**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología
Médica en el área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

AUTOR

Efraín Enrique CABRERA ROJAS

ASESOR

Carlos Raúl SEVILLA ANDRADE

Lima, Perú

2023



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Cabrera E. Caracterización fenotípica y molecular de las betalactamasas en aislados de *Salmonella* spp. remitidas al Instituto Nacional de Salud durante el 2015 [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Tecnología Médica; 2023.

Metadatos complementarios

Datos de autor	
Nombres y apellidos	Efraín Enrique Cabrera Rojas
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	42566649
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0002-7832-0878
Datos de asesor	
Nombres y apellidos	Carlos Raúl Sevilla Andrade
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	16009552
URL de ORCID	https://orcid.org/0000-0001-9938-9922
Datos del jurado	
Presidente del jurado	
Nombres y apellidos	Martin Gaspar Magallanes Sebastián
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	21811014
Miembro del jurado 1	
Nombres y apellidos	Yesica Llimpe Mitma de Barrón
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	10720210
Miembro del jurado 2	
Nombres y apellidos	Elizabeth Irene Pareja Cuadros
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	09210124
Datos de investigación	

Línea de investigación	B.2.8.3. Resistencia bacteriana
Grupo de investigación	No aplica.
Agencia de financiamiento	Perú. Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico – Fondecyt. EF-041 - Proyectos de investigación básica y aplicada. CONV-000135-2015-FONDECYT-DE
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Instituto Nacional de Salud - INS País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Jesús María Latitud: -12.0792935 Longitud: -77.0461826
Año o rango de años en que se realizó la investigación	2018 - 2023
URL de disciplinas OCDE	Tecnología médica de laboratorio (análisis de muestras, tecnologías para el diagnóstico) https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#2.06.02



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú, Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”



Firmado digitalmente por FERNÁNDEZ GIUSTI VDA DE PELLA Alicia Jesus FAU 20148092282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 06.07.2023 11:49:55 -05:00



Firmado digitalmente por SANDOVAL VEGAS Miguel Herman FAU 20148092282 soft Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 06.07.2023 10:52:08 -05:00

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS EN MODALIDAD VIRTUAL PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO(A) EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN EL ÁREA DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

Conforme a lo estipulado en el Art. 113 inciso C del Estatuto de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (R.R. No. 03013-R-16) y Art. 45.2 de la Ley Universitaria 30220. El Jurado de Sustentación de Tesis nombrado por la Dirección de la Escuela Profesional de Tecnología Médica, conformado por los siguientes docentes:

Presidente: Dr. Martin Gaspar Magallanes Sebastián
Miembros: Dra. Yesica Llimpe Mitma de Barrón
Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros
Asesor(a): Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade

Se reunieron en la ciudad de Lima, el día 28 de junio del 2023, siendo las 08:00 horas, procediendo a evaluar la Sustentación de Tesis, titulado **“Caracterización fenotípica y molecular de las betalactamasas en aislados de Salmonella spp. remitidas al Instituto Nacional de Salud durante el 2015”**, para optar el Título Profesional de Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica del Señor:

Efraín Enrique Cabrera Rojas

Habiendo obtenido el calificativo de:

.....18.....
(En números)

.....Dieciocho.....
(En letras)

Que corresponde a la mención de: ...Muy Bueno.....

Quedando conforme con lo antes expuesto, se disponen a firmar la presente Acta.

.....
Presidente

Dr. Martin Gaspar Magallanes Sebastián
D.N.I.: 21811014

.....
Miembro

Dra. Yesica Llimpe Mitma de Barrón
D.N.I.: 10720210

.....
Miembro

Lic. Elizabeth Irene Pareja Cuadros
D.N.I.: 09210124

.....
Asesor(a) de Tesis

Lic. Carlos Raúl Sevilla Andrade
D.N.I.: 16009552



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú, Decana de América

Facultad de Medicina

Escuela Profesional de Tecnología Médica

“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”



Datos de plataforma virtual institucional del acto de sustentación:

https: <https://us02web.zoom.us/j/89253309668?pwd=W CtSVzNVdHN6RDRCWEY2T0xtaDZEdz09>

ID:

Grabación archivada en:



CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo **Carlos Raúl SEVILLA ANDRADE** en mi condición de asesor acreditado con la Resolución Decanal N° 003992-2022-D-FM/UNMSM de la tesis académico, cuyo título es **Caracterización fenotípica y molecular de las betalactamasas en aislados de *Salmonella* spp.** remitidas al Instituto Nacional de Salud durante el 2015, presentado por el bachiller **CABRERA ROJAS EFRAIN ENRIQUE** para optar el título profesional de **Licenciado en Tecnología Médica en el Área de Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica** CERTIFICO que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de **12 %** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su **publicación en el repositorio institucional.**

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del título correspondiente.

Firma del Asesor _____

DNI: 16009552

Nombres y apellidos del asesor: Carlos Raúl Sevilla Andrade

22/08/2023



DEDICATORIA

A mi familia.

En especial a la enana Leticia Valentina Enrique Cabrera.

AGRADECIMIENTOS

Me gustaría agradecer profundamente al Dr. Ronnie Gustavo Gavilán Chávez, responsable del Laboratorio Nacional de Referencia de Enteropatógenos (LANARE), por su apoyo invaluable en la realización de esta tesis. También quisiera expresar mi agradecimiento al profesor Lic.T.M Carlos Raúl Sevilla y al Lic.T.M. Willi Quino Sifuentes por su orientación y asesoramiento experto. Su ayuda ha sido fundamental para el éxito de este proyecto.

A la Blga.Verónica Hurtado Vela por su orientación durante todo el proceso de investigación.

A la señorita Bachiller en Lingüística Renatta Rebeca Raffaella Ortiz Huiza de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su aporte en la revisión lingüística de esta tesis.

A mis amigos (Diana Torres, Johana Rivera, Jefferson Escobar, Claudia Almonacid y Carlos Velásquez), por su apoyo y aliento durante todo el proceso de investigación y redacción de esta tesis.

A mi familia expreso mi gratitud por su apoyo y motivación durante el proceso de investigación y redacción de tesis. Sin su ayuda y aliento, este logro no habría sido posible.

ÍNDICE

RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES.....	2
1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.3 OBJETIVOS	5
1.3.1 OBJETIVO GENERAL.....	5
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	5
1.4 BASES TEÓRICAS.....	6
1.4.1 BASE TEÓRICA.....	6
1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS.....	25
1.4.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS.....	27
CAPÍTULO II: MÉTODOS.....	28
2.1 DISEÑO METODOLÓGICO	29
2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN	29
2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	29
2.1.3 POBLACIÓN.....	29
2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO.....	29
2.1.5 VARIABLES	30
2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	31
2.1.7 PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS	31
2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS	37
CAPÍTULO III: RESULTADOS.....	38
CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN	45
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
5.1 CONCLUSIONES	50

5.2 RECOMENDACIONES	51
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
ANEXOS	60

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura del género <i>Salmonella</i>	7
Tabla 2. Configuración molecular de los antibióticos betalactámicos	9
Tabla 3. Clase molecular y propiedades funcionales de las betalactamasas relevantes	14
Tabla 4. Puntos de corte para el criterio de interpretación*	33
Tabla 5. Valores de screening para identificar carbapenemasas*	34
Tabla 6. Genes y condiciones de PCR	35
Tabla 7. Lugar de origen y tipo de muestra	39
Tabla 8. Clasificación por grupo etario y sexo	40
Tabla 9. Distribución por serotipos de <i>Salmonella</i>	40
Tabla 10. Susceptibilidad antimicrobiana para antibióticos no betalactámicos	41
Tabla 11. Susceptibilidad antimicrobiana para antibióticos betalactámicos	41
Tabla 12. Perfil de multidrogoresistencia por serotipos	42
Tabla 13. Betalactamasas identificadas por serotipos según antimicrobiano	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Enzimas betalactamasas identificadas	4
Figura 2. Clasificación del género <i>Salmonella</i>	6
Figura 3. Estructura química de los inhibidores de betalactamasas	10
Figura 4. Aumento en el número de betalactamasas	15
Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa del gen <i>bla</i> _{CTX-M}	43
Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa del gen <i>bla</i> _{TEM}	44

RESUMEN

Introducción: La *Salmonella* es un importante patógeno bacteriano transmitido por alimentos y es una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en humanos en todo el mundo. La infección con cepas multirresistentes puede causar enfermedades graves. La detección de betalactamasas en el género *Salmonella* es inusual; sin embargo, se ha incrementado en los años recientes. La determinación fenotípica y molecular de las betalactamasas pueden ser útiles para la investigación activa de brotes y la vigilancia de patógenos. **Diseño:** Estudio descriptivo y de corte transversal. **Objetivo:** Caracterizar fenotípica y molecularmente las betalactamasas en aislados de *Salmonella* enviadas al Instituto Nacional de Salud (INS) en el 2015. **Método:** Se estudiaron 96 aislamientos clínicos viables de especies de *Salmonella* que fueron procesados en el Laboratorio de Referencia Nacional de Enteropatógenos (LANARE) del INS en el año 2015. A todos los aislados se les realizó la detección fenotípica por disco difusión mediante el método de Jarlier y el método americano para la detección de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), el método de screening para betalactamasa tipo AmpC, el método de *screening* para betalactamasa de tipo carbapenemasa y el método molecular por PCR convencional para la detección molecular de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY-2} y *bla*_{PSE-1}. **Resultado:** En el presente estudio se observó que el 65,6 % de los aislados de *Salmonella* corresponde a los pacientes menores de 4 años. La multidrogoresistencia (MDR) se encontró en un 60,4 %, con una mayor presencia de MDR en *Salmonella* ser. *Infantis* (57,3 %). En la caracterización fenotípica se observó la resistencia a betalactámicos en un 62,5 %, con una alta resistencia para la ampicilina 61,5 %, cefalotina 57,3 %, cefotaxima 56,3 % y aztreonam 39,6 %; y fueron susceptibles a meropenem e imipenem. En el análisis molecular se observó la presencia del gen *bla*_{CTX-M} en 12,5 % y del gen *bla*_{TEM} en el 1 % de los aislados. **Conclusiones:** Se observó la MDR en 60,4 % de los aislados de *Salmonella*; en la caracterización fenotípica se encontró niveles elevados de resistencia a la cefotaxima (56,3 %) y en la caracterización molecular, se identificó el gen *bla*_{CTX-M} en un 12,5 % de los aislados.

Palabras clave: *Salmonella*, betalactamasa, susceptibilidad antimicrobiana.

ABSTRACT

Introduction: *Salmonella* is a major foodborne bacterial pathogen and is one of the leading causes of morbidity and mortality in humans worldwide. Infection with multidrug resistance strains can cause serious illness. The detection of beta-lactamases in the *Salmonella* genus is unusual; however, it has increased in recent years. Phenotypic and molecular determination of beta-lactamases may be useful for active outbreak investigation and pathogen surveillance. **Design:** Descriptive and cross-sectional study. **Objective:** Characterize phenotypically and molecularly the beta-lactamases in *Salmonella* isolates sent to the “Instituto Nacional de Salud” (INS) in 2015. **Methods:** 96 viable clinical isolates of *Salmonella* spp. that were processed in the “Laboratorio Nacional de Referencia de Enteropatógenos” (LANARE) at the INS during in 2015. All isolates underwent phenotypic detection by disc diffusion using Jarlier’s method and the American method for the identification of extended-spectrum beta-lactamases (ESBL), the screening method for AmpC-type beta-lactamase, the screening method for carbapenemase-type beta-lactamase and the conventional PCR molecular method for the molecular detection of the *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY-2} and *bla*_{PSE-1} genes. **Results:** In this study it was observed that many *Salmonella* isolates correspond to children under 4 years of age with 65,6 %. Multidrug resistance (MDR) was found in 60,4 %, with a higher presence of MDR in *Salmonella* ser. Infantis (57,3 %). In the phenotypic characterization, resistance to beta-lactams was observed in 62,5 %; with a high resistance for the ampicillin 61,5 %, cephalothin 57,3 %, cefotaxime 56,3 % and aztreonam 39,6 %; and they were susceptible to meropenem and imipenem. The molecular analysis, the *bla*_{CTX-M} gene was observed in 12,5 % and the *bla*_{TEM} gene in 1 % of the isolates. **Conclusions:** MDR was observed in 60,4 % of *Salmonella* isolates; in the phenotypic characterization, high levels of resistance to cefotaxime (56,3 %) was observed and in the molecular characterization, the *bla*_{CTX-M} gene was identified in 12,5 % of the isolates.

Keywords: *Salmonella*, beta-lactamase, antimicrobial susceptibility.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

1.1 DESCRIPCIÓN DE LOS ANTECEDENTES

Los antibióticos han sido un importante avance médico desarrollado en el siglo XX, que ha salvado y mejorado la calidad de vida de millones de personas ^[1]. La terapia con antibióticos transformó la medicina y se ha vuelto indispensable para muchas intervenciones clínicas como cirugías, trasplantes de órganos y manejo de pacientes inmunocomprometidos ^[2].

La introducción de los medicamentos antibacterianos provocó que las bacterias desarrollaran resistencia poco después. Así, al aumentar el uso de estos fármacos, se favoreció la selección de cepas bacterianas resistentes más complejas que acumulaban diferentes mecanismos para contrarrestar su efecto ^[3]. La resistencia a los antibióticos es un problema asociado a múltiples factores que afectan la salud pública y reducen las opciones de tratamiento efectivo para los pacientes ^[4].

La aparición de microorganismos resistentes y multirresistentes se ha convertido en un problema de salud mundial que afecta el diagnóstico, la intervención y el control de infecciones ^[4]. Desde un punto de vista terapéutico, es importante considerar los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. En bacterias gramnegativas, el mecanismo más frecuente es la síntesis de enzimas betalactamasas de clase A ^[5].

Un importante problema de salud pública en todo el mundo es la salmonelosis, cuyos brotes suelen estar asociados con el consumo de alimentos contaminados por serotipos de *Salmonella* ^[6]. Además, la mayoría de las especies de *Salmonella* son patógenas para los humanos y pueden causar serios problemas de salud, como enterocolitis, diarrea y bacteriemia ^[7]. En 2015, ocurrieron 90 300 muertes por salmonelosis no tifoidea y 178 000 muertes por salmonelosis tifoidea ^[8].

En el 2014, se identificó una cepa de *Salmonella* ser. Heidelberg resistente a la ceftriaxona (CRO) y la ceftazidima (CAZ), en un paciente hospitalizado en Buenos Aires. Se encontró un plásmido que contenía el gen *bla*_{CMY-2}. El cual representó el primer reporte de *bla*_{CMY-2} en *Salmonella* ser. Heidelberg en Argentina y Latinoamérica ^[9].

Una investigación realizó una revisión sistemática de publicaciones epidemiológicas

sobre la resistencia en especies de *Salmonella* en varios países de Latinoamérica entre el 2003 y 2014, se encontró que en el 92 % de los estudios, las especies de *Salmonella* presentaron resistencia a varios antibióticos. En los estudios que evaluaron la resistencia a las cefalosporinas de tercera generación se observó un 14,3 % a cefotaxima (CTX), 20 % a ceftazidima (CAZ) y 50 % a ceftriaxona (CRO) ^[10].

En el 2015, se observó un aumento de especies de *Salmonella* productoras de BLEE y MDR en pacientes con afecciones gastrointestinales, especialmente en lactantes desde el año 2010. En evaluaciones genotípicas, se identificaron genes *bla*_{CTX-M} en aislamientos de *Salmonella*. Cabe mencionar que la Red Nacional de Laboratorios del Ministerio de Salud (MINSA) reportó un incremento de casos de *Salmonella* en humanos y alimentos, principalmente en niños y hospitales de Lima ^[11].

Además, el Laboratorio de Referencia Nacional de Enteropatógenos de la Dirección Ejecutiva de Enfermedades Transmisibles (LANARE/DEET) recibe aislados bacterianos de las direcciones de salud, notándose un incremento en los casos de salmonelosis en los últimos años.

Uno de los problemas asociados a la salmonelosis es la resistencia a los antimicrobianos de algunos aislados de *Salmonella*, en particular a los betalactámicos. Los betalactámicos son un grupo de antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana. Por esta razón, es necesario analizar y evaluar el perfil fenotípico de la resistencia a los antimicrobianos y la producción de betalactamasas. La necesidad de saber la situación actual de los mecanismos de resistencia nos lleva a plantear la siguiente pregunta: ¿Cuáles son las características fenotípicas y moleculares, de las betalactamasas en aislados de *Salmonella* remitidas al INS en el año 2015?

1.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Es relevante realizar este estudio debido a que, a nivel hospitalario, la resistencia a los antimicrobianos puede asociarse al fracaso terapéutico y a alargar la estancia hospitalaria, lo cual incrementaría la morbilidad, mortalidad, así como, los costos económicos, sociales y emocionales para los pacientes ^[12].

El uso excesivo de antimicrobianos en humanos ha llevado a la aparición y evolución de resistencia a los antimicrobianos en muchas bacterias, incluyendo *Salmonella*. Aunque tradicionalmente se consideraba que *Salmonella* era susceptible a los antimicrobianos, la resistencia ha surgido en las últimas décadas (Figura 1) [13]. La detección de betalactamasas en el género *Salmonella* es un fenómeno que ha incrementado en años recientes [14]. Por ello, los genotipos moleculares pueden ser útiles para la investigación activa de brotes y la vigilancia de patógenos [15].

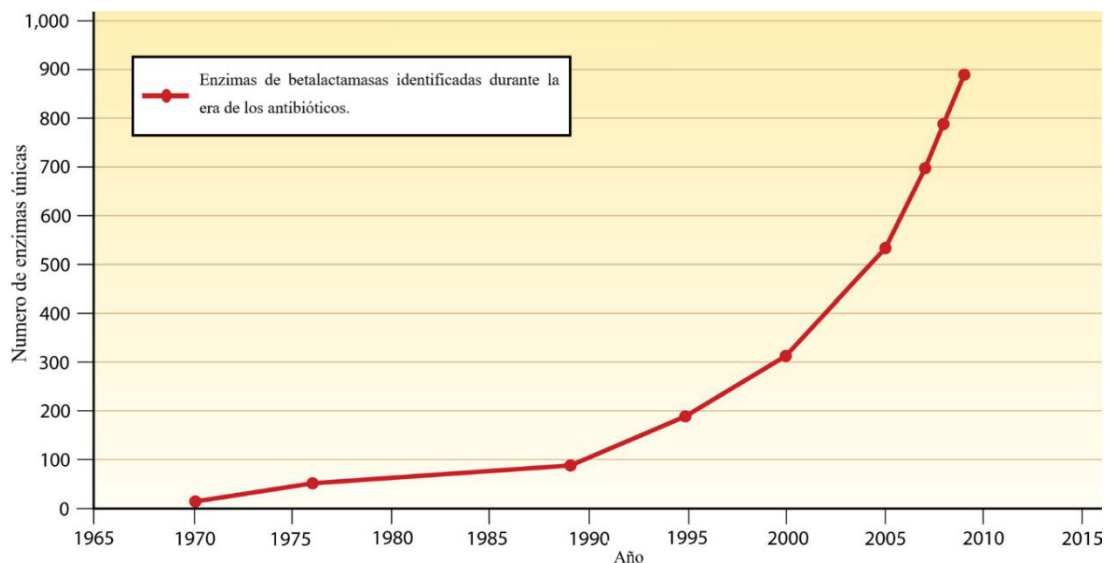


Figura 1. Enzimas betalactamasas identificadas

*Adaptación de Davies [16].

