



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

**SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE SALMONELLA ENTERICA
AISLADAS DE HEMOCULTIVOS DE HOSPITALES DE LIMA METROPOLITANA**

Línea de investigación:

Microbiología, parasitología e inmunología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Autor (a):

Goyoneche Linares, Gabriela

Asesor (a):

Marcelo Rodríguez, Alvaro Julian

(ORCID: 0000-0003-2031-6806)

Jurado:

Yupanqui Siccha, Gisela Francisca

Velarde Vilchez, Monica Margarita

Nolasco Cardenas, Oscar Patricio

Lima – Perú

2021

Referencia:

Goyoneche, G. (2021). *Susceptibilidad antimicrobiana en cepas de salmonella enterica aisladas de hemocultivos de hospitales de Lima Metropolitana*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV.
<http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5579>



Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *SALMONELLA*
ENTERICA AISLADAS DE HEMOCULTIVOS DE HOSPITALES DE LIMA
METROPOLITANA

Línea de investigación:

Microbiología, parasitología e inmunología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Autor (a):

Goyoneche Linares, Gabriela

Asesor (a):

Marcelo Rodríguez, Alvaro Julian

(ORCID: 0000-0003-2031-6806)

Jurado:

Yupanqui Siccha, Gisela Francisca

Velarde Vilchez, Monica Margarita

Nolasco Cardenas, Oscar Patricio

Lima - Perú

2021

Agradecimientos

Agradezco a Dios por la oportunidad de realizar este estudio y por conservar mi salud para seguir con la presente investigación.

A mis padres, por su paciencia y apoyo incondicional durante todo el proceso del estudio.

A la Dra. Coralyth Garcia Apac, Mg. Gertrudis Horna Quintana y a Lic. Lizeth Astocondor Gamarra, quienes me brindaron la oportunidad y me apoyaron en la realización de esta investigación y siempre me motivaron a culminar el estudio, a pesar de las dificultades.

A la Profesora Nora Bravo Cruz, por compartir sus conocimientos, por sus consejos y sugerencias que optimizaron el desarrollo y culminación de la presente investigación.

A todos mis profesores de carrera de la Universidad Nacional Federico Villarreal y a todo el personal del Laboratorio de Enfermedades Entéricas de la Universidad Cayetano Heredia, expresarles mi agradecimiento por todo el apoyo brindado.

Dedicatoria

Dedico este estudio a Dios, a mis padres y amigos por su paciencia y por motivarme
a seguir progresando cada día.

Gabriela Goyoneche Linares

RESUMEN

La enterobacteria *Salmonella enterica* produce infecciones intestinales y hasta complicaciones más graves como las bacteremias; sumado a ello, se presentan fallas terapéuticas por el incremento de la resistencia a diversos antimicrobianos, lo cual aumenta el riesgo de morbilidad, siendo un grave problema de salud pública (Eng et al., 2015). **Objetivo:** Por ello fue necesario realizar el presente estudio de corte transversal para determinar el perfil antimicrobiano de las cepas de *S. enterica*. **Método:** Se recolectaron cepas aisladas de hemocultivos sugerente a fiebre tifoidea de nueve hospitales de Lima Metropolitana: Hospital Nacional Sergio Bernales, Hospital Nacional Cayetano Heredia, Hospital Nacional Hipólito Unanue, Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren, Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Hospital Nacional Arzobispo Loayza, Hospital María Auxiliadora y Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión para evaluar el perfil antimicrobiano. **Resultados:** Se aislaron 121 hemocultivos entre el 2008 y 2011, de estas solo 71 (61.7 %) fueron *S. enterica* no tifoideas y 44 (38.3%) *S. enterica* tifoideas, determinadas por bioquímica y serológica. En toda la población estudiada se presentó resistencia al ácido nalidíxico (20%), resistencia intermedia al ciprofloxacino (15.7%) por el método de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), todas las cepas con resistencia intermedia a ciprofloxacino, fueron resistentes al ác. nalidíxico ($p < 0.001$). También se registraron alta sensibilidad a cefalosporinas de tercera generación (100%), cloranfenicol (100%), ampicilina (92.2%), trimetopim-sulfametoxazol (98.3%) y tetraciclina (94.8%). **Conclusión:** que los aislados de *S. enterica* asociados a bacteriemia son producidas por *S. enterica* no tifoideas que afectan principalmente a niños, mientras que las resistencias más altas fueron a las fluoroquinolonas, producidas mayormente por *S. enterica* tifoideas.

Palabras clave: *Salmonella enterica*, resistencia antimicrobiana, bacteriemia, tifoidea y no tifoidea.

ABSTRACT

The enterobacteria *Salmonella enterica* can produce from intestinal infections to more serious complications such as bacteremia; in addition to it, these bacteria these bacteria can induce therapeutic failures, due to increase of resistance to many antimicrobial agents, adversely impacting the morbidity and mortality of human, constituting a serious public health problem (Eng et al., 2015). **Objective:** Therefore, is necessary to develop the present cross-sectional study to determinate the antimicrobial profile of *S. enterica*. **Metodology:** We recollected isolates from blood culture of nine hospitals of Metropolitan Lima: Hospital Nacional Sergio Bernales, Hospital Nacional Cayetano Heredia, Hospital Nacional Hipolito Unanue, Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren, Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Hospital Nacional Arzobispo Loayza, Hospital María Auxiliadora and Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión between 2008 to 2011, to analyse their antimicrobial profile. **Results:** 121 blood culture were isolated from 2008 to 2011, of these 71 (61.7 %) were nontyphoidal *S. enterica* and 44 (38.3%) were typhoidal *S. enterica*, both were identified by serological and biochemical technique. The studied population presented resistance to nalidixic acid (20%), intermeddle resistance to ciprofloxacin (15.7%), applied the minimum inhibitory concentration (MIC) technique, was also presented high sensibility to third generation cephalosporine (100%), cloranfenicol (100%), ampiciline (92.2%), trimethoprim-sulfamethoxazole (98.3%) and tetracycline (94.8%). We conclude that *S. enterica* isolates associated to bacteremia were produced principally by nontyphoidal *S. enterica*, these affected mostly children, while the typhoidal *S. enterica* presented the high resistance to fluroquinolone.

Key words: *Salmonella enterica*, antimicrobial resistance, bacteremia, typhoidal y nontyphoidal.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Condiciones de crecimiento de la <i>Salmonella</i> spp.	29
Tabla 2. Características de las islas de patogenicidad de <i>Salmonella</i> spp.	44
Tabla 3. Operacionalización de las variables de estudio	52
Tabla 4.1 Bioquímicas diferenciales de serotipos de <i>Salmonella</i> spp.	56
Tabla 4.2. Bioquímicas diferenciales de <i>Salmonella</i> Typhi y no Typhi	56
Tabla 5: Puntos de corte de la zona de diámetro para <i>S. enterica</i>	60
Tabla 6. Tipos de <i>S. enterica</i> aisladas de hemocultivos	63
Tabla 7. Tipos de <i>S. enterica</i> por servicio hospitalario	64
Tabla 8. Tipo de <i>S. enterica</i> por año de aislamiento	66
Tabla 9. Características demográficas y clínicas por tipo de <i>S. enterica</i>	67
Tabla 10. Susceptibilidad de los aislados clínicos de <i>S. enterica</i>	69
Tabla 11. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana por <i>S. enterica</i>	69
Tabla 12: Cepas ácido nalidíxico resistentes (NALR) por tipo de <i>S. enterica</i>	70
Tabla 13. Relación de las CMI entre Ciprofloxacino y Ác. Nalidíxico	74
Tabla 14: Relación de variables según susceptibilidad a Ciprofloxacino	76
Tabla 15. Relación de susceptibilidad por difusión de disco y CMI entre NAL y CIP	78
Tabla 16. Multiresistencia de cepas de <i>S. enterica</i> aisladas de hemocultivos	79

INDICE DE FIGURAS

Figura. 1. Enteritis tifloidea: Epitelio intestinal con edema intenso e infiltrado mononuclear en las placas de Peyer	37
Figura. 2. Adenitis mesentérica tifoidea: Conglomerados de ganglios linfáticos mesentéricos hiperplásicos	37
Figura 3. Acción del SST3 codificado en la isla de patogenicidad por SPI-1	41
Figura 4. Acción del SST3 codificado en la isla de patogenicidad por SPI-2 y la formación de la vacuola que incluye a <i>Salmonella</i> spp	43
Figura 5. Desarrollo de resistencia antimicrobiana por Salmonelas tifoideas y no tifoideas	48
Figura 6. Tipo de <i>S. enterica</i> aislada por servicio hospitalario	65
Figura 7. Aislados de <i>S. enterica</i> por año	66
Figura. 8. Resistencia de tipo de <i>S. enterica</i> por método de difusión de disco	70
Figura 9. Aislados por concentración mínima inhibitoria (CMI) del NAL	71
Figura 10. Aislados por concentración mínima inhibitoria (CMI) del CIP	72
Figura 11. Susceptibilidad disminuida a Ciprofloxacino por año	73
Figura 12. Resistencia a Ác. nalidíxico por año	73
Figura 13. Resistencia a quinolonas por tipo de <i>S. enterica</i>	75
Figura 14. Correlación entre CMI de Ciprofloxacino y difusión de Ác. Nalidíxico	78
Figura 15. Dilución del ác. nalidíxico en agar para preparar la CMI	124
Figura 16. Preparación del antibiótico	125
Figura 17. Dilución del antibiótico en placas de agar	126
Figura 18. Placa de siembra para la Concentración Mínima Inhibitoria	127
Figura 19. Aislado de <i>S. enterica</i> resistente al Ác. nalidíxico	128
Figura 20. Aislado de <i>S. enterica</i> resistente a Tetraciclina y Ampicilina	128
Figura 21. Test de Jarlier o confirmatorio de BLEE	129
Figura 22. Cepas con CMI de Ác. nalidíxico de [128 ug/mL]	130
Figura 23. Cepas con CMI para Ciprofloxacino de [0.25 ug/mL]	130

LISTA DE ABREVIATURAS

SNT: Salmonella No Tifoidea

ST: Salmonella Tifoidea

CMI: Concentración Mínima Inhibitoria

CLSI: Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (siglas en inglés).

MDR: Multidrogoresistencia

OMS: Organización Mundial de la Salud

OPS: Organización Panamericana de la Salud

BLEE: Betalactamasa de espectro extendido

MINSA: Ministerio de Salud

ReLAVRA: Red Latinoamericana de Vigilancia de Resistencia a los Antimicrobianos.

MLST: Multilocus Sequence Typing

PFGE: Electroforesis de campo pulsado (siglās en inglés)

LPS: Lipopolisacáridos

ATR: Respuesta Tolerante a la Acidez (siglās en inglés)

FoodNet: Red de Vigilancia Activa de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos.

SPI-1: Islas de Patogenicidad 1

T3SS: Sistema de Secreción Tipo III

SPI-2: Islas de Patogenicidad 2

TSA: Tripticasa Soya Agar

TSB: Caldo Tripticasa Soya (siglas en inglés)

TSI: Agar triple azúcar hierro

LIA: Agar Lisina hierro

SIM: medio de Sulfuro Indol Movilidad

MIO: medio Movilidad Indol Ornitina

CTX: Cefotaxima

CRO: Ceftriaxona

C: Cloranfenicol

CAZ: Ceftazidima

ATM: Aztreonam

CIP: Ciprofloxacino

SXT: Trimetoprim–sulfametoxazol

TE: Tetraciclina

AMP: Ampicilina

NAL: Ácido nalidíxico

NALR: Ácido Nalidíxico Resistentes

NALS: Ácido Nalidíxico Sensibles

DSC: Susceptibilidad Disminuida a Ciprofloxacino (siglas en inglés)

RICIP: Resistencia Intermedia a Ciprofloxacino

SICIP: Sensibilidad a Ciprofloxacino

INDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
I. Introducción	12
1.1 Descripción y formulación del problema	16
1.2 Antecedentes	16
1.3 Objetivos	23
Objetivo general	23
Objetivo específico	23
1.4 Justificación	24
1.5 Hipótesis	24
II. Marco teórico	25
2.1 Bases teóricas del estudio	25
III. Métodos	49
3.1 Tipo de investigación	49
3.2 Ámbito temporal y espacial	49
3.3 Variables	49
3.4 Población y muestras	54
3.5 Procedimientos	54
3.6 Análisis de datos	61
3.7 Aspectos éticos	61
3.8 Fuentes de financiamiento	62
IV. Resultados	63
V. Discusión	80
VI. Conclusión	95
VII. Recomendaciones	97

VIII. Bibliografía

99

IX. Anexos

118

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones intestinales en el hombre, causadas por *Salmonella enterica* (*S. enterica*), se deben al consumo de agua o alimentos contaminados con excretas de fuente animal o humana (Caffer et al., 2008). Se estima que causan alrededor de 93 millones de nuevos casos cada año (Gunn et al., 2014) produciendo variadas manifestaciones clínicas que dependen de las características del serotipo y resistencia antimicrobiana de la especie.

Existen más de 2500 serovariedades o serotipos de *Salmonella enterica*, 1500 para la *S. enterica* subespecie *enterica* y 1000 en otras subespecies incluyendo *S. bongori*. Sin embargo, solo un número determinado son patógenos humanos, tales como *Salmonella enterica* serovariedad Typhi (en la práctica clínica es *Salmonella* Typhi), *Salmonella enterica* serovariedad Paratyphi A, *S.* serovariedad Paratyphi B y *S.* serovariedad Paratyphi C, las cuales causan fiebres entérica (tifoidea y paratifoidea) en zonas tropicales y subtropicales del sudeste asiático y de África; siendo la serovariedad o serotipo Typhi, el agente etiológico de la fiebre tifoidea (Achtman et al., 2012; Kobayashi et al., 2014; OMS, 2018a). El ser humano es el único huésped de la *Salmonella* Typhi; no hay reservorios ambientales y se transmiten a través de los alimentos y el agua contaminados con el agente. Las infecciones por *Salmonella* Typhi y con menor frecuencias por *Salmonella* serovariedad Paratyphi A, B y C, tienden a causar complicaciones más graves (Crump et al., 2015), esto se refleja en los índices de morbilidad y mortalidad, sobre

todo en los países en desarrollo, donde causan alrededor de 11 y 20 millones de casos y cada año mueren entre 128,000 y 161,000 personas en todo el mundo debido a que llegan a causar infecciones invasivas como meningitis, sepsis y bacteriemia (OMS, 2018a).

También hay serovariedades de fuente animal, que afectan casualmente a humanos; a estos serotipos se les denomina el grupo de *Salmonella* no tifoideas (SNT), entre las más comunes tenemos: *Salmonella enterica* serovariedad Typhimurium, Enteritidis, como principales causas de Salmonelosis a nivel mundial, además de otras serovariedades, reportadas con mayor prevalencia dependiendo de las regiones (OMS, 2018b). Sin embargo, estas SNT ocasionalmente pueden causar complicaciones más graves, especialmente en individuos inmunocomprometidos, así la *S. enterica* serotipo Dublín y Choleraesuis, naturalmente asociado a hospederos animales, han podido infectar a humanos y causar bacteremias e infecciones extraintestinales focales con mayor frecuencia que las gastroenteritis humanas (Carden et al., 2015).

Aunque la terapia con antibióticos no se recomienda generalmente para el tratamiento de salmonelosis, sí se requiere para la fiebre tifoidea y complicaciones más graves como la meningitis, sepsis y bacteremias. Sin embargo, con el tiempo han aparecido resistencias que, junto al incumplimiento de la terapia prescrita, el uso inapropiado de los antibióticos, han incrementado en las últimas décadas esta resistencia antimicrobiana, convirtiéndose así en un grave problema de salud pública. En un estudio realizado en Asia a partir de cepas de *Salmonella* no tifoideas se reportó altos niveles de resistencia para el cloranfenicol (27.7 %), al trimetoprim-

sulfametoxazol (29.0%); a ampicilina en (34.7%), y a tetraciclina (45.7%) (Lee et al., 2009). Por otro lado, la resistencia progresiva de *Salmonella* Typhi, al cloranfenicol, ha sido descrita en diversos lugares del mundo, tales como México, India, Vietnam, Tailandia, Corea y Perú; así también se han reportado cepas de *Salmonella* Typhi y *Salmonella* Paratyphi A, resistentes a la ceftriaxona, al ácido nalidíxico, y susceptibilidad disminuida a fluoroquinolonas (Mirza et al., 1996).

A finales de la década de 1980, aparecieron resistencia a los antibióticos de primera línea para el tratamiento que incluyen Cloramfenicol, Ampicilina y Trimetropim-sulfametoxazol (Mutai et al., 2018), a estos aislados se les definió como multidrogoresistente (MDR) y se han reportado mayormente en países del Sudeste Asiático, Norte y Sur de África (Mirza et al., 1996; Ahmed et al., 2006; Akullian et al., 2018;). Las multidrogorresistencias, llevaron a plantear cambios en la terapia antimicrobiana, siendo reemplazadas por las cefalosporinas de amplio espectro y fluoroquinolonas. Sin embargo, en los últimos años, se ha registrado *Salmonellas* spp. productoras de betalactamasas de origen plasmídico, frecuentemente las de tipo: TEM, SHV, OXA-1 (Seral et al., 2010) y CTX-M, como del tipo CTX-M-4, CTX-M-5, en Rusia y Belorrusia (Edelstein et al., 2004) o CTX-M-15, CTX-M-10 y SHV-12 en España (Seral et al. 2010).

La incidencia de *Salmonella* spp. resistentes a ácido nalidíxico causante de diarreas en el viajero, han ido aumentando progresivamente desde el año 2000 en adelante (Cabrera et al., 2004). Luego se sugirió el uso de fluoroquinolonas; sin

embargo, en los últimos años también se ha reportado fallas terapéuticas en pacientes infectados con cepas de *Salmonella* Typhi o *Salmonella* no tifoideas extraintestinales, debido a que presentaban susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino, incrementando la morbilidad y mortalidad de los casos (Crump et al., 2008; Parry et al., 2011; Renuka et al., 2004), esto llevó al cambio de los puntos de corte para la zona de diámetro del método de difusión de disco en agar para la concentración mínima inhibitoria (CMI) de ciprofloxacino, por el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI siglas en inglés) en el 2012 debido a las fallas terapéuticas, determinando así la susceptibilidad intermedia a ciprofloxacino. Actualmente la OMS ha catalogado en su lista de patógenos prioritarios de nivel 2 o elevado, a la *Salmonellae* resistentes a las fluoroquinolonas, ya que es investigar y desarrollar urgentemente nuevos fármacos para combatir esta problemática mundial (Lawe & Bennett, 2017).

Por ello, es necesario seguir una vigilancia de la resistencia para las cepas de *S. enterica*, con la finalidad de monitorear la aparición de nuevas formas de resistencias y detectar los cambios en la susceptibilidad antimicrobiana para que se administre la terapia adecuada y así evitar la mortalidad por falla terapéutica. Por ello, en este estudio se determinó el perfil antimicrobiano de las cepas de *S. enterica* de de nueve hospitales de Lima Metropolitana.

1.1 Descripción y formulación del problema

La amplificación selectiva de cepas resistentes se debe en gran medida al inadecuado y/o excesivo uso de antibióticos en el ámbito clínico, así como también en la ganadería y contaminación de los suelos (CDC, 2013 & Ludden C et al. 2019).

La resistencia antimicrobiana de las cepas de *Salmonella enterica* ha ido en aumento en las últimas décadas, las primeras resistencias frente al Cloramfenicol, luego Ampicilina y también cepas resistentes al Trimetropim-Sulfametoxazol, ello constituyó una gran preocupación para la salud pública en la década de los ochentas (Crump et al., 2015), y esta fue aún mayor con la aparición de cepas de *S. enterica* multidrogoresistentes a toda la primera línea terapéutica, y esta fue en aumento desde 1990 al 2000 (Crump et al., 2015). Por ello, se propuso otros antibióticos de mayor avance como las cefalosporinas de tercera generación y las fluoroquinolonas, sin embargo, nuevamente se vienen registrando resistencias y susceptibilidades disminuidas ante estos antimicrobianos, complicando el manejo y tratamiento de las infecciones por *S. enterica* y reduciéndose cada vez más las opciones de tratamientos (OPS & OMS, 2018).

Por ello, la importancia de evaluar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Salmonella enterica* productoras de bacteriemias.

1.2 Antecedentes

Internacionales

En el 2015, en un estudio de revisión sistemática de Ao y colaboradores, se recopiló información sobre la carga global de enfermedades invasivas por

Salmonella no tifoideas (SNT) durante el 2010, donde se reportó alta incidencia de bacteriemia por SNT en África con 227 casos /100,000 población, mientras que en Asia y Oceanía, la incidencia de Salmonelosis invasivas son muy bajas; además la incidencia se incrementa con el VIH y la malaria, y el 63.7% de los casos ocurrieron en niños menores de 5 años a nivel global, concluyendo que las infecciones invasivas por SNT varían por área geográfica, por grupo de edad y si presentan comorbilidades que los inmunocomprometen (Ao et al., 2015).

En el 2016, en Nepal se desarrolló un estudio transversal realizado por Shrestha y colaboradores, donde se examinó la susceptibilidad a los antibióticos de primera línea frente a aislados de muestras de sangre de 620 pacientes con sospecha clínica de fiebre entérica. Se aisló 83 *Salmonella* spp. de estas, 48 (57.8%) fueron *Salmonella* Typhi y 35 (42.3%) fueron *Salmonella* Paratyphi A, el 98.8% de las cepas mostraron sensibilidad al cloranfenicol y al cotrimoxazol, el 97.6% fueron sensibles a ampicilina, por el contrario, se obtuvo 69 (83.1%) aislados resistentes al ácido nalidíxico y el 79.5% tuvieron resistencia intermedia a ciprofloxacino, finalmente encontraron 1 solo aislado MDR. Los autores concluyeron que la resistencia al ácido nalidíxico se ha incrementado y estas están asociadas a la susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino, en contraste con la disminución de la resistencia a los antibióticos de primera línea (ampicilina, cloramfenicol y cotrimoxazol); por lo tanto, se pueden usar como terapia empírica al igual que la azitromicina y cefalosporina de tercera generación (Shrestha et al., 2016).

En el 2018, en Pakistán se llevó a cabo un estudio de cohorte retrospectiva de parte de Das y colaboradores sobre la tendencia, asociación y resistencia de *Salmonella* serovariedad Typhi y Paratyphi extraídas de 798,137 hemocultivos pertenecientes al periodo 1992 al 2015, donde se observó una disminución de la incidencia de fiebre tifoidea por *Salmonella* Typhi de 6.4% en 1992, a 1.3% en el 2015; de igual manera para *Salmonella* Paratyphi A y B disminuyó de 1.3% a 0.4%, por otro lado, se registró que la prevalencia de *Salmonella* Typhi es más alta en mayores de 18 años, también se evidenció un aumento de *Salmonella* Typhi con MDR de 20% en 1992, al 50% en el 2015, igualmente se fue incrementando la resistencia a fluoroquinolonas desde el 2002 hasta llegar a un 96.5% en el 2015 y las altas incidencias estaban asociadas a las condiciones sanitarias y la alfabetización. En este estudio se concluyó que a pesar de los avances adoptados la fiebre tifoidea sigue siendo endémica y un problema de salud pública por el incremento de la resistencia; por ello sugieren estrategias políticas que mejoren las condiciones de saneamiento, así como inmunizaciones a gran escala (Das et al., 2018).

En el 2018, en África se realizó un estudio transversal por Mutai y colaboradores, donde analizaron la susceptibilidad antimicrobiana de 144 aislados de sangre de pacientes con fiebre tifoidea de un Hospital Universitario de Nairobi, entre el 2004 al 2007, donde se reportaron altas resistencia a los antibióticos de primera línea como la resistencia a ampicilina con 72%, cloranfenicol con 72% y cotrimoxazol con 70%, mientras que de todos los aislados el 68% fueron MDR. Del total de cepas con MDR, el 70% presentaron resistencia intermedia a ciprofloxacino por CMI; concluyendo que las MDR fueron disminuyendo en el periodo de estudio,

mientras las resistencias a fluoroquinolonas van en aumento progresivo (Mutai et al., 2018).

En el 2018, se emitió una alerta epidemiológica por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), donde se indica una emergente aparición de infecciones por *S. Typhi* con resistencia extendida; es decir, a los antimicrobianos de primera línea (Ampicilina, cloranfenicol y trimetropim-sulfametoxazol) y a fluoroquinolonas con cefalosporinas de tercera generación. Los brotes con cepas se han registrado desde el 2006 en Pakistán, sin embargo, la preocupación se acentuó al registrarse casos en Canadá y Estados Unidos en pacientes pediátricos y en viajeros procedentes de Pakistán, a pesar de que hasta el momento no se han notificado cepas de *S. Typhi* haplotipo H58 en Latinoamérica y el Caribe, la OPS y la OMS ha establecido que la circulación de esta cepa es un grave riesgo para la salud pública, por ello recomendó fortalecer la vigilancia y capacidad de diagnóstico para detectar a tiempo los casos de resistencia extendida (OPS & OMS, 2018).

En el 2019, en un estudio retrospectivo de caso control realizado por Katz y colaboradores en Israel se examinó la correlación de las bacteriemias por *Salmonella* no tifoideas (SNT) en comparación con las Salmonelosis sin bacteriemias y comparadas con bacteriemias por otros patógenos, obteniéndose que los serotipos más frecuentes de SNT que causaron bacteriemia fueron *Salmonella* Enteritidis (38%), *Salmonella* Virchow (21%), *Salmonella* Bredeney (12%); principalmente se observó que las bacteriemias por SNT se incrementan por cada punto que aumenta el

índice de comorbilidad de Charlson (aOR = 1.29, p=0.05) y también se reporta una asociación inversa con el nivel de hemoglobina (aOR = 0.72, p=0.05), concluyendo que las bacteriemias por SNT en niños, estaba presente antes de la visita a emergencias y en adultos el riesgo de bacteriemia por SNT está asociada con la alta comorbilidad y con baja hemoglobina (Katz et al., 2019).

Nacionales

En el 2015, en Perú se realizó un estudio transversal descriptivo desarrollado por Tejada-Llacs y colaboradores, sobre la caracterización de las infecciones bacterianas productoras de BLEE de un hospital de referencia nacional entre enero a diciembre del 2012, donde se determinó que del total de bacterias productoras de BLEE, solo 9 (1%) fueron *Salmonella* spp., provenientes principalmente del área de Emergencia, con una frecuencia de 66.6% en mujeres y en niños menores de quince años. Respecto a la resistencia de las *Salmonella* productoras de BLEE, se encontraron a su vez un 60.6% de resistencias elevadas a cotrimoxazol, 50% al ácido nalidíxico, 50% a ampicilina, 34.3% para amoxicilina/ácido clavulánico y cefotaxime; concluyendo que existen alta presencia de bacterias BLEE siendo un problema para la salud global, a pesar de la baja frecuencia en *Salmonella* spp. (Tejada-Llacs et al., 2015).