En el Perú, son pocos los estudios que evaluaron los mecanismos de resistencia en *Salmonella* productoras de betalactamasas. El presente estudio proporciona información sobre el perfil fenotípico y molecular de las betalactamasas en aislados de *Salmonella* remitidas al Laboratorio de Referencia Nacional de Enteropatógenos de la Dirección Ejecutiva de Enfermedades Transmisibles (CNSP/INS) durante el 2015; y además, evalúa el perfil de resistencia antimicrobiana, lo cual permitirá contribuir al conocimiento y establecimiento de nuevas estrategias en el protocolo, con el fin de disminuir el número de fracasos en el tratamiento de infecciones gastrointestinales producidas por el género *Salmonella*.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar a las betalactamasas por métodos fenotípicos y moleculares, en los aislados de *Salmonella* remitidas al INS en el 2015.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Describir la susceptibilidad antimicrobiana en aislados de *Salmonella*.
- Determinar fenotípicamente la producción de betalactamasas de fenotipo BLEE, AmpC y carbapenemasa.
- Identificar los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY-2} y *bla*_{PSE-1}.
- Describir las variables demográficas de edad y sexo de los pacientes.

1.4 BASES TEÓRICAS

1.4.1 BASE TEÓRICA

Las especies de *Salmonella* son bacilos gramnegativos que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, además, son anaerobios facultativos, móviles y no forman esporas [17,18]. La mayoría de los serotipos de *Salmonella* crecen a temperaturas de 5-47 °C con una temperatura óptima de crecimiento de 35-37 °C, pero algunas pueden crecer a bajas temperaturas de 2-4 °C y a temperaturas altas de 54 °C [19].

De acuerdo con el sistema de los “Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades” (CDC), el género *Salmonella* contiene dos especies: *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*, cada una de las cuales contiene múltiples serotipos. La primera se divide en seis subespecies, a las que se hace referencia con un número romano y un nombre: I, *S. enterica* subsp. *enterica*; II, *S. enterica* subsp. *salamae*; IIIa, *S. enterica* subsp. *arizonae*; IIIb, *S. enterica* subsp. *diarizonae*; IV, *S. enterica* subsp. *houtenae*; y VI, *S. enterica* subsp. *indica*. El símbolo romano V se reserva para las subespecies de *S. bongori* (Figura 2) [20].

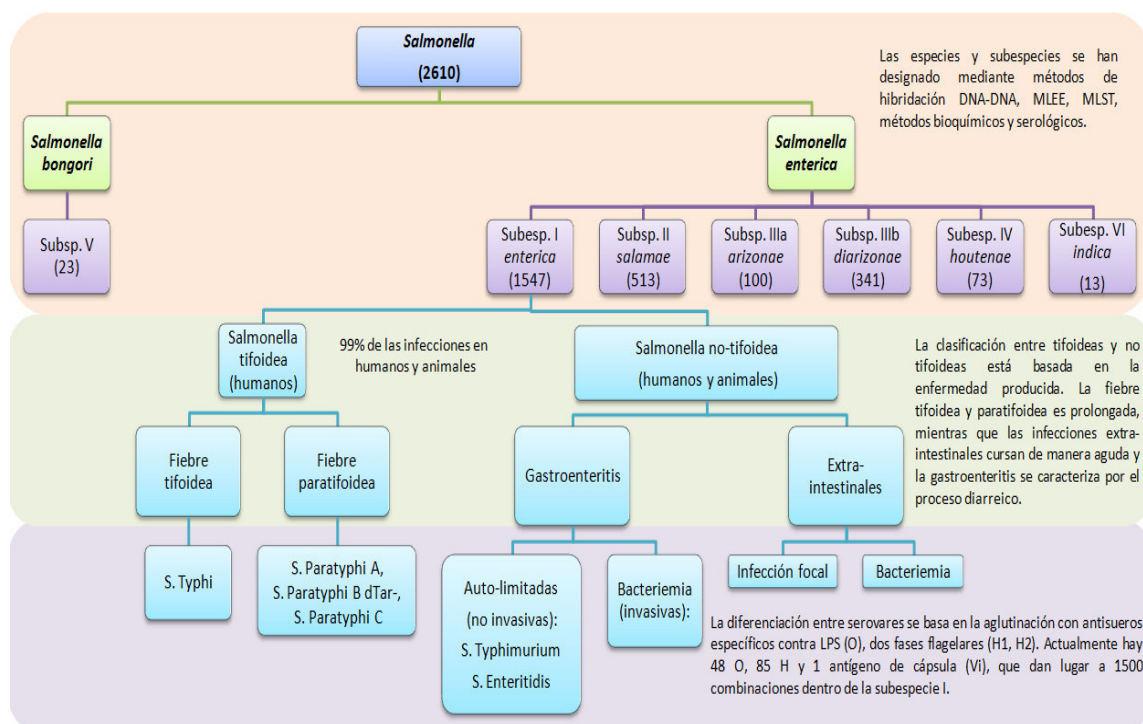


Figura 2. Clasificación del género *Salmonella*

*Adaptación De Toro [21].

Los CDC-USA, publicaron pautas para aclarar la nomenclatura de *Salmonella* (Tabla 1) [17].

Tabla 1. Nomenclatura del género *Salmonella**

Nombre completo	CDC Designación	Uso clínico común (Recomendado)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhi	<i>Salmonella</i> ser. Typhi	<i>Salmonella typhi</i> (Typhi)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Paratyphi A	<i>Salmonella</i> ser. Paratyphi A	<i>Salmonella paratyphi</i> A (Paratyphi A)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhimurium	<i>Salmonella</i> ser. Typhimurium	<i>Salmonella typhimurium</i> (Typhimurium)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Enteritidis	<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis	<i>Salmonella enteritidis</i> (Enteritidis)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Dublin	<i>Salmonella</i> ser. Dublin	<i>Salmonella dublin</i> (Dublin)

CDC, Centers for Disease Control and Prevention; ser., serotipo; subsp., subespecies.

*Adaptación de Reller [17].

Los miembros de las 7 subespecies de *Salmonella* se pueden serotipificar de acuerdo a diferentes estructuras antigénicas: antígeno somático O , antígeno flagelar (H) y antígeno capsular (Vi) [22,23]. Las reacciones de *Salmonella* con antisueros a los antígenos O específicos determinan los serogrupos A, B, C₁, C₂, D y E. La caracterización de los antígenos O, H y Vi da como resultado un serotipo único [17].

Antibióticos

La definición de “antibiótico” fue propuesta por Selman Waksman, según él, un *antibiótico* es una sustancia química, producida por microorganismos, que tiene la capacidad de inhibir el crecimiento e incluso destruir bacterias y otros microorganismos [24].

La introducción de los antibióticos en la práctica clínica fue uno de los mayores avances médicos del siglo 20. Además de tratar enfermedades infecciosas, los antibióticos hicieron posible muchos procedimientos médicos modernos, como el tratamiento del cáncer, los trasplantes de órganos y la cirugía a corazón abierto. Sin embargo, el mal uso de estos valiosos compuestos ha resultado en un rápido aumento

de la resistencia a los antimicrobianos, lo que ha llevado a que algunas infecciones sean ahora efectivamente intratables [25].

Antibióticos betalactámicos

Uno de los tipos de antibióticos más usados en los centros de salud y los hospitales son los antibióticos betalactámicos. La penicilina es el primer representante de esta familia de antibióticos que fue descubierta en 1928 por Alexander Fleming [25]. Estos antibióticos tienen un anillo betalactámico en su configuración molecular (Tabla 2). Esto incluye a derivados de la penicilina, cefalosporinas, monobactámicos y carbapenémicos. Actúan como inhibidor irreversible de la enzima transpeptidasa, una enzima utilizada por las bacterias para fabricar sus paredes celulares. Sin embargo, para que sea activo el betalactámico, es necesario que esté unido a otros radicales (generalmente otros anillos) [26,27].

Clasificación de los antibióticos betalactámicos

Los diferentes tipos de antibióticos betalactámicos se clasifican según las cadenas que se unen al núcleo de dos anillos que comparten. Estos son: penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos e inhibidores de las betalactamasas [27]. La tabla 2 muestra un esquema básico de estos grupos.

a. Penicilinas


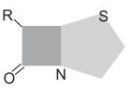
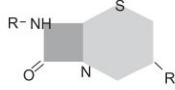
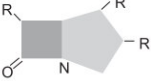
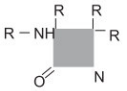
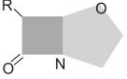
Las penicilinas son antibióticos que tienen dos anillos en su configuración, uno betalactámico y otro de tiazolidina, llamados ácido 6-aminopenicilánico. También tienen una cadena lateral que cambia según la penicilina y que determina sus características [28]. Tienen capacidad bactericida debido a que inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana y activa enzimas que destruyen dicha pared [29].

a. Cefalosporinas

Tienen un espectro de actividad más amplio y son más estables a muchas betalactamasas. La estructura básica de las cefalosporinas consiste en un anillo betalactámico fusionado con un anillo de dihidrotiazina formando el ácido 7-

aminocefalosporánico muy parecido al de las penicilinas (Tabla 2). Actúan igual que estas, pero son más resistentes a las enzimas que las destruyen y son efectivas contra más bacterias. [26,27]. Al añadir diferentes grupos en la posición R se obtienen muchas moléculas con baja toxicidad y diferentes efectos antimicrobianos. Las cefalosporinas se dividen en cinco grupos o generaciones según su espectro de actividad [26].

Tabla 2. Configuración molecular de los antibióticos betalactámicos*

	Anillo betalactámico + anillo secundario	Núcleo betalactámico	Grupo Antibiótico
	Anillo de tiazolidina	6-aminopenicilánico	Penicilinas
	Anillo de dihidrotiazina	Ácido 7-aminocefalosporánico	Cefalosporinas
	Anillo pirrolidínico	Carbapenem	Carbapenémicos
	Ninguno	Monobactam	Monobactámicos
	Anillo oxazolidínico	Clavamo/oxapenamó	Ácido Clavulánico

*Adaptación de Mora [28].

b. Carbapenémicos

El carbapenem es un compuesto formado por dos anillos: uno betalactámico y otro de pirrolidina insaturado. También tienen un grupo hidroxietilo que está en posición *trans* y que impide que varias betalactamasas rompan el anillo betalactámico. Inhiben la síntesis de la pared celular durante la transpeptidación al unirse a peptidasas ubicadas en la parte externa de la membrana citoplasmática denominadas *Penicillin Binding Protein* (PBP). La pared celular se debilita produciendo la lisis de la bacteria [26,30].

c. Monobactámicos

Los monobactámicos son fármacos con un anillo betalactámico monocíclico (Figura 3). Su estructura se parece a la de la ceftazidima; por eso tiene actividad antibacteriana parecida a las cefalosporinas de amplio espectro. La actividad bactericida de

aztreonam (ATM) está limitada a organismos gramnegativos aerobios porque no se une a PBP en bacterias grampositivas o anaerobias^[26]. Los monobactámicos son resistentes a muchas betalactamasas y menos efectivas a las BLEE y a las serin-carbapenemasas ^[26,31].

d. Inhibidores de betalactamasas

El ácido clavulánico, el sulbactam y el tazobactam son sustancias que se asemejan a los compuestos betalactámicos (Figura 3) pero tienen poca actividad contra las bacterias. Ahora se reconoce que el espectro del inhibidor incluye la mayoría de las betalactamasas de clase A, incluidas las BLEE y, en menor medida, las serin-carbapenemasas. Estas sustancias pueden bloquear algunas betalactamasas y evitar que inactiven a las penicilinas. No obstante, no son efectivas contra todas las betalactamasas ^[26,31]. La combinación con ampicilina, amoxicilina o ticarcilina y los inhibidores de betalactamasa, se utilizan para ampliar el espectro de acción de algunos antibióticos betalactámicos; aumentando la efectividad contra algunas bacterias productoras de betalactamasa, que de otra manera serían resistentes ^[31].

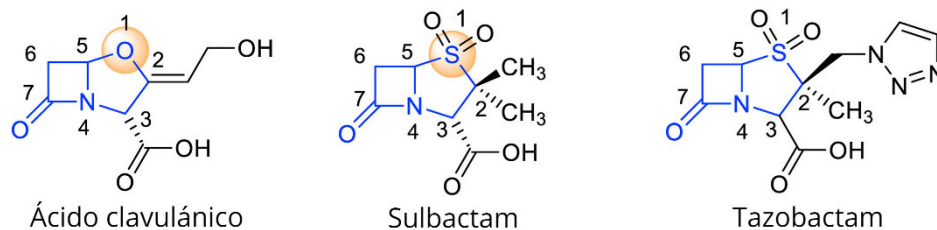


Figura 3. Estructura química de los inhibidores de betalactamasas

*Adaptación de Lima ^[26].

Mecanismo de resistencia a los antibióticos

La resistencia a los antibióticos ocurre cuando las bacterias pueden sobrevivir / crecer en presencia de un antibiótico. Las bacterias que resisten los efectos de un antibiótico tienen más posibilidades de persistir en el cuerpo, lo que aumenta el riesgo de propagarse a otros pacientes. La resistencia a los antibióticos se puede categorizar de dos maneras (intrínseca o adquirida). La resistencia intrínseca ocurre cuando las bacterias son naturalmente resistentes a una clase de antibiótico en particular, cambiando las características estructurales o funcionales del antibiótico ^[32]. La

resistencia adquirida ocurre cuando las bacterias se vuelven menos susceptibles a los antibióticos a los que alguna vez fueron fácilmente susceptibles. Esto difiere de la resistencia intrínseca en que los genes o mutaciones que confieren resistencia no estaban presentes originalmente en las bacterias [32]. La resistencia adquirida puede estar mediada por varios mecanismos, como los cambios que ocurren en el receptor de unión al fármaco, la inactivación enzimática de los antibióticos, la reducción de la permeabilidad de la membrana interna y externa, la eliminación del fármaco y el uso de una vía metabólica alternativa [33,34].

La resistencia adquirida puede deberse a mutaciones de genes cromosómicos o a la adquisición de determinantes de resistencia por mecanismos de transferencia horizontal de genes (THG). Los genes de resistencia transferibles suelen ser transportados por plásmidos u otros tipos (integrones, transposones) de elementos genéticos móviles (EGM) y desempeñan una contribución importante a la evolución de la resistencia microbiana a los fármacos [35].

Mecanismos de resistencia a los betalactámicos

Las bacterias tienen formas distintas para resistir a los betalactámicos, pues pueden asociarse con otros modos de defensa frente a otros antibióticos [35,36]. Los mecanismos más importantes son:

- a. Síntesis de enzimas.** La destrucción del enlace amida del anillo betalactámico por las betalactamasas es el mecanismo más común de resistencia a los betalactámicos, lo que impide que el antimicrobiano actúe [37].
- b. Alteración de las PBP.** Varios cambios en las PBP (por mutaciones, más producción y menos afinidad) pueden impedir que el betalactámico se una a la proteína [35,36].
- c. Alteraciones en la permeabilidad y bombas de expulsión.** Muchos de los antibióticos utilizados en la práctica clínica tienen dianas bacterianas intracelulares o, en el caso de bacterias gramnegativas, dianas localizadas en la membrana citoplasmática. El ingreso del antibiótico tiene lugar a través de porinas, la reducción o modificación de las porinas afectan el ingreso de antimicrobianos (betalactámicos) [37].

Betalactamasas

La producción de betalactamasas es una forma frecuente de resistencia intrínseca y adquirida a los betalactámicos en bacterias grampositivas y gramnegativas y, en estos últimos, son mecanismo más importante de resistencia a betalactámicos ^[35].

La hidrólisis del anillo betalactámico por estas enzimas hace que los betalactámicos sean inactivos. Hay diferentes tipos de betalactamasas que difieren en su afinidad, su estructura y su respuesta a los betalactámicos ^[38].

Clasificación de las betalactamasas

La identificación de un número creciente de betalactamasas, junto con la disponibilidad de proteínas, nucleótidos e información de secuencias, estableció que estas enzimas no comprenden un solo grupo homogéneo, sino que pueden subdividirse en múltiples clases que abarcan una gama de propiedades bioquímicas. Al momento de escribir este estudio, la base de datos de betalactamasas (www.bldb.eu) contiene 7842 enzimas de este tipo que han sufrido diversos grados de caracterización ^[39].

Las betalactamasas han sido nombradas según su actividad funcional o según sus similitudes en la secuencia de aminoácidos. Se han asignado clasificaciones moleculares de clase A, B, C y D a todas las betalactamasas que tienen secuencias de aminoácidos disponibles. Las clasificaciones funcionales de los grupos 1, 2, 3 y 4, con los subgrupos apropiados, se han asignado principalmente en función de los perfiles de sustrato e inhibidor y la actividad de betalactamasa validada experimentalmente ^[40].

Clasificación funcional

El sistema Bush–Jacoby se basa en la hidrólisis del sustrato (penicilina, cefalosporina, cefalosporina de espectro extendido, carbapenem) y en el perfil de los inhibidores de betalactamasas (ácido clavulánico y tazobactam). De acuerdo con esta clasificación de grupos funcionales podemos definir 4 grupos ^[41].

Grupo 1 (cefalosporinas): Son enzimas que se encuentran en los cromosomas de varias bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y de otros microorganismos que

tienen la capacidad de hidrolizar las cefalosporinas. Sobre las cuales, tienen mayor efecto en comparación con la bencilpenicilina. También pueden hidrolizar las cefamicinas (por ejemplo, cefoxitina) y no son inhibidas por el ácido clavulánico. Tienen una alta afinidad por ATM, en contraste con las cefalosporinasas de clase A. Las enzimas del grupo 1 mediadas por plásmidos en CMY, ACT, DHA, FOX, MIR y otras familias son conocidas desde 1989; sin embargo, en la actualidad se dan con menos frecuencia que las BLEE del subgrupo 2be mediadas por plásmidos. El subgrupo 1e posee nuevas enzimas, variantes del grupo 1, las cuales son más activas frente a la ceftazidima y otros antibióticos parecidos, debido a alteraciones en los genes que codifican los aminoácidos. Por otro lado, se han denominado betalactamasas AmpC de espectro extendido (ESAC) por que tienen un rango más amplio de acción y se encuentran en *Enterobacter cloacae* y otras bacterias que presentan plásmidos y otros elementos móviles genéticos con los genes *bla_{GC1}*, *bla_{CMY-10}*, *bla_{CMY-19}* y *bla_{CMY-37}*. La resistencia clínicamente significativa se confiere con mayor frecuencia cuando el microorganismo productor de betalactamasa, también tiene una mutación de porina [42,43].

Grupo 2 (Serin-betalactamasas): El grupo funcional 2 comprende las betalactamasas más numerosas y diversas, entre las que se destacan las BLEE del subgrupo 2be (Figura 4), que han aumentado su prevalencia en las dos últimas décadas. Las penicilinasas del subgrupo 2a son un grupo pequeño de betalactamasas que solo actúan contra algunos antibióticos y son las más frecuentes en los cocos grampositivos, aunque también se han detectado en algunas gramnegativas. Estas enzimas tienen actividad hidrolítica a la bencilpenicilina y otros tipos de penicilina. Estas betalactamasas del subgrupo 2a se pueden inhibir con el TZ y el CLA. La mayor parte de estas enzimas están codificadas por los cromosomas, pero algunas especies de estafilococos tienen genes que codifican proteínas que inactivan las penicilinas y los transfieren mediante plásmidos. Este subgrupo, que contaba con 20 miembros en 1995, solo ha aumentado a 25 en 2009. Esto puede deberse a que una verdadera penicilinasas no causa una resistencia clínica significativa para los betalactámicos de uso predominante en la actualidad [42,43].

Tabla 3. Clase molecular y propiedades funcionales de las betalactamasas relevantes*

Clasificación Molecular (Ambler)	Clasificación funcional (Bush & Jacoby 2010)	Sustratos preferidos	Inhibición por		Betalactamasas representativas
			CLV ^a O TZ ^b	EDTA ^c	
A (serin-penicilinasas)	2 ^a	Penicilinas	+ ^d	- ^e	“PC1”
	2b (penicilinasas)	Penicilinas, C1G	+	-	TEM-1, TEM-2, SHV-1
	2be (betalactamasas de amplio espectro)	Penicilinas, C1G-C4G ^f , monobactámicos	+	-	SHV-2 a SHV-6, TEM (3-26), CTX-M
	2br	Penicilinas	-	-	“TEM-30, SHV-10, SHV-72”
	2c	Penicilinas, Carbenicilina	+	-	“PSE-1, PSE-3, PSE-4, CARB-3”
	2e	C1G-C4G ^f	+	-	CepA, FEC-1
B (metalo-betalactamasas)	2f(serin-carbapenemasas)	Penicilinas, cefalosporinas, Carbapenémicos	variable	-	KPC-2, SME-1, NMC-A
	3 ^a	Carbapenémicos	-	+	“IMP-1, VIM-1, Cer-A, IND-1, L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1”
C (cefalosporinasas)	3b	Carbapenémicos	-	+	“CphA, Sfh-1”
	1	Cefalosporinas	-	-	“AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1”
	1e	Cefalosporinas	-	-	“GC1, CMY-37”
D (oxacilinasas)	2d	Cloxacilina	Variable	-	OXA (1-10)
	2de	C1G-C4G ^f	variable	-	OXA (11-15)
	2df	Carbapenémicos	variable	-	OXA (23,48)

CLA^a: Ácido clavulánico; TZ^b: Tazobactam; EDTA^c: Ácido etilendiaminotetraacético; ^dSensible +, ^eResistente -,

^fcefalosporina de 1 - 4 generación: C1G-C4G

*Adaptado de Rossolini [35].

Las betalactamasas del subgrupo 2b hidrolizan fácilmente las penicilinas y las cefalosporinas de primera generación, y se pueden inhibir con TZ y el CLV. Las betalactamasas más frecuentes que se encontraron en los plásmidos fueron las enzimas expresadas por los genes *bla*_{TEM-1}, *bla*_{TEM-2} y *bla*_{SHV-1}. Desde la compilación de betalactamasas en 1995, se han descrito al menos 9 enzimas TEM y 29 SHV, a menudo caracterizando otras betalactamasas en aislados clínicos inusualmente resistentes [42].

Las enzimas BLEE se encuentran en el subgrupo 2be; mantienen la actividad hidrolizable de las enzimas del subgrupo 2b; y también tienen actividad hidrolítica contra algunos oximino-betalactámicos como CTX, CAZ y TZ, a una tasa generalmente mayor al 10 % de la bencilpenicilina. El primer y mayor subconjunto del

subgrupo 2be se originó a partir de cambios en los aminoácidos en las enzimas codificadas por los genes bla_{TEM-1} , bla_{TEM-2} y bla_{SHV-1} que ampliaron su espectro de sustrato a costa de una menor actividad hidrolizante de bencilpenicilina y cefaloridina. Las BLEE TEM y SHV son funcionalmente similares a CTX-M, pero de proliferación más rápida y están relacionadas con betalactamasas determinadas cromosómicamente en especies de *Kluyvera*. Como su nombre lo indica, la mayoría (pero no todas) de las enzimas CTX-M hidrolizan la cefotaxima más fácilmente que la ceftazidima. Muchas también hidrolizan la cefepima. Finalmente, hay BLEE menos comunes no relacionadas con TEM, SHV o CTX-M que incluyen BEL-1, BES-1, SFO-1, TLA-1, TLA-2 y miembros de las familias de enzimas PER y VEB. De manera característica, las betalactamasas del subgrupo 2be son inhibidos por el CLA, una característica utilizada en su identificación por los centros de diagnóstico clínico [40,42].

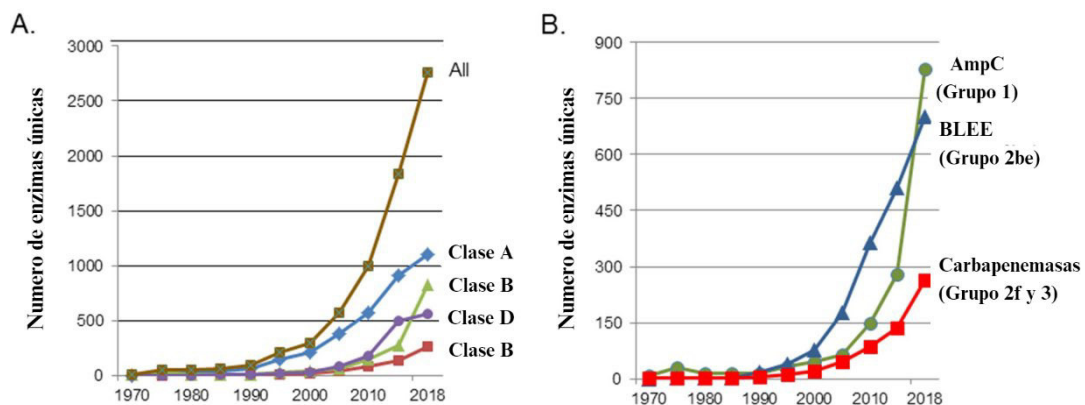


Figura 4. Aumento en el número de betalactamasas

*Adaptación de Bush [44].

Las betalactamasas subgrupo 2br presentan resistencia a CLA y a una amplia variedad de antibióticos relacionados, mientras que mantienen el espectro de actividad del subgrupo 2b. Algunas enzimas codificadas por los genes bla_{TEM} y bla_{SHV} , funcionalmente caracterizadas presentan estas propiedades. Sin embargo, ninguna betalactamasa CTX-M demuestra esta característica hasta la fecha. Las penicilinasas del subgrupo 2c tienen la propiedad funcional hidrolítica para bencilpenicilina. Estas penicilinasas generalmente se inhiben fácilmente con ácido CLA o TZ [42].

El subgrupo 2d incluye las betalactamasas que se distinguen por su capacidad para hidrolizar cloxacilina u oxacilina a una tasa de >50 % que para la bencilpenicilina y,

por esta razón, se les conoce como betalactamasas tipo OXA, las cuales pertenecen a la segunda familia más grande de betalactamasas. Además, varias betalactamasas de este subgrupo son inhibidas por NaCl y por el ácido clavulánico a una concentración $\geq 1 \mu\text{M}$ [42,44].

Las betalactamasas del subgrupo 2e tienen la propiedad de hidrolizar las cefalosporinas de tercera generación y pueden ser inhibidos por el CLA o el TZ. Las cefalosporinas cromosómicas inducibles en las *Proteeae* (*Proteus*, *Morganella* y *Providencia*) a menudo pertenecen a este subgrupo. Las betalactamasas del subgrupo 2e se pueden diferenciar de las enzimas AmpC por su escasa afinidad por ATM. Desde 1995, la cantidad de enzimas del subgrupo 2e no ha variado y es poco probable que se incluyan más debido a que la mayoría ya han sido identificadas [42,43].

Grupo 3. Las metalo-betalactamasas (MBL): Se distinguen de las otras betalactamasas por su requerimiento estructural de Zn^{2+} . A diferencia de las serin-betalactamasas, las MBL tienen poca afinidad o capacidad hidrolítica por los monobactámicos y no las inhibe el CLA o el TZ. En cambio, son inhibidos por el EDTA y el ácido dipicolínico. El subgrupo 3a incluye las principales familias de MBL codificadas por plásmidos, como las enzimas codificadas por los genes *bla_{IMP}* y *bla_{VIM}*. Estas enzimas se han observado globalmente, frecuentemente en bacterias no fermentadoras, pero también en *Enterobacteriaceae*. El subgrupo 3b presenta un grupo reducido de MBL que prefieren hidrolizar los carbapenémicos [26,42].

Las betalactamasas del grupo 4 incluidas previamente en la clasificación funcional de 1995 se han omitido en la tabla 3. Si se encuentra más información, es muy probable que las betalactamasas de este grupo se incluyan en los grupos que ya existen. Las enzimas de este grupo aún no se han caracterizado por completo, por ende no hay una clasificación adicional [42].

Clasificación molecular

La clasificación molecular de Ambler o clasificación molecular (Tabla 3), se han clasificado de acuerdo con la similitud de la secuencia de aminoácidos y nucleótidos en cuatro clases moleculares. Las enzimas de las clases A, C y D tienen un residuo de

serina en su sitio activo, mientras que las enzimas de clase B requieren un cofactor de zinc para su actividad (metalo-betalactamasas) ^[43].

Las betalactamasas de clase A (serin-penicilinasas). Las enzimas de este grupo presentan una molécula de serina en su sitio activo, una característica compartida con las betalactamasas de la clase C y D. La mayor parte de estas betalactamasas se inhiben por el CLA y tienen actividad hidrolítica a los monobactámicos. Sin embargo, no tienen actividad hidrolítica a las cefamicinas. Además, presentan una variedad muy amplia de enzimas con actividad hidrolítica a las penicilinas, cefalosporinas de amplio espectro y carbapenémicos. Los genes *bla*_{TEM-1}, *bla*_{SHV-1}, *bla*_{CTX-M} y *bla*_{KPC} codifican para enzimas de amplio espectro que son mediadas por plásmidos ^[37].

Estos plásmidos surgieron y se diseminaron ampliamente en *Enterobacteriaceae* desde la década de 1970 y han contribuido al mecanismo más común de resistencia adquirida a las amino-penicilinas en especies enterobacterianas como: *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* y *Salmonella enterica*. Las betalactamasas TEM y SHV de amplio espectro no son activas contra las cefalosporinas de espectro extendido (por ejemplo, cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima). Sin embargo, bajo la presión selectiva generada por el uso de estos últimos compuestos, las enzimas TEM y SHV han demostrado la capacidad de desarrollar un espectro extendido de actividad a través de mutaciones en posiciones específicas, lo que puede conducir a resistencia contra las cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos ^[35]. Estos derivados BLEE de las enzimas codificadas por los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, de los que se han descrito un gran número de variantes (<http://www.lahey.org/studies/>), han jugado un papel importante en la evolución de la resistencia a cefalosporinas de espectro extendido entre *Enterobacteriaceae* desde mediados de la década de 1980. Por otro lado, las enzimas TEM y SHV también han mostrado la capacidad de desarrollar mutaciones que confieren resistencia a los inhibidores de la betalactamasa ^[45].

D'Andrea et al.^[46], reportaron en el 2013 que han surgido *Enterobacteriaceae* BLEE de clase A codificadas por plásmido distintas de TEM y derivados de SHV. De estas, las enzimas de tipo CTX-M han sido las más exitosas. De hecho, han desplazado en gran medida a las BLEE de tipo *bla*_{TEM} y *bla*_{SHV} en muchos entornos clínicos, y actualmente son las BLEE más prevalentes en *Enterobacteriaceae* de varias regiones.

CTX-M es una BLEE codificada por plásmido que se encuentra comúnmente en *K. pneumoniae*, *Escherichia coli* y otras *Enterobacteriaceae* en todo el mundo. A diferencia de otras BLEE de clase A de Ambler, como TEM-3, esta enzima no se derivó de TEM o SHV; más bien, la evidencia actual sugiere que probablemente se adquirió de *Kluyvera* spp. (una bacteria ambiental sin importancia patógena humana importante) a través de transferencia horizontal de genes [37].

Entre las betalactamasas de clase A con actividad carbapenemasa, las más importantes son las enzimas de tipo KPC, que surgieron a fines de la década de 1990 y desde entonces se han diseminado en todo el mundo proporcionando una contribución importante como un mecanismo de resistencia en enterobacterias resistentes a carbapenémicos [47].

Las betalactamasas de clase B (metalo-betalactamasas). Las enzimas también se conocen como metalo-betalactamasas porque usan al ion (Zn^{2+}) como mecanismo de resistencia hacia el anillo betalactámico. Son inhibidas por el EDTA; presentan actividad frente a una gran variedad de betalactámicos, incluyendo los carbapenémicos. Aunque no se inhiben por el CLA o el TZ, hidrolizan eficientemente las cefamicinas y tienen actividad deficiente frente al ATM [37,41].

La importancia clínica de las MBL está relacionada en gran medida con su actividad carbapenemasa constante y eficiente, y su espectro a menudo se extiende a la mayoría de los otros betalactámicos. Las MBL se encuentran como enzimas residentes codificadas por cromosomas en algunas especies ambientales de bajo potencial patógeno (por ejemplo, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Aeromonas hydrophila*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Chryseobacterium indologenes*), pero desde mediados de la década de 1990, varias MBL codificadas por plásmidos han surgido como carbapenemasas adquiridas en aislados de no fermentadores gramnegativos y de *Enterobacteriaceae*. Las enzimas de tipo VIM, NDM e IMP son actualmente las MBL adquiridas más prevalentes y generalizadas que se encuentran entre los aislados clínicos [35,39].

Las betalactamasas de clase C (serin-cefalosporinasas). También conocidas como enzimas de tipo AmpC, incluyen CMY, FOX y DHA [39]. Son resistentes a todas las

penicilinas, cefalosporinas y cefamicinas. No presentan actividad hidrolítica al ATM y al CLA. La betalactamasa de mayor relevancia clínica es la de tipo AmpC, que tiene actividad hidrolítica a las cefalosporinas. Estas enzimas son usualmente codificadas por genes ubicados en el cromosoma bacteriano, aunque las enzimas AmpC transmitidas por plásmidos son cada vez más frecuentes [35].

La producción de AmpC codificadas por cromosomas se encuentran en varios bacilos gramnegativos, incluidos *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y algunos miembros de la familia *Enterobacteriaceae*; sin embargo, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. y *Proteus* spp. normalmente no albergan genes cromosómicos. La producción de estas enzimas normalmente está regulada y contribuye a la resistencia intrínseca a los betalactámicos que actúan como inductores y son hidrolizados por la enzima (por ejemplo, Ampicilina y cefalosporinas de espectro reducido) [35,48]. Algunos genes que codifican enzimas de tipo AmpC se han movilizad a plásmidos y pueden diseminarse por transferencia horizontal. Estas betalactamasas de tipo AmpC codificadas por plásmidos suelen producirse de forma constitutiva y su prevalencia entre las enterobacterias está aumentando [46].

Las betalactamasas de clase D (serin-oxacilinasas). Las enzimas de tipo OXA, también conocidas como oxacilinasas, se diferencian de las penicilinasas en que presentan actividad hidrolítica hacia la oxacilina y porque son poco inhibidas por el ácido clavulánico [37]. Las enzimas de clase D suelen ser resistentes al ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam y, cuando se coproducen con betalactamasas de clase A, pueden ser responsables de un fenotipo resistente a inhibidores. Se encuentran como enzimas residentes codificadas por cromosomas en varias especies bacterianas, y también como enzimas codificadas por plásmidos [35]. Originalmente se consideró que eran menos importantes debido a su menor difusión general y su perfil reducido de sustrato (incluidas las penicilinas y algunas cefalosporinas de espectro reducido). Sin embargo, la reciente aparición de enzimas de clase D codificadas por plásmidos, dotadas de actividad carbapenemasa, que se están extendiendo entre los principales patógenos gramnegativos, incluido *Acinetobacter* spp. (por ejemplo, OXA-23, OXA-24 y OXA-58) y miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (por ejemplo, OXA-48) y que son responsables de la resistencia adquirida a los carbapenémicos en esas

especies, ha aumentado notablemente la relevancia clínica de estas enzimas [45].

Resistencia antimicrobiana de *Salmonella*

La resistencia de *Salmonella* a los agentes antimicrobianos se debe a uno de varios mecanismos, incluyendo la síntesis de enzimas que tienen la capacidad de inactivar los antimicrobianos mediante su degradación o modificación estructural, la reducción de la permeabilidad de las células bacterianas a los antibióticos, la activación de las bombas de flujo de antimicrobianos y la modificación del objetivo celular para el fármaco [49].

Hay muchas clases de medicamentos antimicrobianos, pero los antimicrobianos más comunes contra los cuales *Salmonella* ha desarrollado resistencia son los aminoglucósidos, betalactámicos, cloranfenicol, quinolonas, tetraciclinas, sulfonamidas y trimetoprima. Los aminoglucósidos se unen a secuencias conservadas dentro del ARNr 16S de la subunidad ribosómica 30S; esto resulta en una interpretación incorrecta del codón y la inhibición de la traducción. La resistencia de *Salmonella* a los aminoglucósidos suele ser una modificación enzimática del antimicrobiano; sin embargo, en otras bacterias, se han descrito eflujo activo o modificaciones diana [50].

El cloranfenicol y los compuestos relacionados, como el florfenicol, inhiben la síntesis de proteínas al unirse a la subunidad ribosómica 50S. La resistencia en los aislamientos de *Salmonella* se confiere por dos mecanismos: (a) Inactivación enzimática del antibiótico por la cloranfenicol *O*-acetil-transferasa; y (b) Eliminación del antibiótico por una bomba de eflujo [51].

Las quinolonas y las fluoroquinolonas son antibióticos bactericidas sintéticos, y el ácido nalidíxico fue la primera quinolona médicamente aprobada. Hay dos mecanismos de resistencia. Las primeras quinolonas se dirigieron a la ADN girasa, mientras que las generaciones posteriores de quinolonas se dirigieron a la ADN girasa y la ADN topoisomerasa IV. Hay 2 mecanismos de resistencia, el primero está mediado por mutaciones diana en la región determinante de resistencia a quinolonas de *gyrA* y *gyrB*, y en la subunidad *parC* de topoisomerasa IV. El segundo implica

alteraciones en la expresión del sistema de flujo *qnr* y un aminoglucósido acetiltransferasa *aac(6)-Ib*, que puede modificar e inactivar la ciprofloxacina [20,49].

La tetraciclina se une a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, inhibiendo la síntesis de proteínas. Los mecanismos de resistencia incluyen sistema de flujo, modificación de la diana de ARNr e inactivación del compuesto. En *Salmonella*, sin embargo, los sistemas de flujo de salida activo se observan con mayor frecuencia e incluyen *tet (A)*, *tet (B)*, *tet (C)*, *tet (D)*, *tet (G)* y *tet (H)* [50].

Las sulfonamidas y la trimetoprima compiten por sustratos en la vía del ácido fólico esencial en las bacterias en dos pasos diferentes, inhibiendo la dihidropteroato sintasa (DHPS) y el dihidrofolato reductasa (DHFR), respectivamente. La resistencia a ambos antimicrobianos se produce mediante la adquisición de genes que codifican enzimas que no se unen a estos compuestos. Estos incluyen *sul1*, *sul2* y *sul3*, que codifican una enzima DHPS y el gen *dhfr* o *dfr*, que codifica DHFR [20,49].

Las penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos son los tres grupos principales de betalactámicos. Los efectos antimicrobianos de estos medicamentos están mediados por su capacidad de interferir con un grupo de proteínas conocidas como proteínas de unión a penicilina (PBP), que participan en la síntesis de peptidoglicano, un componente de la pared celular bacteriana. El mecanismo de resistencia más común es la secreción de betalactamasas en el espacio periplásmico para las bacterias gramnegativas. Estas enzimas hidrolizan los anillos betalactámicos en beta-aminoácidos, que no tienen actividad antimicrobiana. Los genes responsables de la síntesis de la betalactamasa se transportan frecuentemente en plásmidos [20,52].