En el 2018, en un estudio transversal de Morillos y col. para detección de gen plasmídico *spvR*, en aislados clínicos de *Salmonella* spp. remitidos al Instituto Nacional de Salud (INS) de diferentes regiones del Perú, donde se mencionan los serotipos más frecuentes en nuestro medio, principalmente: el 57% fueron

Salmonella Infantis, el 24% *S. Enteritidis*, el 10% *S. Typhimurium*, el 3% *S. Paratyphi B* y el 2% fueron *S. Derby*; concluyendo que de entre estos serotipos el gen plasmídico *spvR* solo se detectó en *Salmonella* Enteritidis, *S. Typhimurium*, *S. Rostock* y *S. Derby* (Morillos, 2018).

En el 2018, en un análisis epidemiológico del Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades del MINSA, se evaluó los datos recolectados en el 2016, por la Red Latinoamericana de Vigilancia de Resistencia a los Antimicrobianos (ReLAVRA) sobre la situación epidemiológica de *Salmonella* Typhi en Latinoamérica y Caribe, observando que la vigilancia es muy limitada en la mayoría de estos países, dentro de los cuales Brasil, Cuba y Perú cada uno reportaron menos de 10 aislados sensibles totalmente a fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación, mientras otros como Ecuador reportaron 8 aislados de *S. Typhi*, 4 de ellos resistentes a ciprofloxacino y 1 a cefalosporinas; Colombia reportó 204 y El Salvador 298 aislamientos de *S. Typhi*, con altos porcentajes de resistencia a fluoroquinolonas con 12,7% y 40% respectivamente y sin ninguna resistencia a cefalosporinas de tercera generación (OPS & OMS, 2018).

En el 2019, en un estudio de descriptivo transversal en Perú realizado por Quino y colaboradores para caracterizar los patrones fenotípicos y genotípicos de la resistencia antimicrobiana de 297 cepas de *Salmonella* spp. aisladas de heces, orina y sangre, remitidas de distintas localidades del país al INS, donde se observó que el 65% fueron *Salmonella* Infantis, de estas el 74.1% fueron cepas productoras de BLEE fenotípicamente, con resistencia a ampicilina y a Cefalosporinas de tercera generación; es decir que corresponden a un perfil de multidrogorresistencia (MDR) agrupados en 13 patrones diferentes, las cuales fueron no característicos y servirían

para actualizar la base de datos del programa Multilocus Sequence Typing (MLST), las cuales son de utilidad para trazar estrategias adecuadas para la salud pública en el Perú (Quino et al., 2019).

En el 2019, en un análisis de serie de casos desarrollado por Parra-Payano y colaboradores para determinar las características epidemiológicas, clínicas y laboratoriales de las salmonelosis invasivas del Hospital Cayetano Heredia entre el año 2013 al 2017, en la cual se observó un total de 231 aislados de *Salmonella enterica*. Del total de cepas, 70 produjeron salmonelosis invasivas, el 85.7% fueron causadas por *Salmonella* no tifoideas (SNT), el 12.9% por *Salmonella* Typhi. Fallecieron 14 pacientes, de los cuales el 78.6% fue por shock séptico, como consecuencia de las bacteriemias causado por salmonelosis, también se reportó susceptibilidades altas a Ceftriaxona con 83.3%, al cotrimoxazol con 78.8% y al cloranfenicol con 75% y un 49.2% de resistencia al ciprofloxacino. Concluyendo que la mayoría de salmonelosis invasivas fueron causadas por SNT y que el antibiótico más adecuado para el tratamiento de salmonelosis debe ser la ceftriaxona antes que el ciprofloxacino (Parra-Payano et al., 2019).

Con la evidencia de los estudios mencionados anteriormente, tanto en nuestro medio como en otros países, podemos ver claramente la importancia de evaluar los perfiles de susceptibilidad de la *S. enterica*, principalmente ante los antibióticos de primera línea como las cefalosporinas de tercera generación y Fluroquinolonas, adicional a ello observamos que las cepas multidrogorresistencias van en aumento en varias regiones del mundo; también vemos la importancia de diferenciar los serotipos

de *S. enterica* asociados a resistencia e infecciones de gravedad en humanos. Por ello, la importancia de evaluar en nuestro estudio el perfil de susceptibilidad de las *S. enterica*, que causan bacteriemias o infecciones invasivas.

1.3 Objetivos:

1.3.1 Objetivo general

Determinar el perfil de susceptibilidad antimicrobiano en cepas de *Salmonella enterica* aisladas de hemocultivos, de nueve hospitales de Lima Metropolitana: Hospital Nacional Sergio Bernales, Hospital Nacional Cayetano Heredia, Hospital Nacional Hipólito Unanue, Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren, Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins, Hospital Nacional Arzobispo Loayza, Hospital María Auxiliadora y Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión.

1.3.2 Objetivos específicos

- Identificar las especies y los antígenos somáticos del grupo de *S. enterica* implicadas en las bacteriemias.
- Determinar la producción de β-lactamasas de espectro extendido (BLEE) de *S. enterica*.
- Determinar la presencia de multidrogorresistencia de tres a más clases de antimicrobianos como a la Ampicilina, Cloranfenicol y Trimetopima-sulfametoxazol, en cepas de *S. enterica*.
- Determinar el CMI del ácido nalidíxico y ciprofloxacino en cepas de *S. enterica*.

1.4 Justificación del estudio

El inadecuado uso y manejo de los antibióticos ha producido una gran variedad de mecanismos de resistencia, por ello resulta cada vez más complicado encontrar un tratamiento eficaz, traducándose en fallas terapéuticas con elevadas tasas de morbilidad y mortalidad, a medida que emergen nuevos patrones de resistencias. Actualmente en el Perú hay insuficientes reportes sobre la prevalencia de cepas de *Salmonella enterica*, así como la evolución de la susceptibilidad, como las crecientes resistencias a cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas y multidrogoresistencia; sumado a ello, la falta de estudios y el inadecuado diagnóstico en la mayoría de los centros hospitalarios del país, ponen en riesgo la prevención y tratamiento frente a las complicaciones más graves. Por ello la importancia del presente estudio es determinar la susceptibilidad antimicrobiana y la identificación de los serovariedades de los aislados de *S. enterica*, para contribuir a un mejor control terapéutico en cuanto a las infecciones por *S. enterica* y sus complicaciones.

1.5 Hipótesis

Hipótesis nula: La determinación de la resistencia a los antibióticos, no nos permitirá conocer cambios en el perfil de susceptibilidad antimicrobiano de cepas de *Salmonella enterica*, aisladas de hemocultivos de nueve hospitales de Lima Metropolitana, comprendidos en nuestro estudio.

Hipótesis alterna: La determinación de la resistencia a los antibióticos, permitirá conocer cambios en el perfil de susceptibilidad antimicrobiano de cepas de *Salmonella enterica*, aisladas de hemocultivos de nueve hospitales de Lima Metropolitana, comprendidos en nuestro estudio.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas del estudio

2.1.1 *Familia Enterobacteriaceae*

Enterobacteriaceae es una familia de bacilos gramnegativos, anaerobios facultativos, no formadores de esporas. Las características de esta familia incluyen ser móviles, catalasa positivos y oxidasa negativos, con reducción de nitrato a nitrito; producción de ácido y gas a partir de la fermentación de glucosa; sin embargo, también hay excepciones como la *Salmonella Typhi* que es anaerogénica. Actualmente, la familia comprende 51 géneros y 238 especies (Octavia & Lan, 2014).

Esta familia está ampliamente distribuida, aunque las cepas de algunas especies son comensales inofensivos, como algunas cepas de *E. coli*, otras son importantes patógenos de humanos y animales (*Salmonella*, *Shigella* y *Yersinia*, etc.), y otros son patógenos para plantas e insectos. Se caracterizan por estar omnipresentes lo que hace inevitable que algunas enterobacterias entren en la cadena alimenticia, causando graves enfermedades transmitidas por alimentos, del mismo modo que deteriora a los alimentos, generando pérdidas económicas (Baylis, 2011).

Mayormente, las cepas que producen patologías humanas suelen ser responsables de numerosas infecciones del tracto urinario y de las infecciones intestinales por su característico comportamiento como patógenos oportunistas. Las

causas que producen las diversas patogenias de estas enterobacterias, son: la presencia de endotoxinas como el componente A del LPS (factor de virulencia), cápsulas para la protección de fagocitos o antibióticos, exotoxinas, multiplicación dentro de las células, factores de adherencia y la resistencia a antibióticos (Quirós, 2016).

2.1.2 El género *Salmonella*

Es una bacteria del filo proteobacteria y perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, se las describe como bacilos facultativos gram-negativos en forma de bastón, denominados como bacterias "entéricas", las cuales se han caracterizado y estudiado ampliamente en cuanto a su estructura, perfil bioquímico y molecular; sin embargo, falta aún entender su ecología (Todar, 2012).

El término fue creado por Lignieres en el año 1900. Tomando como tipo el bacilo del cólera del cerdo, descrito en el año 1885, por Daniel Elmer Salmon y Theobald Smith en Estados Unidos, pronto fueron incluidas en el género varias especies vecinas, tales como el bacilo de Aertricke o Breslau, conocido hoy con el nombre de *Salmonella* Typhimurium, el bacilo 'enteritidis de Gaertner (*Salmonella* Enteritidis), y todas las especies posteriormente descubiertas; solo el bacilo de Eberth, bacilo paratífico A y el bacilo paratífico B, fueron incluidos posteriormente en el género *Salmonella*, de acuerdo con las conclusiones del Subcomité de las Salmonellas de la Asociación Internacional de Microbiología (Newworld encyclopedia, 2019).

Es uno de los patógenos transmitidos por alimentos con mayor frecuencia, se encuentran predominantemente en las aves de corral, huevos y productos lácteos; otras fuentes de alimentos que están involucradas en la transmisión de *Salmonella* incluyen las frutas y verduras frescas, en general; los animales de consumo humano como los cerdos, las aves y el ganado son las principales rutas de difusión de estos patógenos, durante el comercio de estos animales y de sus productos afines sin cocinar; la contaminación se da en el proceso de sacrificio de los animales alimenticios, donde los órganos y canales se exponen a *Salmonella* spp. (Eng SK, *et al.* 2015).

Algunos serotipos de salmonela, tales como *Salmonella* Typhi, *S. Paratyphi* y *S. Sendali*, están muy adaptados a su huésped y no tienen otros huéspedes naturales conocidos (Parra et al., 2002). Todas las salmonelas son potencialmente patógenas (Stanchi, 2007) al ser parásitos intracelulares y por medio de los macrófagos se diseminan por todo el organismo afectado aprovechando la vía linfática y sanguínea. Las diversas especies de salmonela se transmiten por contacto tanto con enfermos como con portadores sanos, aunque por lo general la enfermedad producida por este agente, tiene un origen alimentario, debido a la ingesta de alimentos contaminados con el patógeno, teniendo en cuenta que la fuente de contaminación ambiental es invariablemente la materia fecal (CDC, 2019b; Stanchi, 2007).

La *Salmonella* spp. causa gran parte de la intoxicación alimentaria en el mundo, incluidos aproximadamente 1,400,000 casos de salmonelosis en los cada

año, en Estados Unidos, también conocida como la enfermedad transmitida por alimentos (IDPH, 2019).

2.1.3 Características morfológicas y bioquímicas

Se caracterizan por ser bacilos gram negativos de 2 a 3 x 0.4 a 0.6 micras de tamaño, móviles por medio de flagelos peritricos, a excepción de los serotipos Gallinarum y Pollorum. Poseen metabolismo de tipo oxidativo y fermentativo. Producen ácido y a menudo gas durante la fermentación de la glucosa u otros hidratos de carbono, salvo raras excepciones y oxidasas negativos (Popoff et al., 1993).

Las colonias crecen de 18 a 24 horas, con un diámetro de 2 a 3 cm, a excepción de algunos serotipos que producen colonias más pequeñas (Linder, 1995). Entre otras características bioquímicas, se cuentan reducción de nitratos a nitritos, utilizan citrato como única fuente de carbono, producen H₂S, son ureasas negativas, no desaminan fenilalanina, son tetracionato reductasas (Ramallo et al., 2017).

La *Salmonella* spp. crecen y duplican su número cada 15 o 20 minutos si la temperatura es superior a 20°C, aún más si supera los 30°C, la temperatura óptima de crecimiento es de 35 a 43°C, y el límite de crecimiento está alrededor de los 5.2°C (Elika, 2019), por lo que es importante refrigerar los alimentos inmediatamente para evitar la multiplicación. Pueden vivir varios meses en agua y ambientes secos con un amplio rango de pH, desde 3.8 y hasta 9.5 con un pH óptimo de 7 a 7.5 y su actividad

de agua es menor al 0.94 aw, superior a este punto es inhibitoria al crecimiento de salmonella (Ryan et al., 2017) (ver tabla 1).

Tabla 1.

Condiciones de crecimiento de la Salmonella spp.

	Mínimo	Óptimo	Máximo
Temperatura	5.2	35 - 43	46.2
pH	3.8	7 – 7.5	9.5
Actividad del agua	0.94	0.99	>0.99

Fuente: Elaboración propia

2.1.4 Clasificación taxonómica

En 1983 se aceptaba taxonómicamente la existencia de múltiples especies de salmonella. La taxonomía y nomenclatura de *Salmonella* ha cambiado con el tiempo, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC por sus siglas en inglés) reconoce dos especies y estas se dividen en siete subespecies: *S. enterica* (seis subespecies) y *S. bongori* (una subespecie). Las subespecies están divididas en 50 serogrupos basados en la presencia de antígenos somáticos (O); en total los serogrupos se dividen en más de 2, 600 serovariedades o serotipos basados en antígenos flagelares (H) y capsular (Vi); el CDC recomienda que todos los aislados de *Salmonella* se informen por género y serotipo (o serogrupo), y para reconocer los serotipos se usan las fórmulas antigénicas del Esquema de Kauffmann-White, elaborado por el Centro Colaborador de la OMS para Referencia e Investigación sobre *Salmonella*, ubicado en el Instituto Pasteur, París, Francia (Ryan et al., 2017).

2.1.5 Estructura antigénica

La serotipificación complementa a la identificación bioquímica y es de utilidad en epidemiología, debido a que permite determinar la prevalencia de las serovariedades según las zonas geográficas, así como también para el estudio de brotes y para conocer la fuente de infección y las vías de transmisión; para ello, se utilizan técnicas de subtipificación como: fagotipificación y la electroforesis de campo pulsado (PFGE), entre otros (Caffer et al., 2008).

La estructura antigénica de *Salmonella* es parecida a la de otras enterobacterias, principalmente por los antígenos O (somáticos) y antígenos H (flagelares), sin embargo, algunas cepas tienen un tercer tipo de antígeno de superficie, denominado antígeno VI, que es análogo al antígeno K de las otras enterobacterias (Parra et al., 2002).

La base de la serotipificación para todas las enterobacterias es similar: se pone en evidencia la presencia de antígenos somático, flagelares y capsulares; en el caso de *Salmonella*, las serovariedades surgen como consecuencia de una asociación particular de factores antigénicos somáticos **O** y flagelares **H** (Caffer et al., 2008).

a. Antígenos somáticos (Ag O)

Los antígenos de la pared bacteriana están conformados por fosfolípidos, polisacáridos y fracciones proteicas; son cadenas laterales de polisacáridos del lipopolisacárido de envoltura (LPS) que se encuentra en todos los microorganismos Gram negativos. La naturaleza de los grupos terminales y el orden en que se

encuentran las unidades repetidas de la cadena determinan la especificidad antigénica somática de la bacteria. Como esta estructura somática difiere ampliamente entre las distintas serovariedades, se presentan diferencias en la especificidad antigénica **O** (Caffer et al., 2008).

Estos antígenos son termoestables y resistentes a ácidos diluidos y al alcohol. La estructura somática se denomina con la letra **O** seguida de números arábigos separados por comas, que corresponden a sus factores, por ejemplo, la *Salmonella* serovariedad Typhimurium O:1,4,5,12; y Enteritidis O:1,9,12.

b. Antígenos flagelares (Ag H)

Están constituidos por la flagelina, proteína cuya composición en aminoácidos determina diversos tipos antigénicos. Se subdivide en dos genes de estructura, el de fase 1 y de fase 2. La mayoría de las cepas de *Salmonellas* expresan las dos especificidades de su antígeno H (difásicos); sin embargo, existen algunas que pueden expresar solamente una sola (monofásicas) (Naranjo, 2016).

Unas pocas serovariedades de *Salmonella* poseen una sola fase flagelar, esas cepas se llaman monofásicas, por ejemplo: *Salmonella* serovar. Enteritidis (9,12:g,m:-), *Salmonella* Typhi (9,12 [VI]:d:-); pero la gran mayoría de las serovariedades tienen dos especificidades en su antígeno flagelar o sea son cepas difásicas; por ej., *Salmonella* Typhimurium (1,4,5,12:i:1,2) y *Salmonella* Hadar (6,8:z10:e,n,x), que expresan la fase 1 (identificada en los ejemplos por las fases: **i** ó **z10**) y la fase 2 (por las fases: **1, 2** y **e, n, x** respectivamente) (Caffer et al., 2008).

c. Antígeno capsular (Ag Vi)

Entre los antígenos capsulares de las Enterobacterias, el **Vi** es el más importante en el género *Salmonella*. Se encuentra en sólo tres serovariedades: *Salmonella* Typhi, *S. Paratyphi* C y en algunas cepas de *S. Dublin* (Caffer et al., 2008).

2.1.6 Manifestaciones clínicas de *Salmonella* entérica

a. Fiebre tifoidea (*Salmonella* serovariedad Typhi)

La fiebre tifoidea y fiebre paratifoidea son enfermedades bacterianas con alta incidencia de mortalidad causadas por *Salmonella* serotipo Typhi y *Salmonella* serotipo Paratyphi, respectivamente; ambas son enfermedades de gravedad transmitidas por alimentos y agua contaminados o por contacto directo con una persona infectada, los síntomas incluyen fiebres altas de larga duración, dolor estomacal, dolor de cabeza y pérdida de apetito, estreñimiento y erupciones cutáneas, en casos tienden a producirse complicaciones que llevan a la mortalidad (CDC, 2019b).

- **Hábitat y transmisión**

Habita en el colon humano como único hospedero, en contraste con otras salmonellas, que también se encuentran en el colon de los animales. Se transmiten por vía fecal-oral por el consumo de alimentos o agua contaminados con heces u orina de personas infectadas o portadoras (CDC, 2019b).

- **Epidemiología de la fiebre tifoidea**

En el caso de la fiebre entérica el agente etiológico más común es la *Salmonella* Typhi (nueva terminología de *Salmonella enterica*, subgrupo *enterica*, serovariedad Typhi), y constituyen un problema de salud pública de transmisión alimentaria, pues según la OMS se estima que entre 11 y 20 millones de personas presentaron tifoidea y cada año mueren entre 128,000 y 161,000 personas, este riesgo se incrementa en poblaciones carentes de condiciones sanitarias adecuadas, así como en poblaciones vulnerables como los niños (OMS, 2018a).

La fiebres tifoideas y paratifoideas fueron incluidas como parte del Proyecto de Carga Global de Enfermedad en el 2010, por representar en su conjunto 12.2 millones de años de vida ajustados por discapacidad y 190, 200 muertes (Crump et al., 2015), en el Perú desde el año 1997 forma parte de la vigilancia de resistencia antimicrobiana planteada por la OMS para bacterias relacionadas a Enfermedades Diarreicas Agudas (EDA), que incluyeron a *Salmonella* spp., *Shigella* y *Vibrio cholerae*.

La fiebre tifoidea es común en la mayoría de países tropicales y subtropicales de bajos recursos y condiciones sanitarias escasas, como los países del Asia, África y América Latina excepto en regiones industrializadas como los Estados Unidos, Canadá, Europa occidental, Australia y Japón (CDC, 2019b), siendo un riesgo para los viajeros que visitan las regiones endémicas.

De entre estos países tenemos que la mayoría de los países asiáticos (China, India, Vietnam, Pakistan e Indonesia) presentan altas incidencias de fiebre tifoidea

que exceden los 100 casos por 100,000 personas/año. La incidencia de fiebre tifoidea reportada a nivel mundial proviene de largos brotes mientras que los casos reportados están subestimados, especialmente en África sub-sahariana, por los limitados recursos para su diagnóstico y la falta de vigilancia, resultan en una caracterización de la carga muy limitada (Eng et al., 2015). Para el 2017, se estimó la carga de fiebres tifoideas en 10,9 millones casos y la carga de fiebre paratifoidea en 3,4 millones casos a nivel mundial, mientras que se presentaron 116.8 mil muertes por fiebre tifoidea y 19.1 mil muertes por fiebre paratifoidea (Stanaway et al., 2019).

En el Perú, esta enfermedad es endémica, y su origen se relaciona con deficiencias en el saneamiento ambiental, representando una de las seis causas más importantes de morbilidad infecciosa, de los casos notificados al Ministerio de Salud, encontrándose tasas de incidencia por año de 40-60 casos por 100,000 habitantes, pero en distritos de pobre nivel socioeconómico y en adultos jóvenes esta cifra es más elevada: 300-500 casos por 100,000 habitantes, siendo el 35% niños menores de 14 años y la mayoría del rango de 5 - 20 años (Clendenes et al., 1992).

En el Perú a partir del año 2010, a través de la vigilancia bacteriológica con la Red Nacional de Laboratorios, se detectó un inusual aumento de casos de *Salmonella* en aislamientos de origen humano, en su mayoría pediátricos, en diversos hospitales de Lima y aislamientos de alimentos con frecuencia sobre todo para el tratamiento de la salmonelosis extraintestinal; no obstante, desde 1984 han sido reportados aislamientos de *Salmonelas* resistentes en diferentes países (Gonzales, 2015).

- **Patología**

La infección por *Salmonella* tifoidea ocurre generalmente por la ingestión de agua o alimento contaminados con excretas que contienen el patógeno, se da con la ingestión de un inóculo que oscila entre mil y un millón de gérmenes, si el inóculo es suficientemente grande superará la barrera gástrica constituido por el pH ácido, y la persona será susceptible a la infección si presenta factores predisponentes que modifican el pH gástrico, como aclorhidria, vagotomía, gastrectomía o consumo de fármacos que lo modifican (Jurado Jimenez et al., 2010). La *Salmonella* Typhi cruza la barrera intestinal, debido a que tienen un mecanismo envolvente que les permiten sobrevivir a pH bajo, muchas proteínas que tienen un shock ácido están asociadas con una respuesta tolerante a la acidez (ATR); algunos de los factores reguladores de la ATR, incluye el factor RpoS σ , PhoPQ y proteínas FUR. Las RpoS σ y PhoPQ son importantes para la regulación de la sobrevivencia en pH bajo, creado por ácidos inorgánicos; visto que las FUR y RpoS están involucradas en la regulación de la Tolerancia del ácido orgánico. El mecanismo exacto que cada proteína juega en la tolerancia a la acidez, no está bien comprendido; sin embargo, está claro que múltiples factores contribuyen al proceso global (Teixidó, 2013).

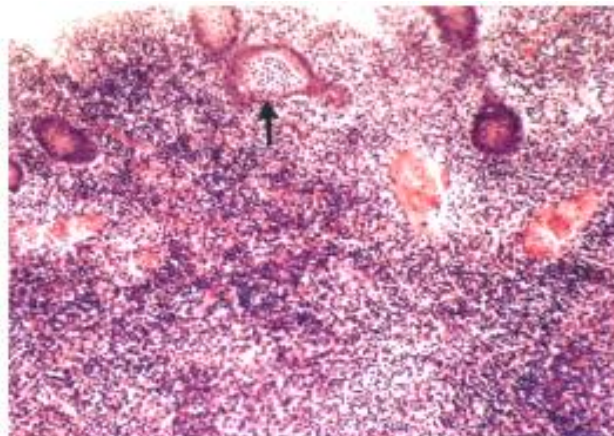
Luego de atravesar la barrera gástrica, la adhesión intestinal esta mediada por las fimbrias o el pili presente en la superficie celular bacteriana, las subunidades de fimbrias, más conocidas son las Fim A y Fim H, que interactúan con los receptores de la superficie de las células del hospedero facilitando la adhesión (Foley et al., 2008). La bacteria invade la mucosa del ileón terminal, por penetración directa en el tejido epitelial mediado por el regulador de conductancia transmembrana de fibrosis

quística o a través de las células M especializadas, las cuales inducen a la internalización; se adhieren también sobre la mucosa por medio de una proteína receptora, regulado por los genes bacterianos 58 – 60 (IPS1), induciendo a la secreción de proteínas que polimerizan la actina del citoesqueleto la cual promueve el movimiento para la internalización del patógeno (Ashurst et al., 2019; Bravo, 2007).

En el proceso de invasión se produce la infiltración de leucocitos de la sangre periférica hacia la lámina propia (ver Figura.1), el lipopolisacárido de la pared celular induce la liberación de citoquinas y activa la transcripción de linfocitos. El macrófago fagocita la *Salmonella* tifoidea, esta a su vez induce a las caspasas 1 producir apoptosis de los macrófagos; la bacteria se multiplica en el tejido linfoide intestinal y en los ganglios del mesenterio, originando hiperplasia de las placas de Peyer, necrosando el tejido y produciendo hemorragias focales (ver Figura 2), finalmente esto conduce a la invasión del sistema retículo endotelial como también de los fagocitos del hígado, bazo y médula ósea, en 24 horas después de la ingestión, esta complicación sistémica es denominada bacteriemia (Bravo, 2007).

Figura 1.

Enteritis tifoidea: Epitelio intestinal con edema intenso e infiltrado mononuclear en las placas de Peyer. Tomada de Bravo Carrada T. (2007)

**Figura 2.**

Adenitis mesentérica tifoidea: Conglomerados de ganglios linfáticos mesentéricos hiperplásicos. Tomada de Bravo Carrada T (2007).

**b. Salmonelosis gastroentéricas (Salmonelas no tifoideas)**

También denominadas Salmonelosis no tifoideas, son infecciones gastroentéricas producida por salmonellas, distintas a la *Salmonella* Typhi. El cuadro clínico más frecuentes son las gastroenteritis agudas, siendo también responsables de casos de bacteriemias y de infecciones focales extradigestivas en algunas ocasiones. En la intoxicación alimentaria por *Salmonella* spp., la bacteria usualmente produce

cambios en la comida que no son perceptibles por el humano, producen síntomas entre las 6 y 72 horas tras la ingesta que se manifiestan con dolor abdominal, náuseas, vómitos y diarrea que dura 2 a 7 días. Mayormente los síntomas de la salmonelosis son leves y no requieren tratamiento clínico, por ello la mayoría de ellas, entre el 60 y 80% de los casos no se registran o no se diagnostican (CDC, 2019a; OMS, 2018b)

- **Epidemiología**

La *Salmonella* no tifoideas (SNT) es uno de los cuatro agentes principales causantes de las enfermedades diarreicas en todo el mundo; cada año se enferman 550 millones de personas, de las cuales 220 millones son niños menores de 5 años, esta carga de enfermedad se da por transmisión alimentaria, que incluye la salmonelosis (OMS, 2018b)(WHO, 2019), de estas se estima que las SNT causan aproximadamente 153 millones de gastroenteritis y 57,000 muertes por año cada año (CDC, 2019).