En *Salmonella*, los genes de betalactamasa más prevalentes son *bla_{TEM-1}* y *bla_{PSE-1}*, que codifican las enzimas asociadas que dan resistencia a la ampicilina, y *bla_{CMY-2}*, que codifica la enzima que proporciona resistencia a la ampicilina, cefalosporinas de primera, segunda y tercera generación, y también es resistente a los inhibidores de la betalactamasa [50]. Se han detectado otras betalactamasas a nivel mundial, incluyendo *bla_{TEM}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*, *bla_{KPC}*, *bla_{SHV}* y *bla_{OXA}*, y las variantes de estos genes pueden codificar la actividad de carbapenemasa o BLEE [20,48].

En el caso de *Salmonella* spp. los mecanismos de resistencia que más nos interesan son aquellos que afectan a los antibióticos de interés en el tratamiento de infecciones por este microorganismo (cefalosporinas de tercera generación) o aquellos que tienen un interés epidemiológico (BLEE).

Métodos fenotípicos para la detección de mecanismos de resistencia

El método utilizado para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana es el método estandarizado por Kirby-Bauer, que consiste en la difusión con monodiscos de antibióticos en agar Mueller-Hinton, único medio validado por el Instituto de Estándares para Laboratorio Clínico (CLSI) para la prueba de susceptibilidad antimicrobiana. Los puntos de corte de susceptibilidad clínica (susceptible, intermedio y resistente) se basan en la eficacia *in vitro* de un antimicrobiano frente a una muestra bacteriana considerable [53].

Métodos para la detección de betalactamasas

Métodos fenotípicos

Los puntos de corte (Tabla 4 y Tabla 5) de cefalosporinas, carbapenémicos, monobactámicos para *Enterobacteriaceae* detectarán los mecanismos de resistencia clínicamente importantes (incluidos BLEE Carbapenemasas y AmpC mediada por plásmidos). Cuando se utilizan los criterios interpretativos actuales, ya no es necesario realizar pruebas de BLEE o de Hodge modificado de rutina antes de informar los resultados (es decir, ya no es necesario editar los resultados de cefalosporinas, aztreonam o penicilinas de susceptibles a resistentes). Sin embargo, en muchas áreas la detección de betalactamasas es recomendado o útiles para fines epidemiológicos o de control de infecciones [53,54].

a. Método de sinergia de doble disco

La prueba se realiza para determinar la presencia de BLEE en una muestra. Para ello, se coloca un disco de amoxicilina y ácido clavulánico (AMC) (20/10 µg) en una placa de Mueller-Hinton a una distancia de 25 mm de un antibiótico CAZ (30 µg), CTX (30 µg) y cefepime (FEP) (30 µg). Si se observa un halo de inhibición en los antibióticos

que rodean a AMC, se considera BLEE positivo [55].

b. Método confirmatorio BLEE

El método de disco difusión recomendado por el CLSI consiste en inocular los aislados en agar Mueller-Hinton y distribuir discos de CAZ (30 µg), CAZ-CLA (30/10 µg), CTX (30 µg) y CTX-CLA (30/10 µg). Las condiciones de incubación son 35 °C ± 2 °C con aire ambiente durante 16-18 horas. Los resultados se interpretan de la siguiente manera: si hay un incremento de ≥ 5 mm en el diámetro de la zona para cualquier antibiótico evaluado en combinación con el ácido clavulánico frente a la evaluación individual del diámetro de la zona del antibiótico (por ejemplo, zona de diámetro de CAZ = 15 mm y zona de diámetro de CAZ-CLA = 21 mm: $\Delta = 6$ mm), entonces se considera que hay una respuesta positiva para BLEE [53].

c. Método de *screening* para betalactamasas de tipo AmpC

No hay pautas del CLSI disponibles para la detección de bacterias con betalactamasas AmpC y el mejor enfoque hasta la fecha es detectar la resistencia a una cefamicina (por ejemplo, cefoxitina) u oximino-cefalosporinas (por ejemplo, cefotaxima, ceftazidima, cefepime) en cepas tales como *Klebsiella* spp., *E. coli*, *P. mirabilis* y *Salmonella* spp. Dicha resistencia, en combinación con una prueba confirmatoria (método americano) de BLEE negativa, es un indicador posible, pero no específico, de la producción de AmpC [56].

d. Método de *screening* para betalactamasas de tipo carbapenemasa.

El Comité Europeo de Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos (EUCAST) define unos valores de *screening* para detectar posibles cepas productoras de carbapenemasas (EPC) que se indican con detalle en la tabla 5. La sensibilidad a meropenem ofrece el mejor equilibrio entre sensibilidad y especificidad para la detección de cepas productoras de carbapenemasas [54,57].

Métodos moleculares

Los métodos moleculares como el ensayo de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) convierte cantidades muy pequeñas de ADN en cantidades muy altas y se utiliza

en muchas técnicas especializadas de biología molecular ^[58]. La PCR son rápidas y sensibles y se están convirtiendo cada vez más en el método preferido para la detección de patógenos ^[59]. Se han desarrollado diferentes métodos de PCR para la detección de *Salmonella*, el más utilizado es la identificación del gen *invA* ^[18].

La detección molecular de betalactamasas en *Salmonella* constituye un grupo diverso de enzimas codificadas por un número considerable de genes. Al menos 10 subgrupos diferentes de genes de betalactamasa (*bla*) que codifican para TEM-, SHV-, PSE-, OXA-, PER-, CTX-M-, CMY-, ACC-, DHA- o KPC se han identificado ^[60].

1.4.2 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

Glosario

Antimicrobiano: Sustancias que mata o inhibe el crecimiento de microbios, incluidas bacterias, hongos o virus. Los antimicrobianos se agrupan según los microbios contra los que actúan (antibióticos, antifúngicos y antivirales).

Antibiótico: Compuestos químicos utilizados para prevenir o curar enfermedades originadas por bacterias y otros microbios dañinos.

Bactericida: Antimicrobiano que mata un microorganismo bacteriano.

Bacteriostático: Antimicrobiano que inhibe el crecimiento bacteriano, pero no los mata.

Betalactamasas: Enzimas producidas por bacterias que presentan actividad hidrolítica hacia los antibióticos betalactámicos.

Bomba eflujo: Mecanismos bacterianos complejos capaz de expulsar un compuesto tóxico fuera de la célula que puede generar resistencia a los antimicrobianos.

Conjugación: La transferencia de material genético entre las bacterias a través del contacto directo. Permite a las bacterias adquirir nuevos genes y rasgos que pueden ayudarlas a adaptarse a entornos y desafíos cambiantes como los antibióticos.

Enterobacteriaceae: Familia de bacterias gramnegativas, muchas son inofensivas y son parte de la flora intestinal; otras pueden ser patógenas como ciertas cepas de *E. coli*, *Salmonella* y *Shigella*.

Fiebre entérica (FE): Es una infección grave causada por *Salmonella* ser. Typhi y *Salmonella* ser. Paratyphi.

Betalactamasa de espectro extendido (BLEE): Betalactamasa producida por *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus mirabilis* y otras *Enterobacteriaceae* que hidrolizan e inactivan penicilinas, cefalosporinas y aztreonam.

Multidrogoresistencia (MDR): Resistencia a tres o más clases de antibióticos según el mecanismo de acción.

Eflujo de múltiples fármacos: Mecanismo responsable de sacar múltiples antibióticos de la célula.

Proteínas de unión a penicilina (PBP): Enzimas transpeptidasas importantes en la formación de la pared celular bacteriana. Estas proteínas tienen diversas afinidades por la betalactamasa, que incluyen oxacilina, meticilina, nafcilina, cloxacilina y dicloxacilina.

Plásmidos: Pequeñas moléculas de ADN de forma circular dentro de una célula bacteriana que se replican independientemente del cromosoma hospedador. No portan genes esenciales, pero sí genes que pueden beneficiar a la célula hospedera.

Profilaxis: Medidas adoptadas para prevenir enfermedades.

Resistencia intrínseca: Ocurre cuando las bacterias son resistentes de forma natural a una clase de antibióticos, pues un mecanismo de resistencia está presente y es funcional en la mayoría o en la totalidad de las cepas de un tipo de bacteria.

Resistencia adquirida: Resistencia que se presenta cuando las cepas de una especie susceptible adquieren uno o más mecanismos de resistencia y puede deberse a mutaciones de genes cromosómicos o a la adquisición de determinantes de resistencia por mecanismos de transferencia horizontal de genes.

Transferencia horizontal de genes (HGT): Transferencia de información genética entre organismos no relacionados y ocurre a través de 3 mecanismos principales: conjugación, transformación y transducción.

Elementos genéticos móviles (EGM): Pueden movilizar genes de resistencia en diferentes especies de bacterias (por ejemplo, plásmidos, integrones, transposones, secuencias de inserción e islas genómicas).

Transducción: Transferencia de genes bacterianos por un bacteriófago (virus bacteriano) de una célula a otra.

Transformación: Captación e incorporación de ADN libre en una célula bacteriana.

Transferencia vertical de genes: Se refiere a la transferencia de material genético de una generación de bacterias a su descendencia.

1.4.3 FORMULACIÓN DE HIPÓTESIS

En los últimos años los aislados de *Salmonella* productores de betalactamasas se reportan con más frecuencia, por ello, se considera probable que la caracterización fenotípica y molecular en aislados de *Salmonella* spp., remitidos durante el 2015 al Instituto Nacional de Salud presentará al menos un perfil de resistencia a los betalactámicos.

CAPÍTULO II: MÉTODOS

2.1 DISEÑO METODOLÓGICO

2.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio observacional, sobre la presencia de betalactamasas en cepas que fueron remitidas al Instituto Nacional de Salud (INS) del periodo 2015 y criopreservadas en su banco nacional de material biológico.

2.1.2 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Se realizó un estudio descriptivo y de corte transversal.

2.1.3 POBLACIÓN

Los aislados se enviaron al INS en *Trypticase Soy Agar* (TSA) y provienen de muestras humanas (sangre, orina, heces e hisopado rectal) de diferentes regiones del país.

2.1.4 MUESTRA Y MUESTREO

Se evaluaron los registros de la base de datos de cultivo, tipificación y pruebas de susceptibilidad antimicrobiana del LANARE del INS. En la muestra se incluyó 96 aislados de *Salmonella* spp. que corresponden a todas las muestras viables del periodo 2015 (1 enero hasta el 31 diciembre).

2.1.4.1 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Aislados confirmados como *Salmonella*, mediante el cultivo y serotipificación durante el 2015.
- Aislados que presentaban serotipo identificado en el registro de datos.

2.1.4.2 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Aislados que no desarrollaron crecimiento (no viables) y/o presentaban contaminación posterior a la descongelación.
- Aislados de *Salmonella* repetidos procedentes del mismo paciente.
- Aislados de *Salmonella* de origen no humano.

2.1.5 VARIABLES

2.1.5.1 Variable de estudio

Dimensiones

- Susceptibilidad antimicrobiana.
- Fenotipo de producción de betalactamasas.
- Genes de resistencia.

2.1.5.2 Variables de caracterización

Dimensiones

- Edad
- Sexo

(Ver anexo 7: Operacionalización de variables)

2.1.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Para el desarrollo de este proyecto, se obtuvo el registro de la base de datos de los aislados criopreservados y se ingresó a una nueva ficha de recolección de datos para la investigación (Anexo 1). Las muestras viables fueron procesadas en el LANARE y los datos obtenidos se ingresaron en los registros de resultados (Anexo 2 y Anexo 3).

2.1.7 PROCEDIMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS

Para iniciar el estudio se solicitó el permiso del LANARE (Anexo 8), el cual proporcionó la data, las instalaciones y los recursos necesarios para el procesamiento de los aislados clínicos.

ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

Reactivación de aislados

Las cepas criopreservadas se reactivaron en caldo *Trypticase Soy Broth* (TSB) durante 24 horas a 37 °C, luego pasaron a un medio de cultivo diferencial como es el agar *Salmonella* y *Shigella* (SS). En este medio, los aislados de *Salmonella* desarrollaron colonias translúcidas, lactosas negativas, pero algunas opacas con centro negro a causa del sulfuro de hidrogeno.

Pruebas bioquímicas

Se utilizó: *Triple Sugar Iron* (TSI), *Lysine Iron Agar* (LIA) e indol, las cuales se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Los aislados de trabajo se desarrollaron a partir de un tubo de *Trypticase Soy Agar* (TSA).

Criopreservación

Para conservar los aislados de trabajo se criopreservaron a -20 °C en caldo TSB con glicerol al 20 % después de ser procesadas.

Nomenclatura del género *Salmonella*

Se utilizó la nomenclatura utilizada por los CDC, que aborda adecuadamente las preocupaciones y requisitos de los microbiólogos clínicos y de salud pública. El uso de los nombres para los serotipos en subespecies es recomendado de la siguiente manera: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serotipo Infantis, por ejemplo, se abrevia como *Salmonella* ser. Infantis o *Salmonella* Infantis ^[61].

Inóculo de turbidez

La preparación del inóculo de turbidez fue igual a 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC de *Salmonella*/mL) ^[62]. Para este propósito, se utilizó la cepa de trabajo suspendida en cloruro de sodio al 0,9 %; y para determinar el patrón de turbidez, se utilizó un colorímetro de la marca VITEK®.

Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (difusión en disco)

Se utilizó el ensayo por disco difusión en agar Mueller Hinton con discos de antibióticos comerciales de acuerdo con las recomendaciones del CLSI 2015 para enterobacterias. Además, se usó como control negativo a la *Escherichia coli* ATCC 25922 y como control positivo a la *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ^[53].

Los criterios interpretativos recomendados por el CLSI establecen concentraciones críticas y valores que son utilizados para indicar los puntos de corte y definir las categorías de sensibilidad para los resultados interpretativos. Los resultados de categorías interpretativas recomendadas para varios valores de zona de diámetro son reportados y definidos como susceptibles (S), intermedios (I) o resistentes (R) y se basan en la evaluación de datos ^[53]. En este estudio se evaluó el perfil de resistencia a los antibióticos siguiendo los criterios de interpretación establecido en la tabla 4.

Tabla 4. Puntos de corte para el criterio de interpretación*

Antibióticos	Contenido Disco	Zona de diámetro (mm)		
		S	I	R
Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC)	20/10 µg	≥ 18	14-17	≤ 13
Ampicilina (AM)	10 µg	≥ 17	14-16	≤ 13
Aztreonam (ATM)	30 µg	≥ 21	18-20	≤ 17
Cefalotina (KF)	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14
Cefepime (FEP))	30 µg	≥ 25	19-24	≤ 18
Cefotaxima (CTX)	30 µg	≥ 26	23-25	≤ 22
Cefoxitina (FOX)	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14
Ceftazidima (CAZ)	30 µg	≥ 21	18-20	≤ 17
Ciprofloxacina (CIP)	5 µg	≥ 21	16-20	≤ 15
Cloranfenicol (CHL)	30 µg	≥ 18	13-17	≤ 12
Imipenem (IMP)	10 µg	≥ 23	20-22	≤ 19
Meropenem (MER)	10 µg	≥ 23	20-22	≤ 19
Nitrofurantoína (NIT)	300 µg	≥ 17	15-16	≤ 14
Piperacilina-tazobactam (PTZ)	100/10 µg	≥ 21	18-20	≤ 17
Sulfametoxazol-trimetoprima (SXT)	25 µg	≥ 16	11-15	≤ 10
Tetraciclina (TE)	30 µg	≥ 15	12-14	≤ 11

CLSI document M100-S25. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015^[53].

Pruebas fenotípicas

La disposición de los antimicrobianos en la placa hace posible detectar cualquier interacción entre ellos, permitiendo así sospechar la presencia de dichas enzimas. Para la determinación fenotípica de betalactamasas se utilizaron 4 métodos por disco difusión: El método de sinergia de doble disco para la determinación fenotípica de BLEE, el método confirmatorio de BLEE, el método de screening para betalactamasas de tipo AmpC y el método de *screening* para betalactamasas de tipo carbapenemasa.

Método de sinergia de doble disco

En una placa de Mueller-Hinton de acuerdo con el esquema 2 descrito en el anexo 4, se colocó un disco AMC (20/10 µg) a una distancia de 25 mm de los antibióticos

CAZ (30 µg) y CTX (30 µg). Si se observaba un halo de inhibición en los antibióticos que rodean a AMC, se consideraba BLEE positivo [55].

Método confirmatorio de BLEE

Se utilizó el método recomendado por el CLSI para realizar la prueba. Primero se inoculó los aislados en agar Mueller-Hinton y se distribuyeron los discos de CAZ (30 µg), CAZ-CLA (30/10 µg), CTX (30 µg) y CTX-CLA (30/10 µg). Luego, se incubaron durante 16-18 horas. El incremento de ≥ 5 mm en la zona de diámetro (por ejemplo, zona de diámetro de CAZ = 15 mm y zona de diámetro de CAZ-CLA = 21 mm: $\Delta = 6$ mm) indicaba que la muestra era positiva para BLEE [53].

Método de *screening* para betalactamasas de tipo AmpC

Para evaluar la expresión de la betalactamasa AmpC se utilizó un método de *screening* que consistió en colocar discos de cefepime (FEP 30 µg) y cefoxitina (FOX 30 µg). Si presentaba resistencia a estos antibióticos y una prueba confirmatoria (método americano) de BLEE negativa, era un indicador posible, pero no específico, de la producción de AmpC [56]. Las concentraciones críticas empleadas están en la tabla 4, según las recomendaciones del CLSI 2015 [53].

Método de *screening* para betalactamasas de tipo carbapenemasa

Método de *screening* para detectar los mecanismos de resistencia a los carbapenémicos clínicamente importantes (incluida la mayoría de las carbapenemasas), se colocaron discos de imipenem (10 µg), y meropenem (10 µg). Los puntos de corte de carbapenémicos para *Enterobacteriaceae* que se utilizaron están descritos en la tabla 5, según los lineamientos EUCAST 2015 [54,57].

Tabla 5. Valores de *screening* para identificar carbapenemasas*

Carbapenémico	Disco (µg)	Punto de corte (mm)	
		S	R
Imipenem	10	22 \geq	<16
Meropenem	10	22 \geq	<16

*Adaptación de los lineamientos EUCAST 2015 [54].

Pruebas PCR para identificar genes de betalactamasas en aislados de *Salmonella*.

En el contexto de esta investigación, se realizó pruebas de PCR para la identificación de las principales familias de genes de resistencia en los aislados de *Salmonella* spp. remitidas al Instituto nacional de Salud durante el 2015; los genes a identificar fueron: *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY-2} y *bla*_{PSE-1}. Los *primers* y las condiciones de amplificación que se utilizaron se resumen en la tabla 6; además, los protocolos para cada gen están descritos en el anexo 6.

Tabla 6. Genes y condiciones de PCR*

Genes	Secuencia de nucleótidos (5'→3')	Producto (pb)	Condiciones de PCR
<i>bla</i> _{TEM} ^a	ATGAGTATTCAACATTTCCG ACCAATGCTTAATCAGTGAG	964	“7 min a 94 °C; 35 ciclos de 1 min a 94 C, 1 min a 50 °C y 1 min a 72 °C; 10 min a 72 °C”
<i>bla</i> _{CTX-M} ^b	CGATGTGCAGTACCAGTAA TTAGTGACCAGAATCAGCGG	585	“5 min a 95 °C; 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 60 °C and 1 min a 72 °C; 10 min a 72 °C”
<i>bla</i> _{SHV} ^c	TTATCTCCCTGTTAGCCACC GATTTGCTGATTCGCTCGG	854	“5 min a 95 °C; 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 60 °C and 1 min a 72 °C; 10 min a 72 °C”
<i>bla</i> _{OXA} ^d	ACCAGATTCAACTTTCAA TCTTGGCTTTTATGCTTG	598	“7 min a 94 °C; 35 ciclos de 1 min a 94 C, 1 min a 50 °C y 1 min a 72 °C; 10 min a 72 °C”
<i>bla</i> _{CMY-2} ^e	GCACTTAGCCACCTATACGGAG GCTTTCAAGAATGCGCCAGG	758	“5 min a 94 °C; 25 ciclos de 45 s a 94 °C, 45 s a 58 °C y 1 min a 72 °C; 10 min a 72 °C”
<i>bla</i> _{PSE-1} ^f	TGCTTCGCAACTATGACTAC AGCCTGTGTTTGAGCTAGAT	418	“10 min at 95 °C; 30 ciclos de 30 s a 95 °C, 1 min a 55 °C and 1 min a 72 °C; 7 min at 72 °C”

*Adaptado de ^aOlesen [63], ^bBatchelor [64], ^cHasman [65], ^dGuerra [66], ^eArchambault [67], ^fChen [68].

Mediante la identificación de estos genes, se lograron determinar la presencia o ausencia de familias de genes de resistencia, tales como *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY-2} y *bla*_{PSE-1}.

En este estudio, la detección molecular de genes de resistencia que codifican enzimas betalactamasas se considera una forma de caracterización molecular que contribuye al entendimiento y abordaje de la resistencia antimicrobiana en *Salmonella* spp.

Fueron incluidos en las pruebas de PCR, 54 aislados de *Salmonella* con resultado positivo a BLEE por pruebas fenotípicas.

Extracción de ADN

Se realizó la extracción de ADN a partir de un cultivo puro de TSB incubado entre 14 a 16 horas a 37°C. El método de extracción se llevó a cabo según las recomendaciones del protocolo de purificación de ADN en bacterias gramnegativas (ThermoFisher®) descrito en el anexo 5. El ADN purificado se almacenó a -20 °C hasta su procesamiento.

Amplificación del ADN

En cada reacción de PCR se incluyeron como control negativo la *Escherichia coli* ATCC 25922 y control positivo para la *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603.

El *master mix* se ajustó a un volumen final de 25 µL según las condiciones descritas en el protocolo *Thermo Scientific™ Phusion™ High-Fidelity DNA Polymerase*: 12,5 µL de 2X *Phusion Master Mix*, 1,25 µL *primer 1*, 1,25 µL del *primer 2*, 7 µL de agua PCR y 3 µL del ADN extraído de cada aislado bacteriano. En la tabla 6 se describen las secuencias de nucleótidos, pares de bases (pb) y condiciones de PCR para los genes *bla* (*TEM*, *SHV*, *CTX-M*, *PSE-1*, *CMY-2* y *OXA*) y los protocolos para cada gen se encuentran detallados en el anexo 6.

Electroforesis en gel de agarosa

Los productos obtenidos de la PCR y el marcador de peso molecular ADN 100 pb *ladder* se procesaron mediante la técnica de electroforesis en gel de agarosa. Para ello se utilizó gel de agarosa grado molecular al 1,5 % en *buffer* T. A. E. (Tris-Acetato, EDTA) 1X. Se utilizó la cámara electroforética Mini-Sub® Cell GT Cell Bio-Rad® con solución *buffer* de corrida TBE (tris- base, EDTA, ácido bórico) a un voltaje de 100 V durante 30 minutos. El revelado se realizó en bromuro de etidio a una concentración de 1 µg/ mL por 20 minutos y se visualizó en un transiluminador de luz ultravioleta Vilber lourmat™.

Control de calidad

Para el control de calidad de las pruebas fenotípicas se utilizó la cepa *E. coli* ATCC 25922 como control negativo y la cepa *K. pneumoniae* ATCC 700603 como control positivo, siguiendo las recomendaciones del CLSI. Para las pruebas moleculares se utilizó la misma cepa de *E. coli* ATCC 25922 como control negativo y la misma cepa de *K. pneumoniae* ATCC 700603 como control positivo. La concentración del *template* de ADN extraído fue de 25 a 125 ng por cada 25 µL de volumen de reacción

Análisis de datos

Se empleó estadística descriptiva, pues se evaluó la susceptibilidad fenotípica a los antimicrobianos calculando el porcentaje de aislados susceptibles, intermedios y resistentes, así como también el porcentaje de bacterias portadoras de los genes estudiados en la tipificación molecular mediante las fórmulas de frecuencia. Los datos obtenidos se organizaron y procesaron en el software Microsoft® Excel® para Microsoft 365.

2.1.8 CONSIDERACIONES ÉTICAS

Esta tesis se enmarca en el proyecto del CONCYTEC: “Epidemiología molecular y genética de la salmonelosis multirresistente”, dicho proyecto pasó por un comité de ética que está incorporado en la Oficina General de Investigación y Transferencia Tecnológica del Instituto Nacional de Salud. El Comité Institucional de Ética en investigación (CIEI) dio su conformidad a este proyecto de tesis; el documento con código OT-0032-17, que certifica la aprobación del presente estudio por el CIEI está adjunto en el anexo 8.

El proyecto de tesis fue evaluado por el comité de investigación de la Escuela Profesional de Tecnología Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos y obtuvo la aprobación para su realización.

CAPÍTULO III: RESULTADOS

Datos generales

Se procesaron 96 aislados viables de *Salmonella*, que se obtuvieron de las cepas criopreservadas en el Banco Nacional de Material Biológico (BNMB) del INS. Los aislados provienen principalmente (Tabla 7) del Hospital de Emergencias Pediátricas (28,1 %), Hospital Sergio Bernales (22,9 %), Instituto Nacional del Niño (20,8 %), Instituto de Enfermedades Neoplásicas (11,5 %) y Hospital San Bartolomé (6,3 %). El tipo de muestra que envían son principalmente de heces 68 muestras (70,8 %).

Tabla 7. Lugar de origen y tipo de muestra

Lugar de origen	Cepa*	Heces	HR	Orina	Sangre	n	%
Hospital Emergencias Pediátricas	6	21	-	-	-	27	28,1 %
Hospital Sergio Bernales	-	22	-	-	-	22	22,9 %
Instituto Salud del Niño	-	20	-	-	-	20	20,8 %
INEM	-	1	-	1	9	11	11,5 %
Hospital San Bartolomé	6	-	-	-	-	6	6,3 %
Lambayeque	-	-	3	-	-	3	3,1 %
Clínica San Borja	-	-	-	1	-	1	1 %
Hospital Militar Central	-	1	-	-	-	1	1 %
Ancash	-	1	-	-	-	1	1 %
Apurímac	-	1	-	-	-	1	1 %
Ica	1	-	-	-	-	1	1 %
Lima	-	-	-	-	1	1	1 %
Puno	-	1	-	-	-	1	1 %
Total	13	68	3	2	10	96	100 %

Fuente: Netlab. Elaboración propia. *Cepa: Sin datos sobre el origen de la muestra. HR: Hisopado rectal, INEM: Instituto de Enfermedades neoplásicas.

Los pacientes fueron clasificados según las características demográficas de edad y sexo. El 47,9 % de los aislados pertenecían a pacientes del sexo femenino y un 52,1 % al sexo masculino. Las edades oscilaron entre 1 mes y 71 años, el 65,6 % correspondían a las edades entre 0 a 4 años, el 20,8 % de 5 a 14 años y el 13,5 % eran mayores de 15 años (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación por grupo etario y sexo (n=96)

Variable demográfica	n	Frecuencia
Edades		
De 0 a 4 años	63	65,6 %
5 a 14 años	20	20,8 %
>15	13	13,5 %
Sexo		
Femenino	46	47,9 %
Masculino	50	52,1 %

Fuente: Netlab. Elaboración propia.

De las muestras remitidas al INS (Tabla 9), la mayor parte correspondía a los serotipos *Salmonella* ser. Infantis 60,4 %, seguida de *Salmonella* ser. Enteritidis 24 % y *Salmonella* ser. Typhimurium 10,4 %.

Tabla 9. Distribución por serotipos de *Salmonella*

Serotipo	n	% Serotipo
<i>Salmonella</i> ser. Infantis	58	60,4 %
<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis	23	24 %
<i>Salmonella</i> ser. Typhimurium	10	10,4 %
<i>Salmonella</i> ser. Paratyphi B	2	2,1 %
<i>Salmonella</i> ser. Agona	1	1 %
<i>Salmonella</i> ser. Choleraesuis	1	1 %
<i>Salmonella</i> ser. Derby	1	1 %
TOTAL	96	100 %

Fuente: Netlab. Elaboración propia.

La susceptibilidad antimicrobiana en los aislados de *Salmonella* (Tabla 10), presentaron una mayor resistencia a nitrofurantoína 80,2 %, tetraciclina 65,6 %, sulfametoxazol-trimetoprima 54,2 % y cloranfenicol 44,8 %; sin embargo, ciprofloxacina presentó nula resistencia.

Tabla 10. Susceptibilidad antimicrobiana para antibióticos no betalactámicos (n=96)

Antibióticos	Rangos de interpretación		
	S n (%)	I n (%)	R n (%)
Nitrofurantoína (300 µg)	14 (14,6)	5 (5,2)	77 (80,2)
Tetraciclina (30 µg)	33 (34,4)	-	63 (65,6)
Sulfametoxazol-trimetoprima (23.75/1.25 µg)	44 (45,8)	-	52 (54,2)
Cloranfenicol (30 µg)	52 (54,2)	1 (1)	43 (44,8)
Ciprofloxacina (5 µg)	95 (99)	1(1)	-

Elaboración propia.

De los 96 aislados de *Salmonella* spp., 60 aislados 62,5 %, presentaron resistencia a al menos 1 antibiótico betalactámico.

En la tabla 11, se muestra a los antibióticos betalactámicos que presentaron mayor resistencia, estos fueron ampicilina (61,5 %), cefalotina (57,3 %), cefotaxima (56,3 %) y aztreonam (39,6 %). Por otro lado, se encontró baja resistencia para ceftazidima (2,1 %), cefepime (1 %) y fueron susceptibles a meropenem e imipenem. Los antibióticos que mostraron una mayor susceptibilidad intermedia son el cefepime (43,8 %), aztreonam (15,6 %) y cefoxitina (4,2 %).

Tabla 11. Susceptibilidad antimicrobiana para antibióticos betalactámicos (n=96)

Antibióticos betalactámicos	Rangos de interpretación		
	S n (%)	I n (%)	R n (%)
Ampicilina (AMP)	37 (38,5)	-	59 (61,5)
Cefalotina (KF)	40 (41,7)	1(1)	55 (57,3)
Cefotaxima (CTX)	42 (43,8)	-	54 (56,3)
Aztreonam (ATM)	43 (44,8)	15 (15,6)	38 (39,6)
Ceftazidima (CAZ)	93 (96,9)	1(1)	2 (2,1)
Cefepime (FEP))	53 (55,2)	42 (43,8)	1 (1)
Meropenem (MER)	96 (100)	-	-
Cefoxitina (FOX)	92 (95,8)	4 (4,2)	-
Imipenem (IMP)	96 (100)	-	-

Elaboración propia.

Tabla 12. Perfil de multidrogoresistencia por serotipos (n=96)

Serotipo	n	Resistencia a 3 o más clases de antibióticos			
		Tres n (%)	Cuatro n (%)	Cinco n (%)	Total n (%)
<i>Salmonella</i> ser. Infantis	58	3 (5,2)	16 (27,6)	36 (62,1)	55 (57,3)
<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis	23	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Typhimurium	10	1 (10)	1 (10)	-	2 (2,1)
<i>Salmonella</i> ser. Paratyphi B	2	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Agona	1	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Choleraesuis	1	-	-	1(1)	1(1)
<i>Salmonella</i> ser. Derby	1	-	-	-	-
TOTAL	96	4 (4,2)	17 (17,7)	37 (38,5)	58 (60,4)

Elaboración propia. MDR, multidrogoresistencia se define como la resistencia a tres o más clases de antibióticos según el mecanismo de acción, que incluyen: betalactámicos (AMC, AMP, FOX, CTX, CAZ, FEP, ATM); cloranfenicol (CHL); quinolona (CIP); Nitrofurantoina (NIT); tetraciclina (TE); trimetoprima-sulfametoxazol (SXT).

En la tabla 12, se muestra la multidrogoresistencia en un 60,4 % de los aislados de *Salmonella* con una mayor presencia en *Salmonella* ser. Infantis 57,3 %. También se observa la presencia de BLEE en un 56,3 % de los aislados; sin embargo, no se identificó presencia de carbapenemasas y tampoco betalactamasas de tipo AmpC.

Tabla 13. Betalactamasas identificadas por serotipos según antimicrobiano

Serotipo	Betalactámicos n (%)	^a AMP(r), ^b KF(r), ^c CTX(r)		
		BLEE	<i>bla</i> _{CTX-M}	<i>bla</i> _{TEM}
<i>Salmonella</i> ser. Infantis	54 (56,3)	53	12	1
<i>Salmonella</i> ser. Enteritidis	1 (1)	-	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Typhimurium	3 (3,1)	-	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Paratyphi B	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Agona	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Choleraesuis	1 (1)	1	-	-
<i>Salmonella</i> ser. Derby	-	-	-	-
TOTAL (n=96)	59(61,4)	54	12	1

Elaboración propia. ^aAMP: Ampicilina, ^bKF: Cefalotina, ^cCTX: Cefotaxima.

En la tabla 13, se observa los serotipos que presentaron mayor resistencia a los betalactámicos, *Salmonella* ser. Infantis 56,3 %, *Salmonella* ser. Typhimurium 3,1 %

y *Salmonella* ser. Enteritidis 1 %. En *Salmonella* ser. Infantis se da principalmente la presencia de BLEE (n=53).

En la caracterización molecular, se identificó la presencia de los genes *bla*_{CTX-M} y *bla*_{TEM}, principalmente, el serotipo de *Salmonella* ser. Infantis con presencia del gen *bla*_{CTX-M} en 12 aislados y el gen *bla*_{TEM} presente en 1 aislado. (Figura 6 y Figura 7).

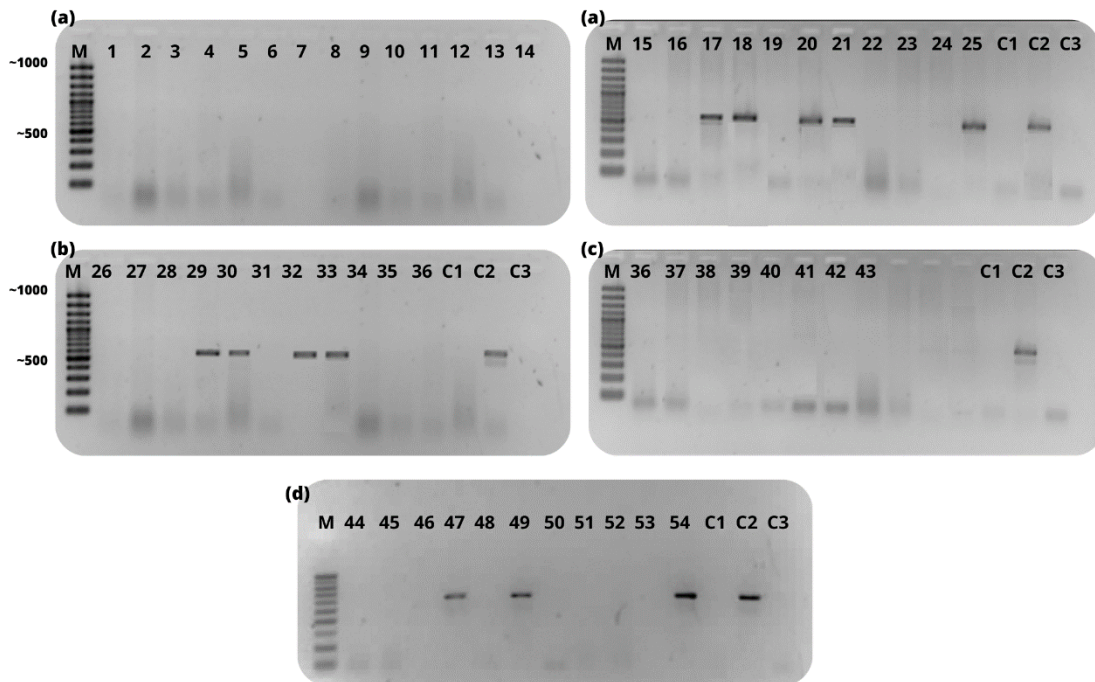


Figura 5. Electroforesis en gel de agarosa del gen *bla*_{CTX-M}. Gen *bla*_{CTX-M} (585 pb), Ladder 100 pb (M), Controles: (blanco (C1), Control positivo cepa de *K. pneumoniae* ATCC 700603 (C2) y Control negativo cepa de *E. coli* ATCC 25922 (C3). Orden de corrida electroforética: (a), (b), (c), (d).

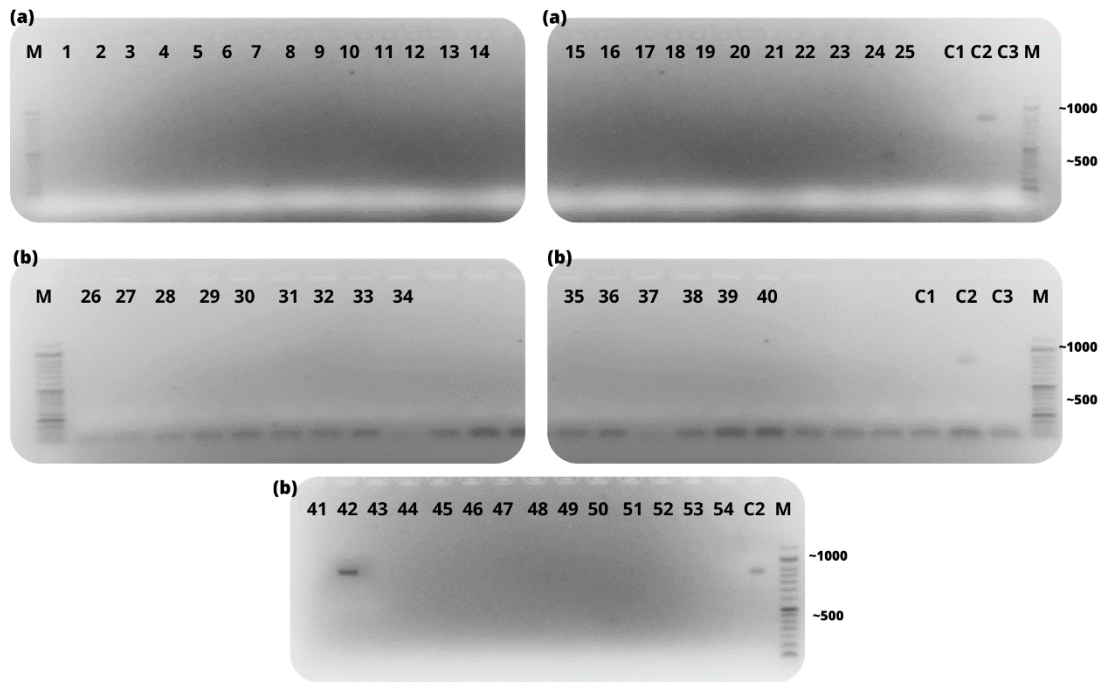


Figura 6. Electroforesis en gel de agarosa del gen *bla*_{TEM}
 Gen *bla*_{TEM} (964 pb), Ladder 100 pb (M), Controles: blanco (C1), Control positivo: Cepa de *K. pneumoniae* ATCC 700603 (C2) y Control negativo: Cepa de *E. coli* ATCC 25922 (C3). Orden de corrida electroforética: (a), (b).