Según la Red de Vigilancia Activa de Enfermedades Transmitidas por los Alimentos (FoodNet), las salmonelas causan la segunda infección más común transmitida por alimentos, y su incidencia no ha disminuido a pesar de los programas de regulación alimentaria, siendo estas causadas principalmente por tres serovariedades o serotipos: Enteritidis, Newport y Typhimurium (CDC, 2019b). Las *Salmonella* Enteritidis es el serotipo más común en Asia (38%), Latino América (31%) y Europa (87%) (Eng et al., 2015).

A parte de las gastroenteritis también pueden desarrollar complicaciones graves como las infecciones sistémicas, cuyos mayores reportes se registran en países endémicos y subdesarrollados, especialmente en el África sub-sahariana, donde los serotipos invasivos afectan principalmente a niños menores de tres años y a pacientes con VIH, confiriéndoles una mortalidad de hasta el 25 %; desenlace influenciado por factores como la malnutrición y la Malaria, que predisponen a esta población a desarrollar bacteriemias producidas principalmente por *Salmonella* Typhimurium y Enteritidis (Crump et al., 2015; Eng et al., 2015).

En el Perú, se instaló el Laboratorio Nacional de Referencia de Enterobacterias en 1971, con la finalidad de serotipificar los cultivos sospechosos de *Salmonella* spp. de los hospitales de Lima (Grados', 1974). En un reciente estudio realizado en pacientes con bacteriemia se reportaron que los serotipos más frecuentes fueron *Salmonella* Enteritidis (45%), *S. Typhimurium* (36%) y *S. Typhi* (11%) (Parra-Payano et al., 2019; Silva et al., 2017), sin embargo, se hace necesario constantes reportes y monitoreos sobre la epidemiología integral de *Salmonella* no tifoidea con capacidad invasiva. En el presente estudio también busca identificar los serogrupos de *S. enterica* causantes de las bacteriemias.

- **Patogénesis**

La principal ruta de ingreso es por vía oral, por medio de alimentos o agua contaminados, con un inóculo aproximado de un millón, este patógeno tiene la capacidad de tolerar el pH del estómago, sales biliares y peristaltismo, permitiéndole invadir los ganglios linfáticos mesentéricos, produciendo una infección localizada,

también se dan invasión de las amígdalas y los pulmones cuando ingresan por vía aérea (Alfaro, 2018).

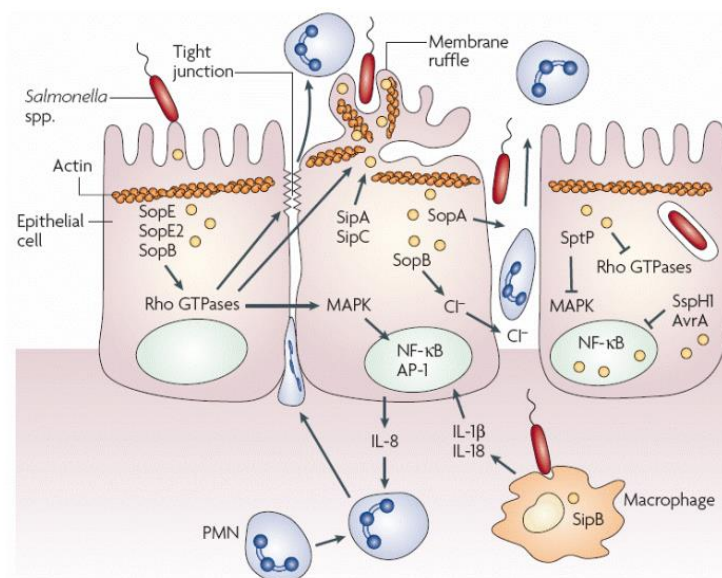
La *Salmonella* spp. cuenta con una característica remarcable durante la invasión de las células no fagocíticas del huésped humano, pues ellas mismas inducen su propia fagocitosis, esta ingeniosa estrategia se encuentra en las islas de patogenicidad (SPIs del inglés *Salmonella* Pathogenicity Islands), grupos de genes localizados en la región del ADN cromosómico y codifican estructuras involucradas en el proceso de invasión (Eng et al., 2015).

Las *Salmonella* spp. presentan islas de patogenicidad 1 denominadas SPI-1, donde se codifica el sistema de secreción tipo III (T3SS), mecanismo de invasión para cruzar el epitelio intestinal, también se asocian las proteínas Sip A, Sip C, SopE, SopE2 y SopB que actúan como efectores celulares de la SPI-1 involucradas en el rearrreglo del citoesqueleto activando las GTPasas tipo Rho para iniciar y dirigir la reorganización de la actina formando ondulamiento (ruffling) en su superficie, también inducen la vía de la MAP quinasa (MAPK) y la desestabilización de las uniones de los enterocitos, permitiendo a la salmonela entrar a la célula del huésped. La señalización por MAPK activa factores de transcripción como AP-1 y NF- κ B, y estas a su vez estimulan la expresión de interleucina-8, que son quimioatrayentes de leucocitos polimorfonucleares. La desestabilización de uniones de enterocitos incentiva la migración de los PMNs hacia la parte apical, la pérdida de líquido celular y permite la entrada de las bacterias, finalmente el citoesqueleto se recupera y

la señalización por MAPK se apaga silenciándose la respuesta inflamatoria por la inactivación de NF- κ B (ver figura 3) (Betancor, 2012).

Figura 3.

Acción del SST3 codificado en la isla de patogenicidad por SPI-1. Tomado de Betancor L. (2012)



Siguiendo con la invasión de *Salmonella* spp. por las islas de patogenicidad 1 (SPI-1), una vez internalizado, éste es encerrado en una vacuola que tiene medio ácido detectado por *Salmonella* spp. estimulando la producción proteínas reguladoras conformado principalmente por PhoP/PhoQ, las cuales en circunstancias normales desencadenarían la respuesta inmune del huésped para fusionar la vacuola con los lisosomas y secretar enzimas digestivas para degradar la bacteria intracelular (Eng et al., 2015).

El mecanismo que activa el sistema inmune comprende al receptor tipo Toll 4 (Tlr4) mediante el LPS, el Toll 5 (Tlr5) por la flagelina y el Toll 2 (Tlr2) mediante las lipoproteínas bacterianas, la respuesta incluye a los dominios unidos a

nucleótidos de oligomerización, denominadas “Nod1 y Nod2” por sus siglas en inglés, quienes sintetizan citocinas inflamatorias e inducen a la posterior respuesta inmunitaria específica; el sistema inmunitario innato puede reprimir la replicación inicial de *Salmonella* spp. y para depurar finalmente la infección, para ello es necesario la respuesta con células T CD4 tipo Th1 y anticuerpos específicos producidos por las células B (Quirós, 2016).

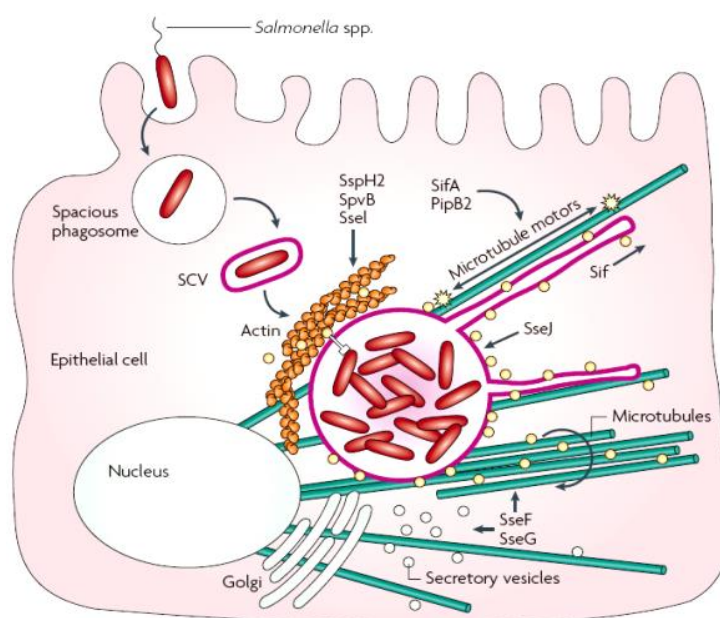
La respuesta immune del hospedero ante *Salmonella* spp. difiere según su serotipo; por ejemplo, en la *Salmonella* no tifoidea causante de gastroenteritis, estos generan una respuesta secretoria en el epitelio, promoviendo el proceso inflamatorio por la concentración de neutrófilos, alterando la mucosa intestinal, lo cual produce un proceso exudativo como las diarreas. Por el contrario, la *Salmonella* Typhi causante de la fiebre tifoidea y bacteriemias, producen inflamación por aumento de monocitos; la diferencia entre ambas Salmonelas pueden asociarse a la presencia de cápsula de polisacáridos Vi cuya función es evitar ser reconocida por los lipopolisacáridos (LPS) que es un potente inductor de la respuesta inmunitaria innata y por su capacidad para formar complejos que interactúan con el receptor tipo Tlr4 (Quirós, 2016).

Las islas de patogenicidad 2 (SPI-2), es el segundo sistema de secreción codificado en otra isla de patogenicidad, fundamental para la supervivencia intracelular dentro de los macrófagos y en la determinación de la infección sistémica. Una vez formada la vacuola que contiene a *Salmonella* spp., se fusiona con lisosomas, donde se traslocan efectores bacterianos como el SifA y PipB2 los

cuales forman filamentos llamados Sifs, dispuestos a lo largo de los microtúbulos y regulan la acumulación de proteínas motoras sobre las Sift y la VCS. Por ejemplo, las SseF y SseG causan acumulación de microtúbulos adyacentes alrededor de la VCS, además las SspH2, SpvB y SseI se les atribuye un rol en la acumulación de actina (ver Figura 4) (Betancor, 2012).

Figura 4.

Acción del SST3 codificado en la isla de patogenicidad por SPI-2 y la formación de la vacuola que incluye a *Salmonella* spp. Tomado de Betancor L. (2012)



Aparte de la SPI-1, existen otros tipos SIPs con respectivas características de patogenicidad, ver Tabla 2 (Alfaro, 2018; Quirós, 2016).

Tabla 2.*Características de las islas de patogenicidad de Salmonella spp.*

Isla de Patogenicidad	Centisoma	Segmento de ADN (Kb)	Función
SPI – 1	63	35 - 40	Translocación de moléculas en el citoplasma.
SPI – 2	31	40	Supervivencia intracelular
SPI – 3	82	17	Supervivencia intracelular en el macrófago
SPI – 4	92	27	Secreción de toxinas y adaptación a macrófagos
SPI – 5	20	7.5	Reacción inflamatoria intestinal

Fuente: Tomada de Alfaro-Mora R. (2018)

Finalmente, el SST3 codificado por ambas islas de patogenicidad (SPI-1 y SPI-2), se desarrollan dependiendo una de la otra, las proteínas que expresan este sistema de secreción participan en el proceso de ensamblaje de microtúbulos y filamentos de actina que interactúan con la vacuola que contienen a las *Salmonella* spp. (Quirós, 2016).

c. Bacteriemias y otras Infecciones extraintestinales:

Las bacteriemias se producen cuando la bacteria patógena entra al torrente sanguíneo, luego de atravesar el epitelio intestinal. Casi todos los serotipos de *S. enterica* pueden causar bacteriemia, las fiebres altas son características comunes de los síntomas de bacteriemias en fiebres entéricas y se manifiesta con el signo típico de roséola tifoidea, y en ocasiones muy severas estas bacteriemias pueden conducir a una respuesta inmune que conduzcan al Shock séptico con alta mortalidad (Eng et al., 2015).

Las infecciones por *Salmonella* Typhi, comúnmente invaden el torrente sanguíneo y tienden a causar complicaciones más graves como las infecciones invasivas, meningitis, sepsis o bacteriemias (Eng et al., 2015). Sin embargo, en los últimos años, las bacteriemias se están produciendo con mayor frecuencia por *Salmonella* no tifoidea (SNT), debido a que estas cepas presentan un gen plásmidico de virulencia localizado en el locus *spv*, el cual le da la misma capacidad de invadir el epitelio, pero además les aporta la capacidad de persistir en el hígado, bazo y nódulos linfoides; además este plásmido también se encuentra en otros loci que involucran la biosíntesis de fimbrias y la resistencia al plasma, frecuentemente se encuentran en *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, no se presentan en los serotipos tifoideos excepto en *S. Paratyphi C*, donde no se conoce su función (Morillos, 2018).

La incidencia de las bacteriemias por SNT se están incrementando en regiones tropicales de países subdesarrollados especialmente en África Sub-Sahariana, donde las infecciones por VIH y la desnutrición son muy frecuentes además son estas regiones donde se reportan mayormente las bacteriemias por SNT sin síntomas de gastroenteritis (Katz et al., 2019).

Por lo general, las bacteriemias y otras compliaciones extraintestinales por SNT, ocurre con mayor frecuencia en personas con inmunidad comprometida, incluidas aquellas con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, bebés, y adultos mayores, que pueden tener un mayor riesgo de complicaciones, incluida la muerte (Angelo et al., 2016). Sin embargo, la progresión de la gravedad de la enfermedad depende del serotipo de SNT involucrado. La infección invasiva por

SNT es más común entre los pacientes con serotipos Choleraesuis, Dublín, Enteritidis, Heidelberg, Poona y Schwarzengrund (Akullian et al., 2018; Angelo et al., 2016).

La incidencia de mortalidad de bacteriemias por SNT es cerca del 90 % en pacientes con tratamiento médico y aproximadamente 40 % aquellos que tuvieron terapia médica y cirugía combinada; debido al riesgo de mortalidad por SNT asociada a complicaciones vasculares es necesario el diagnóstico temprano y una pronta intervención quirúrgica que son cruciales para el tratamiento en pacientes con infecciones sistémicas (Lin et al., 2018).

2.1.7 Resistencia antimicrobiana

Aunque la terapia con antibióticos no se recomienda generalmente para el tratamiento de gastroenteritis, sí se requieren para complicaciones invasivas como la meningitis, sepsis, bacteriemia y en las fiebres entéricas. Sin embargo, el mal uso de los antibióticos y el incumplimiento de la terapia prescrita, han causado uno de los más grandes problemas de Salud Pública, la Resistencia Antibiótica (Merino et al., 2004), Así tenemos registradas las resistencias frente a cefalosporinas de 3ª generación, a tetraciclinas, al cloranfenicol, y co-trimoxazol, reportadas con frecuencia (Cabrera et al., 2004). La resistencia progresiva de la *Salmonella* Typhi, principalmente al cloranfenicol, ha sido descrita en diversos lugares del mundo, tales como: México, India, Vietnam, Tailandia, Corea y Perú, en estos países también han sido descritos aislados esporádicos de *Salmonella* Typhi y *Salmonella* Paratyphi

resistentes a la ceftriaxona y al ácido nalidíxico, y con baja susceptibilidad a las fluoroquinolonas (ciprofloxacino) (Souza et al., 2010).

El desarrollo de resistencia al cloranfenicol condujo a un mayor uso de otros dos medicamentos de primera línea, ampicilina y trimetoprim-sulfametoxazol. El trimetoprim-sulfametoxazol siguió siendo un fármaco efectivo hasta 1975, cuando se informó resistencia desde Francia (Crump et al., 2015).

Luego de la resistencia a los antibióticos de primera línea, en 1980 se dio la aparición en varios países de cepas de *S. enterica*. con resistencia a múltiples antimicrobianos (MDR), que incluyen Ampicilina, Cloranfenicol y Trimetoprim-sulfametoxazol. Por ejemplo, las cepas de *S. Typhi* con MDR se incrementaron en la década del 1990 y principios del 2000; así se tuvo en Vietman cepas de *S. Typhi* recolectadas entre 1993 y 1996, de las cuales el 80% fueron MDR. Por otro lado, también se evidenció una tendencia al surgimiento de serotipos no tifloideos con MDR, como la *S. Typhimurium*, a principios de la década del ochenta en Estados Unidos, y en algunos estudios se relacionó el fago de la MDR al tipo *S. enterica* denominado DT104 (Crump et al., 2015).

Frente a las resistencias de los anteriores antimicrobianos, el antibiótico de elección terapéutica que se viene usando para casos de infecciones graves, son las fluoroquinolonas. Sin embargo, se vienen presentando descoordinaciones con los puntos de corte, establecidos por el CLSI, por lo que se observa una emergente resistencia. Se sabe que la resistencia a las quinolonas está mediada por plásmidos, por la disseminación clonal de los genes *qnr*, y por bombas de expulsión activa

(principalmente QepA), pero también han sido reportados mutaciones en *gyrA*, la cual confiere niveles de resistencia al ácido nalidíxico y una susceptibilidad reducida a la fluoroquinolonas (Lindgren et al., 2009). En otros reportes, es muy común asociar la resistencia al ácido nalidíxico con la susceptibilidad disminuida a fluoroquinolonas *in vitro*, por ejemplo, en Pakistan, India y Vietnam, se presentan altas tasas de incidencia de 59%, 57% y 44%, respectivamente y su frecuencia sigue aumentando (Eng et al., 2015).

La falta de detección de las cepas con susceptibilidad disminuida a fluoroquinolonas y que a su vez son resistentes a las quinolonas, se traduce clínicamente en frecuentes fracasos en la terapia; por ello se hizo necesario los cambios de las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute en el 2012 (CLSI, 2017), por lo que fueron redefinidos los puntos de corte de las CMI para *S. enterica* Typhi y *S. enterica* extraintestinales. Por estas razones, las fluoroquinolonas ya no deben ser utilizado como terapia de primera línea, en las poblaciones donde la resistencia al ácido nalidíxico es común (Toro & Sáenz, 2011).

Figura 5.

Desarrollo de resistencia antimicrobiana por *Salmonella* tifoideas y no tifoideas, según artículo de John A. Crump (2015)

<i>Salmonella enterica</i> tipo tifoideas	<i>Salmonella enterica</i> tipo no tifoideas
- Resistencia al cloranfenicol inició antes de 1970, luego hubo brotes en México y sureste asiático en 1972. 1975 se informó de resistencia de trimetoprim-sulfametoxazol en Francia y las MDR <i>S. serovares</i> Typhi y <i>S. Paratyphi</i> A desde 1990, que siguió aumentando hasta principios del 2000, en Asia, África y Europa. 1992 en Reino Unido se reportó susceptibilidad disminuida a Ciprofloxacino en <i>S. Typhi</i>, luego en <i>S. serovar</i> Paratyphi A en la India en el 2000. - Se recomendó Cefalosporinas de espectro extendido, pero aparecieron β-lactamasa de espectro extendido (BLEE) de los tipos SHV-12 y CTX-M y una β-lactamasa AmpC del tipo ACC-1 y otras resistencias en <i>S. tifoideas</i>.	- Surgieron serotipos no tifoideos con MDR, como la <i>S. Typhimurium</i>, a principios de la década del 1980 en Estados Unidos (<i>S. enterica</i> denominado DT104). - Se desarrolló resistencia a quinolonas y fluoroquinolonas. En Dinamarca la resistencia en <i>S. Enteritidis</i> aumentó de 0.8% en 1995 a 8.5% en 2000; también se detectó susceptibilidad disminuida a Ciprofloxacina en <i>S. Typhimurium</i>, <i>S. Enteritidis</i>, <i>S. Virchow</i> y <i>S. Hadar</i> en 2009. - Resistencia a cefalosporinas de espectro extendido en <i>Salmonella</i> no tifoideas desde mediados de la década de 1980 de tipo BLEE o AmpC, muy frecuentes en niños. - El 2009 se reportó aislados de <i>Salmonella</i> no tifoidea con resistencia a carbapenémicos en China, Colombia, Pakistán y Estados Unidos. - En Malasia y Vietnam se notificó cepas de <i>S. Typhimurium</i> resistentes a 12 a 15 agentes antimicrobianos (6 o 7 clases de fármacos) en la última década del 2010.

III. MÉTODO

3.1. Tipo de investigación

Es un estudio descriptivo y de corte transversal.

3.2. Ámbito temporal y espacial

El presente estudio se realizó a partir de hemocultivos recolectados de nueve hospitales de Lima Metropolitana entre los años 2008 al 2011.

3.3 Variables de estudio

Se consideraron:

Edad del paciente: años de vida del paciente al momento de la bacteriemia.

Sexo del paciente: División del género humano en dos grupos: mujer u hombre.

Código de la muestra: codificada por la procedencia de la muestra y número de aislamientos.

Procedencia de la muestra: Las muestras de hemocultivos pertenecían a los siguientes hospitales:

- Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen (HNGAI), Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión (HNDAC), Hospital Nacional Alberto Sabogal Sologuren (HNASS), Hospital María Auxiliadora (HMA), Hospital Nacional Sergio Bernales (HNSEB), Hospital Nacional Edgardo Rebagliati Martins (HNERM), Hospital Nacional Arzobispo Loayza

(HNAL), Hospital Nacional Cayetano Heredia (HNCH) y Hospital Nacional Hipólito Unanue (HNHU).

Servicio hospitalario: Servicio hospitalario de donde se extrajo el hemocultivo o donde se atendía al paciente, se consideró los siguientes servicios: ambulatorio o consulta externa, pediatría, emergencias pediátricas, emergencias de adultos, medicina general y otros servicios.

Especie de *Salmonella enterica*: Identificación de la muestra en el Laboratorio de Enfermedades Entéricas del IMT-AvH de la UPCH, donde se determinó como aislados sospechosos de *Salmonella enterica* tifoidea y *Salmonella enterica* no tifoidea, según la bioquímica y serología somática y capsular, siguiendo las guías y manuales estándares.

Serogrupo: Tipo de serogrupo somático al que pertenece el aislado de *S. enterica*, considerando los siguientes: A, B, C, D y capsular Vi.

Susceptibilidad por el método de difusión de disco en agar: Técnica según Kirby-Bauer, empleado para determinar la sensibilidad de un agente patógeno frente a un antimicrobiano. La susceptibilidad del agente se clasifica en: sensible, intermedio y resistente, según los puntos de corte para las medidas del halo en el agar, según lo establecido por el CLSI del 2017.

Se midió la susceptibilidad por difusión de disco en agar para los siguientes antimicrobianos:

- Amoxicilina/ ácido clavulánico (AMC), ceftazidima (CAZ) y/o cefotaxima (CTX) y/o aztreonam (ATM) y/o ceftriaxona (CRO), ampicilina

(AMP), cloranfenicol (C), ciprofloxacino (CIP), tetraciclina (TE), trimetoprim–sulfametoxazol (SXT) y ácido nalidíxico (NAL).

Medidas de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI): Concentración más baja que inhibió el crecimiento de los aislados de *Salmonella* spp., determinados en ug/mL. Se clasificó de la susceptibilidad por cada antimicrobiano según el CLSI del 2017, se clasificó la resistencia como: sensible, intermedio y resistente.

Tabla 3. Operacionalización de las variables de estudio.

Variable	Definición	Por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Valores de las categorías	Medio de verificación
Edad	Tiempo de vida de una persona	Cuantitativa	años	Continua	años	Historia Clínica
Sexo	Condición orgánica que diferencia al paciente en masculino o femenino.	Cualitativa	Si No	Nominal	- Masculino - Femenino	Historia Clínica
Código de la muestra	Combinación de letra o números para ocultar la identidad de la muestra.	Cualitativa	Letras o números	Nominal	Letras o números	Base de datos
Hospital de procedencia	Hospital de donde procede la muestra recolectada	Cualitativa	Cualquier nombre de los nueve hospitales de Lima Metropolitana	Nominal	HNHU, HNAL, HNERM, HNSEB, HNASS, HMA, HNDAC, HNGAI y HNCH	Registro de Historia Clínica
Servicio hospitalario	Área hospitalaria de donde procede la muestra	Cualitativa	Nombre del área hospitalaria	Nominal	Consulta externa/ambulatoria, Medicina general, Emergencia adulto, Emergencia pediátrica, Pedriatría y otras.	Registro de Historia Clínica
Especie de <i>S. enterica</i>	Identificación de la muestra según su perfil bioquímico y serológico.	Cualitativa	Si No	Nominal	<i>S. enterica</i> tifoidea <i>S. enterica</i> no tifoidea	Pruebas bioquímicas y serológicas
Serogrupo	Tipo de antígenos somático y capsular de la cepa	Cualitativa	Si No	Continua	Grupo A, Grupo B, Grupo C, Grupo D y Capsular Vi	Prueba serológica
Difusión de disco en agar de Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del AMC	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de Ceftazidima (CAZ)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del CAZ	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de cefotaxima (CTX)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del CTX	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de aztreonam (ATM)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del ATM	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer

Difusión de disco en agar de ceftriaxona (CRO)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del CRO	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de ampicilina (AMP)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del AMP	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de cloranfenicol (C)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del C	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de ciprofloxacino (CIP)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del CIP	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de tetraciclina (TE)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del TE	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de Trimetoprim-sulfametoxazol (SXT)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del SXT	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Difusión de disco en agar de ácido nalidíxico (NAL)	Evaluación de susceptibilidad antimicrobiana del NAL	Cualitativa	Zona de inhibición en mm	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de Kirby Bauer
Concentración mínima inhibitoria (CMI) de Ciprofloxacino	Evaluación de concentración más baja de CIP que inhibe el crecimiento de la cepa.	Cualitativa	Puntos de corte en ug/mL	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de dilución en agar para la CMI
Concentración mínima inhibitoria (CMI) de NAL	Evaluación de concentración más baja de NAL que inhibe el crecimiento de la cepa.	Cualitativa	Puntos de corte en ug/mL	Ordinal	Resistente total: Resistencia intermedia Sensible	Prueba de dilución en agar para la CMI

3.4 Población y muestra

En el presente trabajo se prescindió de seleccionar una muestra, pues se incluyó a toda la población de aislados de hemocultivos que sean sugerentes de fiebre entérica y que hayan sido identificadas como cepas de *Salmonella* spp. en los hospitales participantes, quedando excluidas todas aquellas que no cumplan estos requisitos. Fueron 121 cepas aisladas de hemocultivos recolectados de los nueve hospitales de Lima Metropolitana entre los años 2008 y 2011. El trabajo se realizó en el Laboratorio de Enfermedades Entéricas y Nutrición del Instituto de Medicina Tropical Alexander von Humboldt (IMT-AvH) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia; los insumos y materiales fueron financiados gracias al apoyo brindado del estudio madre “Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana”, enfocado en resistencia antimicrobiana de los principales patógenos aislados de sangre recolectados semanalmente (excepto los *Staphylococcus* sp. coagulasa negativo).

3.5 Procedimientos de laboratorio:

a. Tipo y conservación de la muestra

Para este estudio se recolectaron todas aquellas cepas de *S. enterica*, aisladas de hemocultivos de pacientes con bacteriemia procedentes de nueve hospitales de Lima Metropolitana, anteriormente mencionados.

Las muestras fueron tomadas semanalmente por una persona adiestrada en el manejo de transporte de muestras y con todas las medidas de bioseguridad correspondiente. Las muestras fueron enviadas al laboratorio en cajas de transporte especial que contenían viales de medio Trypticase Soya Agar (TSA).