CAPÍTULO IV: DISCUSIÓN

A nivel mundial se registran millones de casos de salmonelosis por año ^[69], y en el Perú se tiene pocos reportes sobre las diferentes serotipos y mecanismos de resistencia de *Salmonella* es aislados clínicos, por lo que el presente estudio describe los perfiles y principales mecanismos de resistencia de salmonelas aisladas en diferentes centros asistenciales enviadas al INS durante 2015.

La infección por *Salmonella* se observó tanto en pacientes masculinos como femeninos. La mayor frecuencia de aislados de *Salmonella* ocurrió en el grupo etario de 0 meses a 4 años con un (65,6 %) (Tabla 7). Esto fue consistente con lo reportado por Teferi et al. ^[70] quienes investigaron la prevalencia y los componentes de riesgo asociados de *Salmonella* en los pacientes con diarrea y encontraron un 60 % de casos positivos a *Salmonella* en muestras diarreicas de niños de 3 meses a 4 años de edad y un 40 % en mayores de 5 años. En el 2019, se reportó, en un hospital de Lima, mayor frecuencia de casos de salmonelosis invasiva en población entre 0 a 4 años (14,3 %) y mayores de 65 años (24,3 %) ^[71].

La determinación de la resistencia de *Salmonella* a los antibióticos es crucial para el régimen terapéutico durante los brotes. Los aislados de *Salmonella* fueron susceptibles a la ciprofloxacina en 99 % y un aislado presentó susceptibilidad intermedia. Este resultado concuerda con un estudio realizado en Perú por Ríos et al. ^[72], en el estudio todos los aislados de *Salmonella enterica* evaluados presentaron sensibilidad a la ciprofloxacina, también Teferi et al. ^[70] reportó una susceptibilidad del 100 % ciprofloxacina en aislados de *Salmonella*. Este resultado es positivo desde el punto de vista clínico y epidemiológico, ya que la ciprofloxacina es un antibiótico importante para el tratamiento de la sepsis, especialmente en los casos pediátricos ^[73]; sin embargo, los aislados mostraron una alta resistencia a nitrofurantoína 80,2 %, tetraciclina 65,6 %, ampicilina 61,5 %, trimetoprima-sulfametoxazol 54,2 % y cloranfenicol 44,8 %; estos datos muestran una posible consecuencia del uso extensivo de tales antibióticos. Los resultados son comparables con los encontrados por De Toro et al. ^[21], quienes en el 2014 reportaron una resistencia a tetraciclina 58 % y ampicilina 55 % en 114 aislados de *Salmonella*. Además, Noh et al. ^[74] identificaron una alta resistencia a tetraciclina 63,5 %, ampicilina 57,7 % y cloranfenicol 30,8 % en aislados de *Salmonella*. Un estudio realizado en Ecuador entre 2015 y 2016 encontró que el

94,8 % de las cepas de *Salmonella* spp. eran resistentes a la nitrofurantoína, el 82,8 % a la tetraciclina, el 79,3 % al cloranfenicol y el 81 % al sulfametoxazol-trimetoprima [75]. Un estudio realizado en 2020 halló que *Salmonella* spp. aislada de muestras humanas presentaba altas tasas de resistencia a nitrofurantoína 74 %, ácido nalidíxico 64 %, ciprofloxacina 63 %, tetraciclina 63 %, ampicilina 56 %, cefotaxima 53 % y cloranfenicol 50 % [76].

Cuando se evaluaron los perfiles de resistencia y los serotipos (Tabla 11), *Salmonella* ser. Infantis presentó el mayor número de aislados con MDR de hasta 5 clases de antibióticos (CHL, SXT, NIT, TE y betalactámicos) y *Salmonella* ser. Typhimurium presentó MDR a 4 clases de antibióticos (CHL, SXT, TE y AMP). Estos resultados son consistentes con otros estudios realizados en USA y Brasil, donde se han reportado altos niveles de resistencia a múltiples antibióticos en *Salmonella* ser. Infantis y *Salmonella* ser. Typhimurium aisladas de animales y alimentos [77-79]. La presencia de genes de resistencia y elementos móviles como integrones y plásmidos en estas cepas puede facilitar la transferencia horizontal de dichos genes entre diferentes poblaciones bacterianas, lo que representa un riesgo para la salud pública y animal [77,78,80].

El estudio molecular realizado mediante PCR reveló presencia del gen *bla*_{CTX-M} en 12 (22,2 %) de los aislamientos de *Salmonella* ser. Infantis productores de BLEE. Desde el 2004 se ha reportado la producción de CTX-M en aislados de *Salmonella* en 43 países de Europa, América Latina, USA, Taiwán y el Pacífico occidental [81]. Se encontró similitud con lo reportado en Chile que evaluaron genes de resistencia y el gen *bla*_{CTX-M} se identificó en el 23,6 % de los aislados de *Salmonella* ser. Infantis productores de BLEE [82]. En el Perú, se reportó incrementos de *Salmonella* spp. productoras de BLEE, se evaluaron genóticamente a un grupo de estos aislamientos y encontraron en todos los casos genes de betalactamasas de la familia CTX-M [11]. Estudios genómicos recientes reportaron que el gen *bla*_{CTX-M} está presente en el megaplásmido pESI en diferentes aislados de *Salmonella* ser. Infantis en varios continentes, y en un estudio en Perú representó la mayoría de los casos de *Salmonella* en pacientes pediátricos [83-85]. Dada la presencia global del megaplásmido pESI en diversos aislados de *Salmonella* ser. Infantis, se requiere realizar estudios que permitan identificar y monitorizar su distribución y prevalencia, así como evaluar su potencial

impacto en la salud pública del Perú.

La salmonelosis es una zoonosis de origen alimentario causada por la bacteria *Salmonella*, que puede transmitirse de animales a humanos por el consumo de alimentos contaminados [86,87]. En el presente estudio, el 60,4 % corresponden a *Salmonella* ser. Infantis y el 24 % a *Salmonella* ser. Enteritidis. La aparición de *Salmonella* ser. Infantis se ha descrito en países europeos y USA, en América del Sur, también se ha descrito en Ecuador, Perú y Brasil [82]. Los principales reservorios animales de *Salmonella* ser. Infantis son las aves de corral y los cerdos[88]. Los principales factores que favorecen la transmisión de *Salmonella* son el contacto directo o indirecto con aves de corral infectadas [89], el consumo de huevos o carne cruda o poco cocinada procedentes de animales portadores [86], la falta de higiene personal y ambiental al manipular alimentos o animales[87,90] y la resistencia a múltiples antimicrobianos que dificulta el tratamiento [48]. Estos estudios sugieren la presencia y propagación de *Salmonella* ser. Infantis a lo largo de la vía alimentaria y es necesario realizar un proceso de monitoreo o vigilancia epidemiológica permanente que permita evidenciar la aparición de este y otros serotipos de *Salmonella* zoonótica en alimentos o animales productores de alimentos.

Este estudio se ha identificado la susceptibilidad a los antibióticos y genes de resistencia a los betalactámicos en *Salmonella* recibidas en el LANARE, principalmente *Salmonella* ser. Infantis, *S.* ser. Enteritidis y *Salmonella* ser. Typhimurium, como parte de la vigilancia realizada por el INS en el 2015. Los hallazgos sobre la MDR en aislados de *Salmonella* en el presente estudio son relevantes por que brindan información que ayudarían a comprender mejor la multirresistencia en nuestro país.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- En este estudio se observó la resistencia a betalactámicos en 62,5 % de los aislados enviados al LANARE del INS. Con una alta resistencia a la ampicilina 61,5 %, cefalotina 57,3 %, cefotaxima 56,3 % y aztreonam 39,6 %, y una susceptibilidad del 100 % para imipenem, meropenem y ceftazidima, y del 99 % para cefepime y 97,9 % para ceftazidima.
- En el análisis por grupo etario, la mayoría de los aislados corresponden a menores de 4 años (65,6 %).
- El serotipo más frecuente fue *Salmonella* ser. Infantis (60,4 %), seguida de *Salmonella* ser. Enteritidis (24 %) y *Salmonella* ser. Typhimurium (10,4 %).
- La multidrogoresistencia (MDR) en los aislados de *Salmonella* se encontró en un 60,4 % con una mayor presencia en *Salmonella* ser. Infantis 57,3 %.
- El gen *bla*_{CTX-M} estuvo presente en el 22,2 % de los aislados de *Salmonella* productores de BLEE y el gen *bla*_{TEM} estuvo presente en el 1,9%. Así mismo, no se identificó los genes *bla*_{SHV}, *bla*_{PSE-1}, *bla*_{CMY-2}, *bla*_{OXA}.
- Los datos sobre la susceptibilidad de los aislados a la ciprofloxacina (99 %) y la ceftazidima (96,9 %) tienen gran relevancia para la salud pública, ya que estos antibióticos podrían ser esenciales para el tratamiento de pacientes con infecciones extraintestinales por *Salmonella*.

5.2 RECOMENDACIONES

- Fortalecer el sistema de vigilancia antimicrobiana: Considerando los perfiles de resistencia a los diferentes tipos de antibióticos identificados en los aislados de *Salmonella*, se recomienda fortalecer el sistema de vigilancia antimicrobiana continuo. Este sistema permitirá monitorear la resistencia a los antibióticos a lo largo del tiempo y detectar patrones emergentes de resistencia en los serotipos de *Salmonella*.
- Promover el uso prudente de antibióticos: Con el fin de reducir la resistencia antimicrobiana, es importante promover políticas y programas de uso prudente de antibióticos en los hospitales y centros de atención médica que remiten las muestras al INS. Esto incluye educar a los profesionales de la salud sobre las pautas de prescripción adecuadas, así como concienciar a los pacientes y sus cuidadores sobre la importancia de seguir las instrucciones de tratamiento y completar los cursos de antibióticos.
- Investigar los factores asociados con la MDR: Dado que se observó una alta prevalencia de MDR en los serotipos de *Salmonella* estudiados, se recomienda realizar investigaciones adicionales para identificar los factores de riesgo asociados con esta resistencia. Esto puede incluir estudios epidemiológicos para evaluar la relación entre la MDR y otros factores ambientales y clínicos.
- Implementar estrategias de control de infecciones: Dado que las betalactamasas de fenotipo BLEE fue detectada en los aislados de *Salmonella*, es importante implementar y reforzar las medidas de control de infecciones en los hospitales y centros de atención médica. Esto incluye prácticas de higiene adecuadas, como el lavado de manos, la desinfección de superficies y equipos, y el cumplimiento estricto de las precauciones estándar de control de infecciones.
- Investigar la presencia de otros genes de resistencia: Además de los genes *bla*_{TEM}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CMY-2} y *bla*_{PSE-1}, se recomienda realizar investigaciones adicionales para identificar la presencia de otros genes de resistencia en los aislados de *Salmonella*. Esto permitirá una comprensión más completa de los mecanismos de resistencia y ayudará en el diseño de estrategias de control más efectivas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Frieden T. Antibiotic Resistance Threats in the United States 2013 [Internet]. DIANE Publishing Company; 2013. Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=bANJngEACAAJ>
2. Ramos Martínez A, Pintos Pascual I, Múñez Rubio E. Infecciones en el paciente inmunocomprometido (II). Paciente trasplantado. *Medicine (Madr)* 2018;12(55):3245-52.
3. Ventola CL. The antibiotic resistance crisis: Part 1: causes and threats. *P and T* 2015;40(4):277-83.
4. WHO. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Organización Mundial de la Salud 2018 [citado 2019 nov 1]; Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>
5. Colquechagua Aliaga F, Sevilla Andrade C, Gonzales Escalante E. Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Perú. *scielo*; 2015.
6. Li R, Lai J, Wang Y, Liu S, Li Y, Liu K, et al. Prevalence and characterization of Salmonella species isolated from pigs, ducks and chickens in Sichuan Province, China. *International Journal of Food Microbiology* 2013;163(1):14-8.
7. Ehrhardt K, Becker AL, Grassl GA. Determinants of persistent Salmonella infections. *Current Opinion in Immunology* 2023;82:102306.
8. Teklemariam AD, Al-Hindi RR, Albiheyri RS, Alharbi MG, Alghamdi MA, Filimban AAR, et al. Human Salmonellosis: A Continuous Global Threat in the Farm-to-Fork Food Safety Continuum. *Foods* 2023;12(9):1756.
9. Cejas D, Vignoli R, Quinteros M, Marino R, Callejo R, Betancor L, et al. First detection of CMY-2 plasmid mediated β -lactamase in Salmonella Heidelberg in South America. *Rev Argent Microbiol* 2014;46(1):30-3.
10. Quesada A, Reginatto GA, Ruiz Español A, Colantonio LD, Burrone MS. Resistencia antimicrobiana de Salmonella spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* 2016;33(1):32-44.
11. Gonzales Escalante E. Incremento de aislamientos de Salmonella spp. productora de β -lactamasas de espectro extendido en pacientes pediátricos del Instituto Nacional de Salud del Niño. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 2015;32(3):605.
12. MINSA. No a la automedicación: se incrementa la resistencia a los antibióticos | Gobierno del Perú [Internet]. 2019 [citado 2019 nov 12]; Available from: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/noticias/68501-no-a-la-automedicacion->

se-incrementa-la-resistencia-a-los-antibioticos

13. Luo Y, Yi W, Yao Y, Zhu N, Qin P. Characteristic diversity and antimicrobial resistance of Salmonella from gastroenteritis. *Journal of Infection and Chemotherapy* 2018;24(4):251-5.
14. Gawish MF, Ahmed AM, Torky HA, Shimamoto T. Prevalence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing Salmonella enterica from retail fishes in Egypt: A major threat to public health. *International Journal of Food Microbiology* 2021;351:109268.
15. CDC. Pathogen Genomics | CDC [Internet]. [citado 2021 nov 18]; Available from: <https://www.cdc.gov/genomics/pathogen/index.htm>
16. Davies J, Davies D. Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2010;74(3):417-33.
17. Reller ME. Salmonella Species [Internet]. En: *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases*. Elsevier; 2018. página 837--842.e2. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323401814001468>
18. Percival SL, Williams DW. Salmonella [Internet]. En: *Microbiology of Waterborne Diseases: Microbiological Aspects and Risks*. Elsevier; 2014. página 209-22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00010-X>
19. Ricke SC, Calo JR. Antibiotic Resistance in Pathogenic Salmonella [Internet]. En: Chen CY, Yan X, Jackson CRBTAR and FS, editores. *Antimicrobial Resistance and Food Safety*. San Diego: Elsevier; 2015 [citado 2019 oct 21]. página 37-53. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012801214700003X>
20. Graziani C, Losasso C, Luzzi I, Ricci A, Scavia G, Pasquali P. Salmonella [Internet]. En: *Foodborne Diseases*. Elsevier; 2017. página 133-69. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B978012385007200005X>
21. De Toro M, Seral C, Rojo-Bezares B, Torres C, Castillo FJ, Sáenz Y. Resistencia a antibióticos y factores de virulencia en aislados clínicos de Salmonella enterica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2014;32(1):4-10.
22. Pegues DA, Miller SI. 225 - Salmonella Species [Internet]. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser Douglas, and Bennett's *Principles and Practice of Infectious Diseases (Eighth Edition)* MJBTM, editores. . Philadelphia: Content Repository Only!; 2015. página 2559-2568.e3. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781455748013002253>
23. Sanderson KE, Liu SL, Tang L, Johnston RN. 71 - Salmonella Typhi and Salmonella Paratyphi A [Internet]. En: *Molecular Medical Microbiology*:

- Second Edition. Elsevier Ltd; 2014. página 1275-306. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-397169-2.00071-8>
24. Mohr KI. History of Antibiotics Research [Internet]. En: Stadler M, Dersch P, editores. *How to Overcome the Antibiotic Crisis*. Cham: Springer International Publishing; 2016 [citado 2023 may 1]. página 237-72. Available from: https://link.springer.com/10.1007/82_2016_499
 25. Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Current Opinion in Microbiology* 2019;51:72-80.
 26. Lima LM, Silva BNM da, Barbosa G, Barreiro EJ. β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European Journal of Medicinal Chemistry* 2020;208:112829.
 27. Dowling A, O'Dwyer J, Adley C. Antibiotics: Mode of action and mechanisms of resistance. En: *Antimicrobial research: Novel bioknowledge and educational programs*. Formatex Research Center S.L.; 2017. página 536-45.
 28. Mora-Ochomogo M, T. Lohans C. β -Lactam antibiotic targets and resistance mechanisms: from covalent inhibitors to substrates. *RSC Medicinal Chemistry* 2021;12(10):1623-39.
 29. Yip DW, Gerriets V. Penicillin [Internet]. En: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [citado 2023 may 2]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554560/>
 30. Codjoe FS, Donkor ES. Carbapenem Resistance: A Review. *Medical Sciences* 2018;6(1):1.
 31. Bush K, Bradford PA. β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2016;6(8):a025247.
 32. Domínguez DC, Meza-Rodriguez SM. Development of antimicrobial resistance: future challenges [Internet]. En: Prasad MNV, Vithanage M, Kapley ABTP, Management PCPW, Technology T, editores. *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology*. Elsevier; 2019. página 383-408. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128161890000160>
 33. Blair JMA, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJV. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature Reviews Microbiology* 2015;13(1):42-51.
 34. Manage PM. Heavy use of antibiotics in aquaculture: Emerging human and animal health problems – A review. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences* 2018;23(1):13.
 35. Rossolini GM, Arena F, Giani T. Mechanisms of Antibacterial Resistance [Internet]. En: Cohen J, Powderly WG, Opal SMBTID (Fourth E, editores.

Infectious Diseases. Elsevier; 2017. página 1181--1196.e1. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702062858001386>

36. Chaudhari R, Singh K, Kodgire P. Biochemical and molecular mechanisms of antibiotic resistance in Salmonella spp. *Research in Microbiology* 2023;174(1-2):103985.
37. Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum* 2016;4(2):10.1128/microbiolspec.VMBF--0016--2015.
38. MacGowan A, Macnaughton E. Antibiotic resistance. *Medicine* 2017;45(10):622-8.
39. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, et al. β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol* 2019;431(18):3472-500.
40. Bush K. Classification for β -lactamases: historical perspectives. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2023;0(0):1-10.
41. Bonomo RA. β -Lactamases: A Focus on Current Challenges. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2017;7(1):a025239.
42. Bush K, Jacoby GA. Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 2010;54(3):969-76.
43. ur Rahman S, Ali T, Ali I, Khan NA, Han B, Gao J. The Growing Genetic and Functional Diversity of Extended Spectrum Beta-Lactamases. *BioMed Research International* 2018;2018:e9519718.
44. Bush K. Past and Present Perspectives on β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2018;62(10):e01076-18.
45. Bush K. Proliferation and significance of clinically relevant β -lactamases. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2013;1277(1):84-90.
46. D'Andrea MM, Arena F, Pallecchi L, Rossolini GM. CTX-M-type β -lactamases: A successful story of antibiotic resistance. *International Journal of Medical Microbiology* 2013;303(6-7):305-17.
47. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases. *The Lancet Infectious diseases* 2013;13(9):785-96.
48. Zhan Z, Xu X, Gu Z, Meng J, Wufuer X, Wang M, et al. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance of invasive non-typhoidal Salmonella in China, 2007–2016. *Infection and Drug Resistance* 2019;Volume 12:2885-97.

49. Samanta I, Bandyopadhyay S. Characteristics of antimicrobial resistance among microorganisms of concern to animal, fish and human health [Internet]. En: Antimicrobial Resistance in Agriculture. Elsevier; 2020 [citado 2023 jun 6]. página 135-51. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128157701000134>
50. Frye JG, Jackson CR. Genetic mechanisms of antimicrobial resistance identified in *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, and *Enterococcus* spp. isolated from U.S. food animals. *Frontiers in Microbiology* 2013;4:135.
51. Cosby DE, Cox NA, Harrison MA, Wilson JL, Buhr RJ, Fedorka-Cray PJ. *Salmonella* and antimicrobial resistance in broilers: A review. *The Journal of Applied Poultry Research* 2015;24(3):408-26.
52. Watkins RR, Bonomo RA. 140 - β -Lactam Antibiotics [Internet]. En: Cohen J, Powderly WG, Opal SM, editores. *Infectious Diseases (Fourth Edition)*. Elsevier; 2017 [citado 2023 jun 8]. página 1203-1216.e2. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780702062858001404>
53. CLSI (Clinical Laboratory Standardization Institute). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Twenty-Fifth Informational Supplement. CLSI. M100-S25. 2015.
54. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters [Internet]. 2015. Available from: <http://www.eucast.org>.
55. Dawoud TMS, Syed A, Maurya AK, Ahmad SS, Rabbani Q, Alyousef AA, et al. Incidence and antimicrobial profile of extended-spectrum β -lactamase producing gram-negative bacterial isolates: An in-vitro and statistical analysis. *Journal of Infection and Public Health* 2020;13(11):1729-33.
56. Pitout JDD, Le PG, Moore KL, Church DL, Gregson DB. Detection of AmpC β -lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp. and *Proteus mirabilis* in a regional clinical microbiology laboratory. *Clinical Microbiology and Infection* 2010;16(2):165-70.
57. Cercenado E. Laboratory detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Revista Espanola de Quimioterapia* 2015;28(S1):8-11.
58. Waters DLE, Shapter FM. The polymerase chain reaction (PCR): general methods. *Methods in molecular biology* (Clifton, NJ) 2014;1099:65-75.
59. Koprinarova M. Methods To Improve Molecular Detection of *Salmonella* in Complex Herbal Matrices Containing Inhibitors. *Journal of Food Protection* 2021;84(8):1309-14.
60. Akyala AI, Alsam S. Extended Spectrum Beta Lactamase Producing Strains of *Salmonella* species - A Systematic Review. *Journal of Microbiology* 2015;5(2):57-70.

61. Oludairo O, Kwaga J, Kabir J, Abdu P, Gitanjali A, Perrets A, et al. Review of Salmonella Characteristics, History, Taxonomy, Nomenclature, Non Typhoidal Salmonellosis (NTS) and Typhoidal Salmonellosis (TS). *Zagazig Veterinary Journal* 2022;50(2):160-71.
62. Tamariz J, Guevara V, Guerra H. Rapid detection of salmonellosis due to *Salmonella enterica* serovar Typhimurium in Peruvian commercially bred cavies, using indigenous wild bacteriophages. *Germs* 2018;8(4):178-85.
63. Olesen I, Hasman H, Aarestrup FM. Prevalence of beta-lactamases among ampicillin-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* isolated from food animals in Denmark. *Microbial drug resistance* 2004;10(4):334-40.
64. Batchelor M, Hopkins K, Threlfall EJ, Stallwood AD, Davies RH, Liebana E. bla CTX-M Genes in Clinical *Salmonella* Isolates Recovered from Humans in England and Wales from 1992 to 2003. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2005;49(4):1319-22.
65. Hasman H, Mevius D, Veldman K, Olesen I, Aarestrup FM. β -Lactamases among extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2005;56(1):115-21.
66. Guerra B, Soto SM, Argüelles JM. Multidrug Resistance Is Mediated by Large Plasmids Carrying a Class 1 Integron in the Emergent *Salmonella enterica* Serotype. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2001;45(4):1305-8.
67. Archambault M, Petrov P, Hendriksen RS, Asseva G, Bangtrakulnonth A, Hasman H, et al. Molecular Characterization and Occurrence of Extended-Spectrum β -Lactamase Resistance Genes among. *Microbial drug resistance (Larchmont, NY)* 2006;12(3):192-8.
68. Chen S, Zhao S, White DG, Schroeder CM, Lu R, Yang H, et al. Characterization of Multiple-Antimicrobial-Resistant *Salmonella* Serovars Isolated from Retail Meats. *Applied and Environmental Microbiology* 2004;70(1):1-7.
69. WHO. *Salmonella (non-typhoidal)* [Internet]. 2018 [citado 2023 mar 21]; Available from: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))
70. Teferi SC. Prevalence, Antibiotic Susceptibility Profile, and Associated Risk Factors of *Salmonella* Isolate among Diarrheal Patients Visiting Dessie Referral Hospital, Northeast Ethiopia. *International Journal of Microbiology* [Internet] 2020;2020. Available from: <https://www.proquest.com/scholarly-journals/prevalence-antibiotic-susceptibility-profile/docview/2456404279/se-2>

71. Parra-Payano VD, Rondón-Paz CR, García C. Salmonelosis invasiva en un hospital de Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública* 2019;36(3):464-8.
72. Arnold Ríos C, Morales-Cauti S, Miguel Vilca L, Andrea Carhuallanqui P, Daphne Ramos D. Determinación del perfil de resistencia antibiótica de *Salmonella enterica* aislada de cerdos faenados en un matadero de Lima, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú* 2019;30(1):438-45.
73. Viana C, Sereno MJ, Pegoraro K, Yamatogi RS, Call DR, dos Santos Bersot L, et al. Distribution, diversity, virulence genotypes and antibiotic resistance for *Salmonella* isolated from a Brazilian pork production chain. *International Journal of Food Microbiology* 2019;310:108310.
74. Noh EB, Kim YB, Jeon HY, Seo KW, Son SH, Lee YJ. Antimicrobial Resistance and Genetic Diversity of *Salmonella* Serotypes Recovered from Edible Pork Offal from Korea. *Microbial Drug Resistance* 2019;mdr.2019.0010.
75. Villagómez Estrada S, Logacho Pilataxi M, Vinueza Burgos C. Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de *Salmonella enterica* aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas: REMCB*, ISSN-e 2477-9148, ISSN 2477-9113, Vol 38, N° 1, 2017, págs 11-24 2017;38(1):11-24.
76. Sifuentes WQ, Hurtado CV, Meza AM, Zamudio ML, Gavilan RG. Patrones de resistencia a los antimicrobianos en serovares de *Salmonella enterica* en Perú, 2012-2015. *Revista chilena de infectología* 2020;37(4):395-401.
77. Glenn LM, Lindsey RL, Frank JF, Meinersmann RJ, Englen MD, Fedorka-Cray PJ, et al. Analysis of Antimicrobial Resistance Genes Detected in Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Isolated from Food Animals. *Microbial Drug Resistance* 2011;17(3):407-18.
78. Possebon FS, Alvarez MVN, Ullmann LS, Araújo JP. Antimicrobial resistance genes and class 1 integrons in MDR *Salmonella* strains isolated from swine lymph nodes. *Food Control* 2021;128:108190.
79. Hull DM, Harrell E, Harden L, Thakur S. Multidrug resistance and virulence genes carried by mobile genomic elements in *Salmonella enterica* isolated from live food animals, processed, and retail meat in North Carolina, 2018–2019. *International Journal of Food Microbiology* 2022;378:109821.
80. Russo I, Bencardino D, Napoleoni M, Andreoni F, Schiavano GF, Baldelli G, et al. Prevalence, Antibiotic-Resistance, and Replicon-Typing of *Salmonella* Strains among Serovars Mainly Isolated from Food Chain in Marche Region, Italy. *Antibiotics* 2022;11(6):725.
81. Arlet G, Barrett TJ, Butaye P, Cloeckert A, Mulvey MR, White DG.

- Salmonella resistant to extended-spectrum cephalosporins: prevalence and epidemiology. *Microbes and Infection* 2006;8(7):1945-54.
82. Lapiere L, Cornejo J, nueva E a sitio externo E enlace se abrirá en una ventana, Zavala S, Galarce N, nueva E a sitio externo E enlace se abrirá en una ventana, et al. Phenotypic and Genotypic Characterization of Virulence Factors and Susceptibility to Antibiotics in Salmonella Infantis Strains Isolated from Chicken Meat: First Findings in Chile. *Animals* [Internet] 2020 [citado 2023 may 1];10(6). Available from: <https://www.proquest.com/docview/2415663944/abstract/C088DED134F24224PQ/9>
 83. Tyson GH, Li C, Harrison LB, Martin G, Hsu CH, Tate H, et al. A Multidrug-Resistant Salmonella Infantis Clone is Spreading and Recombining in the United States. *Microb Drug Resist* 2021;27(6):792-9.
 84. Bertani AM de J, Cunha MPV, de Carvalho E, Araújo LT, dos Santos CA, Amarante AF, et al. Genomic characterization of a multi-drug resistant, CTX-M-65-producing clinical isolate of Salmonella Infantis isolated in Brazil. *Microbes and Infection* 2022;24(5):104972.
 85. Bogomazova AN, Gordeeva VD, Krylova EV, Soltynskaya IV, Davydova EE, Ivanova OE, et al. Mega-plasmid found worldwide confers multiple antimicrobial resistance in Salmonella Infantis of broiler origin in Russia. *International Journal of Food Microbiology* 2020;319:108497.
 86. EFSA. Salmonella | EFSA [Internet]. 2022 [citado 2023 mar 16]; Available from: <https://www.efsa.europa.eu/es/topics/topic/salmonella>
 87. Comunidad de Madrid. Salmonelosis: la zoonosis más común en brotes alimentarios [Internet]. Comunidad de Madrid 2017 [citado 2023 mar 18]; Available from: <https://www.comunidad.madrid/servicios/salud/salmonelosis-zoonosis-comun-brotes-alimentarios>
 88. Salmonella Infantis - Food Safety - Dashboard [Internet]. [citado 2023 mar 20]; Available from: <https://confluence.cornell.edu/display/FOODSAFETY/Salmonella+Infantis>
 89. Jarquin C, Alvarez D, Morales O, Morales AJ, López B, Donado P, et al. Salmonella on Raw Poultry in Retail Markets in Guatemala: Levels, Antibiotic Susceptibility, and Serovar Distribution. *Journal of Food Protection* 2015;78(9):1642-50.
 90. Mejia L, Vela G, Zapata S. High Occurrence of Multiresistant Salmonella Infantis in Retail Meat in Ecuador. *Foodborne Pathogens and Disease* 2021;18(1):41-8.

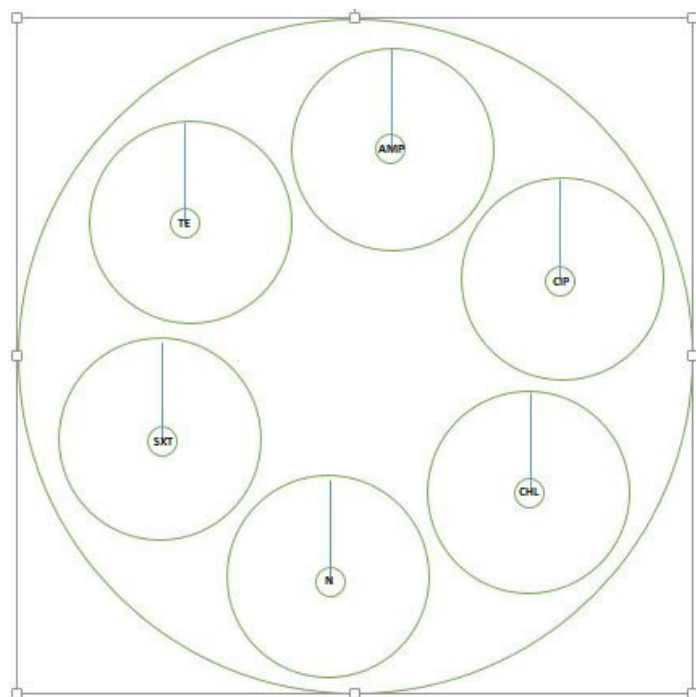
ANEXOS

ANEXO 3 REGISTRO DE RESULTADO: MÉTODOS DE SINERGIA DOBLE DISCO Y CLSI.

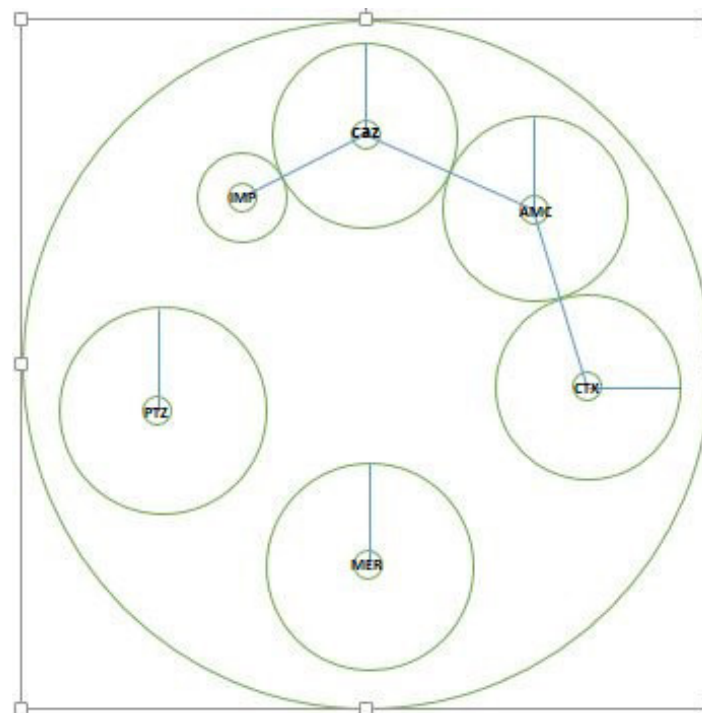
N	COD. LAB.	SINERGIA DOBLE DISCO (BLEE)									FECHA PROCESO	PRUEBA CONFIRMATORIA BLEE - CLSI									FECHA PROCESO	OBSERVACIONES			
		CAZ		CTX		AMC		FOX	FEP			RESULTADO	ANALISTA	CAZ		CAZ/AC		CTX		CTX/AC			RESULTADO	ANALISTA	
		0	1	0	1	0	1	0	1	0	1		0	1	0	1	0	1	0	1					

ANEXO 4 ESQUEMAS DE DISTRIBUCIÓN DE DISCOS

Esquema 1 y 2: Distribución de discos para la susceptibilidad a los antimicrobianos y determinación fenotípica de betalactamasas (BLEE y Carbapenemasas)



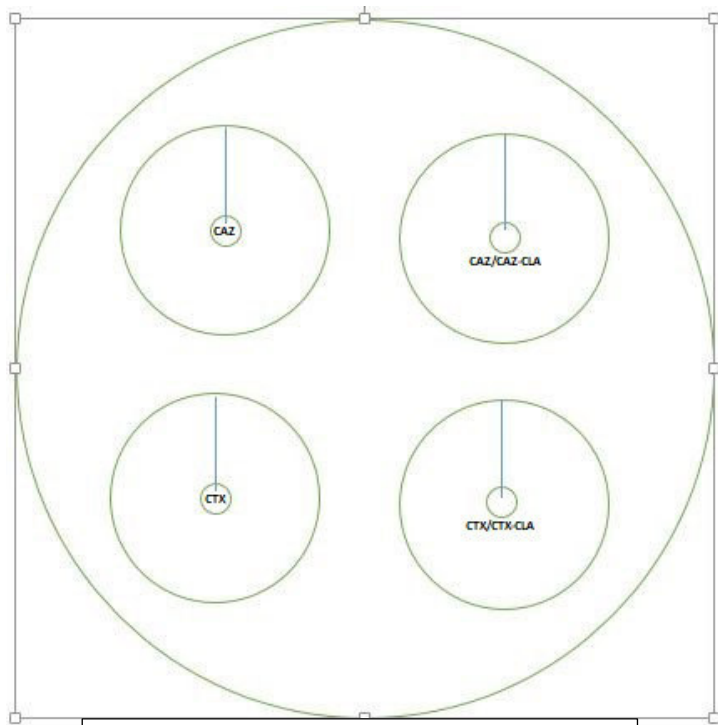
Esquema 1: Susceptibilidad a los antimicrobianos



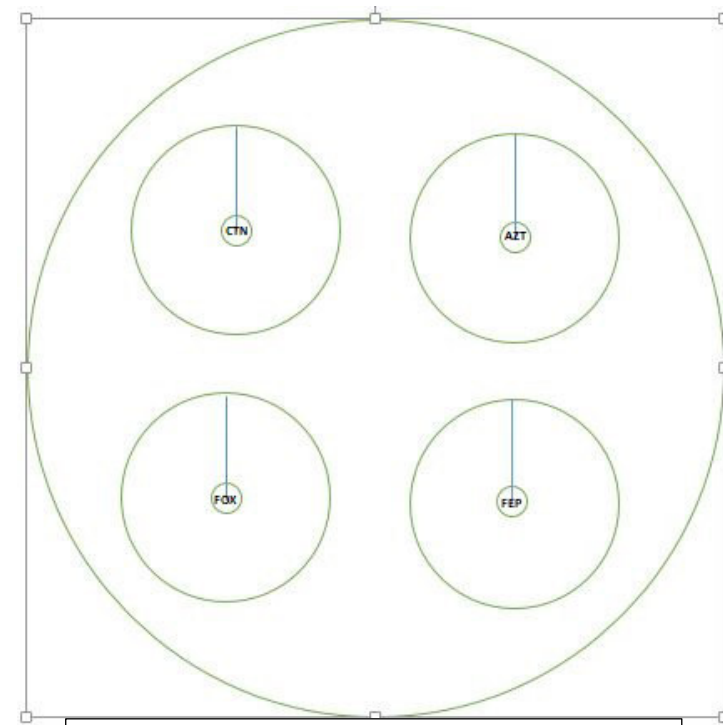
Esquema 2: Método de Jarlier – BLEE y Método de Screening -Carbapenemasas

ANEXO N 4 ESQUEMAS DE DISTRIBUCIÓN DE DISCOS.