Las cepas fueron almacenadas y conservadas en viales de TSA, en cajas debidamente codificadas a temperatura ambiente hasta su procesamiento, una vez que las cepas fueron identificadas y evaluadas cepas fueron criopreservadas en solución con leche descremada al 10% o glicerol al 10% a -70°C. No se procesaron los aislados que no fueron *S. enterica*.

b. Aislamiento e identificación de las cepas de *Salmonella* spp.

Para identificar las cepas, a partir de hemocultivos, se realizó los procedimientos siguiendo las recomendaciones de la Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017) y del Manual de Procedimientos de Diagnóstico y caracterización de *S. enterica* (Caffer et al., 2008).

Procedimientos

De la muestra en Trypticase Soya Agar (TSA), se extrajo una asada para cultivarla en 3 ml de Caldo Trypticase Soya (TSB), luego se incubó de 18-24 horas a 37 °C. De cada TSB que haya presentado crecimiento, se sembró en placas de Agar Mc Conkey (Agar MC), e incubó de 18-24 horas a 37 °C. Luego se observó la morfología y características fenotípicas de las colonias aisladas en las placas de Agar MC., se subcultivaron las cepas de *S. enterica* en Agar Citrato, Agar triple azúcar hierro (TSI), Agar Lisina hierro (LIA) y medio sulfuro indol movilidad (SIM) o medio Movilidad Indol Ornitina (MIO) (ver tabla 4.1 y 4.2). A las 24 horas se realizó la lectura de las bioquímicas para confirmar su identificación y luego se realizaron las pruebas bioquímicas complementarias y de serotipificación somática.

Tabla 4.1*Bioquímicas diferenciales de serovariedades de Salmonella spp*

P. Bioquímicas	S. Typhi	S. Paratyphi A	Salmonella spp.
SH ₂ (TSI)	Trazas	-	+
Lisina decarboxilasa	+	-	+
Ornitina decarboxilasa	-	+	+
Arginina dihidrolasa	-	-	+
Glucosa (gas)	-	+	+
Citrato Simmons	-	-	+

Fuente: Tomado de Caffer I. (2008)**Tabla 4.2.***Bioquímicas diferenciales de Salmonella Typhi y no Typhi.*

Medio de prueba	Salmonella Typhi	Salmonella Paratyphi A	Salmonella No Typhi o Salmonella Paratyphi B o C
Agar hierro triple azúcar (AHTA)	K/A(+) ^a	K/AG ^{-a}	K/AG+ ^a
Agar hierro de Kligler (AHK)	K/A(+) ^a	K/AG ^{-a}	K/AG+ ^a
Agar hierro lisina (AHL)	K/K(+) ^b	K/AG ^{-b}	K/K+ ^b
Sulfuro de hidrógeno (H ₂ S)	(débil) ^c	negativa	positiva
Urea	negativa	negativa	negativa
Motilidad	positiva ^c	positiva	positiva
Indol	negativa	negativa	negativa

^a Para AHK /AHTA: K = alcalina (rojo); A = ácido (amarillo); G = producción de gas; + = H₂S producido negro (débil); - = no H₂S

^b Para AHL: K= alcalina (púrpura); A= ácido (amarillo); G = producción de gas; + = H₂S producido negro (débil); - = no H₂S
 ~ Una reacción alcalina (púrpura) en el extremo del medio indica que la lisina fue descarboxilada.
 ~ Una reacción ácida (amarillo) en el extremo del medio indica que la lisina no fue descarboxilada.

^c Esta reacción se da 97% de las veces.

Fuente: Tomado de Caffer I. (2008)

Se determinó con los resultados bioquímicos la diferenciación de los aislados de *Salmonella enterica* como: *S. enterica* tifoideas y *S. enterica* no tifoidea y se complementó con la serología.

Procedimientos complementarios

- Se agregó 1 gota del Reactivo de Kovac's al cultivo en el medio SIM o MIO, para la Prueba del Indol.
- A partir de un cultivo de agar TSI se subcultivó la cepa aislada en TSA e incubó para realizar las pruebas de serología confirmatoria, de susceptibilidad antimicrobiana y finalmente criopreservarlas.
- Prueba de Voges Proskauer, se sembró en medio Clark y Lubs, se incubó a 37°C por 48 horas, luego se añadió 50 µL α -naftol y 50 µL de solución KOH al 40%, se agitó y dejó reposar por 15 minutos, y se comparó el cambio de color con un control.

b. Determinación de serogrupo de *Salmonella* spp.

Para la identificación del serogrupo, se evaluaron los antígenos somáticos O polivalentes; luego los antígenos somáticos O agrupadores para identificar las serovariedades, y además el antígeno capsular Vi para identificar los aislados sospechosos de *S. enterica* Typhi, según el “Esquema de Kauffmann-White” y del Manual de Procedimientos para la identificación de *S. enterica* (Caffer et al., 2008).

Procedimientos

La determinación del antígeno somático O de *S. enterica* se realizó en lámina a partir de un cultivo en agar TSA (Trypticase Soya Agar), incubado a 37°C por 18-24 horas, mezclando una asada del cultivo en solución salina al 0.85%, hasta obtener una suspensión homogénea y enfrentándolo luego con los antisueros

correspondientes. Al haber aglutinación con alguno de los dos antisueros polivalentes, se procedió a evaluar los antisueros de grupo O (A, B, C, D) correspondiente.

Para el caso especial de aislados sospechosos de *S enterica* serovariedad o serotipo Typhi, según la bioquímica, luego de determinar los positivos para el serovariedad somático D, se les enfrentó con el antisuero capsular “Vi”, sin embargo, no se realizó la serotipificación flagelar, por lo que se diferenció a los aislados de *Salmonella enterica* como: *S enterica* tifoideas y *S. enterica* no tifoideas.

c. Pruebas de susceptibilidad

c.1 Método Difusión de disco en agar de Kirby-Bauer

Este parámetro se midió utilizando el método de difusión de disco en placas de agar siguiendo las recomendaciones de Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017). Los discos que se usaron son: ampicilina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), ciprofloxacino (5µg), tetraciclina (30 µg), trimetoprim–sulfametoxazol (1.25/23.75 µg) y ácido nalidíxico (30 µg). Y para el control se usó *Escherichia coli* ATCC 25922.

- **Test de Jarlier o test confirmatorio de la presencia de “betalactamasas de espectro extendido” según el Comité de Antibiograma de la Sociedad Francesa de Microbiología (Aliaga et al., 2015; Jarlier et al., 1988):**

- El test requirió el uso de discos de amoxicilina/ ácido clavulánico AMC (20/10 µg), ceftazidima CAZ (30 µg) y/o cefotaxima CTX (30 µg) y/o aztreonam ATM (30 µg) y/o ceftriaxona CRO (30 µg), una placa de Agar Muller Hinton con el inóculo de la cepa con una turbidez cercana 0.5 de la escala Mc Farlan.

- El método de Jarlier, consistió en colocar los discos de ceftazidima, aztreonam, cefotaxima y ceftriaxona que se dispuso a 20 mm de distancia del disco de AMC (distancia de centro a centro de los discos).

Se registró el test inicial de tamizaje midiendo los halos de inhibición de cada uno de los discos; luego se detectó si se presenta efecto sinérgico de inhibición entre el disco amoxicilina/ácido clavulánico y los discos de ceftazidima y/o aztreonam y/o cefotaxima y/o ceftriaxona. Los diámetros para ceftazidima, cefotaxima, ceftriaxona y aztreonam fueron utilizados como test de tamizaje, para detección fenotípica de enzimas betalactamasas, según las siguientes características: Si la cepa estudiada presentó halos de inhibición, con al menos uno de estos antibióticos, igual o inferior a los diámetros referidos en la Tabla 5, se realizó el test de Jarlier para confirmar la presencia de “betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

Tabla 5.*Puntos de corte de la zona de diámetro para S. enterica*

Antimicrobiano	Resistencia diámetro de la zona (mm)		
	Sensible	Intermedio	Resistente
Cefotaxima (CTX)	≥ 26	23–25	≤ 22
Ceftriaxona (CRO)	≥ 23	20–22	≤ 19
Cloranfenicol (C)	≥ 18	13–17	≤ 12
Ceftazidima (CAZ)	≥ 21	18–20	≤ 17
Aztreonam (ATM)	≥ 21	18–20	≤ 17
Ciprofloxacino (CIP)	≥ 31	21 - 30	≤ 20
Trimetoprim–sulfametoxazol (SXT)	≥ 16	11–15	≤ 10
Tetraciclina (TE)	≥ 15	12–14	≤ 11
Ampicilina (AMP)	≥ 17	14–16	≤ 13
Ácido nalidíxico (NAL)	≥ 19	14–18	≤ 13

Fuente: CLSI (2017)

c.2 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para el Ácido nalidíxico y Ciprofloxacino

Para esta prueba se empleó el método de Dilución en Placa Agar siguiendo las recomendaciones para testar las fluroquinolonas según el estándar del CLSI del 2017 (CLSI, 2017).

Se usaron puntos de CMI de ≤ 0.06 y ≥ 1 ug/mL y CMI de ≤ 16 y ≥ 32 ug/mL, como puntos de corte para ciprofloxacino y ácido nalidíxico respectivamente, estos fueron incluidos en los siguientes puntos: Para ciprofloxacino se prepararon

concentraciones desde 2 ug/ mL hasta 0.0019 ug/ mL y para el ácido nalidíxico concentraciones desde 256 ug/ mL hasta 0.25 ug/ mL. Se usó también una solución Stock para el antibiótico a una potencia de 1000 ug/ mL, y un inóculo de bacterias de concentración final de 10^7 UFC/ mL, incluyendo la cepa de *E. coli* ATCC 29522, para la validación de la prueba, finalmente se determinó el CMI 90 y CMI 50.

3.6 Análisis de los datos

Para el análisis de las variables de interés, se calcularon las prevalencias y sus respectivos intervalos de confianza al 95% y con un nivel de significancia de 0.05. Para determinar la asociación entre las variables de interés se aplicó la Prueba de Chi cuadrado (χ^2) y la Prueba Exacta de Fisher. Todos los análisis fueron realizados con el programa STATA versión 12.

3.7 Aspectos éticos

El presente estudio no requirió aprobación ética, ya que fue parte del estudio de vigilancia centrada en la resistencia a los antimicrobianos de patógenos aislados de sangre que involucraba a nueve hospitales de Lima Metropolitana, el cual fue aprobado por la Junta de Revisión Institucional de la Universidad Peruana Cayetano Heredia y por cada hospital, en la cual no era necesario tomar muestras específicas para el estudio también se omitió la obtención del consentimiento informado escrito u oral de los pacientes, debido a que las muestras fueron obtenidas a partir de los hemocultivos que se realizan como parte de la atención clínica de cada establecimiento de salud, por lo que el presente estudio no acarreó ningún riesgo para los pacientes que requieran su consentimiento.

Como parte de los requerimientos éticos se cuidó la confidencialidad de los datos de cada paciente, desde el proceso de recolección de las muestras y datos, asignándoles códigos para proteger la identidad de los pacientes.

3.8 Fuentes de financiamiento

Los materiales y reactivos fueron financiados gracias a que el proyecto pertenece al estudio principal “Vigilancia de la Resistencia Antimicrobiana”, enfocado en la resistencia antimicrobiana de los principales patógenos aislados de sangre, que fue patrocinado por la Dirección General de Cooperación al Desarrollo del Gobierno Belga.

IV. RESULTADOS

4.1 Aislamiento e identificación

Entre los años 2008 a 2011 se recolectaron 121 cepas de hemocultivos de pacientes que presentaron septicemia y con sintomatología sugerente de fiebre tifoidea, los cuales procedían de nueve hospitales de Lima Metropolitana. De estas, se aislaron 115 (91.9%) cepas, identificadas como *S. enterica* caracterizadas por bioquímica y serología somática, resultando 71 (61.7%) *Salmonella enterica* fenotipo no tifoidea y 44 (38.3%) *Salmonella enterica* fenotipo tifoideo (ver Tabla 6). De las 6 cepas restantes que no fueron sospechosas de *S. enterica*, se encontraron: 1 cepa de *E. coli*, 1 cepa de *Enterobacter* sp., 1 cepa de *Pseudomona aureginosa* y las otras 3 no crecieron en el proceso de recuperación y aislamiento.

Tabla 6.

Tipos de S. enterica aisladas de hemocultivos

<i>Salmonella enterica</i>					
Serogrupo	Salmonella no tifoidea			Salmonella tifoidea	Total
	Grupo B	Grupo D	Grupo C	Grupo D	
Número de aislados	32 (27.8%)	36(31.3%)	3(2.6%)	44 (38.3%)	115 (100%)

Según el tipo de Servicio del Hospital de donde procedían las cepas, tenemos que la mayoría de *S. enterica* tifoidea eran del servicio de pediatría con 13 pacientes

(29.6%), mientras que las *Salmonella enterica* no tifoideas eran mayormente del área de emergencias de adultos con 16 pacientes (22.5%) y del servicio de medicina general con 14 (19.7%) (Ver Tabla 7 y Figura 6).

Tabla 7.

Tipos de S. enterica por servicio hospitalario.

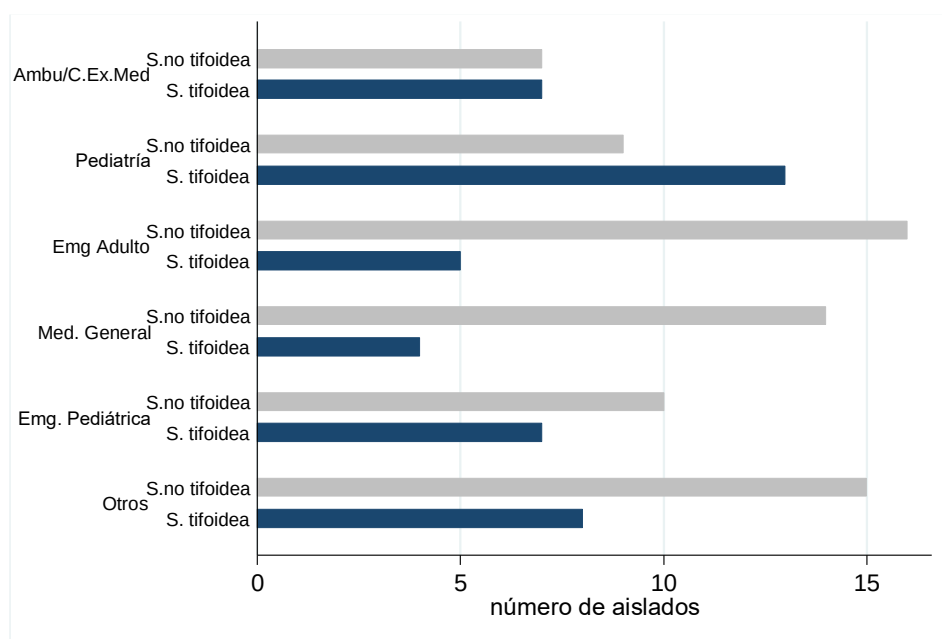
Tipo de servicio hospitalario	<i>Salmonella</i> no tifoidea n (%)	<i>Salmonella</i> tifoidea n (%)
Ambulatorio o Consulta externa	7 (9.9%)	7 (15.9%)
Pediatría	9 (12.7%)	13 (29.6%)
Emergencias Pediátricas	10 (14.1%)	7 (15.9%)
Emergencias adultos	16 (22.5%)	5 (11.4%)
Medicina General	14 (19.7%)	4 (9.1%)
Otros	15 (21.1%)	8 (18.2%)
Total	71 (100%)	44 (100%)

N (%): número (porcentaje)

Fuente: Elaboración propia

Figura 6.

Tipo de *S. enterica* aislada por servicio hospitalario



Tipos de *Salmonella enterica* aislados por año

Los aislados fueron recolectados entre los años 2008, 2009, 2010 y los dos primeros meses del año 2011, que solo presentó 3 cepas; por ello, en este análisis no se consideró el año 2011 para estimar la prevalencia anual. En el año 2008 la *Salmonella* no tifoidea fue más frecuentes con 21 (61.8%) aislados, en el 2009 la *Salmonella* tifoidea con 19 (52.8%) aislados y en el 2010 la *Salmonella* no tifoidea con 31 (73.8%) aislados. De todo el periodo de estudio (3 años) el aislado más frecuente corresponde a la *Salmonella* no tifoidea con 69 de 112 aislados (ver Tabla 8 y Figura 7).

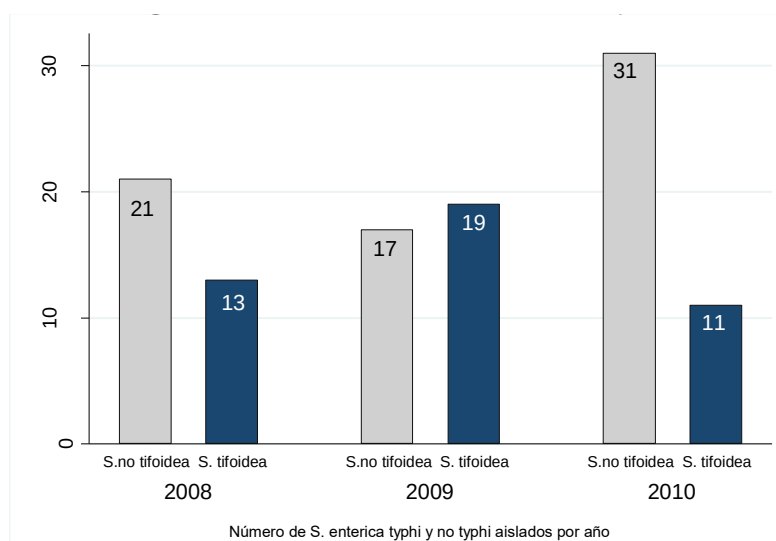
Tabla 8.

Tipo de S. enterica por año de aislamiento.

Año de aislamiento	<i>Salmonella</i> no tifoidea n (%)	<i>Salmonella</i> tifoidea n (%)
2008	21 (61.8%)	13 (38.2%)
2009	17 (47.2%)	19 (52.8%)
2010	31 (73.8%)	11 (26.2%)
Total	69 (61.6%)	43 (38.4%)

Figura 7.

Aislados de *S. enterica* por año de aislamiento



Tipo de aislamientos de Salmonella enterica

En el análisis comparativo de las variables clínicas y demográficas por tipo de *S. enterica*, se observó una asociación significativa por categoría de edad, de todas las bacteriemias producidas por *Salmonella* no tifoidea el 41.7% se produjo en menores de 15 años, de igual manera de todas las bacteriemias por *Salmonella* tifoidea el 50% produjo en este mismo grupo etario. De todas las bacteriemias producidas en toda la población los menores de 15 años fue el más afectado (25%). Por otro lado, no se encontró asociación por sexo ni por servicio hospitalario. (ver Tabla 9).

Tabla 9.

Características demográficas y clínicas según tipo de *S. enterica*

Variables	Salmonelas no tifoideas (n=71)	Salmonelas tifoideas (n=44)	Valor p*
Sexo			0.277
Femenino	30 (50%)	16 (39.02%)	
Masculino	30 (50%)	25 (60.98%)	
Edad categorizada (años)			0.010
Niños (0 -14)	20 (41.7%)	16 (50%)	
Adolescentes/jóvenes (15 -35)	10 (20.8%)	13 (40.6%)	
Adultos (36 - 95)	18 (37.5%)	3 (9.4%)	
Serogrupo			0.000
Grupo B	32 (45.1%)	-	
Grupo C	3 (4.2%)	-	
Grupo D	36 (50.7%)	44 (100%)	
Capsular Vi	-	44 (100%)	
Servicio del hospital			0.121
Consulta externa/Ambulatoria	7 (9.9%)	7 (15.9%)	
Medicina general	14 (19.7%)	4 (9.1%)	
Emergencia adultos	16 (22.5%)	5 (11.4%)	
Pediatría	9 (12.7%)	13 (29.6%)	
Emergencia pediátricas	10 (14.1%)	7 (15.9%)	
Otros	15 (21.1%)	8 (18.2%)	

***Valor p:** valor de significancia estadística de la prueba Chi 2 o Fisher exact.

4.2 Susceptibilidad antimicrobiana

a. Susceptibilidad general

Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de difusión de disco en agar según Kirby-Bauer; para las 115 cepas de *Salmonella enterica*, enfrentándolas a 11 antimicrobianos, de lo cual se obtuvieron 34 (29.6%) cepas con resistencia total a por lo menos un antimicrobiano, 7 (6.1%) cepas con resistencia intermedia y 74 (64.3%) cepas totalmente sensibles (ver Tabla 10).

Todos los aislados fueron totalmente sensibles frente a Cefotaxima, Aztreonam, Ceftazidima, Ceftriaxona y Cloranfenicol, por lo que se comprobó que ninguna cepa presentó β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). También se observó la sensibilidad total del estudio por tipo de aislado, donde las *S. enterica* tifoidea, presentaron menor sensibilidad a la tetraciclina (97.7%), a ampicilina (90.91%) y al ác. Nalidíxico (70.4%); y en el caso de *S. enterica* no tifoidea, presentaron menor sensibilidad a la ciprofloxacino (98.6%), a trimetropim sulfametoxasol (97.2%), a ampicilina y a tetraciclina (92.9%) y al ác. nalidíxico (85.9%) (ver Tabla 11).

Tabla 10.

Susceptibilidad de los asilados clínicos de S. enterica

Antimicrobiano	Susceptible n (%)	Intermedio n (%)	Resistencia n (%)
Cefotaxima (CTX)	115 (100%)	—	—
Ceftriaxona (CRO)	115 (100%)	—	—
Cloranfenicol (C)	115 (100%)	—	—
Ceftazidima (CAZ)	115 (100%)	—	—
Aztreonam (ATM)	115 (100%)	—	—
Amoxicilina/á. clavulánico (AMC)	115 (100%)	—	—
Ciprofloxacino (CIP)	114 (99.1%)	1 (0.9%)	—
Trimetropim sulfametoxasol (SXT)	113 (98.3%)	—	2 (1.7%)
Tetraciclina (TE)	109 (94.8%)	—	6 (5.2%)
Ampicilina (AMP)	106 (92.2%)	6 (5.2%)	3 (2.6%)
Ácido nalidíxico (NAL)	92 (80%)	—	23 (20%)

Tabla 11.

Porcentajes de sensibilidad antimicrobiana por tipo de S. enterica.

Antimicrobiano	<i>S. enterica</i> tifoidea (n=44)	<i>S. enterica</i> no tifoidea (n=71)
Cefotaxima (CTX)	100%	100%
Ceftriaxona (CRO)	100%	100%
Amoxicilina/á. clavulánico (AMC)	100%	100%
Cloranfenicol (C)	100%	100%
Ceftazidima (CAZ)	100%	100%
Aztreonam (ATM)	100%	100%
Ciprofloxacino (CIP)	100%	98.6%
Trimetropim sulfametoxasol (SXT)	100%	97.2%
Tetraciclina (TE)	97.7%	92.9 %
Ampicilina (AMP)	90.91%	92.9%
Ácido nalidíxico (NAL)	70.4%	85.9%

Por otro lado, observamos que del total de cepas de *S. enterica*, 34 (29.6%) presentaron resistencia total frente a los siguientes antimicrobianos: 23/34 cepas

(20%) son resistentes al ácido nalidíxico (NAL) (ver Tabla 12), 6/34 cepas (5.2%) a tetraciclina, 3/34 cepas (2.6%) a ampicilina y 2/34 cepas (1.7%) a trimetropim sulfametoxasol. Además, también se obtuvieron 7 (6.1%) cepas con resistencia intermedia: 6 (5.2%) a ampicilina y 1 (0.9%) a ciprofloxacino (ver Figura 8).

Figura 8.

Resistencia de tipos de *S. enterica* por método de difusión de disco en agar

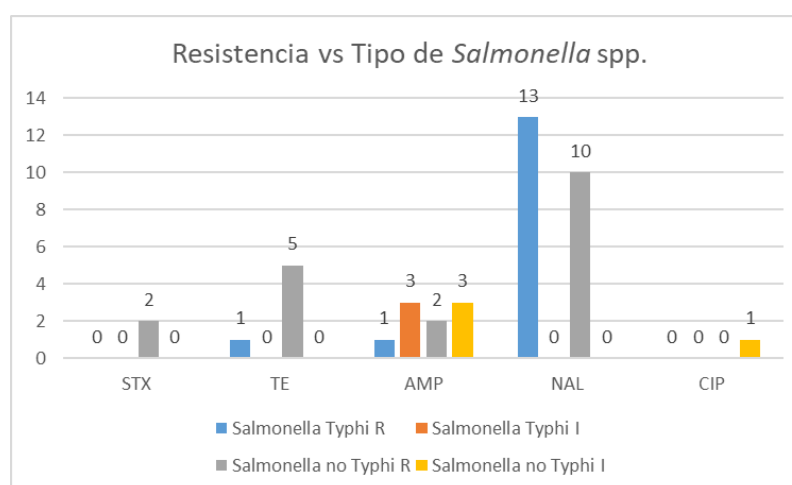


Tabla 12.

Cepas ácido nalidíxico resistentes (NALR) por tipo de *S. enterica*.

Cepas Ácido Nalidíxico Resistentes (NALR)			
<i>S. enterica</i> tifoidea (N=44)		<i>S. enterica</i> no tifoidea (n=71)	
n	%	n	%
13	29.6	10	14.1

b. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del Ácido Nalidíxico y Ciprofloxacino

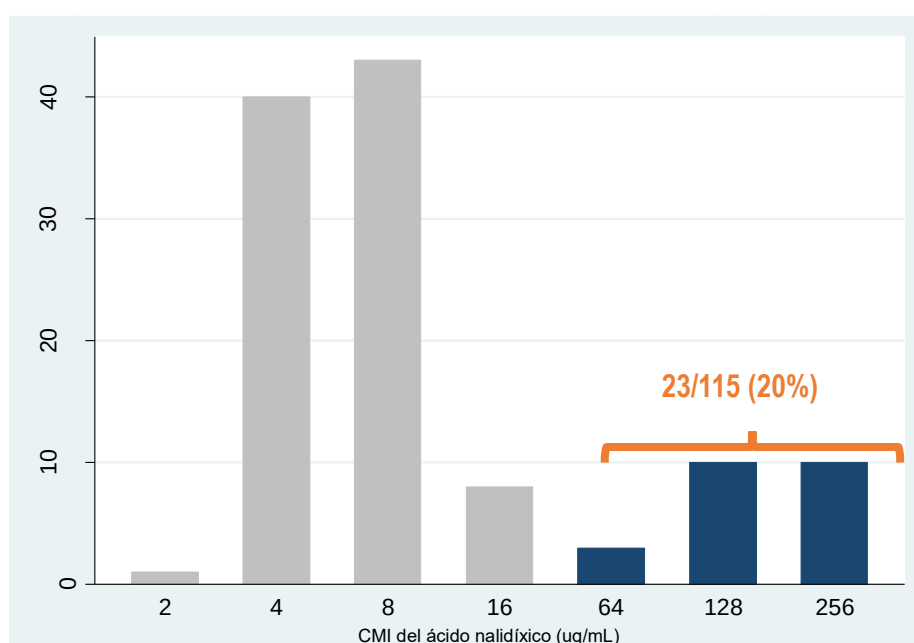
Se determinó la CMI de CIP y NAL para la totalidad de cepas de *Salmonella*, observando los siguientes resultados:

- **CIM del Ácido Nalidíxico (NAL):**

De las 115 cepas analizadas 23 (20%) fueron ácido nalidíxico resistentes (NALR) mientras que 92 (80%) fueron ácido nalidíxico sensibles (NALS). Se determinó así mismo la frecuencia por cada concentración de la CMI de NAL, observando que la concentración de 8 ug/ml, fue la más frecuente; mientras que la de 2 ug/ml. la de menor frecuencia, (ver Figura 9).

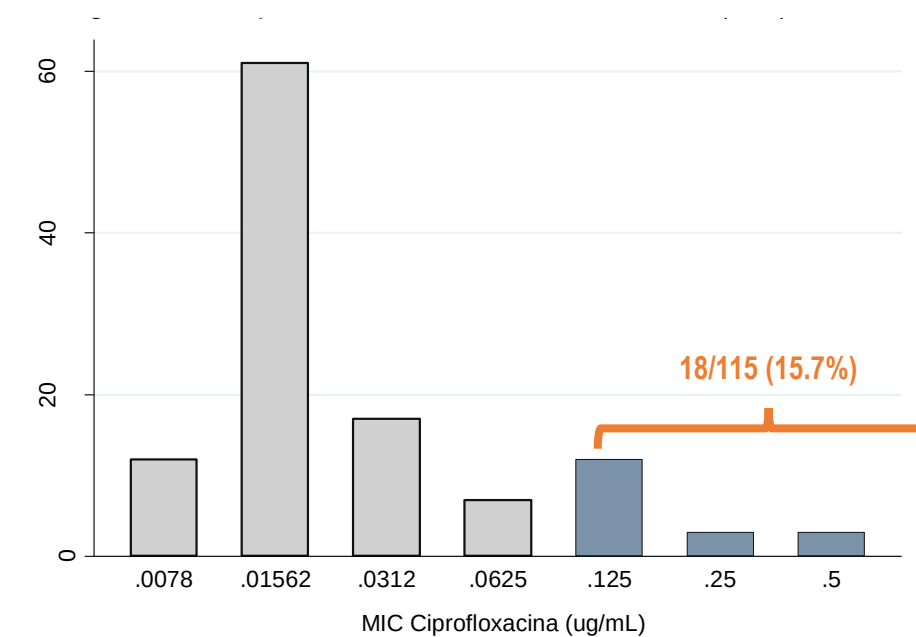
Figura 9.

“Aislados por Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del NAL”

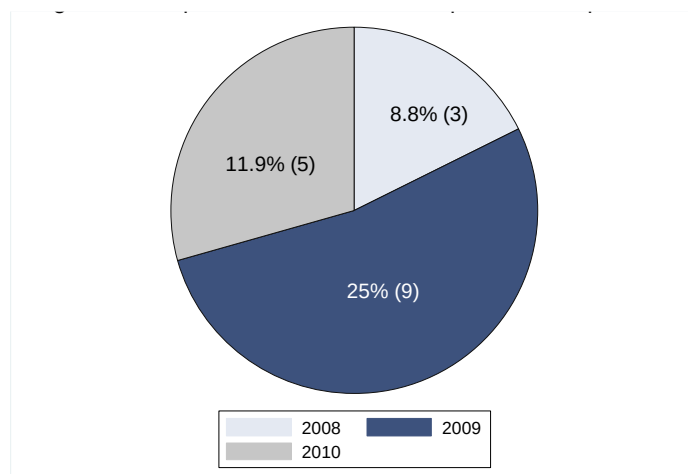


- **CMI de Ciprofloxacino**

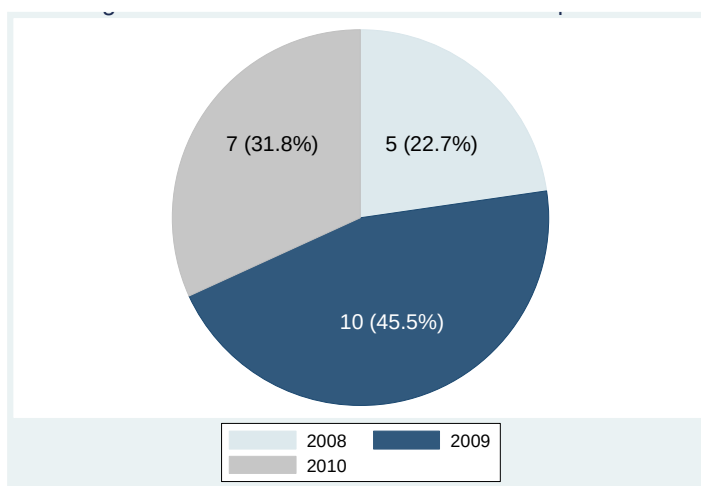
De las 115 cepas analizadas 18 (15.7%) presentaron susceptibilidad disminuida a Ciprofloxacino (DSC) catalogados como resistencia intermedia a ciprofloxacino (RICIP) según los puntos corte establecidos del CLSI (CLSI, 2017). Se determinó, el número de cepas aisladas por cada concentración, las más frecuentes fueron: 0.0156 ug/ml (53.5%) y la de menor frecuencia fueron 0.25 ug/mL (2.6%) (ver Figura 10).

Figura 10.*Aislados por Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) del CIP*

Analizando la Susceptibilidad Disminuida a Ciprofloxacino (DSC) o la presencia de Resistencia Intermedia a Ciprofloxacino (RICIP) por cada año de aislamiento, observamos que el año con mayor frecuencia de DSC fue el 2009 con 25% (9 aislados) y el menor fue en el 2008 con 8.8% (3 aislados) no se encontró asociación ni por edad ni sexo ni con las otras drogas resistentes (ver Figura 11).

Figura 11.*Susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino por año*

Analizando la resistencia al ác. nalidíxico (NALR) por año de aislamiento, observamos que el año con mayor frecuencia de NALR fue el 2009, con 10 (45.5%) y el menor fue en el 2008 con 5 (22.7%) no se encontró asociación ni por edad ni sexo ni con las otras drogas resistentes (ver Figura 12).

Figura 12.*Resistencia al ácido nalidíxico por año*

- **Determinación de la CMI 50 y CMI 90**

Para el ácido nalidíxico (NAL) se obtuvo una CMI 50 de 8 ug/ml y una CIM 90 de 128 ug/ml, entre un rango de 2 a 256 ug/ml. De la misma manera para el ciprofloxacino (CIP), hubo una CMI 50 de 0.015 ug/ml y una CMI 90 de 0.125 ug/ml, entre un rango de 0.0078 a 0.5 ug/ml.

4.3 Relación de CMI de Ác. Nalidíxico (NAL) y Ciprofloxacino (CIP)

Se analizó la relación entre las concentraciones de NAL y CIP, observando el número de cepas que tienen en común. De esta manera observamos en la Tabla 13, que entre las concentraciones sensibles el mayor número de cepas (31/81) se entrecruzaron entre las CMI de 0.01562 y 8 ug/ml de CIP y NAL respectivamente, de la misma manera entre de las cepas resistentes el mayor número de cepas (7/33) se entrecruzaron entre las CMI mayor de 0.125 y con 128 ug/ml de CIP y NAL respectivamente.

Tabla 13.

Relación de las Concentraciones Mínimas Inhibitorias entre CIP y NAL.

		ÁCIDO NALIDÍXICO (ug/ml)						
CIPROFLOXACINO (ug/ml)		2	4	8	16	64	128	256
	0.0078	1	5	6		(B)		
	0.01562		25	31	5			
	0.0312		9	6	2			
	0.0625	(A)	1		1	1	3	1
	0.125					2	5	5
	0.25						2	1
	0.5	(C)				(D)		3

Cuadrante A: cepas NAL y CIP sensibles, el cuadrante B: cepas NAL resistentes, pero CIP sensible, el cuadrante C: cepas NAL sensibles, pero CIP resistente y el cuadrante D: cepas NAL resistentes y CIP con DSC.

5.4 Análisis comparativo de las variables con la Resistencia Intermedia a Ciprofloxacino (RICIP) o susceptibilidad disminuida a Ciprofloxacino (DSC).

En el análisis comparativo se dividió a la población de estudio en dos grupos: con RICIP (DSC), si presentan una CMI para CIP mayor o igual a 0.125 ug/ml y el otro grupo sin RICIP si la CMI para CIP fue menor 0.125 ug/ml (CLSI, 2017). Se compraron las variables sociodemográficas (sexo y edad), servicios hospitalarios y resistencia antimicrobiana por difusión de disco en agar, según grupo de RICIP (DSC), (ver Figura 13 y Tabla 14).

Figura 13

. Resistencia a quinolonas por tipo de *S. enterica*

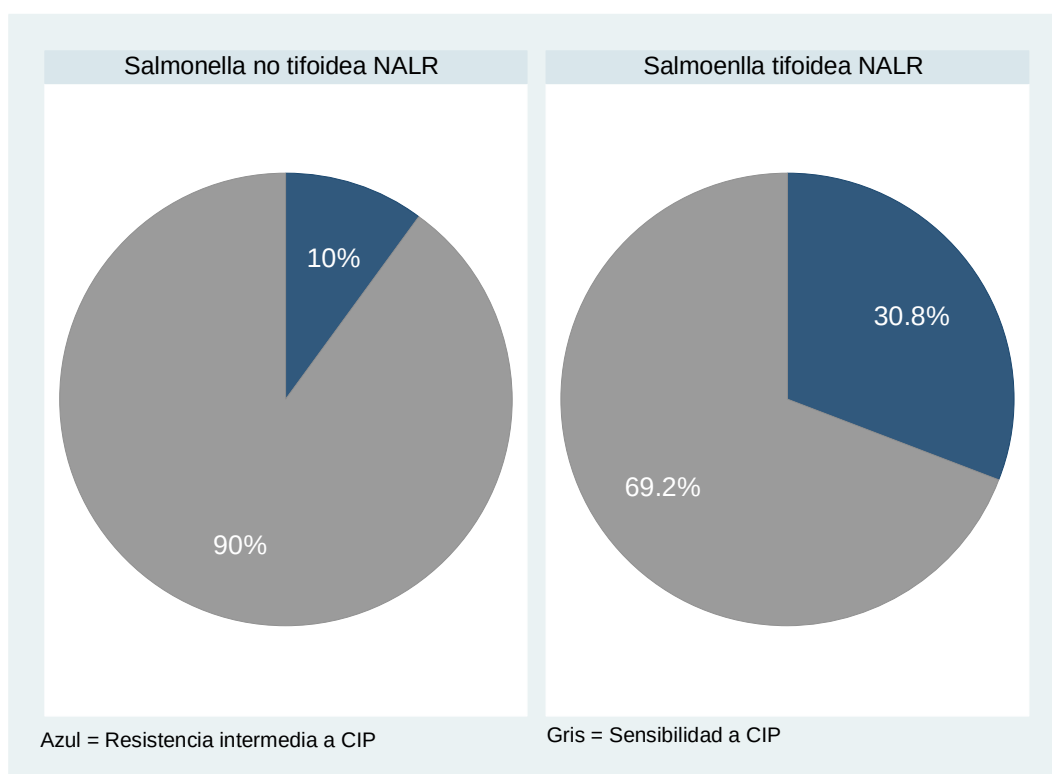


Tabla 14.*Relación de variables según susceptibilidad a Ciprofloxacino*

Parámetros	RICIP	SCIP	Valor p
	(CMI ≥ 0.125 $\mu\text{g/mL}$) (n=18)	(CMI < 0.125 $\mu\text{g/mL}$) (n=97)	
Edad	13.5 $\pm$ 13	22.5 $\pm$ 28	0.101*
Sexo			0.875†
Masculino	9 (16.4%)	46 (83.6%)	
Femenino	7 (15.2%)	39 (84.8%)	
Servicio hospitalario			0.336†
Ambulatorio/C.externa	1 (7.1%)	13 (92.9%)	
Pediatría	7 (33.3%)	14 (66.7%)	
Emergencia adulto	2 (9.5%)	19 (90.5%)	
Medicina general	3 (16.7%)	15 (83.3%)	
Emergencia pediátrica	2 (13.3%)	13 (86.7%)	
Otros	3 (11.5%)	23 (88.5%)	
Resistencia antimicrobiana (difusión de disco en agar)			
AMP intermedia	0	6 (100%)	0.753†
AMP total	0	3 (100%)	
STX total	0	2 (100%)	0.710†
TE total	0	6 (100%)	0.351†
NAL total	18 (78.3%)	5 (21.7%)	<0.001†
Resistente NAL (CMI)	18 (78.3%)	5 (21.7%)	<0.001†

*Prueba Mann-Whitney, † Prueba de Chi2 o Fisher Exact

CTX, CAZ, AMC, AZT, CRO y C fueron totalmente sensibles

RICIP: resistencia intermedia a CIP, SCIP: Sensibilidad a CIP

Del análisis de la tabla 14, observamos que los aislados que fueron resistentes a NAL (NALR) ya sea por CMI o por difusión de disco en agar, y que presentaron RICIP (DSC) fueron 18/23 (78.3%), mientras que los NALR por CMI y difusión de disco en agar, que presentaron sensibilidad al CIP fueron 5/23 (21.7%), con una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.001$).

Relación entre las pruebas por difusión de disco en agar (Kirby Bauer) y la CMI por dilución en agar en la tabla 15, en la cual observamos que la mediana de la zona de inhibición para NAL fue menor con 6 ± 0 mm, en aislados con resistencia intermedia a ciprofloxacino (RICIP) por la CMI, comparada con la mediana de zona de inhibición de NAL de aislados ciprofloxacino sensibles (SCIP) con 23 ± 3.5 mm. Por otro lado, también se observó que la mediana de la CMI de CIP fue mayor ($0.125 \mu\text{g/mL}$) en los aislados NALR por difusión de disco en agar comparadas con las CMI de CIP en cepas NALS. Se presentó una correlación negativa (Rho de Spearman = -0.639 ; $p < 0.001$), indicando que la CMI de CIP aumenta cuando la zona de inhibición para NAL disminuye (figura 14), también hay correlación positiva en tre las CMI de CIP y NAL (Rho de Spearman = 0.566 ; $p < 0.001$); todas las pruebas mencionadas fueron estadísticamente significativas.

Tabla 15.

Relación de susceptibilidad por difusión de disco en agar y CMI entre NAL y CIP.

Variable	RICIP	SCIP	Valor p*
	(CMI ≥ 0.125 $\mu\text{g/mL}$) n=18	(CMI < 0.125 $\mu\text{g/mL}$) N=97	
Zona de inhibición de NAL (mm)	6 $\pm$ 0	23 $\pm$ 3.5	< 0.001

Variable	NALR (DD)	NALS (DD)	Valor p*
	n = 23	n = 92	
CMI de CIP ($\mu\text{g/mL}$)	0.125 $\pm$ 0.125	0.016 $\pm$ 0	< 0.001

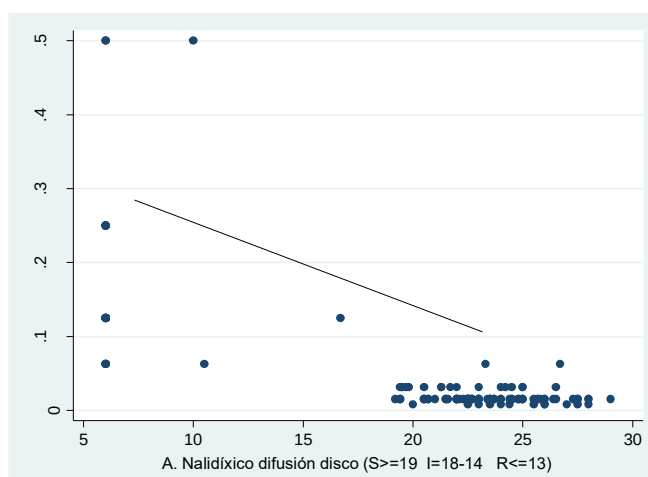
*Prueba de Mann-Whitney, †Correlación de Spearman de zona de inhibición de NAL (mm) y CMI de CIP ($\mu\text{g/mL}$).

RICIP: resistencia intermedia a CIP, SCIP: Sensibilidad a CIP, NALR:

Resistencia al NAL y NALS: Sensibilidad al NAL

Figura 14.

Correlación entre la CMI del Ciprofloxacino y difusión de disco en agar del Á. Nalidíxico.



Se evaluó la resistencia a múltiples antimicrobianos (multiresistencia) en la población de estudio, obteniendo como resultado que no hubo multiresistencia; sin embargo, se registró resistencia antimicrobiana a por lo menos 2 clases de antimicrobianos, de los cuales la mayor prevalencia fueron 21 aislados resistentes al ác. Nalidíxico (NAL) y ampicilina (AMP) (18.3%), (ver Tabla 16).

Tabla 16.

Múltiple resistencia de cepas de S. enterica aisladas de hemocultivos

Resistencias	n	(%)
Sensibilidad	82	71.30%
Resistencia total		
1 antimicrobiano	5	4.35%
2 antimicrobianos		
AMP, TE	3	2.61%
STX, TE	2	1.74%
NAL, AMP	21	18.26%
3 antimicrobianos		
AMP, NAL, DSC	1	0.87%
NAL, CIP, DSC	1	0.87%
Total	115	100.00%

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las bacteriemias causadas por *S. entérica*, generalmente son atribuídas a las *Salmonella* tifoideas, principalmente a *S. enterica* serotipo Typhi, (*S. Typhi*); como se ha documentado ampliamente, los infectados pueden desarrollar complicaciones gastrointestinales y sistémicas como: shock séptico, insuficiencia renal aguda, disfunción hepática, insuficiencia miocárdica o coagulación intravascular diseminada (Guirguis et al., 2017). En nuestro estudio este serotipo causó un 38.3% de las bacteriemias en los nueve hospitales de Lima Metropolitana durante el periodo de estudio; sin embargo, este porcentaje resultó menor comparado con los causados por las salmonelas no tifoideas.

En nuestro estudio, el mayor porcentaje de cepas aisladas a partir de hemocultivos, pertenecen a *S. enterica* no tifoideas con 61.6 %, aseverando que la mayoría de las bacteriemias fueron producidas por *Salmonella* no tifoideas (SNT) (Xia et al., 2009), lo cual coincide con el estudio de Jong K. y colaboradores, quienes ratifican que las SNT no solo pueden causar gastroenteritis sino también salmonelosis extraintestinales que desencadenan las infecciones, sistémicas sobretudo en pacientes inmunocomprometidos (Jong et al., 2012). También, en el estudio de Carden y colaboradores corrobora que existen cepas de SNT que tienden a desarrollar con mayor frecuencia bacteriemias o infecciones extraintestinales (Carden et al., 2015), las cuales constituyen un riesgo para el paciente con infecciones por SNT. Otra investigación las SNT causan mayor letalidad y

comorbilidad que las *Salmonella* tifoideas, adicional a ello presentan un perfil de resistencia antimicrobiano diferente (Shahunja et al., 2015).

Cabe precisar que el desarrollo de infecciones sistémicas por SNT, se debe a la aparición de líneas diferenciadas de un mismo serotipo, las cuales ya no están limitadas a producir solo gastroenteritis, sino que además causan bacteriemias, como lo menciona un reporte en el África subsahariana, sobre un emergente linaje de *S. enterica* serotipo Typhimurium con secuencia de multilocus tipo ST313 como principal causa de bacteriemias en humanos. Este linaje presentó un fenotipo de invasión e inflamación mayor que el de *S. enterica* serotipo Typhi y un fenotipo menor que *S. Typhimurium* de linaje clásico ST19 asociado a gastroenteritis (Carden et al., 2015).

Considerando lo anterior, indicamos que en nuestro medio las bacteriemias se producen por ambos grupos de salmonelas, tifoideas y no tifoideas, por lo que es necesario dar importancia al manejo clínico considerando la identificación de la especie implicada, para evitar las complicaciones o morbimortalidad de los pacientes infectados. Además, es preciso establecer una vigilancia antimicrobiana constante, considerando estos dos grupos por separado.

Otro aspecto evaluado en este estudio fue identificar las prevalencias de bacteriemias en los grupos de edad según el tipo de salmonela; donde del total de las bacteriemias las prevalencias más altas fueron causadas por *Salmonella* no tifoideas (SNT) en niños menores de 15 años y en adultos mayores de 36 años; haciendo otro

análisis por tipo de salmonella vemos que dentro de las bacteriemias por SNT el grupo etario más afectado fue en <15 años (41.7%), al igual que la mayoría de bacteriemia por *S. tifoidea* afectó al grupo de <15 años (50%). Las bacteriemias por SNT de nuestro estudio afectaron mayormente a niños y adultos; esto se condice con estudios como el realizado por Ao T. y colaboradores donde la incidencia de bacteriemias por SNT fueron más altas en infantes y jóvenes adultos de regiones con alta prevalencia de VIH, mientras que en regiones con baja prevalencia de VIH los niños más pequeños y los adultos mayores fueron de mayor riesgo (Ao et al., 2015). Lo mismo se encontró en Israel, la mayoría de casos de bacteriemias por SNT se dio en niños menores de 5 años y en adultos mayores de 60 años (Katz et al., 2019). Con estos estudios se explica que la conducta bimodal de las bacteriemias por SNT respondería a la alta prevalencia del VIH y desnutrición en África (Ao et al., 2015; MacLennan et al., 2017), por lo que inferimos que los niños y adultos mayores son más propensos a desarrollar bacteriemias por SNT cuando presentan otras comorbilidades que condicionan su inmunosupresión. Así también observamos en nuestro estudio que los niños presentaban bacteriemias causadas por ambos fenotipos de *S. enterica* pero predominantemente por las SNT. Estas prevalencias coinciden con lo encontrado en otro estudio africano sobre la epidemiología de las *S. enterica* invasivas en niños menores de cuatro años hospitalizados con estadio febril, los cuales presentaron bacteriemia por *S. Typhi* en un 62% y por *S. Typhimurium* en un 94% de los casos (Msefula et al., 2019), lo cual es razonable ya que las SNT son infecciones transmitidas principalmente por alimentos y los niños generalmente tienen poco conocimiento y costumbres de salubridad, lo cual los hace una población en constante riesgo.

Es importante acotar que en nuestro medio, desde el año 2009 la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria (DIGESA) viene realizando estudios sobre la circulación de diferentes microorganismos en alimentos de origen animal, por ejemplo la “Determinación de la presencia de *Salmonella* spp., en carnes de pollo crudo y cocido en la etapa de comercialización” en Lima Metropolitana y el Callao (DIGEMID, 2017), lo cual apoya a la disminución de la transmisión alimentaria de este patógeno. También es importante resaltar que en otros países endémicos y con escasos recursos se está probando la eficacia de vacunas contra la fiebre tifoidea como parte de programas nacionales de inmunización, como lo establece la OMS para evitar las complicaciones y mortalidad infantil en países con acceso limitado a la salud.

Susceptibilidad Antimicrobiana

Actualmente existe una grave preocupación por la propagación de infecciones resistentes a los antimicrobianos. Según la OMS, el manejo mundial frente a esta problemática es desarrollar nuevos fármacos que son en realidad solo una modificación de los preexistentes, los cuales son una solución a corto plazo. Sumado a ello, cada vez son menos las opciones terapéuticas. Según los últimos acuerdos por la OMS se ha considerado principalmente a patógenos gramnegativos para investigar y proponer nuevos antibióticos para afrontar las resistencias antimicrobianas, entre los cuales las *S. enterica* están clasificadas como uno de los patógenos de alta prioridad por la resistencia a las fluoroquinolonas (OMS, 2017).

La resistencia antimicrobiana en *S. enterica* es un serio problema a nivel mundial que se viene estudiando ampliamente en diversos países como Asia, Europa, Norteamérica y África (Eng et al., 2015; Kobayashi et al., 2014; Mutai et al., 2018); no obstante, en nuestro país aún nos falta hacer un seguimiento exhaustivo para el monitoreo y vigilancia epidemiológica para la *Salmonella* tifoidea y no tifoideas.

Por lo general, las cefalosporinas son los antibióticos clásicos de primera línea indicados para el tratamiento de salmonelosis no tifoideas en humanos (niños y neonatos) y en producción de animales de consumo. Sin embargo, son cada vez más frecuentes la resistencia a cefalosporinas, principalmente las productoras de BLEE (Betalactamasas de espectro extendido), que se reportan mayormente en Asia (Noda et al., 2015; Wong et al., 2014). Estos genes de resistencia a cefalosporina son transmitidos por plásmidos y frecuentemente llevan resistencia de otros antibióticos como las fluroquinolonas (Ziech et al., 2016); esta trasmisión de genes de resistencia a cefalosporinas mediados por plásmidos ocurren principalmente entre *Salmonella* spp., *E. coli*, *Enterobacter cloacae* y *Klebsiella pneumoniae* aisladas de humanos y de alimentos de fuente animal (Zhang et al., 2019).

Betalactamasa de espectro extendido (BLEE)

En nuestro estudio hemos obtenido una completa sensibilidad para todas las cefalosporinas, descartando la presencia de *S. enterica* productoras de BLEE; sin embargo, en reportes recientes en nuestro medio, se identificaron pacientes con infecciones producidas por enterobacterias, entre las cuales solo el 1 % (9/928) fueron *Salmonella* spp. productoras de BLEE (Tejada-Llacs et al., 2015). En una

evaluación nacional realizada por el INS del Hospital del Niño se indica un continuo incremento desde el 2011 de aislamientos de *S. enterica* serotipo C1 productora de BLEE además de ser MDR (Gonzales, 2015). En nuestro estudio no se encontró ninguna resistencia a cefalosporina, principalmente porque nuestros aislados son de un periodo anterior (2008 al 2010), mientras que la resistencia a cefalosporinas del reporte del INS fueron a partir del 2011 (Gonzales, 2015). Esto se explica por la creciente diseminación de genes transmitidos por plásmidos entre las enterobacterias, ya sean humanas o de fuente animal, así tenemos por ejemplo las enzimas CTX-M del grupo transmitida por plásmido de resistencia desde *E. coli* a *S. enterica* como lo sostienen diversos estudios (Burke et al., 2014; Liakopoulos et al., 2016).

Multidrogoresistencia (MDR)

Otro desafío emergente es la aparición de *Salmonella* spp. multidrogoresistentes (MDR), que es la resistencia a antimicrobianos de diferentes clases, usados en el tratamiento tradicional de primera línea conformados por Ampicilina, Cloranfenicol y Trimetopim-sulfametoxazol. Comúnmente se reportan aislados de *S. Typhi* MDR con altas incidencia en Asia y África; por el contrario, se reportan bajas incidencias en Latinoamérica (Date et al., 2016), pero en los últimos veinte años se han reportado SNT MDR; como la aparición serotipos de diferentes linajes entre ellos la *S. Typhimurium* DT104 MDR (Onoko et al., 2015), así el Sistema de Monitoreo de Resistencia Antimicrobiana Nacional (NARMS) indicó que entre el 2005 y 2006 el 84 % de los aislados de SNT fueron fenotipo MDR en Estados Unidos (Eng et al., 2015). En nuestro país tenemos aún pocos estudios sobre MDR, entre ellos el más representativo fue el realizado por el INS, quienes

reportaron por primera vez un 74,1% de cepas *Salmonella* Infantis con un perfil MDR aislados de diferentes secreciones humanas, agrupados en 13 patrones diferentes, con resistencia a más de cinco antibióticos y con fenotipo BLEE (Quino et al., 2019); sin embargo, en nuestro estudio no obtuvimos ninguna *S. enterica* con fenotipo MDR, esto podría explicarse por la reciente aparición de cepas reportadas por el INS con muestras remitidas a nivel nacional. A diferencia de nuestro estudio que es de un periodo anterior, los aislados fueron solo de fuente sanguínea y están restringidos a la población atendida en hospitales de Lima Metropolitana. Por ello, resaltamos la importancia de realizar un constante monitoreo y vigilancia a través de los años, que nos permitirá detectar nuevas apariciones de cepas de *S. enterica* que van mutando o adquiriendo genes de resistencia a diversos antibióticos.

Agrupando las resistencias por fenotipo de salmonella, obtuvimos que las *Salmonella* tifoideas presentaron resistencias más altas al ácido nalidíxico, y resistencias bajas a ampicilina y tetraciclina, mientras que las *Salmonella* no tifoideas presentaron resistencias a los mismos antimicrobianos además de bajas resistencias al trimetropim-sulfametoxazol y una resistencia intermedia a ciprofloxacino. En contraste con un reciente estudio en Bangladesh, las cepas *Salmonella* tifoideas (Typhi y Paratyphi) presentaron altas resistencias a los song antibióticos de primera línea (amoxicilina, trimetropim-sulfametoxazol y cloranfenicol) y segunda línea (ácido nalidíxico y ciprofloxacino) (Afroz et al., 2014); así también, en Estados Unidos las *Salmonella* no tifoideas aisladas de sangre, mostraron altas resistencias a ampicilina, ciprofloxacino y trimetropim-sulfametoxazol (Angelo et al., 2016).

En los reportes mayormente de Asia, se registran aislados de *Salmonella* spp. con altas resistencias al Cloranfenicol y a su vez de aislados MDR; sin embargo, en un estudio realizado recientemente en Nepal, las cepas de *Salmonella* Typhi y Paratyphi A aisladas de sangre, presentaron altas resistencias al ác. nalidíxico (83.1%) y resistencia intermedia a ciprofloxacino (79.5%) mientras más del 95% resultaron sensibles al cloranfenicol, cotrimoxazol y ampicilina, y solo presentaron una MDR (Shrestha et al., 2016). El mismo patrón de sensibilidad a antibióticos de primera línea se encontró en la India (Garg et al., 2013), estos estudios presentan resultados similares al nuestro, pues las resistencias más altas fueron a Quinolonas, mientras en las sensibilidades más altas para trimetropim-sulfametoxazol (98.3%), ampicilina (92.2%) y tetraciclina (94.8%) tanto en *Salmonella enterica* no tifoideas como tifoideas. De estos hallazgos, resaltamos la sensibilidad completa al Cloranfenicol en nuestro medio, que se corrobora con otro reporte actual sobre salmonelosis invasivas donde se obtuvo un 75 % de sensibilidad al cloranfenicol en un hospital de Lima, Perú (Parra-Payano et al., 2019); la misma alta sensibilidad al cloranfenicol se observa en otros países de nuestra región como en Brasil y Chile (Barreto et al., 2016; Souza et al., 2010). Los reportes de alta sensibilidad al Cloranfenicol, así como a los demás antibióticos de primera línea, se puede deber a la suspensión del uso de estos antibióticos en el tratamiento electivo de hace décadas, por la aparición de *Salmonella* spp. MDR, esto explicaría las altas sensibilidades en nuestro estudio significando el declive de la resistencia con el tiempo, o por la pérdida de los plásmidos que transfieren las resistencias a los antimicrobianos de primera línea como lo sostienen algunos investigadores (Chand et al., 2014; Shrestha et al., 2016). Por lo tanto, en nuestro medio el cloranfenicol podría tomarse como

tratamiento electivo para las infecciones sistémicas por *S. enterica*, debido a su eficacia y bajo costo; sin embargo, debe considerarse bajo ciertas restricciones por sus efectos y contraindicaciones, como la aplasia medular.

Se sabe que las Fluroquinolonas junto con las cefalosporinas emergieron como alternativas al tratamiento de fiebre tifoidea causadas por *Salmonella* MDR; sin embargo, en poco tiempo la *S. enterica* serotipo Typhi desarrolló resistencia al ciprofloxacino reportado desde 1992 en Reino Unido (Umasankar et al., 1992) y siguió incrementandose en varias regiones de Asia como en el sur de Korea, India y Vietnam, con Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) $\geq 2 \mu\text{g/mL}$ (Crump et al., 2015). A esto se añadieron reportes de una susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino (DSC) debido a las fallas terapéuticas que se venían registrando por clasificar como sensible a cepas con CMI $\geq 0.125 \mu\text{g/mL}$ y como resistentes con CMI $> 4 \mu\text{g/mL}$ por el CLSI en el 2011, lo que conllevó al CLSI a establecer cambios en el 2012 y proponer como resistencia intermedia a ciprofloxacino con una CMI= 0.125 a 0.52 $\mu\text{g/mL}$ (CLSI, 2017) para evidenciar a las DSC. Comúnmente a los aislados con DSC se le asocia la Resistencia al ácido nalidíxico (NALR); así tenemos en un reporte donde la proporción de las *S. enterica* Typhi NALR y con DSC se incrementaron de 35% en el 2001 a 70% en el 2006 en Reino Unido. De la misma manera se ha documentado la emergencia de *S. enterica* no tifoideas resistentes a quinolonas y fluroquinolonas, como en Dinamarca donde la *S. enterica* serotipo Enteritidis presentó un incremento en la resistencia a Quinolonas de 0.8% en 1995 a 8.5% en el 2000; además de las altas prevalencias de aislados no tifoideos con DSC en Filipinas (15%), Singapur (25%) y Tailandia (46.2%) en el 2009. Por lo

tanto, la resistencia a quinolonas en ambos tipos de *Salmonella* spp. han llegado a ser endémicas en diversas áreas geográficas y en distintos países del mundo (Batchelor et al., 2005; Crump et al., 2015; Gaind et al., 2006).

Acorde con lo anterior, nuestros resultados evidencian un incremento de cepas NALR durante el tiempo de estudio, sobretodo entre el 2008 (8.8%) y el 2009 (45.5%), ese mismo año el Perú notificó para ReLAVRA resistencias elevadas para NAL (15.8%) y bajas para CIP en la comunidad (OPS, 2009).al igual que en los anteriores reportes (Crump et al., 2015); también observamos que de todas las resistencias de nuestro estudio la más alta fue al ácido nalidíxico (20%) y cabe resaltar que existe diferencias por tipo de *Salmonella* spp., pues el 29.6% del total de las cepas *S. enterica* tifoideas fueron NALR y un 14.1% del total de las cepas *S. enterica* no tifoideas fueron NALR; el incremento de las resistencias a las quinolonas en los aislados de *Salmonella* spp., se explica como consecuencia de la aparición de la resistencia a las Fluroquinolonas, que generalmente se producen por la mutación puntual en la región determinada a la resistencia de quinolonas (QRDR) del gen *gyrA* que conduce a una resistencia simultánea al ác. nalidíxico y a una susceptibilidad reducida a ciprofloxacino (Bhagra et al., 2017).

Las *Salmonella* spp. que fueron NALR y DSC al mismo tiempo fueron observadas en nuestro estudio; así vemos que del total de aislados NALR el 78.3% presentaron Resistencia Intermedia a ciprofloxacino (RICIP) por la CMI, aclarando que todas las cepas que tuvieron RICIP tuvieron NALR, esta asociación fue

estadísticamente significativa ($p \leq 0.001$). También observamos que existe una diferencia por tipo de *Salmonella spp.*, donde del total de *Salmonella* tifoideas el 30.8% fueron cepas NALR y RICIP a diferencia del 10% de *Salmonella* no tifoideas NALR y RICIP (fig. 12). Estos hallazgos coinciden con Bhagra y colaboradores, quienes observaron de hemocultivos que el 36.2% de *Salmonella* tifoideas NALR tuvieron susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino (DSC) en la India (Bhagra et al., 2017). Igualmente, en Estados Unidos se mostró que del total de aislados con susceptibilidad disminuida al ác. nalidíxico, el 99% presentaron resistencia total o intermedia a ciprofloxacino (Date KA. et al. 2016 & Mutai et al 2018). Esta asociación se corroboró en nuestro estudio comparando los puntos de CMI de ciprofloxacino con la susceptibilidad al ác. nalidíxico por difusión de disco en agar, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.001$), de la mediana de la CMI para ciprofloxacino (0.016 $\mu\text{g/mL}$) en aislados NALS, comparada con la mediana de la CMI para ciprofloxacino (0.125 $\mu\text{g/mL}$) en aislados NALR. También se observó que existe correlación positiva entre las CMI de ác. nalidíxico y la CMI de ciprofloxacino (Rho de Spearman = 0.566; $p \leq 0.001$), esto coincide con otro estudio donde obtuvieron una asociación entre la sensibilidad al ác. nalidíxico por difusión de disco en agar y las CMI de ciprofloxacino ($p \leq 0.001$) y con una correlación positiva entre las CMI de ambos antibióticos ($p = 0.01$) (Bhagra et al., 2017). Esta asociación nos permite dilucidar que la susceptibilidad al ác. nalidíxico en difusión de disco en agar podría ser útil como un marcador de la susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino (DSC).

En nuestro estudio hubo diferencias en la detección de la resistencia a ciprofloxacino, por la metodología de difusión de disco en agar, donde solo se reportó un 0.1% de resistencia intermedia en una cepa de *Salmonella* no tifoidea, mientras que con la metodología de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se detectó un 15.7% del total de aislados con resistencia intermedia a ciprofloxacino, definitivamente se observó que la mejor detección para la susceptibilidad a ciprofloxacino se debe realizar con la CMI, como lo han establecido las normas del antibiograma publicadas por diversos organismos internacionales (CLSI, 2017; EUCAST, 2019).

La propuesta de la utilidad de la susceptibilidad del ác. nalidíxico por difusión de disco en agar para predecir la susceptibilidad disminuida a ciprofloxacino (DSC) o resistencia intermedia a ciprofloxacino (RICIP), fueron evaluados en estudios previos (Kapil et al., 2002; Ray et al., 2006) y las evidencias de los estudios los correlacionaban con el ác. nalidíxico como predictor de la falla clínica con ciprofloxacino, por ello, el CLSI en el 2009 recomendó su uso como marcador sustituto para detectar *Salmonella* spp. extraintestinales con DSC, sin embargo, existe limitaciones ya que algunas de las mutaciones solo causan leves aumentos en la CMI de ciprofloxacino (0,12 a 0,25 mg/L), los cuales son difíciles de detectar por el método de difusión de disco en agar, y además las resistencias por plásmido mediadas como el *qnr*, frecuentemente no se detectan por el test del ác. nalidíxico. Por ello, en la actualidad el CLSI y el EUCAST tras estudios alternativos sugirieron el uso de la Pefloxacina como un excelente marcador sustituto para detectar DSC en aislados de *Salmonella* spp. (incluyendo *S. Typhi* y *S. Paratyphi* A, B y C), pues

muestra una sensibilidad y especificidad de 100% y 99.5% respectivamente, excepto para los aislados que tienen el gen *aac(6')-Ib-cr* como el único determinante de resistencia (CLSI, 2017; Skov et al., 2015); su uso solo está limitado para ciprofloxacino y no para la susceptibilidad de ofloxacino y levofloxacino (Fang, 2015; Sharma et al., 2017).

Respecto a la evolución del perfil de susceptibilidad de las cepas de *Salmonella enterica* en Perú (ver Anexo 5), por ejemplo, en 1980 se presentó una emergencia de primeros casos infectados con cepas de *S. Typhi* resistentes al Cloramfenicol (Yi A. et al. 1981), por lo que se suspendió su uso; sin embargo, décadas después los estudios de los últimos años indican susceptibilidad total entre 2008 y 2010, como el encontrado en nuestro estudio, también la baja resistencia al Cloramfenicol reportada por la RELAVRA (OPS, 2009), ahora en años recientes se continua con reportes de baja resistencia en cepas productoras de salmonelosis invasivas (Parra-Payano et al., 2019). Por otro lado, vemos que en 2012 se reportan cepas de *Salmonella* productoras de BLEE y MDR, a diferencia de nuestro estudio donde no se detectó ninguna; adicionalmente, en este año el CLSI actualiza los puntos de corte para detectar las resistencias intermedias a Ciprofloxacino, por ello, en los siguientes años se reporta resistencias elevadas a las Fluoquinolonas (Tejada-Llacs et al., 2015 & Quino et al., 2019). También observamos en cepas de *Salmonella enterica* resistentes al CTX, SXT y AMP, fueron aumentando según nuestro reporte y otros entre el 2008 al 2012 (OPS, 2009 & Tejada-Llacs et al., 2015), luego entre 2013 y 2017 presentaron resistencias bajas a CTX y SXT (Parra-Payano et al., 2019). Los hallazgos mayoritariamente son académicos, sin embargo,

al consultar la RELAVRA en 2018 reporta menos de 10 aislados *S. Typhi* totalmente sensibles a Fluroquinolonas y cefalosporinas de 3^oG (OPS & OMS, 2018) esto diverge con otras investigaciones locales en cepas de *Salmonella* spp., esto indicaría la posibilidad de un subregistro al sistema de vigilancia latinoamericano, además de la necesidad de un sistema de vigilancia integrado de la resistencia antimicrobiana en *Salmonella* diferenciando el serotipo, y tipo de infección, y que esta vigilancia sea sostenida en el tiempo y a nivel nacional.

Una de las limitaciones de nuestro estudio fue que solo se contó con la identificación fenotípica de las *Salmonella* spp. y no se determinaron los serotipos flagelares ni tampoco fue posible realizar la identificación molecular de los serotipos de *Salmonella enterica*, por el elevado costo que estos implicaban en el estudio; sin embargo, las *Salmonella* tifoideas como la *S. serotipo Typhi* presenta características bioquímicas únicas frente a otros serotipos, tales como: una baja producción de H₂S, reacciones negativas para el Citrato de Simmons, ornitina descarboxilasa; gas de glucosa; fermentación del dulcitol, arabi-nosa y rhamnosa y la utilización de mucato y acetato (Gonzales, 2015), la mayoría de estas características fueron determinadas en este estudio, excepto la fermentación del dulcitol, arabi-nosa, rhamnosa y el uso de mucato y acetato, adicional a ello, se realizó la serotipificación capsular Vi, que es la más importante en *Salmonella* spp. ya que solo se presenta en tres serotipos: *S. Typhi*, *S. Paratyphi C* y en algunas cepas de *S. Dublin*, entre estos tres serotipos la *S. Typhi* se diferencia por serotipo o por su bioquímica (Caffer et al., 2008). Con las características únicas de las *Salmonella* tifoidea del presente estudio pudimos entonces diferenciarlas fenotípicamente de las no tifoideas.

Otras de las limitantes fue la falta de la determinación genotípica de los genes de resistencia y la clona epidemiológica a la que pertenecen, debido a las limitaciones financieras del estudio de investigación; sin embargo, se pudo determinar adecuadamente el perfil de susceptibilidad antimicrobiana con pruebas de detección fenotípica de resistencia como el de difusión de disco en agar, los cuales sirven de guía para la elección del tratamiento empírico inicial de manera rápida y a bajo costo; sin embargo, la desventaja de este método es que no detecta la actividad bactericida y bacteriostáticas (Balouiri et al., 2016; Khan et al., 2019). Además, se ha comprobado en este y anteriores estudios que no determina la resistencia de algunos antibióticos como el ciprofloxacino; por ello realizamos la prueba de dilución en agar para determinar la CMI, que es imprescindible para la medición cuantitativa de la actividad “in vitro” de un antibiótico para prevenir el desarrollo bacteriano; también se evidencia que la CMI es más eficaz que el método de difusión de disco en agar para detectar los mecanismos de resistencia con bajo nivel de expresión (Cantón & Ruiz-Garbajosa, 2011). Ambas pruebas se encuentran estandarizados por el CLSI y EUCAST, por lo que pueden ser usadas tanto para el manejo clínico como para investigación, como en nuestro caso, donde las muestras fueron debidamente procesadas por personal capacitado, con los controles y recomendaciones sugeridos según las normativas internacionales vigentes (CLSI, 2017).

VI. CONCLUSIONES

- De las 115 bacteriemias, el 61.7% fueron causadas principalmente por *Salmonella* no tifoideas, estas cepas fueron las más frecuentes causas de las bacteriemias de pacientes de los Hospitales de Lima Metropolitana del presente estudio.
- Considerando el total de las bacteriemias, los grupos de edad más afectados fueron mayormente los niños (25%) y adultos mayores de 36 años (22.5%) por *S. no tifoideas*, seguida de las causadas por *S. tifoideas* específicamente en niños (20%).
- Se encontró completa sensibilidad a las cefalosporinas de tercera generación (100%) y al cloranfenicol (100%), además de la sensibilidad a Ampicilina en 92.2%, Trimetropim-Sulfametoxazol en 98.3% y Tetraciclina en 94.8% y no hubo ningún aislado con multidrogoresistencia, según el método de difusión de disco en agar, por lo que se podría sugerir en la clínica la reintroducción de los antimicrobianos más sensibles en nuestro medio para reemplazarlos por los que causan las emergentes resistencias.
- Las resistencias más altas se registraron frente al ác. nalidíxico (20%), las mismas frecuencias de resistentes se reportaron tanto por difusión de disco en agar como también por CMI, en contraste con la resistencia a ciprofloxacino, ya que solo se pudo detectar la resistencia intermedia por el método de la CMI (15.7%) mientras que por difusión de disco en agar solo se detectó un 0.9% de resistencia intermedia, por lo que el método de difusión de disco en agar no fue útil para susceptibilidad de las fluoroquinolonas.

- Todos los aislados que presentaron DSC o resistencia intermedia a ciprofloxacino por CMI, presentaron también resistencia al ác. nalidíxico por difusión de disco en agar y CMI, por lo que el ác. nalidíxico en difusión de disco en agar detectó a todos los aislados con DSC.
- Las resistencias tanto al ác. nalidíxico y ciprofloxacino, se han incrementado en el periodo de estudio 2008 al 2010.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar en el país una vigilancia epidemiológica sobre el perfil de resistencia antimicrobiana de manera periódica, tanto en muestras humanas y de fuente animal, ya que los animales de consumo humano pueden ser reservorios de serotipos de *Salmonella* spp que se transmiten casualmente al hombre por contaminación alimentaria, sobre todo a través de carnes y productos avícolas.
- Como en la mayoría de laboratorios clínicos pertenecientes a los hospitales del estado no se determinan los serotipos de *Salmonella* spp., es necesario establecer alianzas o convenios para que se remitan los aislados a centros especializados de vigilancia epidemiológica nacional, para determinar el serotipo, así como también los genes de resistencia antimicrobiana.
- La detección temprana de nuevas de resistencia o patrones de resistencia permitirá tomar medidas inmediatas y de prevención para reducir la aparición de aislados de *Salmonella* spp. resistentes a los antimicrobianos.
- El uso de la prueba de pefloxacina como sustituto del ác. nalidíxico, podría identificar de manera más precisa la susceptibilidad a fluoroquinolona para seleccionar el mejor tratamiento para los pacientes con complicaciones por *Salmonella* spp. invasivas y así evitar las fallas terapéuticas, sobretodo en laboratorios de países de bajos recursos.
- Modificar la terapia antimicrobiana considerando los antimicrobianos que nuevamente son reportados sensibles, como una alternativa para reemplazarlos por las actuales antibióticos con altas resistencias.

- Realizar medidas de control para el uso correcto de los antibióticos de amplio espectro en los centros de salud públicos y privados, concientizar a la comunidad, así como también en los establecimientos de crianza de animales para consumo humano para evitar el uso irracional de ellos.
- Motivar a las autoridades del país para la aplicación de políticas de control sanitario en la comunidad y en la cadena de crianza de animales y procesamiento de alimentos para el consumo humano, para disminuir las infecciones por *Salmonella* spp. transmitidas de animales a humanos o entre humanos. Así también, se hace necesario mejorar las condiciones de saneamiento e higiene para evitar la propagación de los patógenos entéricos en general.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Achtman, M., Wain, J., Weill, F.-X., Nair, S., Zhou, Z., Sangal, V., Krauland, M. G., Hale, J. L., Harbottle, H., Uesbeck, A., Dougan, G., Harrison, L. H., Brisse, S., & Group, the S. enterica M. study. (2012). Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in *Salmonella enterica*. *PLOS Pathogens*, 8(6), e1002776. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002776>
- Afroz, H., Hossain, Md. M., & Fakruddin, Md. (2014). A 6-year retrospective study of bloodstream *Salmonella* infection and antibiotic susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi in a tertiary care hospital in Dhaka, Bangladesh. *Tzu Chi Medical Journal*, 26(2), 73-78. <https://doi.org/10.1016/j.tcmj.2014.05.006>
- Ahmed, D., D'Costa, L. T., Alam, K., Nair, G. B., & Hossain, M. A. (2006). Multidrug-Resistant *Salmonella enterica* Serovar Typhi Isolates with High-Level Resistance to Ciprofloxacin in Dhaka, Bangladesh. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 50(10), 3516-3517. <https://doi.org/10.1128/AAC.00667-06>
- Akullian, A., Montgomery, J. M., John-Stewart, G., Miller, S. I., Hayden, H. S., Radey, M. C., Hager, K. R., Verani, J. R., Ochieng, J. B., Juma, J., Katieno, J., Fields, B., Bigogo, G., Audi, A., & Walson, J. (2018). Multi-drug resistant non-typhoidal *Salmonella* associated with invasive disease in western Kenya. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 12(1), e0006156. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006156>
- Alfaro, R. (2018). *Aspectos relevantes sobre Salmonella sp en humanos*. 34(3), 13. <http://scielo.sld.cu>

- Aliaga, F. C., Andrade, C. S., & Escalante, E. G. (2015). Enterobacterias productoras de Betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales en el Instituto Nacional de Salud del Niño, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 32(1), 26-32.
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2015.321.1571>
- Angelo, K. M., Reynolds, J., Karp, B. E., Hoekstra, R. M., Scheel, C. M., & Friedman, C. (2016). Antimicrobial Resistance Among Nontyphoidal Salmonella Isolated From Blood in the United States, 2003–2013. *The Journal of Infectious Diseases*, 214(10), 1565-1570.
<https://doi.org/10.1093/infdis/jiw415>
- Ao, T. T., Feasey, N. A., Gordon, M. A., Keddy, K. H., Angulo, F. J., & Crump, J. A. (2015). Global Burden of Invasive Nontyphoidal Salmonella Disease, 2010. *Emerging Infectious Diseases*, 21(6), 941-949.
<https://doi.org/10.3201/eid2106.140999>
- Ashurst, J. V., Truong, J., & Woodbury, B. (2019). *Salmonella Typhi*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519002/>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibnsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6(2), 71-79. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barreto, M., Castillo-Ruiz, M., & Retamal, P. (2016). Salmonella enterica: Una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile. *Revista chilena de infectología*, 33(5), 547-557.
<https://doi.org/10.4067/S0716-10182016000500010>

- Batchelor, M., Hopkins, K., Threlfall, E. J., Clifton-Hadley, F. A., Stallwood, A. D., Davies, R. H., & Liebana, E. (2005). *BlaCTX-M Genes in Clinical Salmonella Isolates Recovered from Humans in England and Wales from 1992 to 2003. Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(4), 1319-1322. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.4.1319-1322.2005>
- Baylis, C., & International Life Sciences Institute. (2011). *The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry*. ILSI Europe. <http://www.cabi.org/cabdirect/FullTextPDF/2014/20143006754.pdf>
- Betancor, L. (2012). *Salmonella y salmonelosis*. Departamento de Desarrollo Biotecnológico, Facultad de Medicina.
- Bhagra, S., Sood, A., Singh, D., & Kanga, A. (2017). Increased resistance to Nalidixic acid and Ciprofloxacin in Salmonella isolates from the Sub Himalayan region. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 5(9), 4025. <https://doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20173976>
- Bravo, T. C. (2007). Fiebre tifoidea: Caso clínico, estudio epidemiológico, patogenia, diagnóstico y tratamiento. *Medicina Interna de México*, 11.
- Burke, L., Hopkins, K. L., Meunier, D., de Pinna, E., Fitzgerald-Hughes, D., Humphreys, H., & Woodford, N. (2014). Resistance to third-generation cephalosporins in human non-typhoidal Salmonella enterica isolates from England and Wales, 2010–12. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(4), 977-981. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt469>
- Cabrera, R., Ruiz, J., Marco, F., Oliveira, I., Arroyo, M., Aladueña, A., Usera, M. A., Anta, M. T. J. D., Gascón, J., & Vila, J. (2004). Mechanism of Resistance to Several Antimicrobial Agents in Salmonella Clinical Isolates Causing

- Traveler's Diarrhea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(10), 3934-3939. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.10.3934-3939.2004>
- Caffer, M. I., Terragno, R., & Binsztein, N. (2008). *Manual de Procedimientos Para Salmonella | Salmonella | Diarrea*. Scribd. <https://es.scribd.com/document/84444781/Manual-de-Procedimientos-Para-Salmonella>
- Cantón, R., & Ruiz-Garbajosa, P. (2011). Co-resistance: An opportunity for the bacteria and resistance genes. *Current Opinion in Pharmacology*, 11(5), 477-485. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2011.07.007>
- Carden, S., Okoro, C., Dougan, G., & Monack, D. (2015). Non-typhoidal Salmonella Typhimurium ST313 isolates that cause bacteremia in humans stimulate less inflammasome activation than ST19 isolates associated with gastroenteritis. *Pathogens and Disease*, 73(4). <https://doi.org/10.1093/femspd/ftu023>
- CDC (Atlanta, 2013). Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. Amenazas de resistencia a los antibióticos en los Estados Unidos, 2013. <http://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>
- CDC. (2019a, abril 4). *La Salmonella y los alimentos*. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/spanish/especialescdc/salmonella/index.html>
- CDC. (2019b, abril 25). *Datos preliminares de FoodNet 2018*. <https://www.cdc.gov/foodnet/reports/prelim-data-intro-2018.html>
- Chand, H. J., Rijal, K. R., Neupane, B., Sharma, V. K., & Jha, B. (2014). Re-emergence of susceptibility to conventional first line drugs in Salmonella

- isolates from enteric fever patients in Nepal. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 8(11), 1483-1487. <https://doi.org/10.3855/jidc.4228>
- Clendenes, M., Carrillo, C., Gotuzzo, E., & Benavente, L. (1992). Estudio seroepidemiologico de fiebre tifoidea en poblacion escolar en el area norte de Lima metropolitana. *Revista médica herediana*, 3(3), 94-100.
- CLSI. (2017). *Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts* (27th ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Crump, J. A., Kretsinger, K., Gay, K., Hoekstra, R. M., Vugia, D. J., Hurd, S., Segler, S. D., Megginson, M., Luedeman, L. J., Shiferaw, B., Hanna, S. S., Joyce, K. W., Mintz, E. D., & Angulo, F. J. (2008). Clinical Response and Outcome of Infection with *Salmonella enterica* Serotype Typhi with Decreased Susceptibility to Fluoroquinolones: A United States FoodNet Multicenter Retrospective Cohort Study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 52(4), 1278-1284. <https://doi.org/10.1128/AAC.01509-07>
- Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A., & Parry, C. M. (2015). Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(4), 901-937. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-15>
- Das, J. K., Hasan, R., Zafar, A., Ahmed, I., Ikram, A., Nizamuddin, S., Fatima, S., Akbar, N., Sultan, F., & Bhutta, Z. A. (2018). Trends, Associations, and Antimicrobial Resistance of *Salmonella* Typhi and Paratyphi in Pakistan. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 99(3_Suppl), 48-54. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.18-0145>

- Date, K. A., Newton, A. E., Medalla, F., Blackstock, A., Richardson, L., McCullough, A., Mintz, E. D., & Mahon, B. E. (2016). Changing Patterns in Enteric Fever Incidence and Increasing Antibiotic Resistance of Enteric Fever Isolates in the United States, 2008–2012. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 63(3), 322-329. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw232>
- DIGEMID. (2017, diciembre 27). *Plan Nacional para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2017—2021*.
<http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Acceso/URM/GestionURMTrabSalud/ReunionTecnica/VIII/Dia2/Antimicrobianos/PlanNacionalATM-2017-2021.pdf>
- Edelstein, M., Pimkin, M., Dmitrachenko, T., Semenov, V., Kozlova, N., Gladin, D., Baraniak, A., & Stratchounski, L. (2004). Multiple Outbreaks of Nosocomial Salmonellosis in Russia and Belarus Caused by a Single Clone of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Producing an Extended-Spectrum β -Lactamase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(8), 2808-2815.
<https://doi.org/10.1128/AAC.48.8.2808-2815.2004>
- Elika. (2019). *Salmonella*. *Elika Seguridad Alimentaria*.
<https://seguridadalimentaria.elika.eus/salmonella/>
- Eng, S.-K., Pusparajah, P., Ab Mutalib, N.-S., Ser, H.-L., Chan, K.-G., & Lee, L.-H. (2015). *Salmonella*: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284-293.
<https://doi.org/10.1080/21553769.2015.1051243>

EUCAST. (2019). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf

Fang, F. C. (2015). Fluoroquinolone Resistance in Salmonella and the Utility of Perfloracin Disk Diffusion. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(11), 3401-3404. <https://doi.org/10.1128/JCM.02270-15>

Foley, S. L., Lynne, A. M., & Nayak, R. (2008). Salmonella challenges: Prevalence in swine and poultry and potential pathogenicity of such isolates,. *Journal of Animal Science*, 86(suppl_14), E149-E162. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0464>

Gaind, R., Paglietti, B., Murgia, M., Dawar, R., Uzzau, S., Cappuccinelli, P., Deb, M., Aggarwal, P., & Rubino, S. (2006). Molecular characterization of ciprofloxacin-resistant Salmonella enterica serovar Typhi and Paratyphi A causing enteric fever in India. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 58(6), 1139-1144. <https://doi.org/10.1093/jac/dkl391>

Garg, A., Verma, S., Kanga, A., Singh, D., & Singh, B. (2013). Antimicrobial resistance pattern and in vivo activity of azithromycin in Salmonella isolates. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 31(3), 287. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.115641>

Gonzales, E. (2015). 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, 32(3), 605-606.

<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2015.323.1701>

Grados', D. O. (1974). *PRESENCIA DE SALMONELLA ENTERITIDIS, SEROTIPO AGONA, EN EL PERU'*. 5.

Guirguis, G. F., Patel, K., Gittens-Williams, L., Apuzzio, J. J., Martimucci, K., &

Williams, S. F. (2017). *Salmonella enterica Serotype Typhi Bacteremia*

Complicating Pregnancy in the Third Trimester [Research article]. Case

Reports in Obstetrics and Gynecology. <https://doi.org/10.1155/2017/4018096>

Gunn, J. S., Marshall, J. M., Baker, S., Dongol, S., Charles, R. C., & Ryan, E. T.

(2014). Salmonella chronic carriage: Epidemiology, diagnosis and

gallbladder persistence. *Trends in microbiology*, 22(11), 648-655.

<https://doi.org/10.1016/j.tim.2014.06.007>

IDPH. (2019). *Salmonella*. <http://idph.iowa.gov/cade/disease-information/salmonella>

Jarlier, V., Nicolas, M.-H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended Broad-

Spectrum β -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β -

Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility

Patterns. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(4), 867-878.

<https://doi.org/10.1093/clinids/10.4.867>

Jurado Jimenez, R., Arenas Muñoz, C., Doblas Delgado, A., Rivero, A., & Torre-

Cisneros, J. (2010). Fiebre tifoidea y otras infecciones por salmonellas.

Medicine, 10(52), 3497-3501. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(10\)70069-](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(10)70069-X)

X

- Kapil, A., Renuka, null, & Das, B. (2002). Nalidixic acid susceptibility test to screen ciprofloxacin resistance in *Salmonella typhi*. *The Indian Journal of Medical Research*, 115, 49-54.
- Katz, D., Ben-Chetrit, E., Sherer, S.-S., Cohen, D., & Muhsen, K. (2019). Correlates of non-typhoidal *Salmonella* bacteraemia: A case–control study. *International Journal of Infectious Diseases*, 81, 170-175.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.01.028>
- Khan, Z. A., Siddiqui, M. F., & Park, S. (2019). Current and Emerging Methods of Antibiotic Susceptibility Testing. *Diagnostics*, 9(2), 49.
<https://doi.org/10.3390/diagnostics9020049>
- Kobayashi, T., Hayakawa, K., Mawatari, M., Mezaki, K., Takeshita, N., Kutsuna, S., Fujiya, Y., Kanagawa, S., Ohmagari, N., Kato, Y., & Morita, M. (2014). Case report: Failure under azithromycin treatment in a case of bacteremia due to *Salmonella enterica* Paratyphi A. *BMC Infectious Diseases*, 14(1), 404.
<https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-404>
- Lawe Davies, O., & Bennett, S. (2017, 27 febrero). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. Comunicado de prensa Organización Mundial de la Salud.
<https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- Lee, H., Su, L., Tsai, M., Kim, S., Chang, H., Jung, S., . . . Cheng-Hsun Chiu Graduate Institute of Clinical Medical Sciences, C. G. (2009, June 01). High Rate of Reduced Susceptibility to Ciprofloxacin and

Ceftriaxone among Nontyphoid Salmonella Clinical Isolates in Asia.

Retrieved from <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01297-08>

Liakopoulos, A., Geurts, Y., Dierikx, C. M., Brouwer, M. S. M., Kant, A., Wit, B., Heymans, R., van Pelt, W., & Mevius, D. J. (2016). Extended-Spectrum Cephalosporin-Resistant Salmonella enterica serovar Heidelberg Strains, the Netherlands1. *Emerging Infectious Diseases*, 22(7), 1257-1261.
<https://doi.org/10.3201/eid2207.151377>

Lin, J.-J., Weng, T.-H., Tseng, W.-P., Chen, S.-Y., Fu, C.-M., Lin, H.-W., Liao, C.-H., Lee, T.-F., Hsueh, P.-R., & Chen, S.-Y. (2018). Utility of a blood culture time to positivity-incorporated scoring model in predicting vascular infections in adults with nontyphoid Salmonella bacteremia. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 51(5), 652-658.
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2018.01.004>

Lindgren, M. M., Kotilainen, P., Huovinen, P., Hurme, S., Lukinmaa, S., Webber, M. A., Piddock, L. J. V., Siitonen, A., & Hakanen, A. J. (2009). Reduced Fluoroquinolone Susceptibility in Salmonella enterica Isolates from Travelers, Finland. *Emerging Infectious Diseases*, 15(5), 809-812.
<https://doi.org/10.3201/eid1505.080849>

Ludden C, Raven KE, Jamrozy D, Gouliouris T, Blane B, Coll F, de Goffau M, Naydenova P, Horner C, Hernandez-Garcia J, Wood P, Hadjirin N, Radakovic M, Brown NM, Holmes M, Parkhill J , Peacock SJ. One Health La vigilancia genómica de Escherichia coli demuestra linajes distintos y elementos genéticos móviles en aislamientos de humanos frente a ganado. *mBio*. 22 de enero de 2019; 10

- MacLennan, C. A., Msefula, C. L., Gondwe, E. N., Gilchrist, J. J., Pensulo, P., Mandala, W. L., Mwimaniwa, G., Banda, M., Kenny, J., Wilson, L. K., Phiri, A., MacLennan, J. M., Molyneux, E. M., Molyneux, M. E., & Graham, S. M. (2017). Presentation of life-threatening invasive nontyphoidal *Salmonella* disease in Malawian children: A prospective observational study. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 11(12), e0006027.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006027>
- Merino, L. A., Hreñuk, G. E., Ronconi, M. C., & Alonso, J. M. (2004). Resistencia a antibióticos y epidemiología molecular de *Shigella* spp. En el nordeste argentino. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 15(4), 219-224.
<https://doi.org/10.1590/S1020-49892004000400001>
- Mirza, S. H., Beechmg, N. J., & Hart, C. A. (1996). Multi-drug resistant typhoid: A global problem. *Journal of Medical Microbiology*, 44(5), 317-319.
<https://doi.org/10.1099/00222615-44-5-317>
- Morillos, T. (2018). Caracterización molecular del gen plasmídico *spvR* en aislados clínicos de *Salmonella* spp. Remitidos al Instituto Nacional de Salud durante el 2015. *Universidad Nacional de Trujillo*.
<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/12001>
- Msefula, C. L., Olgemoeller, F., Jambo, N., Segula, D., Van Tan, T., Nyirenda, T. S., Nedi, W., Kennedy, N., Graham, M., Henrion, M. Y. R., Baker, S., Feasey, N., Gordon, M., & Heyderman, R. S. (2019). Ascertaining the burden of invasive *Salmonella* disease in hospitalised febrile children aged under four years in Blantyre, Malawi. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 13(7), e0007539. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007539>

- Mutai, W. C., Muigai, A. W. T., Waiyaki, P., & Kariuki, S. (2018). Multi-drug resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates with reduced susceptibility to ciprofloxacin in Kenya. *BMC Microbiology*, 18(1), 187. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1332-3>
- Naranjo, J. L. (2016). *Determinación de Antígeno Somático y Flagelar de Salmonella SPP y su relación con Trastornos Gastrointestinales en trabajadores de Avícolas del Cantón Pelileo* [Tesis, Universidad Técnica de Ambato]. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/24169>
- Noda, T., Murakami, K., Etoh, Y., Okamoto, F., Yatsuyanagi, J., Sera, N., Furuta, M., Onozuka, D., Oda, T., Asai, T., & Fujimoto, S. (2015). Increase in Resistance to Extended-Spectrum Cephalosporins in *Salmonella* Isolated from Retail Chicken Products in Japan. *PLOS ONE*, 10(2), e0116927. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116927>
- Octavia, S., & Lan, R. (2014). The Family Enterobacteriaceae. En E. Rosenberg, E. F. DeLong, S. Lory, E. Stackebrandt, & F. Thompson (Eds.), *The Prokaryotes: Gammaproteobacteria* (pp. 225-286). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-38922-1_167
- OMS. (2017). *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antimicrobianos>
- OMS. (2018a). *OMS | Fiebre tifoidea*. WHO. <http://www.who.int/features/qa/typhoid-fever/es/>
- OMS. (2018b). *Salmonella (no tifoidea)*. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Oneko, M., Kariuki, S., Muturi-Kioi, V., Otieno, K., Otieno, V. O., Williamson, J.

M., Folster, J., Parsons, M. B., Slutsker, L., Mahon, B. E., & Hamel, M. J.

(2015). Emergence of Community-Acquired, Multidrug-Resistant Invasive

Nontyphoidal Salmonella Disease in Rural Western Kenya, 2009-2013.

Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious

Diseases Society of America, 61 Suppl 4, S310-316.

<https://doi.org/10.1093/cid/civ674>

OPS, O. P. de la S., & OMS, O. M. de la S. (2018, octubre 12). *Salmonella entérica*

serovar Typhi haplotipo H58—Alerta Epidemiológica. Pan American Health

Organization / World Health Organization.

[https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50533/EpiUpdate10October20](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50533/EpiUpdate10October2018_spa.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

[18_spa.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/50533/EpiUpdate10October2018_spa.pdf?sequence=2&isAllowed=y)

Organización Panamericana de la Salud, (ops). (2009). Informe Anual de la Red de

Monitoreo. Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos. 2009. OPS.

<https://iris.paho.org/handle/10665.2/51799>

Parra, M., Durango, J., & Mattar, S. (2002). MICROBIOLOGÍA, PATOGÉNESIS,

EPIDEMIOLOGÍA, CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES

PRODUCIDAS POR Salmonella. *Revista MVZ Córdoba*.

<https://doi.org/10.21897/rmvz.521>

Parra-Payano, V. D., Rondón-Paz, C. R., & García, C. (2019). Salmonelosis invasiva

en un hospital de Lima, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y*

Salud Pública, 36(3), 464-468.

<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.363.4330>

- Parry, C. M., Vinh, H., Chinh, N. T., Wain, J., Campbell, J. I., Hien, T. T., Farrar, J. J., & Baker, S. (2011). The Influence of Reduced Susceptibility to Fluoroquinolones in *Salmonella enterica* Seroovar Typhi on the Clinical Response to Ofloxacin Therapy. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(6), e1163. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001163>
- Popoff, M. Y., Bockemühl, J., & McWhorter-Murlin, A. (1993). Supplement 1992 (no. 36) to the Kauffmann-White scheme. *Research in Microbiology*, 144(6), 495-498. [https://doi.org/10.1016/0923-2508\(93\)90058-A](https://doi.org/10.1016/0923-2508(93)90058-A)
- Quino, W., Hurtado, C. V., Escalante-Maldonado, O., Flores-León, D., Mestanza, O., Vences-Rosales, F., Zamudio, M. L., & Gavilán, R. G. (2019). Multidrogorresistencia de *Salmonella infantis* en Perú: Un estudio mediante secuenciamiento de nueva generación. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 36(1), 37-45. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.3934>
- Quirós, S. (2016). *Infecciones por bacterias del género Salmonella: Relevancia en la práctica clínica*. Revista Clínica de la Escuela de Medicina UCR – HSJD. <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcliescmed/ucr-2016/ucr164e.pdf>
- Ramallo, G., Villalobo, C., Etcheverría, A., & Padola, N. L. (2017, octubre). *Diferentes métodos para detección y aislamiento de Salmonella spp en reses porcinas*. <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/1536/Ramallo,%20Grisel%20Anabella.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Ray, P., Sharma, J., Marak, R. S. K., & Garg, R. K. (2006). Predictive efficacy of nalidixic acid resistance as a marker of fluoroquinolone resistance in

Salmonella enterica var Typhi. *The Indian Journal of Medical Research*, 124(1), 105-108.

Renuka, K., Kapil, A., Kabra, S. k., Wig, N., Das, B. k., Prasad, V. v. s. p., Chaudhry, R., & Seth, P. (2004). Reduced Susceptibility to Ciprofloxacin and gyrA Gene Mutation in North Indian Strains of *Salmonella enterica* Serotype Typhi and Serotype Paratyphi A. *Microbial Drug Resistance*, 10(2), 146-153.
<https://doi.org/10.1089/1076629041310028>

Ryan, M. P., O'Dwyer, J., & Adley, C. C. (2017). Evaluation of the Complex Nomenclature of the Clinically and Veterinary Significant Pathogen *Salmonella*. *BioMed Research International*, 2017.
<https://doi.org/10.1155/2017/3782182>

Salmonella—*New World Encyclopedia*. (2019, agosto 31). New World Encyclopedia. <https://www.newworldencyclopedia.org/entry/Salmonella>

Seral, C., de la Gándara, M. P., & García, F. J. C. (2010). Betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias distintas de *Escherichia coli* y *Klebsiella*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28, 12-18.
[https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(10\)70003-3](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(10)70003-3)

Shahunja, K. M., Leung, D. T., Ahmed, T., Bardhan, P. K., Ahmed, D., Qadri, F., Ryan, E. T., & Chisti, M. J. (2015). Factors Associated with Non-typhoidal *Salmonella* Bacteremia versus Typhoidal *Salmonella* Bacteremia in Patients Presenting for Care in an Urban Diarrheal Disease Hospital in Bangladesh. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9(9), e0004066.
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004066>

- Sharma, P., Dahiya, S., Kumari, B., Balaji, V., Sood, S., Das, B. K., & Kapil, A. (2017). Pefloxacin as a surrogate marker for quinolone susceptibility in *Salmonella enterica* serovars Typhi & Paratyphi A in India. *Indian Journal of Medical Research*, 145(5), 687. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_494_16
- Shrestha, K. L., Pant, N. D., Bhandari, R., Khatri, S., Shrestha, B., & Lekhak, B. (2016). Re-emergence of the susceptibility of the *Salmonella* spp. Isolated from blood samples to conventional first line antibiotics. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 5(1), 22. <https://doi.org/10.1186/s13756-016-0121-8>
- Silva, C., Betancor, L., García, C., Astocondor, L., Hinostroza, N., Bisio, J., Rivera, J., Perezgasga, L., Pérez Escanda, V., Yim, L., Jacobs, J., García-del Portillo, F., the SalmoIber CYTED Network, Chabalgoity, J. A., & Puente, J. L. (2017). Characterization of *Salmonella enterica* isolates causing bacteremia in Lima, Peru, using multiple typing methods. *PLOS ONE*, 12(12), e0189946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189946>
- Skov, R., Matuschek, E., Sjölund-Karlsson, M., Åhman, J., Petersen, A., Stegger, M., Torpdahl, M., & Kahlmeter, G. (2015). Development of a Pefloxacin Disk Diffusion Method for Detection of Fluoroquinolone-Resistant *Salmonella enterica*. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(11), 3411-3417. <https://doi.org/10.1128/JCM.01287-15>
- Souza, C. de O., Ramos, F., Mota, C., Souza, L., & Lopes, M. (2010). Resistência antimicrobiana de *Salmonella Typhi* identificadas no Estado do Pará, Brasil. 1(2), 6. <https://doi.org/doi:10.5123/S2176-62232010000200007>

- Stanaway, J. D., Reiner, R. C., Blacker, B. F., Goldberg, E. M., Khalil, I. A., Troeger, C. E., Andrews, J. R., Bhutta, Z. A., Crump, J. A., Im, J., Marks, F., Mintz, E., Park, S. E., Zaidi, A. K. M., Abebe, Z., Abejie, A. N., Adedeji, I. A., Ali, B. A., Amare, A. T., ... Hay, S. I. (2019). The global burden of typhoid and paratyphoid fevers: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet Infectious Diseases*, 19(4), 369-381. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30685-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30685-6)
- Stanchi, N. O. (Ed.). (2007). *Microbiologia veterinaria*. Inter-Médica.
- Teixidó, L. (2013). *Estudio del regulón Fur en Salmonella enterica serovar Typhimurium*. Universitat Autònoma de Barcelona,. <https://ddd.uab.cat/record/113091>
- Tejada-Llacs, P. J., Huarcaya, J. M., Melgarejo, G. C., Gonzales, L. F., Cahuana, J., Pari, R. M., Bohorquez, H. L., & Chacaltana, J. (2015). Caracterización de infecciones por bacterias productoras de BLEE en un hospital de referencia nacional. *Anales de la Facultad de Medicina*, 76(2), 161-166. <https://doi.org/dx.doi.org/10.15381/anales.v76i2.11143>
- Todar, K. (2012). *Salmonella and Salmonellosis*. <http://textbookofbacteriology.net/salmonella.html>
- Toro, M., & Sáenz, Y. (2011). Genetic characterization of the mechanisms of resistance to amoxicillin/clavulanate and third-generation cephalosporins in *Salmonella enterica* from three Spanish hospitals. *International Microbiology*, 14, 173-181. <https://doi.org/10.2436/20.1501.01.146>

- Umasankar, S., Wall, R. A., & Berger, J. (1992). A case of ciprofloxacin-resistant typhoid fever. *Communicable Disease Report. CDR Review*, 2(12), R139-140.
- Wong, M. H. Y., Yan, M., Chan, E. W. C., Biao, K., & Chen, S. (2014). Emergence of Clinical *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Isolates with Concurrent Resistance to Ciprofloxacin, Ceftriaxone, and Azithromycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(7), 3752-3756.
<https://doi.org/10.1128/AAC.02770-13>
- Xia, S., Hendriksen, R. S., Xie, Z., Huang, L., Zhang, J., Guo, W., Xu, B., Ran, L., & Aarestrup, F. M. (2009). Molecular Characterization and Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella* Isolates from Infections in Humans in Henan Province, China. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(2), 401-409.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01099-08>
- Yi, A., Garcia, M., Llanos, A., Guerra, J., & Gotuzzo, E. (1981). Emergencia de resistencia al cloranfenicol en *Salmonella typhi* in vivo e in vitro en el curso de una epidemia. *Diagnóstico*, 8, 87-93.
- Zhang, C.-Z., Ding, X.-M., Lin, X.-L., Sun, R.-Y., Lu, Y.-W., Cai, R.-M., Webber, M. A., Ding, H.-Z., & Jiang, H.-X. (2019). The Emergence of Chromosomally Located blaCTX-M-55 in *Salmonella* From Foodborne Animals in China. *Frontiers in Microbiology*, 10.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01268>
- Ziech, R. E., Lampugnani, C., Perin, A. P., Sereno, M. J., Sfaiotote, R. A. P., Viana, C., Soares, V. M., de Almeida Nogueira Pinto, J. P., & dos Santos Bersot, L. (2016). Multidrug resistance and ESBL-producing *Salmonella* spp. Isolated

from broiler processing plants. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(1), 191-195. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.021>

ANEXOS

Anexo A. Materiales y reactivos

a. Equipos.

- Agitador vórtex
- Micropipetas (P-10, P-100, P-200, P-1000 de marca EPPENDORF)
- Pipetas 10 y 25 mL
- Espectrofotómetro
- Autoclave
- Baño de agua a 50°C
- Estufa de cultivo 37° ± 1°C.
- Refrigerador a 4°C
- Microondas
- Balanza digital.
- Estufa bacteriológica o para cultivos 37° ± 1°C.

b. Materiales

- Tips de 200 µL.
- Tips con filtro de 10 µL.
- Tips con filtro 100 µL.
- Tips con filtro de 200 µL.
- Guantes descartables sin talco.
- Láminas portaobjeto.
- Pinza metálica.
- Hisopos estériles.

- Placas Petri de vidrio para esterilizar de 100 x 10mm.
- Placas Petri plástico estéril de 100 x 10mm.
- Caja petri de vidrio para esterilizar, con tapa de 150 x 25 – 30 mm.
- Asa de nicrom de aro y asa en punta.
- Asas desechables estériles,
- Tubos de ensayo y gradillas
- Tubos de 13x10 mm con tapa de baquelita
- Tubos de 15x10 mm con tapa de baquelita
- Láminas de vidrio de 20x20 cm
- Pipetas de vidrio de 5 mL, 10 mL, 25 mL y 50 mL.
- Mechero
- Palillos de madera.
- Toalla de papel absorbente.
- Bolsas plásticas con cierre hermético, estériles.

c. Medios de cultivo

- Agar TSA (agar tripticasa de soya)
- Agar TSI (agar hierro – tres azúcares)
- Agar LIA (agar lisina – hierro)
- Agar SIM
- Agar MIO
- Reactivo de Erlich, para la prueba de indol
- Solución de KOH, para la prueba de Voges Proskauer
- α -naftol, para la prueba de Voges Proskauer.

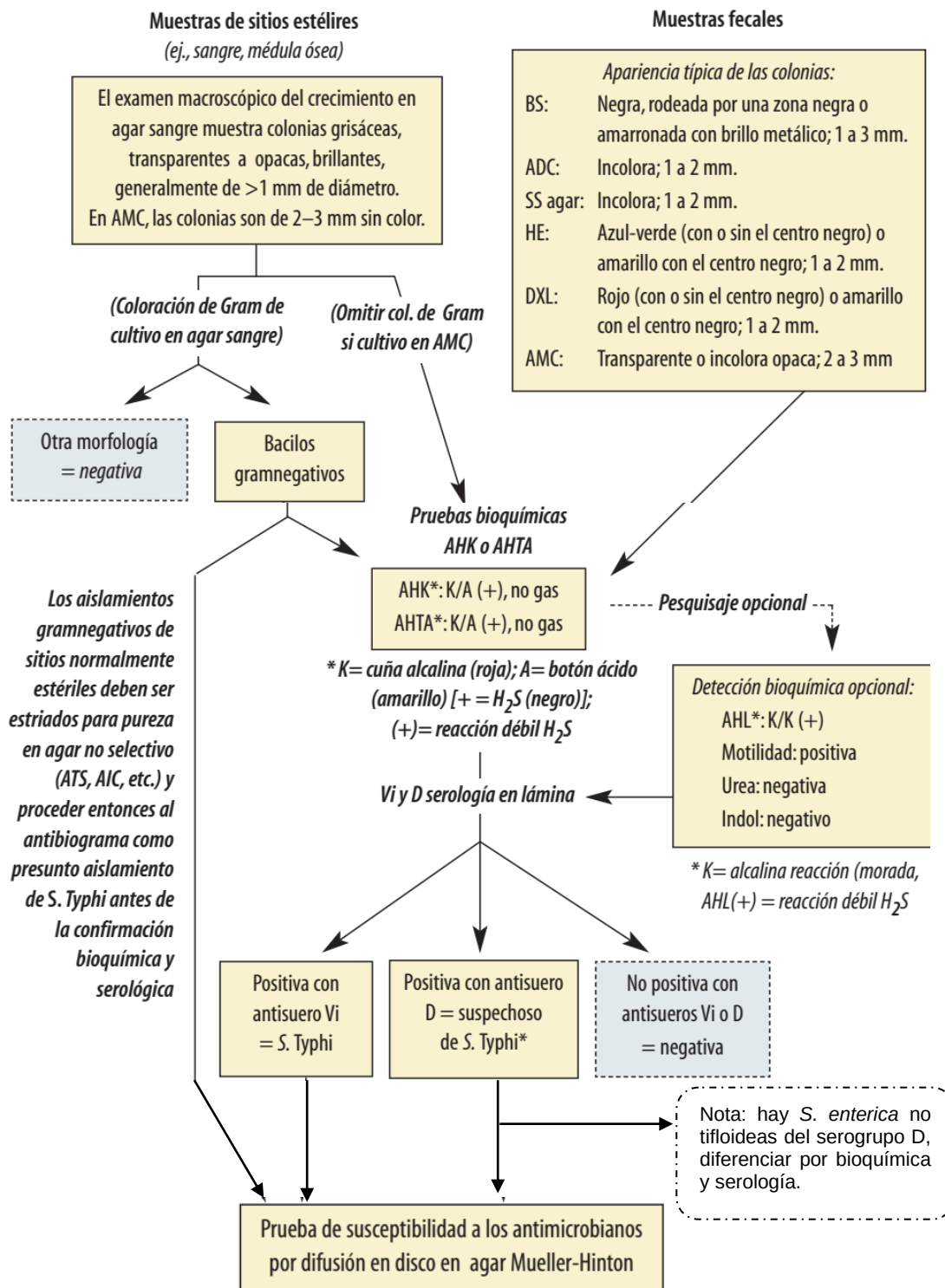
d. Reactivos para Serología

- Antisueros O y H
- Solución salina al 2%
- Solución fisiológica formolada al 1%.

e. Antisueros diagnósticos

- Antisueros polivalentes O.
- OS-A: contienen anticuerpos O de los grupos A, B, D, E, L
- OS-B: contienen anticuerpos O de los grupos C1, C2, F, G, H
- OS-C: contienen anticuerpos O de los grupos I, J, K, M, N, O, P
- OS-D: contienen anticuerpos O de los grupos Q, R, S, T, U, V, W
- Antisuero capsular Vi

Anexo B: Flujoograma de identificación de cepas de *Salmonella* tifoidea y no tifoidea (fuente: OMS, 2004)



Anexo C: Protocolo de procedimiento de la Concentración Mínima

Inhibitoria (CMI)

a. Preparación del antibiótico

Se prepara la solución stock del antibiótico a una concentración de 1000 ug/mL.

$$\text{Peso} = \frac{\text{V (mL)} \times \text{CC}}{\text{P}}$$

P

V: volumen de la solución stock

CC: concentración de la solución del antibiótico

P: Peso que se necesita agregar a la solución.

Ácido nalidíxico

$$\text{Peso (NAL)} = \frac{25 \text{ ml.} \times 1000 \text{ ug/ ml.}}{980 \text{ ug/ mg}}$$

Ciprofloxacino

$$\text{Peso (CIP)} = \frac{2 \text{ ml.} \times 1000 \text{ ug/ ml.}}{980 \text{ ug/ mg}}$$

- Luego hallar el peso cada antibiótico, se disuelve en mitad de volumen de agua destilada esteril y mitad del volumen de hidróxido de sodio NaOH 1 N para ácido nalidíxico y 0.1 N para ciprofloxacino.

b. Preparación de las concentraciones.

- ***Cálculo de las concentraciones***

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

C1: Concentración del antibiótico de la solución madre, en este caso para ambos antibióticos fue de 1000 ug/mL.

V1: Volumen que se sacará de la solución madre para agregar al agar.

C2: Concentración que se desea hallar.

V2: Volumen que se desea obtener.

Ejemplo:

- Para hallar una concentración de 256 ug/ml de ácido nalidíxico.

$$(1000 \text{ ug/ml}) \times V1 = (256 \text{ ug/ml.}) \times (50\text{ml})$$

$$V1 = 12.6 \text{ ml.}$$

- Así para cada concentración de antibiótico:

Ciprofloxacino: 2 ug/ml, 1 ug/ml, 0.5 ug/ml, 0.25 ug/ml, 1.25 ug/ml, 0.625 ug/ml, 0.312 ug/ml, 0.156 ug/ml, 0.0078 ug/ml 0.0039 ug/ml y 0.0019 ug/ml.

Ácido nalidíxico: 256 ug/ml, 128 ug/ml, 64 ug/ml, 32 ug/ml, 16 ug/ml, 8 ug/ml, 4 ug/ml, 2 ug/ml, 1 ug/ml, 0.5 ug/ml y 0.25 ug/ml.

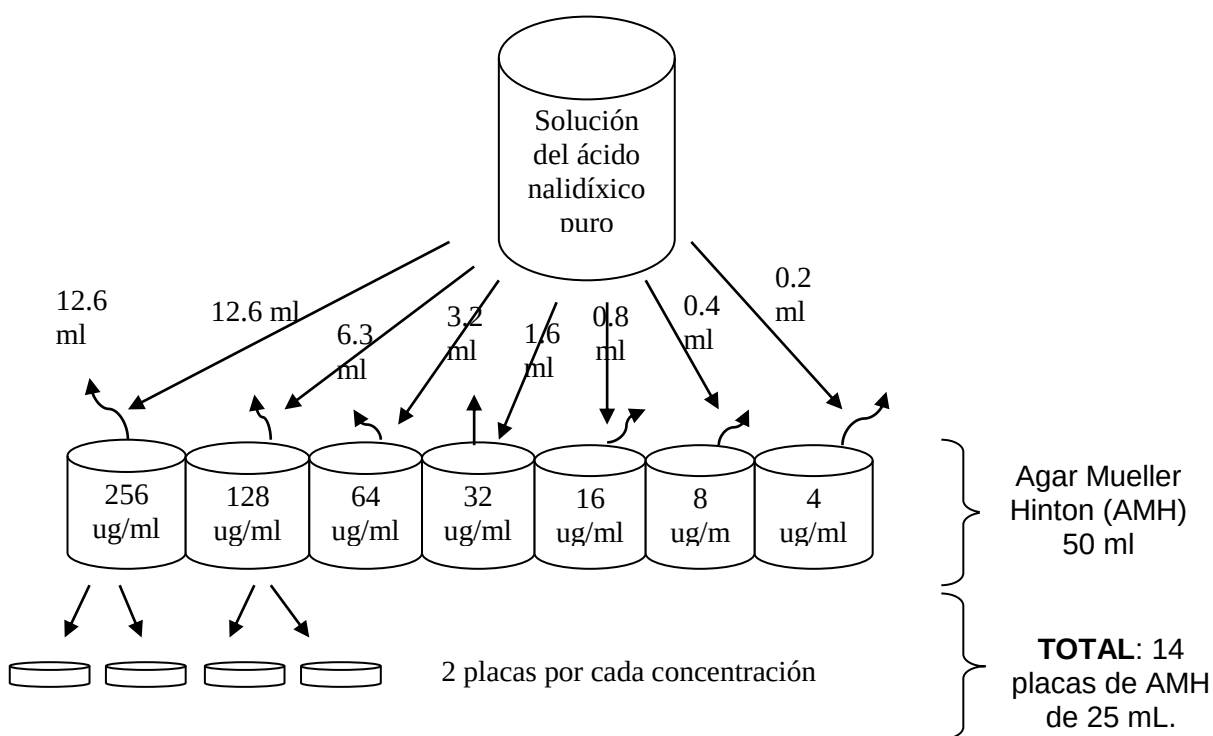
- ***Procedimiento***

Se prepara para las concentraciones más altas, 50 ml de Agar Mueller (AMH), para luego agregar el volumen adecuado del antibiótico sacando la misma cantidad de agar para compensar el mismo volumen inicial de 50 mL. y finalmente repartir en dos placas cada una de 25 mL. por cada una de ellas, obteniendo dos juegos de concentraciones.

Ácido nalidíxico

Figura 15.

Dilución del ác. nalidíxico en agar para preparar la CMI



Ciprofloxacino

- Igualmente se preparará para la concentración de 4 ug/ml., que es la única concentración alta que se usará para este antibiótico.

c. Diluciones intermedias

Para las concentraciones mas pequeñas se harán diluciones intermedias a partir de 2 ug/ml, como en el Esquema 2:

- Se hace un cálculo de una concentración mayor en este caso de 20 ug/mL., para un volumen de 10 mL. al cual se le agregará un volumen de la solución madre de 200 uL, para obtener esa concentración.
- A partir de aquella solución se hará las diluciones intermedias para finalmente mezclar los 5 ml, de antibiótico ya diluido con 45 ml de AMH, para así obtener la décima parte de la dilución principal, como se muestra en el siguiente diagrama:

Cálculo de la concentración inicial

$$(1000 \text{ ug/ml.}) \times V1 = (20 \text{ ug/ml.}) \times (10\text{ml})$$

$$V1 = 0.2 \text{ ml.} = 200 \text{ uL.}$$

Figura 16.

Preparación del antibiótico

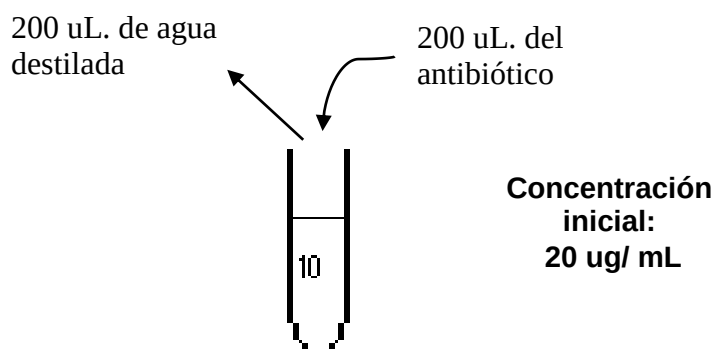
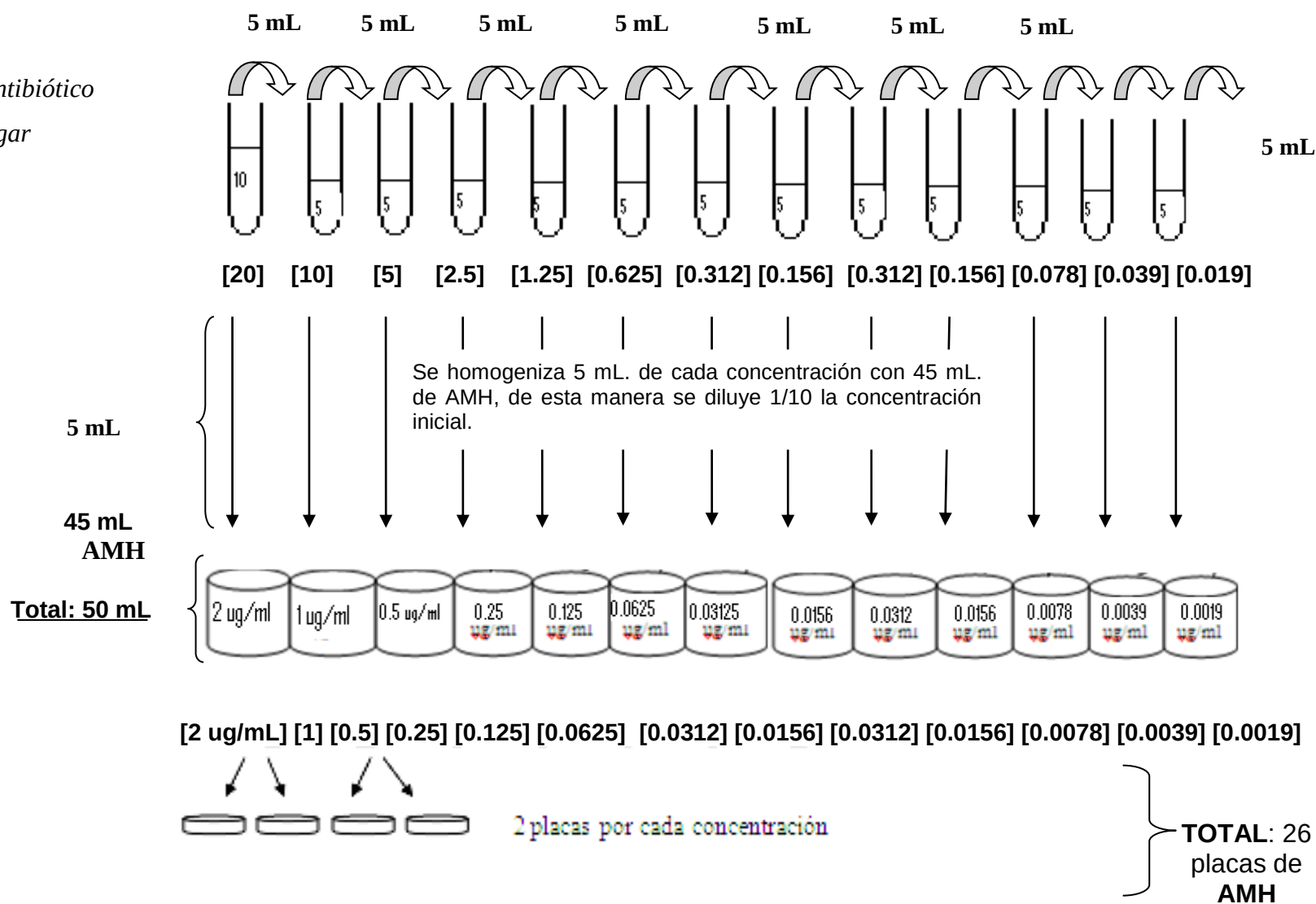


Figura 17.

*Dilución del antibiótico
en placas de agar*



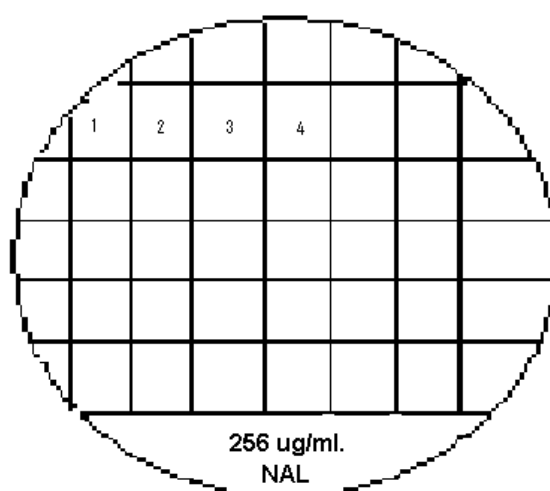
- Igualmente se hace el cálculo para las concentraciones mínimas del ácido nalidíxico.

d. Preparación de inóculos

- Se preparan inóculos para cada cepa, a partir de una escala Mc Farland de 0.5, de la cual se prepara un inóculo de bacterias de concentración final de 10^7 UFC/ mL.
- Cada placa será dividida por cuadrantes rotulados con sus códigos (fig. 2), de acuerdo al número de cepas a sembrar, y en cada una se inoculará 2 uL.
- Se dejará incubando por 24 horas.
- La lectura se realizará tomando como base los puntos de corte sugeridos por el CLSI tanto para los antibióticos como para la *E. coli* ATCC 25922, para validar la prueba.

Figura 18.

Placa de siembra para la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)



Cepa 1: Hospital Almenara 162

Cepa 2: Hospital Nacional Hipólito Unzué 045

Anexo D. Fotografías de la metodología de susceptibilidad

a. Método de difusión de disco en agar (Kirby Bauer)

- Placa de Agar Muller Hilton para difusión del disco

Figura 19.

Aislado de *S. enterica* resistente al Ác. nalidíxico.

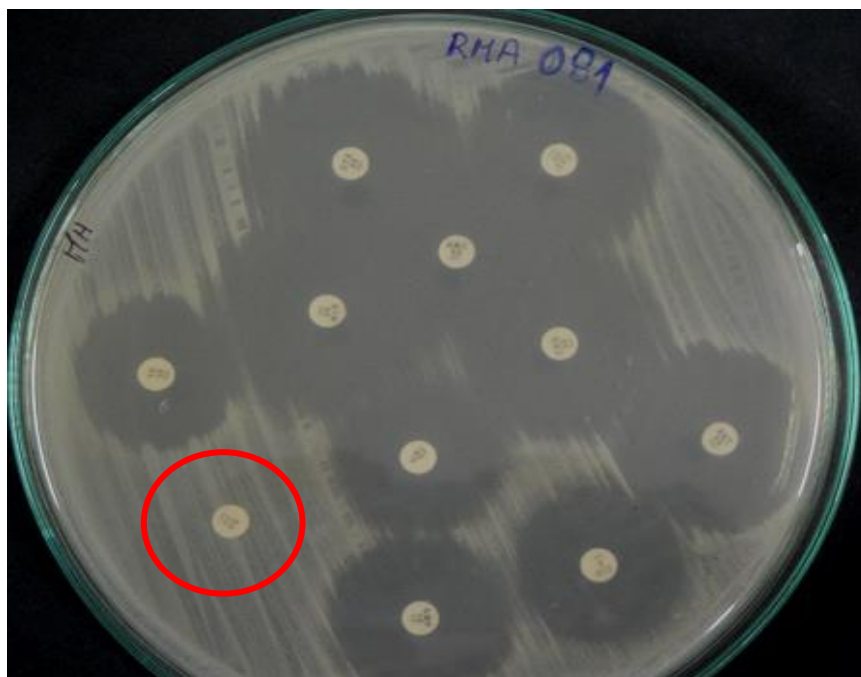
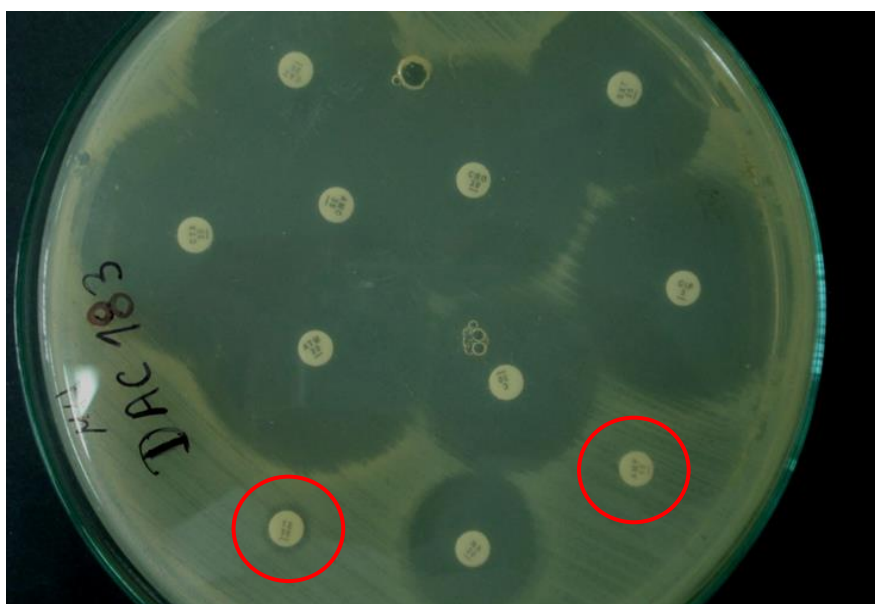


Figura 20.

Aislado de *S. enterica* resistente a Tetraciclina y Ampicilina



b. Test de Jarlier o test confirmatorio de la presencia de betalactamasas de espectro extendido

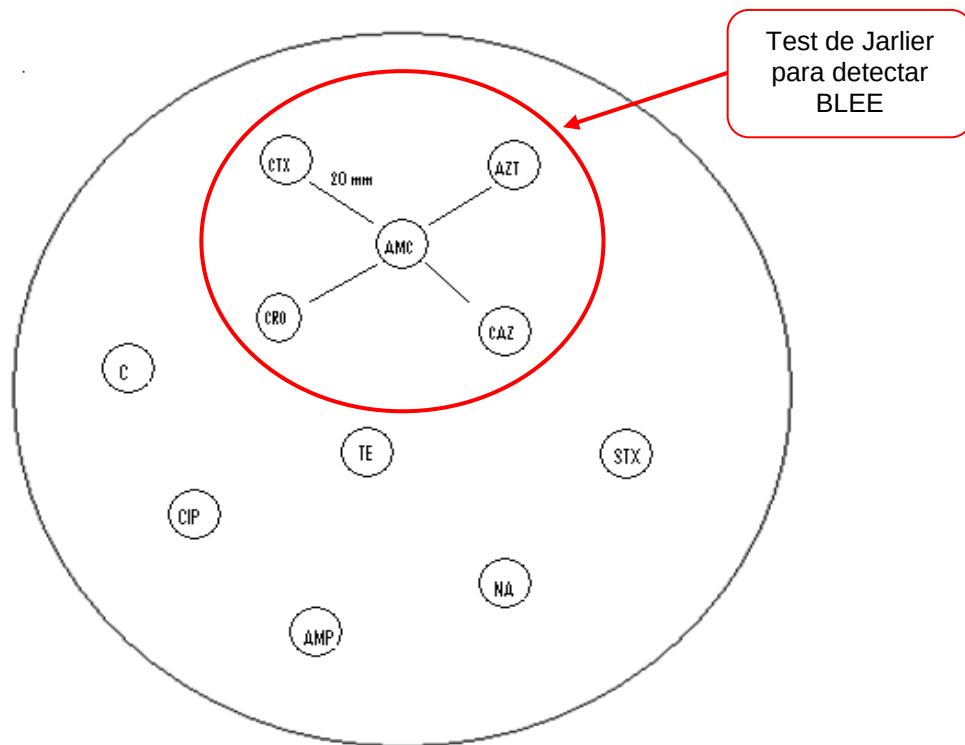
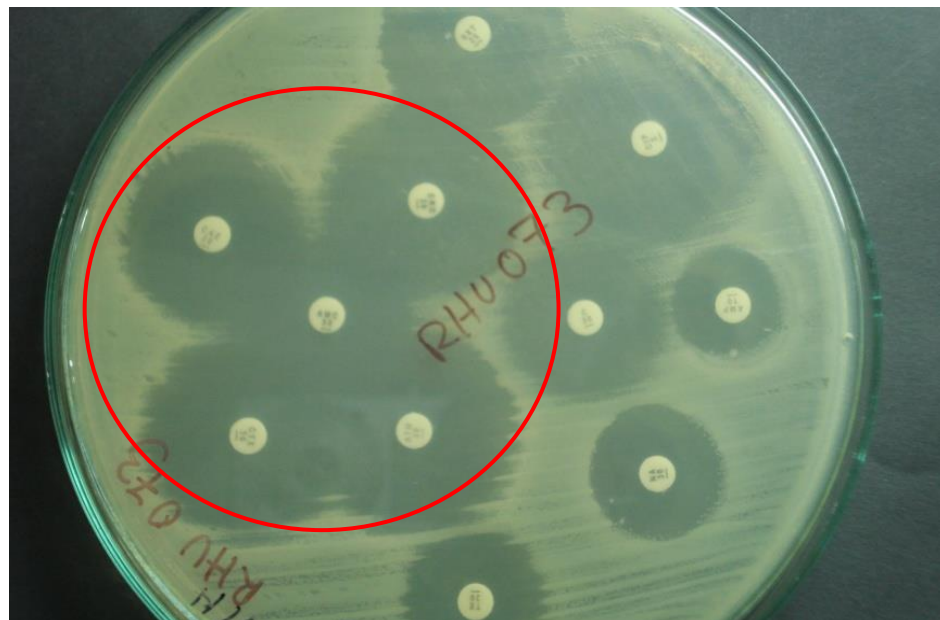


Figura 21.
Test de Jarlier o confirmatorio de BLEE:

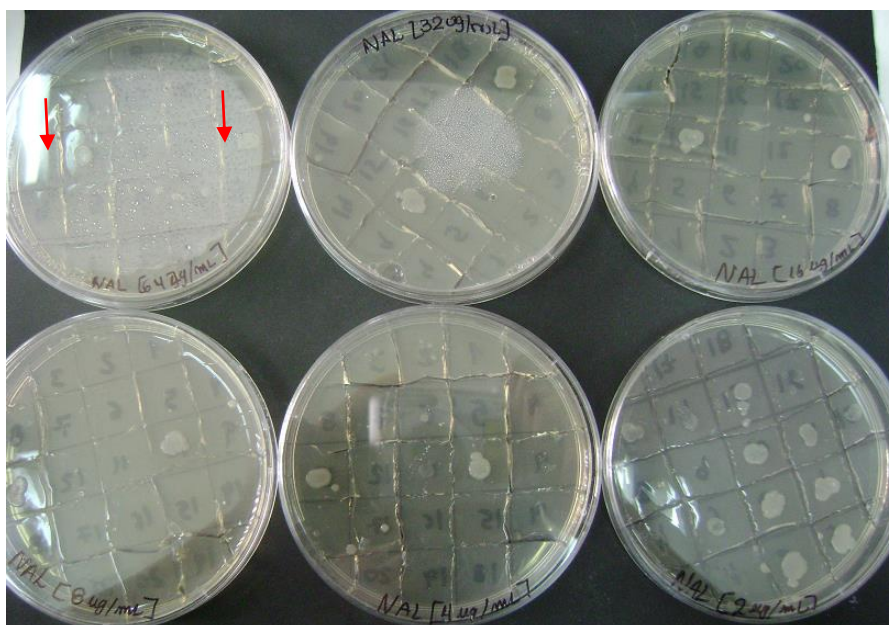


c. Concentración mínima inhibitoria por método de dilución en agar

Ácido nalidíxico

Figura 22.

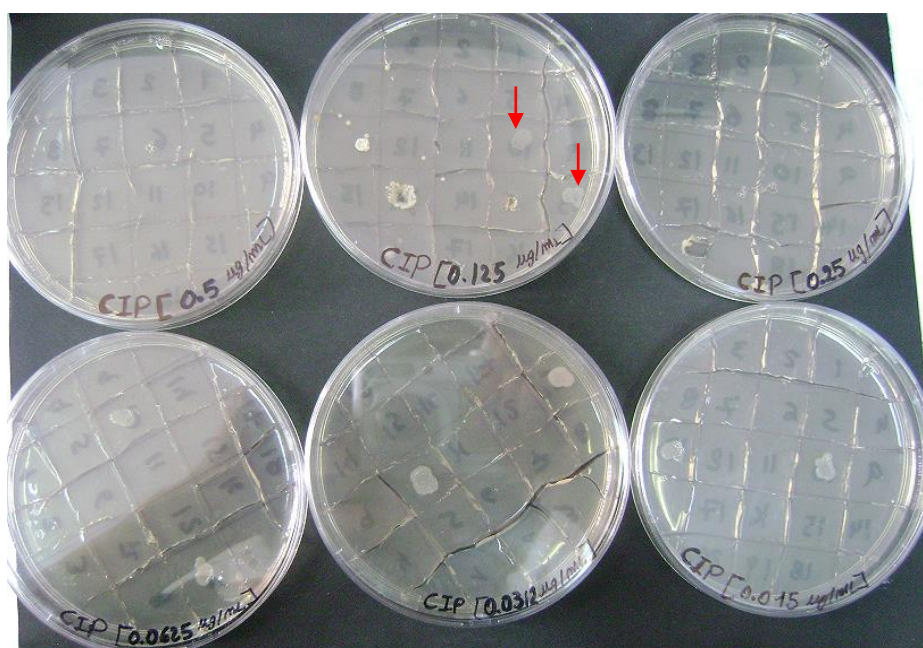
Cepas con CMI para Ác. nalidíxico de [128 ug/mL]



Ciprofloxacina

Figura 23.

Cepas con CMI para Ciprofloxacino de [0.25 ug/mL].



Anexo E. Evolución del perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Salmonella enterica*