Esquema 3 y 4: Distribución de discos para la determinación fenotípica de betalactamasas (BLEE y AmpC)



Esquema 3: Método CLSI - BLEE



Esquema 4: Método Screening - AmpC

ANEXO 5 PROTOCOLO DE PURIFICACIÓN DE ADN GENÓMICO DE BACTERIAS GRAMNEGATIVAS

1	Coseche hasta 2×10^9 células bacterianas en un tubo de microcentrífuga de 1,5 o 2 ml mediante centrifugación durante 10 min a $5000 \times g$. Deseche el sobrenadante.
2	Resuspender el sedimento en 180 μL de Solución de Digestión. Agregue 20 μL de solución de Proteinasa K y mezcle bien mediante vortex o pipeteo para obtener una suspensión uniforme.
3	Incube la muestra a 56°C mientras mezcla mediante vortex ocasionalmente o use un baño de agua con agitación, una plataforma oscilante o un termomezclador hasta que las células estén completamente lisadas (~ 30 min).
4	Agregar 20 μL de solución A de ARNasa, mezclar por vortex e incubar la mezcla durante 10 min a temperatura ambiente.
5	Agregue 200 μL de Solución de Lisis a la muestra. Mezcle bien mediante vortex durante unos 15 s hasta obtener una mezcla homogénea.
6	Agregue 400 μL de etanol al 50 % y mezcle pipeteando o agitando en vórtex.
7	Transfiera el lisado preparado a una columna de purificación de ADN genómico GeneJET insertada en un tubo de recolección. Centrifugar la columna durante 1 min a $6000 \times g$. Deseche el tubo de recolección que contiene la solución. Coloque la columna de purificación de ADN genómico GeneJET en un nuevo tubo de recolección de 2 ml (incluido). Nota. ¡Cierre bien la bolsa con las columnas de purificación de ADN genómico GeneJET después de cada uso!
8	Agregue 500 μL de Wash Buffer I (con etanol agregado). Centrifugar durante 1 min a $8000 \times g$. Deseche el flujo continuo y vuelva a colocar la columna de purificación en el tubo de recolección.
9	Agregue 500 μL de Wash Buffer II (con etanol agregado) a la columna de purificación de ADN genómico GeneJET. Centrifugar durante 3 min a máxima velocidad ($\geq 12000 \times g$). <i>Opcional.</i> Si se observa solución residual en la columna de purificación, vacíe el tubo de recolección y vuelva a centrifugar la columna durante 1 min. a máxima velocidad Deseche el tubo de recolección que contiene la solución y transfiera la columna de purificación de ADN genómico GeneJET a un tubo de microcentrífuga estéril de 1,5 ml (no incluido).
10	Agregue 200 μL de Buffer de Elución al centro de la membrana de la columna de purificación de ADN genómico GeneJET para eluir el ADN genómico. Incubar durante 2 min a temperatura ambiente y centrifugar durante 1 min a $8000 \times g$. Nota Para obtener el máximo rendimiento de ADN, repita el paso de elución con 200 μL adicionales de tampón de elución. Si se requiere ADN más concentrado o se aísla ADN de una pequeña cantidad de material de partida, el volumen del tampón de elución agregado a la columna se puede reducir a 50-100 μL . Tenga en cuenta que volúmenes más pequeños de tampón de elución darán como resultado una cantidad final más pequeña de ADN eluido.
11	Deseche la columna de purificación. Utilice el ADN purificado inmediatamente en aplicaciones posteriores o guárdelo a -20°C .

ANEXO 6 PROTOCOLOS DE LOS MÉTODOS MOLECULARES.

PROTOCOLO DE PCR PARA blaCTXM Universal				
Referencia: Batchelor, et al. 2005				
Prueba:		Vol. de reacción	25 µl/ Tubo	
Gen:	blaCTXM	Muestra	54	
Tamaño:	585 pb			
		MIX	55	
PRIMERS		SECUENCIA		
blaCTXM	F	CGATGTGCAGTACCAAGTAA		
	R	TTAGTGACCA GAATCAGCGG		
		N°. de ciclos: 30		
Desnat. Inicial	Desnaturaliz.	Alineamiento	Extensión	Extensión final
30 seg a 98°C	10 seg a 98°C	30 seg a 64.4°C	1 min a 72°C	5 min a 72°C
MIX				
Componentes	Stock []	Final []	1X	Master Mix
2X Phusion Master Mix	2x	0.1 U/ul	12,5	687,50
blaCTXM F	10uM	0.5uM	1,25	68,75
blaCTXM R	10uM	0.5uM	1,25	68,75
ddH2O	esp 25ml		7	385,00
Template		25-125ng	3	
Volumen total			25	1210
			Vol. x tubo:	22
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 (C +)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (C -)	Control del Mix		

PROTOCOLO DE PCR PARA blaSHV				
Referencia: Hasman et al. 2005				
Prueba:		Vol. de reacción		
Gen:	blaSHV	Muestra	25 µl/ Tubo	
Tamaño:	854 pb		54	
		MIX	55	
PRIMERS		SECUENCIA		
blaSHV	F	TTATCTCCCTGTTAGCCACC		
	R	GATTGCTGATTCGCTCGG		
		N°. de ciclos: 30		
Desnat. Inicial	Desnaturaliz.	Alineamiento	Extensión	Extensión final
30 seg a 98°C	10 seg a 98°C	30 seg a 66.6°C	1 min a 72°C	5 min a 72°C
MIX				5 min a 72°C
Componentes	Stock []	Final []	1X	Master Mix
2X Phusion Master Mix	2x	1	12,5	687,50
blaCTXM F	10uM	0.5uM	1,25	68,75
blaCTXM R	10uM	0.5uM	1,25	68,75
ddH2O	esp 25ml		7	385,00
Template		25-125ng	3	
Volumen total			25	1210
			Vol. x tubo:	22
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 (C +)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (C -)	Control del Mix		

ANEXO 6 PROTOCOLOS DE LOS MÉTODOS MOLECULARES

PROTOCOLO DE PCR PARA blaTEM				
Referencia: Olsen et al. 2004				
Prueba:		Vol. de reacción	25 µl/ Tubo	
Gen:	blaTEM	Muestra	54	
Tamaño:	964 pb			
		MIX	55	
PRIMERS		SECUENCIA		
blaTEM	F	ATGAGTATTCAACATTCCG		
	R	ACCAATGCTTAATCAGTGAG		
Nº. de ciclos: 30				
Desnat. inicial	Desnaturaliz.	Alineamiento	Extensión	Extensión final
30 seg a 98°C	10 seg a 98°C	30 seg a 60.9°C	1 min a 72°C	5 min a 72°C
MIX				
Componentes	Stock []	Final []	1X	Master Mix
2X Phusion Master Mix	2x	1	12,5	687,50
blaCTXM F	10uM	0.5uM	1,25	68,75
blaCTXM R	10uM	0.5uM	1,25	68,75
ddH2O	csp 25ml		7	385,00
Template		25-125ng	3	
Volumen total			25	1210
			Vol. x tubo:	22
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 (C +)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (C -)	Control del Mix		

PROTOCOLO DE PCR PARA blaOXA				
Referencia: Guerra et al. 2001				
Prueba:		Vol. de reacción	25 µl/ Tubo	
Gen:	blaOXA	Muestra	54	
Tamaño:	598 pb			
		MIX	55	
PRIMERS		SECUENCIA		
blaOXA	F	ACCAGATTCAACTTTCAA		
	R	TCTTGGCTTTTATGCTTG		
Nº. de ciclos: 30				
Desnat. Inicial	Desnaturaliz.	Alineamiento	Extensión	Extensión final
30 seg a 98°C	10 seg a 98°C	30 seg a 59.4°C	1 min a 72°C	5 min a 72°C
MIX				
Componentes	Stock []	Final []	1X	Master Mix
2X Phusion Master Mix	2x	1	12,5	687,50
blaCTXM F	10uM	0.5uM	1,25	68,75
blaCTXM R	10uM	0.5uM	1,25	68,75
ddH2O	csp 25ml		7	385,00
Template		25-125ng	3	
Volumen total			25	1210
			Vol. x tubo:	22
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 (C +)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (C -)	Control del Mix		

ANEXO 6 PROTOCOLOS DE LOS MÉTODOS MOLECULARES

PROTOCOLO DE PCR PARA blaCMY-2				
Referencia: Archambault, et al. 2006				
Prueba:		Vol. de reacción	25 µl/ Tubo	
Gen:	blaCMY-2	Muestra	54	
Tamaño:	758			
		MIX	55	
PRIMERS		SECUENCIA		
blaCMY-2	F	GCACTTAGCCACCTATACGGAG		
	R	GCTTTTCAAGAATGCGCCAGG		
N°. de ciclos: 30				
Desnat. Inicial	Desnaturaliz.	Alineamiento	Extensión	Extensión final
30 seg a 98°C	10 seg a 98°C	30 seg a 69°C	1 min a 72°C	5 min a 72°C
MIX				
Componentes	Stock []	Final []	1X	Master Mix
2X Phusion Master Mix	2x	1	12,5	687,50
blaCTXM F	10uM	0.5uM	1,25	68,75
blaCTXM R	10uM	0.5uM	1,25	68,75
ddH2O	esp 25ml		7	385,00
Template		25-125ng	3	
Volumen total			25	1210
			Vol. x tubo:	22
K. <i>pneumoniae</i> ATCC 700603 (C +)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (C -)	Control del Mix		

PROTOCOLO DE PCR PARA blaPSE-1				
Referencia: Chen, et al. 2004				
Prueba:		Vol. de reacción	25 µl/ Tubo	
Gen:	blaPSE-1	Muestra	54	
Tamaño:	418 pb			
		MIX	55	
PRIMERS		SECUENCIA		
blaPSE-1	F	TGCTTCGCAACTATGACTAC		
	R	AGCCTGTGTTTGAGCTAGAT		
N°. de ciclos: 30				
Desnat. Inicial	Desnaturaliz.	Alineamiento	Extensión	Extensión final
30 seg a 98°C	10 seg a 98°C	30 seg a 64.9°C	1 min a 72°C	5 min a 72°C
MIX				
Componentes	Stock []	Final []	1X	Master Mix
2X Phusion Master Mix	2x	1	12,5	687,50
blaCTXM F	10uM	0.5uM	1,25	68,75
blaCTXM R	10uM	0.5uM	1,25	68,75
ddH2O	esp 25ml		7	385,00
Template		25-125ng	3	
Volumen total			25	1210
			Vol. x tubo:	22
K. <i>pneumoniae</i> ATCC 700603 (C +)	<i>E. coli</i> ATCC 25922 (C -)	Control del Mix		

ANEXO 7 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Dimensiones	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Valores	Tipo	Intervalo de medición
Susceptibilidad antimicrobiana	Amoxicilina/ácido clavulánico	Respuesta <i>in vitro</i> de una bacteria a un antibiótico. Las recomendaciones para identificar dicha respuesta incluyen agentes de eficacia comprobada que muestran un rendimiento aceptable en las pruebas <i>in vitro</i>	Susceptibilidad de <i>Salmonella</i> frente a los antibióticos mediante el método de disco difusión	Diámetro de inhibición	Resistente	Cualitativa	Nominal politómica
	Ampicilina						
	Aztreonam						
	Cefalotina				Intermedio		
	Cefepime						
	Cefotaxima						
	Cefoxitina				Susceptible		
	Ceftazidima						
	Ciprofloxacina						
	Cloranfenicol						
	Imipenem						
	Meropenem						
	Nitrofurantoína						
	Piperacilina-tazobactam						
Sulfametoxazol-trimetoprima							
Tetraciclina							
Fenotipo de producción de betalactamasas	BLEE	Betalactamasa de espectro extendido producida por algunas bacterias que hidrolizan penicilinas, cefalosporinas y aztreonam	Presencia de BLEE mediante método americano y el método de sinergia de doble disco		Presencia de BLEE	Cualitativa	Nominal dicotómica
					Ausencia de BLEE		
	AmpC	Betalactamasa de tipo AmpC mediada principalmente por plásmidos, proporciona resistencia a las penicilina y cefalosporinas	Presencia de betalactamasa de tipo AmpC mediante el método de cribado		Presencia de AmpC		
					Ausencia de AmpC		
	Carbapenemasa	Betalactamasa que proporciona mecanismos de resistencia a los carbapenémicos	Presencia de betalactamasa de tipo carbapenemasa mediante el método de cribado		Presencia de carbapenemasa		
					Ausencia de carbapenemasa		

Genes de resistencia	<i>bla</i> _{TEM}	Gen que codifica enzimas betalactamasas de tipo TEM	Banda de 964 pb que corresponde al gen <i>bla</i> _{TEM} en el PCR		Presencia del gen <i>bla</i> _{TEM}	Cualitativa	Nominal dicotómica
					Ausencia del gen <i>bla</i> _{TEM}		
	<i>bla</i> _{CTX-M}	Gen que codifica enzimas betalactamasas de tipo CTX-M	Banda de 585 pb que corresponde al gen <i>bla</i> _{CTX-M} en el PCR		Presencia del <i>bla</i> _{CTX-M}		
					Ausencia del <i>bla</i> _{CTX-M}		
	<i>bla</i> _{SHV}	Gen que codifica enzimas betalactamasas de tipo SHV	Banda de 854 pb que corresponde al gen <i>bla</i> _{SHV} en el PCR		Presencia del gen <i>bla</i> _{SHV}		
					Ausencia del gen <i>bla</i> _{SHV}		
	<i>bla</i> _{OXA}	Gen que codifica enzimas betalactamasas de tipo OXA	Banda de 598 pb que corresponde al gen <i>bla</i> _{OXA} en el PCR		Presencia del gen <i>bla</i> _{OXA}		
					Ausencia del gen <i>bla</i> _{OXA}		
	<i>bla</i> _{CMY-2}	Gen que codifica enzimas betalactamasas de tipo CMY-2	Banda de 758 pb que corresponde al gen <i>bla</i> _{CMY-2} en el PCR		Presencia del <i>bla</i> _{CMY-2}		
					Ausencia del <i>bla</i> _{CMY-2}		
	<i>bla</i> _{PSE-1}	Gen que codifica enzimas betalactamasas de tipo PSE-1	Banda de 418 pb que corresponde al gen <i>bla</i> _{PSE-1} en el PCR		Presencia del <i>bla</i> _{PSE-1}		
					Ausencia del <i>bla</i> _{PSE-1}		
Demográfica	Edad	Tiempo de vida de una persona	Tiempo de vida a partir de la fecha de nacimiento registrado en la ficha epidemiológica	Años cumplidos	0 a 4 años	Cuantitativa	Continua (de intervalo)
					5 a 14 años		
					≥15 años		
	Sexo	Condición orgánica y biológica en la que el individuo puede ser masculino o femenino	Sexo registrado en la ficha epidemiológica		Masculino	Cualitativa	Nominal dicotómica
				Femenino			

ANEXO 8 CONFORMIDAD DEL PROYECTO POR EL COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN INVESTIGACIÓN (CIEI) DEL INS

MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

MEMORANDO N° 964-2017-OGITT/INS

A Méd.
PEDRO VALENCIA VASQUEZ
Director General
Centro Nacional de Salud Pública

Asunto Aprobación del Protocolo de Tesis de Investigación titulado: "CARACTERIZACION FENOTÍPICA Y MOLECULAR DE LAS BETALACTAMASAS EN AISLADOS DE Salmonella spp. REMITIDAS AL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, DURANTE EL 2015" de fecha 12.12.2017, versión 1

Referencia : a) Memorando N° 1874-2017-DG-CNSP-INS
Registro N° 29744-2017

Fecha : Jesús María, 29 DIC. 2017

Por medio del presente la saludo cordialmente y en atención al documento de la referencia, se comunica a usted que con Resolución Directoral N° 706-2017-DG-OGITT-OPE/INS, de fecha 27 de diciembre del 2017, aprueba el Protocolo de Tesis de Investigación titulado: "CARACTERIZACION FENOTÍPICA Y MOLECULAR DE LAS BETALACTAMASAS EN AISLADOS DE Salmonella spp. REMITIDAS AL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, DURANTE EL 2015" versión 1, de fecha 12.12.2017, con Código: OT-0032-17, siendo el investigador principal Bach. Efraín Enrique Cabrera Rojas, se ejecutará en el laboratorio de Referencia Nacional de Enteropatógenos.

En tal sentido remito adjunto fechada la Resolución Directoral en mención, cabe mencionar que esta Dirección General a través del Comité Institucional de Ética en Investigación ha hecho entrega de un juego original del Protocolo de Tesis indicado, y la constancia emitida por el respectivo comité del INS, al investigador principal.

Asimismo, se solicita a su Dirección, disponer que todo trámite relacionado con el Protocolo de tesis en mención, ya sea ante la OGITT u otras oficinas del INS, se utilice el Registro N° 29744-2017

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente,


Med. LELY DEL ROSARIO SOLARI ZERVA
Directora General
Oficina General de Investigación y Transferencia Tecnológica
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



LSZ/SHS



SECTOR SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



Nº. 706-2017-OGITT-OPE/INS

RESOLUCIÓN DIRECTORAL

Lima, 27 DIC. 2017

Visto, el expediente N° 0029744-2017 y Nota Informativa N° 313-2017-OEI-OGITT-OPE/INS, de la Oficina Ejecutiva de Investigación, de la Oficina General de Investigación y Transferencia Tecnológica del Instituto Nacional de Salud, por el cual solicita aprobación de proyecto de investigación;

CONSIDERANDO:

Que, el Manual de Organización y Funciones aprobado por RJ N° 267-2003-J-OPD/INS establece que la Oficina General de Investigación y Transferencia Tecnológica (OGITT), órgano asesor de la Alta Dirección, tiene como función el promover el desarrollo y ejecución de la investigación y la tecnología apropiada en salud y de su transferencia en el sector salud a la comunidad;

Que, según se desprende de la Nota Informativa del visto, conteniendo la opinión favorable del Comité Institucional de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Salud (INS), se ha emitido conformidad al protocolo de tesis de Investigación titulado: "CARACTERIZACION FENOTIPICA Y MOLECULAR DE LAS BETALACTAMASAS EN AISLADOS DE Salmonella spp. REMITIDAS AL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, DURANTE EL 2015", versión 1, Código: OT-0032-17;

Que, de conformidad con las atribuciones establecidas en el punto 6.2.2.4 de la Directiva N° 045-INS/OGITT-V.01 "Directiva para la Gestión de Proyectos de Investigación en Salud en el Instituto Nacional de Salud" aprobada por Resolución Jefatural N° 133-2016-J-OPE/INS; así como lo establecido en el punto 5.3.8 en concordancia con el punto 5.3.6 del Procedimiento Técnico Planificación de Proyectos de Investigación PRT-INS-003 Ed..1, aprobado por Resolución Jefatural N° 195-2016-J-OPE/INS;

Con el visto bueno del Director Ejecutivo de la Oficina Ejecutiva de Investigación de la OGITT del INS;

SE RESUELVE:

Artículo 1°.- APROBAR el protocolo de tesis de Investigación "CARACTERIZACION FENOTIPICA Y MOLECULAR DE LAS BETALACTAMASAS EN AISLADOS DE Salmonella spp. REMITIDAS AL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, DURANTE EL 2015", versión 1, Código: OT-0032-17; detallada en el anexo No.1 adjunto, que forma parte integrante de la presente Resolución por los fundamentos expuestos en la parte considerativa de la presente Resolución.



ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

Artículo 2°.- REGISTRAR el protocolo de tesis de Investigación "CARACTERIZACION FENOTIPICA Y MOLECULAR DE LAS BETALACTAMASAS EN AISLADOS DE Salmonella spp. REMITIDAS AL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, DURANTE EL 2015", versión 1, Código: OT-0032-17; en la base de datos de la Oficina de Investigación de la OGITT.

Artículo 3°.- El Director General del Centro Nacional de Salud Pública es responsable del seguimiento y evaluación del desarrollo del proyecto aprobado en la presente Resolución.

Artículo 4°.- NOTIFICAR la presente resolución al Centro Nacional de Salud Pública, al Comité Institucional de Ética en Investigación, así como a los órganos y oficinas involucradas en el presente proceso de aprobación.

Regístrese y comuníquese,



Med. LIZY DEL ROSARIO SOLARI ZERPA
Directora General
Oficina General de Investigación y Transferencia Tecnológica
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



ES COPIA FIEL DEL ORIGINAL

SECTOR SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD



Nº. 706-2017-OGIT-OPE | INS

RESOLUCIÓN DIRECTORAL


ANEXO Nº 1

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN APROBADO METODOLÓGICA, TÉCNICA Y ÉTICAMENTE

Nº	Código OGITT	AÑO	PROCEDENCIA	TITULO DE LA INVESTIGACIÓN	INVESTIGADORES	PRESUPUESTO O SOLICITADO
01	OT-0032-17	2017	INS CNSP	CARACTERIZACION FENOTIPICA Y MOLECULAR DE LAS BETALACTAMASAS EN AISLADOS DE Salmonella spp. REMITIDAS AL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, DURANTE EL 2015", versión 1	Investigador principal: Bach. Efraín Enrique Cabrera Rojas	S/. 0.00



EN COPIA FIEL DEL ORIGINAL


Director General
Oficina General de Investigación
y Transmisión Tecnológica
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD