



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

DETECCIÓN DE GENES B-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO E  
INTEGRÓN DE CLASE 1 EN CEPAS DE SHIGELLA SPP. DEL INSTITUTO  
NACIONAL DE SALUD, PERIODO 2017-2020

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología

**Autor:**

Campos López, Armando Juan Francisco

**Asesor:**

Salas Asencios, Ramsés

ORCID: 0000-0002-4075-1736

**Jurado:**

Sáez Flores, Gloria María

Rodrigo Rojas, María Elena

Pariona Llanos, Ricardo

**Lima - Perú**

**2024**



# DETECCIÓN DE GENES B-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO E INTEGRÓN DE CLASE 1 EN CEPAS DE *Shigella* spp. DEL INSTITUTO NACIONAL DE SALUD, PERIODO 2017-2020

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

1	<a href="https://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Fuente de Internet	4%
2	<a href="https://repositorio.unfv.edu.pe">repositorio.unfv.edu.pe</a> Fuente de Internet	3%
3	<a href="https://cybertesis.unmsm.edu.pe">cybertesis.unmsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	1%
4	<a href="http://www.tdx.cat">www.tdx.cat</a> Fuente de Internet	1%
5	<a href="http://www.scielo.org.pe">www.scielo.org.pe</a> Fuente de Internet	1%
6	<a href="http://bibliotecadigital.udea.edu.co">bibliotecadigital.udea.edu.co</a> Fuente de Internet	1%
7	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	1%
8	Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal	<1%



Universidad Nacional  
**Federico Villarreal**

**VRIN** | VICERRECTORADO  
DE INVESTIGACIÓN

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA**

DETECCIÓN DE GENES B-LACTAMASA DE ESPECTRO EXTENDIDO E INTEGRÓN  
DE CLASE 1 EN CEPAS DE SHIGELLA SPP. DEL INSTITUTO NACIONAL DE  
SALUD, PERIODO 2017-2020

**Línea de Investigación:**

Salud Pública

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

**Autor**

Campos López, Armando Juan Francisco

**Asesor**

Salas Asencios, Ramsés

ORCID: 0000-0002-4075-1736

**Jurado**

Sáez Flores, Gloria María

Rodrigo Rojas, María Elena

Pariona Llanos, Ricardo

Lima – Perú

2024

### **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado a Dios Padre, por darme fortaleza espiritual cuando más lo necesito.

A mi madre, que con tanto sacrificio y amor ha hecho posible que pueda terminar satisfactoriamente mi carrera universitaria, y hasta el día de hoy, me sigue alentando a seguir creciendo en la vida. Gracias por todo madre.

A mi querido padre, que en vida me enseñó el significado de ser una persona humilde y servicial, entre otros valores y principios, que trato de aplicarlos en cada momento de mi vida.

A mis hermanos, que siempre me brindan su amor y apoyo de manera incondicional para seguir creciendo personal y profesionalmente.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer de manera muy afectuosa a mi asesor al Mg. Ramsés Salas Asencios, encargado del Laboratorio de Investigación en Biotecnología, por guiarme durante el desarrollo del presente trabajo de investigación y por todas las enseñanzas brindadas durante mi estancia en la universidad.

A mi asesor externo, PhD. Ronnie Gavilán Chávez, por abrirme las puertas del Laboratorio de Referencia Nacional de Bacteriología Clínica del INS y darme todas las facilidades para realizar la parte metodológica del presente trabajo.

A todo el equipo del Laboratorio de Referencia Nacional de Bacteriología Clínica del INS, especialmente al técnico Gustavo Bellido, que me brindó su gran amistad y su gran conocimiento en enterobacterias durante mi estancia en el laboratorio.

A mi prometida, por darme su apoyo incondicional desde la universidad y motivarme día a día a seguir con mis sueños.

Agradecer a muchas personas, que de alguna manera me apoyaron para poder culminar satisfactoriamente mi carrera universitaria. Agradecido eternamente con cada uno de ustedes.

## ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	12
1.1. Descripción y formulación del problema.....	12
1.2. Antecedentes.....	14
1.3. Objetivos.....	17
1.3.1. Objetivo general.....	17
1.3.2. Objetivos específicos.....	17
1.4. Justificación.....	17
1.5. Hipótesis.....	18
<b>II. MARCO TEÓRICO</b> .....	19
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	19
2.1.1. <i>Shigella</i> spp. ....	19
2.1.2. Resistencia antimicrobiana.....	19
2.1.3. Tipos de resistencia antimicrobiana.....	20
2.1.3.1. Resistencia intrínseca.....	20
2.1.3.2. Resistencia adquirida.....	20
2.1.4. Mecanismos de resistencia.....	20
2.1.4.1. Bombas de expulsión.....	20
2.1.4.2. Alteración de la permeabilidad de las membranas.....	20
2.1.4.3. Modificación en el sitio activo.....	21
2.1.4.4. Modificación enzimática del antibiótico.....	21
2.1.5. Enzimas $\beta$ -lactamasas.....	22

2.1.6. Clasificación de enzimas $\beta$ -lactamasas.....	23
2.1.7. Beta-lactamasas de espectro extendido.....	23
2.1.7.1. BLEE tipo TEM.....	26
2.1.7.2. BLEE tipo SHV.....	26
2.1.7.3. BLEE tipo CTX-M.....	26
2.1.8. Integrones.....	27
2.1.8.1. Estructura de un integrón.....	27
2.1.8.2. Integrasa.....	28
2.1.8.3. Casetes génicos.....	28
2.1.9. Clases de integrones.....	29
2.1.9.1. Integrón de clase I.....	29
<b>III. MÉTODO.....</b>	<b>30</b>
3.1. Tipo de investigación.....	30
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	30
3.3. Variables.....	30
3.4. Población y muestra.....	31
3.4.1. Población.....	31
3.4.2. Muestra.....	31
3.5. Instrumentos.....	31
3.6. Procedimientos.....	31
3.6.1. Reactivación de las cepas.....	31
3.6.2. Identificación bacteriana.....	31
3.6.3. Serotipificación.....	32
3.6.4. Susceptibilidad a los antimicrobianos.....	32

3.6.5. Extracción del ADN genómico.....	33
3.6.6. Detección de genes BLEE.....	33
3.6.7. Detección del integrón de clase 1.....	34
3.6.8. Electroforesis.....	35
3.7. Análisis de datos.....	35
3.8. Consideraciones éticas.....	35
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
4.1. Frecuencia de especies y serotipos de <i>Shigella</i> .....	36
4.2. Susceptibilidad antimicrobiana.....	36
4.3. Frecuencia de genes BLEE.....	37
4.4. Frecuencia del integrón de clase 1.....	38
<b>V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>	<b>42</b>
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>49</b>
<b>VII. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>50</b>
<b>VIII. REFERENCIAS.....</b>	<b>51</b>
<b>IX. ANEXOS.....</b>	<b>66</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> <i>Esquemas de clasificación de bacterias <math>\beta</math>-lactamasas.....</i>	24
<b>Tabla 2</b> <i>Principales familias de <math>\beta</math>-lactamasas de importancia clínica.....</i>	25
<b>Tabla 3</b> <i>Secuencias de primers para la PCR.....</i>	34
<b>Tabla 4</b> <i>Especies de Shigella confirmadas durante el periodo 2017-2020.....</i>	36
<b>Tabla 5</b> <i>Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Shigella spp. periodos 2017-2020...37</i>	37

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> <i>Frecuencia de genes betalactamasa de espectro extendido detectados en los periodos 2017- 2020.....</i>	38
<b>Figura 2</b> <i>Frecuencia de detección del gen intI 1 en Shigella spp. durante el periodo 2017- 2020.....</i>	39
<b>Figura 3</b> <i>Porcentaje de detección del gen intI I en especies de Shigella durante el periodo 2017- 2020.....</i>	40
<b>Figura 4</b> <i>Perfil de resistencia fenotípico y genes BLEE e IntI I en aislados de Shigella spp. durante los periodos 2017-2020.....</i>	41

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>ANEXO A.</b> Tabla general de los datos recolectados de la presente investigación.....	00
<b>ANEXO B.</b> Flujograma de trabajo para la detección de genes b-lactamasa de espectro extendido e integrón de clase 1 en cepas de <i>shigella</i> spp. del instituto nacional de salud, periodo 2017- 2020.....	00

## RESUMEN

**Objetivo:** Detectar los genes  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido e integrón de clase 1 en cepas de *Shigella* spp. del Instituto Nacional de Salud, Lima-Perú durante el período 2017-2020.

**Método.** El presente estudio es descriptivo, retrospectivo y transversal. Se confirmó la identificación de 100 cepas de *Shigella* spp. por métodos microbiológicos convencionales pertenecientes a 4 periodos anuales disintos, además, se evaluó el perfil de resistencia antimicrobiana por el método de disco difusión. Finalmente, se detectó la presencia de genes BLEE e *intI* 1 por PCR múltiplex y convencional. **Resultados:** Se confirmó la identificación de 100 cepas de *Shigella*, siendo *S. sonnei* el serogrupo más representativo (56%) y *S. sonnei* II el serotipo más frecuente (57.1%). Se observaron altas tasas de resistencias a diferentes antimicrobianos, donde el 94% de aislados fueron MDR. Se detectó los genes BLEE en el 13% de aislados, siendo el gen *bla*<sub>TEM</sub> (11%) el más frecuente, seguido de *bla*<sub>CTX-M</sub> (2%). Finalmente, se detectó en gen *intI* 1 en el 88% de aislados. *S. flexneri* fue la especie donde se detectó con mayor frecuencia (97.3%), seguido de *S. boydii* (85.7%) y *S. sonnei* (82.1%). **Conclusiones:** Se detectó mediante PCR la presencia de genes BLEE e *intI* 1 en aislados de *Shigella* spp. así mismo, las cepas presentaron un fenotipo multidrogaresistente.

*Palabras clave:* *Shigella* spp., resistencia antimicrobiana, BLEE, integrón de clase 1, MDR.

## ABSTRACT

**Objective:** Detect extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and class 1 integron genes in *Shigella* spp strains. of the National Institute of Health, Lima-Peru during the period 2017-2020. **Method.** The present study is descriptive, retrospective and cross-sectional. The identification of 100 strains of *Shigella* spp. was confirmed. by conventional microbiological methods belonging to 4 different annual periods, in addition, the antimicrobial resistance profile was evaluated by the disk diffusion method. Finally, the presence of ESBL and *intI* 1 genes was detected by multiplex and conventional PCR. **Results:** The identification of 100 *Shigella* strains was confirmed, with *S. sonnei* being the most representative serogroup (56%) and *S. sonnei* II the most frequent serotype (57.1%). High rates of resistance to different antimicrobials were observed, where 94% of isolates were MDR. ESBL genes were detected in 13% of isolates, with the *bla*<sub>TEM</sub> gene (11%) being the most frequent, followed by *bla*<sub>CTX-M</sub> (2%). Finally, the *intI* 1 gene was detected in 88% of isolates. *S. flexneri* was the species where it was detected most frequently (97.3%), followed by *S. boydii* (85.7%) and *S. sonnei* (82.1%). **Conclusions:** The presence of ESBL and *intI* 1 genes in *Shigella* spp. isolates was detected by PCR. Likewise, the strains presented a multidrug-resistant phenotype.

*Keywords:* *Shigella* spp., antimicrobial resistance, ESBL, class 1 integron, MDR.

## I. INTRODUCCIÓN

La shigelosis es causada por bacterias del género *Shigella* spp. y es un problema de salud pública a nivel mundial, que se caracteriza por generar una infección gastrointestinal que incluye diarrea sanguinolenta con presencia de heces mucosas, calambres abdominales y tenesmo. Se dividen en cuatro especies: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* y *Shigella sonnei*. Se transmiten principalmente por la vía fecal-oral y son altamente contagiosos debido a su bajo inóculo de infección (10-100 microorganismos) (Pons et al., 2013).

El tratamiento antibiótico contra la shigelosis permite reducir la duración y gravedad de los síntomas, sin embargo, el uso excesivo de antibióticos ha generado la aparición de cepas multirresistentes (MDR), particularmente aquellas con presencia de enzimas betalactamasas de espectro extendido (BLEE) capaz de hidrolizar antibióticos betalactámicos (Elkenany et al., 2022). Las betalactamasas de espectro extendido más comunes y prevalentes son las de tipo TEM, SHV, CTX-M entre otros (Dantas Palmeiras y Ferreira, 2020) y generalmente se encuentran codificadas en elementos genéticos móviles como integrones, facilitando así la diseminación intraespecies e interespecies (Perozo Mena et al., 2017).

### 1.1. Descripción y formulación del problema

*Shigella* es considerado como uno de los patógenos más comunes que causa enfermedades diarreicas y es responsable del aumento de las tasas de morbilidad y mortalidad por disentería a nivel mundial, en lo que se ven afectados especialmente los niños menores de 5 años en países en vías de desarrollo (Puzari et al., 2018). Se calcula que ocurren alrededor de 125 millones de episodios de shigelosis al año, con más de 200 000 muertes entre todos los grupos de edad (Khalil et al., 2018), siendo *Shigella flexneri* el causante más prevalente en países en vías de desarrollo y *Shigella sonnei* en países industrializados (Kahsay y Muthupandian, 2016). En el Perú, la prevalencia de *Shigella flexneri* ha sido reportado con mayor frecuencia (62%) en

comparación con *Shigella sonnei* (33%) durante el año 2013 (Baca et al., 2014).

La resistencia antimicrobiana es un problema de salud pública, que ha ido aumentando durante los últimos años y es considerado como una de las principales amenazas en el sistema de salud a las que se enfrenta la humanidad (Organización Mundial de la Salud (OMS), 2021). La aparición y diseminación de cepas multirresistentes (MDR) se debe a que hay un uso inadecuado de los antimicrobianos, a la automedicación y al incumplimiento del tratamiento, lo que se ve expresado en términos de morbilidad, mortalidad y gastos sanitarios derivados de la atención clínica que amenazan el sostenimiento del precario sistema de salud en el Perú (Miranda, 2018). Se calcula que la resistencia antimicrobiana causa 700 000 muertes al año en el mundo, una cifra que se estima será de 10 millones para el año 2050, superando así el número de muertes causadas por el cáncer y diabetes (Moges et al., 2021 y Berbers et al., 2023).

La aparición de la resistencia antimicrobiana se está volviendo un problema grave para el tratamiento de la shigelosis, ahora que aproximadamente la mitad de las cepas de *Shigella* en muchas partes del mundo presentan un fenotipo multirresistente (Ranjbar y Farahani, 2019), causando gran preocupación, sobre todo, por aquellas cepas productoras de  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) con capacidad de ser resistentes a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, como son las cefalosporinas de tercera generación (Behzadi et al., 2020).

Las BLEE son enzimas derivadas de la mutación de las betalactamasas clásicas del grupo 2b según la clasificación de Bush (Perozo et al, 2018), se clasifican en varios tipos, siendo los más prevalentes los de tipo *TEM*, *SHV* y *CTX-M* a nivel mundial (Paterson y Bonomo, 2005). Generalmente se encuentran codificados en plásmidos conjugativos, lo cual facilita su diseminación entre bacterias de la misma especie, pero también entre bacterias de diferentes géneros y grupos. Además, estas enzimas forman parte frecuente de transposones e integrones, determinando así su asociación con otros determinantes de resistencia transferibles, como los que

confieren resistencia a los aminoglucósidos o trimetoprima- sulfametoxazol (Perozo et al, 2018).

Los integrones son elementos genéticos naturales que contiene una enzima integrasa que permite a estas estructuras tener capacidad de adquirir, intercambiar y expresar genes de resistencia a los antimicrobiano presentes en estructuras conocidas como casetes génicos, desempeñando así, un papel crucial en el mecanismo de la transmisión de genes de resistencia en varias bacterias gram- negativas, incluyendo a *Shigella* (Barrantes y Achí, 2016).

En nuestro país, existen datos sobre el perfil de resistencia antimicrobiana en *Shigella*, a pesar de ello, todos estos datos sugieren la necesidad de tener una vigilancia estricta de la resistencia antibiótica fenotípica (Riveros y Ochoa, 2015). Por otro lado, la información sobre los mecanismos moleculares relacionados a la resistencia antibiótica en este patógeno es muy limitado. Es por ello por lo que nos formulamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Las cepas de *Shigella* del Instituto Nacional de Salud Lima-Perú del periodo 2017-2020, albergarán los genes  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido e integrón de clase 1?

## 1.2. Antecedentes

El surgimiento de la resistencia a los antimicrobianos en cepas de *Shigella* data de los años 1940, cuando se reconocieron por primera vez en Japón cepas resistentes a sulfonamidas (Niyogi, 2007). Luego, para los años 1970, eran resistentes a tetraciclina, cloranfenicol y ampicilina, debido al plásmido R que portaba genes de resistencia a estos antibióticos. Para el año 1980, *Shigella* era resistente a las quinolonas, atribuido por la mutación de la subunidad A de la girasa (*gyrA*) y la mutación del gen de la topoisomerasa (*parC*). Finalmente, en el año 1999 se descubrió en la India que *Shigella* había desarrollado una betalactamasa de espectro extendido tipo SHV-11, dando origen a la resistencia de cefalosporinas de tercera generación, así como a las penicilinas (Bian et al., 2019).

En un estudio retrospectivo realizado por Gu et al., (2017) en China, para investigar los

patrones de resistencia a los antimicrobianos y caracterizar molecularmente integrones de 340 cepas de *Shigella sonnei*, observaron un amplio espectro de resistencia a diferentes antibióticos con altas tasas de resistencia para ampicilina (67.7%), ácido nalidíxico (75.2%), tetraciclinas (73.7%) y trimetoprima-sulfametoxazol (68.7%), mientras que la resistencia a cefotaxima fue de 17.9%. La tasa de detección del integrón de clase 1 fue del 55.9% (190/340), y el 49.4% (168/340) de cepas albergaban un integrón de clase 1 atípico. Finalizan indicando que la resistencia a los antimicrobianos estaba estrechamente relacionada con la alta prevalencia de integrón de clase 1, sugieren además seguir con una vigilancia interregional a largo plazo de la resistencia antimicrobiana para *S. sonnei*.

Liu et al., (2018), durante una vigilancia rutinaria de disentería bacilar en pacientes con diarrea, en las que analizaron un total de 458 aislados de *Shigella* (365 *S. flexneri* y 93 *S. sonnei*) entre los años 2008 y 2014 en 12 hospitales diferentes en la ciudad de Xinjiang, China, mostraron que existe una alta resistencia a diferentes antibióticos como tetraciclina (88.9%), ampicilina (88%), cloranfenicol (70.3%), trimetoprima-sulfametoxazol (54.4%) y cefalosporinas de tercera generación con tasas entre el 1.7% y 13.8%. Indicaron también, que de 57 cepas de *S. flexneri* y 18 cepas de *S. sonnei* resistentes a cefalosporinas, la tasa de expresión para los genes *bla<sub>TEM</sub>* y *bla<sub>CTX-M</sub>* fueron de 56% y 69% respectivamente, además el porcentaje de expresión para el integrón de clase 1 fue del 66.7%. Afirman que se requieren de nuevas estrategias para prevenir la propagación de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Shigella*.

Zamanlou et al., (2018), en un estudio descriptivo y prospectivo donde caracterizaron molecularmente 142 cepas de *Shigella* de pacientes con diarrea de dos ciudades en Irán entre los años 2014-2015, encontraron altas tasas de resistencia a múltiples fármacos como ampicilina, trimetoprima-sulfametoxazol, cloranfenicol, tetraciclinas y también la resistencia a quinolonas como ácido nalidíxico (31%) y ciprofloxacina (4.2%). Indicaron también sobre la resistencia de

77 cepas a cefalosporinas de tercera generación, detectando los genes *bla*<sub>CTX-M</sub> (98.7%) y *bla*<sub>TEM</sub> (69.2%), pero no pudieron aislar cepas con el gen *bla*<sub>SHV</sub>. Así mismo, detectaron la presencia de integrón de clase 1 con dos genes cassettes que codifican la resistencia a trimetoprima-sulfametoxazol y otro para quinolonas. Concluyen expresando que la presencia de cepas MDR y resistentes a cefalosporinas de tercera generación pueden ser un gran desafío para tratar la shigelosis en el futuro, así mismo, recomiendan la continuidad en la vigilancia antimicrobiana en los aislamientos de *Shigella*.

Lluque et al., (2015), en un estudio para caracterizar una colección de aislados de *Shigella* provenientes de una población pediátrica en comunidades periurbanas en Lima, Perú, encontraron que 83 cepas presentaron resistencia a múltiples fármacos como a trimetoprima-sulfametoxazol (84%), tetraciclina (74%), ampicilina (67%) y cloranfenicol (65%). No encontraron resistencia a cefalosporinas de tercera generación ni tampoco a quinolonas, sin embargo, encontraron la presencia del gen *bla*<sub>TEM</sub> en 4 aislamientos y detectaron el integrón de clase 1 en el 48% de cepas analizadas. Concluyen destacando que existe una alta heterogeneidad en los genes de resistencia y una alta prevalencia de cepas MDR en *Shigella* dentro de esta región geográfica.

### **1.3. Objetivos**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Detectar los genes  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido e integrón de clase 1 en cepas de *Shigella* spp. del Instituto Nacional de Salud, Lima-Perú durante el período 2017-2020.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

Confirmar la identificación de especie y serotipo de *Shigella* spp. por métodos microbiológicos convencionales.

Evaluar el perfil de resistencia antimicrobiana por el método de disco difusión de las cepas de *Shigella* spp.

Detectar la presencia de los genes blaTEM, blaSHV y blaCTX-M mediante PCR múltiplex a partir de las cepas de *Shigella* spp.

Detectar la presencia del gen IntI 1 mediante PCR punto final a partir de las cepas de *Shigella* spp.

### **1.4. Justificación**

Diversos trabajos han informado sobre la aparición de un clon pandémico de *S. sonnei* con fenotipo MDR productor de betalactamasa de espectro extendido, confiriéndole resistencia a cefalosporinas de tercera generación (Qiu et al., 2022). La resistencia a las cefalosporinas de tercera generación se ha relacionado con la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), codificados por genes de las familias de betalactamasas CTX- M, TEM y SHV (Salleh, 2022).

El fenómeno de la resistencia a los antibióticos en *Shigella* spp. se ha asociado generalmente por la presencia de elementos genéticos como los integrones y han jugado un papel esencial en la propagación de la resistencia a los antimicrobianos desde finales de los años 1980 (Toro et al., 2022). Sin embargo, los informes sobre la identificación y la caracterización de los

integrones en *Shigella* spp. son escasos (Barrantes y Achí, 2016).

Dada la gravedad sobre la circulación de cepas de *Shigella* portadoras de genes BLEE en diferentes partes del mundo, este estudio pretende mostrar un problema crítico que afecta a la salud pública. Los hallazgos obtenidos en el presente trabajo, servirá para tener conocimiento acerca de la propagación y circulación de cepas de *Shigella* spp. portadoras de genes BLEE en nuestro país, lo que contribuye a su resistencia a betalactámicos de tercera generación. Además, ante la escasa información acerca de la prevalencia del integrón de clase 1 en cepas de *Shigella* estudiadas en nuestro país, el presente trabajo busca también, proporcionar información valiosa sobre la frecuencia de esta estructura genética, ya que, podrían ser utilizados como potenciales marcadores moleculares de la resistencia antimicrobiana, teniendo en cuenta la relación con aislados con fenotipos MDR.

### **1.5. Hipótesis**

Debido a la naturaleza descriptiva del presente trabajo de investigación, no fue necesario el planteamiento de una hipótesis.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

#### 2.1.1. *Shigella spp.*

Son microorganismos Gam-negativos en forma de bastoncillos, anaerobios facultativos, no móviles, no esporulados y pertenecen a la familia Enterobacteriaceae. Son patógenos intracelulares con una alta especificidad por el huésped humano en el que causan shigelosis, conocida comúnmente como disentería bacilar. Fue aislado y caracterizado por el microbiólogo Kiyoshi Shiga al que posteriormente denominó al patógeno *Shigella* (Raso et al., 2023).

La clasificación actual divide a *Shigella* en cuatro especies según la tipificación serológica del antígeno somático O en: *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* y *Shigella sonnei*. A su vez, estas especies se dividen en diferentes serotipos, teniendo *S. dysenteriae* 14 serotipos, *S. flexneri* 15 serotipos, *S. boydii* 19 serotipos y *S. sonnei* con un solo serotipo (Kotloff et al., 2018).

La invasión, replicación y diseminación por todo el epitelio intestinal de las cepas de *Shigella* está mediado por una gama de proteínas efectoras que están codificadas en un plásmido de 220 kb llamado plásmido de virulencia o plásmido de invasión (pINV) compuesto por una isla de patogenicidad (PAI) de 30 kb, que codifica el complejo de secreción tipo III (T3SS) y otros factores de virulencia implicados en la adhesión y motilidad intracelular (Raso et al., 2023).

#### 2.1.2. Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana surge porque las bacterias cambian a lo largo del tiempo y dejan de responder a los antibióticos, dificultando el tratamiento de las infecciones e incrementan el riesgo de propagación de las enfermedades, de formas graves de enfermedades y de la muerte. Como consecuencia de la resistencia, los antibióticos se vuelven ineficaces, por lo que las infecciones se vuelven más difíciles de tratar (Organización Mundial de la Salud, 2021).

### **2.1.3. Tipos de resistencia antimicrobiana**

**2.1.3.1 Resistencia intrínseca.** Es una cualidad que está controlada por el genoma bacteriano y que es representativa de la especie. No depende del contacto con un antibiótico y no se transmite por la transferencia horizontal genética. Es propia de ciertas especies que pueden adquirir tolerancia a un fármaco debido a la estructura y propiedades funcionales. Los mecanismos responsables de la resistencia intrínseca son la reducción de la permeabilidad de la membrana externa de bacterias Gram-negativas y la actividad de las bombas de expulsión (Chis et al., 2022).

**2.1.3.2 Resistencia adquirida.** Es conferida por la ganancia de nuevos determinantes de resistencia a través de la transferencia horizontal de genes o también por mutaciones de algunos genes cromosómicos particulares. Estos genes pueden translocarse de una parte del genoma a otra o entre genomas bacterianos a través de estructuras genéticas móviles como plásmidos, integrones, transposones o islas genómicas (Sandner-Miranda et al., 2018).

### **2.1.4. Mecanismos de resistencia**

**2.1.4.1. Bombas de expulsión.** Se encuentran ubicadas en la membrana celular y permiten la internalización o expulsión de los antimicrobianos. Las bombas de expulsión están mediadas por proteínas transmembranales que forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula inmediatamente. Este mecanismo es común frente a la resistencia a tetraciclinas, quinolonas, cloranfenicol, betalactámicos, antisépticos y desinfectantes como como el amonio cuaternario (Fernández-Riverón et al., 2003).

**2.1.4.2. Alteración en la permeabilidad de las membranas.** Este mecanismo ocurre principalmente porque las bacterias tienen la capacidad de generar modificaciones en la bicapa lipídica, alterando algunos componentes de la membrana celular, como son las porinas. Este componente celular son proteínas formadoras de canales llenos de agua introducido en la

membrana externa, regulando el ingreso de algunos elementos como los antibióticos. Las modificaciones conformacionales en las porinas conllevan, a que, la membrana externa restrinja el paso de estos agentes al espacio periplasmático, además, retardan el ingreso de los antibióticos al interior de la célula. Así, cuando ocurre una mutación en las porinas, generalmente aumentan las concentraciones mínimas inhibitorias (CIM) para el antibiótico. Los antibióticos de tipo carbapenemes, utilizan una porina específica llamada OprD, que cuando sufre alguna mutación durante la terapia, tiende a cerrarse, y, por lo tanto, se genera una resistencia a dicho antibiótico (Tafur et al., 2008).

**2.1.4.3. Modificación en el sitio activo.** Este tipo de resistencia se basa en los cambios de algunos sitios específicos en donde actúa el antibiótico, como es en la pared celular, membrana celular, subunidades del ribosoma 50S o 30S, entre otras. Tal es el caso de la síntesis de la pared celular, donde las proteínas unidoras de penicilinas (PBP) se encargan de la transpeptidación, fase crucial para el equilibrio estructural de la pared celular. Los cambios de las estructuras secundarias generadas por mutaciones permiten que disminuya la afinidad de los betalactámicos con las proteínas PBP, permitiendo la integridad bacteriana de la pared celular y que sobreviva (Tafur et al., 2008). Otro ejemplo, tenemos las mutaciones genéticas que ocurren en las girasas y topoisomerasas *gyrA* y *parC* respectivamente, ofreciendo resistencia a las quinolonas en algunas bacterias gram positivas y negativas como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (Mosquito et al., 2011). Las modificaciones en las subunidades 30S y 50S ribosomales, que son blancos de acción de aminoglucósidos, macrólidos, tetraciclinas y lincosamidas, pueden sufrir metilaciones, tal es el caso de la subunidad 50S confiriendo resistencia a tetraciclinas, cloranfenicol y macrólidos. En el caso de la unidad 30S, las mutaciones en esta subunidad generan resistencia a gentamicina y amikacina (Pérez-Cano y Robles-Contreras, 2013).

**2.1.4.4. Modificación enzimática del antibiótico.** Es generado por la producción de

enzimas  $\beta$ -lactamasas con capacidad de romper el anillo  $\beta$ -lactámico e inactivar a diferentes antibióticos como aminopenicilinas, cefalosporinas, carbapenems y monobactámicos (Liu et al., 2019). Las betalactamasas toman un papel crucial en la resistencia, ya que es el mecanismo más prevalente en bacterias Gram-negativos (Tafur et al., 2008).

Existen también otros ejemplos de este mecanismo que incluyen a las esterasas, vinculados a la resistencia a los antibióticos macrólidos, como la eritromicina, que matan a las bacterias uniéndose a la subunidad grande de los ribosomas e interfieren en la síntesis proteica. La tendencia de estos macrólidos a ciclarse a través del enlace éster es una acción fundamental para su actividad. Sin embargo, la estructura cíclica del antibiótico puede ser destruida por las esterasas de macrólidos, lo que provoca una abertura que conduce a una ciclación interna y deshidratación a través de la condensación intramolecular. Como resultado, la actividad antibacteriana del macrólido se perdería debido a la abertura del anillo. (Liu et al., 2019).

### **2.1.5. Enzimas $\beta$ -lactamasas**

Las enzimas betalactamasas poseen capacidad de romper el enlace amida del anillo betalactámico de los antibióticos, generando su inactivación. Estas enzimas se encuentran codificadas por genes *bla* ubicadas en el cromosoma de las bacterias o también pueden estar en estructuras genéticas móviles como son los plásmidos, transposones e integrones con sus casetes de genes diseminándose a través de la transferencia horizontal de genes entre bacterias, lo que permite el intercambio del material genético entre cepas comensales, ambientales y cepas clínicas (von Wintersdorff et al., 2016). Actualmente se han caracterizado más de 890 beta- lactamasas dentro de las enterobacterias, siendo las más comunes las que pertenecen a las familias *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, *bla*<sub>OXA-1</sub> y *bla*<sub>CARB</sub>. Las dos primeras son penicilinasas que pertenecen al grupo 2b según la clasificación de Bush y son neutralizadas por el ácido clavulánico. Las *bla*<sub>OXA-1</sub>, pertenecen al grupo 2d que se caracterizan por hidrolizar oxacilinas. Finalmente, *bla*<sub>CARB</sub>

pertenece al grupo 2c que se caracteriza por la acción hidrolítica contra carbenicilina (Rújiba et al., 2011).

#### **2.1.6. Clasificación de enzimas $\beta$ -lactamasas**

Dos sistemas generales se utilizan para clasificar las betalactamasas, está el sistema de clasificación funcional de Bush-Jacoby-Medeiros y el esquema de clasificación molecular de Ambler. El sistema de Ambler clasifica a las betalactamasas en cuatro clases principales: A, B, C y D, basándose en la homología de sus proteínas (similitud de aminoácidos). Las clases A, C y D corresponden a las denominadas serina-  $\beta$ -lactamasas y las de la clase B se denominan metalo-  $\beta$ -lactamasas. El sistema de clasificación de Bush- Jacoby-Medeiros, junta a las betalactamasas por la afinidad funcional (perfil de sustrato e inhibidor) en 4 grupos principales y varios subgrupos como se observa en la Tabla 1. Además, esta clasificación es más relevante para el diagnóstico porque se consideran a los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas y sustratos  $\beta$ -lactámicos que son clínicamente más importantes (Paterson y Bonomo, 2005).

#### **2.1.7. Beta-lactamasas de espectro extendido**

Son enzimas versátiles que presentan una diversidad de formas moleculares limitadas ubicadas en diversas fuentes bacterianas (Bush, 2018). Tienen la capacidad de hidrolizar penicilinas, cefalosporinas de tercera generación (particularmente, cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima), además de monobactams como el aztreonam. Presentan sensibilidad a los inhibidores de beta- lactamasas, como el ácido clavulánico, sulbactam, tazobactam y avibactam (Rada et al., 2019). Actualmente, existen más de 350 variantes distintas de BLEE naturales clasificadas en nueve clases (Tabla 2) con diferenciación evolutivas y estructurales basadas en la secuencia de sus aminoácidos, entre las que están: *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub>, entre otros (Ayzanoa Canales, 2021).

Tabla 1

*Esquemas de clasificación de bacterias  $\beta$ -lactamasas.*

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Molecular class (subclass)	Distinctive substrate(s)	Inhibited by		Defining characteristic(s)	Representative enzyme(s)
				CA or TZB	EDTA		
1	1	C	Cephalosporins	No	No	Greater hydrolysis of cephalosporins than benzylpenicillin; hydrolyzes cephamycins	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI	C	Cephalosporins	No	No	Increased hydrolysis of ceftazidime and often other oxyimino- $\beta$ -lactams	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penicillins	Yes	No	Greater hydrolysis of benzylpenicillin than cephalosporins	PC1
2b	2b	A	Penicillins, early cephalosporins	Yes	No	Similar hydrolysis of benzylpenicillin and cephalosporins	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	Yes	No	Increased hydrolysis of oxyimino- $\beta$ -lactams (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penicillins	No	No	Resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	No	No	Increased hydrolysis of oxyimino- $\beta$ -lactams combined with resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-50
2c	2c	A	Carbamicillin	Yes	No	Increased hydrolysis of carbamicillin	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbamicillin, cefepime	Yes	No	Increased hydrolysis of carbamicillin, cefepime, and ceftiprome	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacillin	Variable	No	Increased hydrolysis of cloxacillin or oxacillin	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Extended-spectrum cephalosporins	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and oxyimino- $\beta$ -lactams	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapenems	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Extended-spectrum cephalosporins	Yes	No	Hydrolyzes cephalosporins. Inhibited by clavulanic acid but not aztreonam	CepA
2f	2f	A	Carbapenems	Variable	No	Increased hydrolysis of carbapenems, oxyimino- $\beta$ -lactams, cephamycins	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B(B1)	Carbapenems	No	Yes	Broad-spectrum hydrolysis including carbapenems but not monobactams	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	3	B(B2)	Carbapenems	No	Yes	Preferential hydrolysis of carbapenems	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1 CphA, Sfh-1
NI	4	Unknown					

*Nota.* Tomado de Bush y Jacoby, 2010.

a.CA, clavulanic acid; TZB, tazobactam b.NI, not included

**Tabla 2***Principales familias de  $\beta$ -lactamasas de importancia clínica.*

Enzyme family <sup>a</sup>	Functional group or subgroup	No. of enzymes <sup>b, c</sup>	Representative enzymes
CMY	1, 1e	50	CMY-1 to CMY-50
TEM	2b, 2be, 2br, 2ber	172	
	2b	12	TEM-1, TEM-2, TEM-13
	2be	79	TEM-3, TEM-10, TEM-26
	2br	36	TEM-30(IRT-2), TEM-31(IRT-1), TEM-163
	2ber	9	TEM-50(CMT-1), TEM-158(CMT-9)
SHV	2b, 2be, 2br	127	
	2b	30	SHV-1, SHV-11, SHV-89
	2be	37	SHV-2, SHV-3, SHV-115
	2br	5	SHV-10, SHV-72
CTX-M	2be	90	CTX-M-1, CTX-M-44(Toho-1) to CTX-M-92
PER	2be	5	PER-1 to PER-5
VEB	2be	7	VEB-1 to VEB-7
GES	2f	15 <sup>d</sup>	GES-2 to GES-7(IBC-1) to GES-15
KPC	2f	9	KPC-2 to KPC-10
SME	2f	3	SME-1, SME-2, SME-3
OXA	2d, 2de, 2df	158	
	2d	5	OXA-1, OXA-2, OXA-10
	2de	9	OXA-11, OXA-14, OXA-15
	2df	48 <sup>e</sup>	OXA-23(ARI-1), OXA-51, OXA-58
IMP	3a	26	IMP-1 to IMP-26
VIM	3a	23	VIM-1 to VIM-23
IND	3a	8	IND-1, IND-2, IND-2a, IND-3 to IND-7

*Nota.* Tomada de Bush y Jacoby, 2010.

a Familias de enzimas incluyen aquellos para los números que han sido asignados sobre la base de las estructuras primarias de aminoácidos.

b Compilado hasta diciembre de 2009.

c La suma de los subgrupos en cada familia no siempre es igual al número total de enzimas en cada familia, porque algunos números de enzimas han sido retirados, y algunos investigadores no han asignado una designación funcional por los investigadores que proporcionaron la secuencia de aminoácidos.

d GES-1, a diferencia de otros miembros de la familia GES, tiene poca interacción detectable con Imipenem. e Nueve grupos de carbapenemasas OXA con sus miembros individuales.

**2.1.7.1. BLEE tipo TEM.** Son enzimas que tienen la capacidad de hidrolizar antibióticos beta-lactámicos de espectro extendido, pero son inhibidos fuertemente por ácido clavulánico y tazobactam. Se han encontrado frecuentemente en cepas de *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, y son codificados en diferentes plásmidos asociados a otros genes de resistencia. Se han descrito más de 200 variantes alélicas de TEM en la actualidad (Bradford, 2001).

El gen *bla*<sub>TEM</sub> que origina la enzima, consta de una conformación estructural en base a dos dominios ( $\alpha$ -helical y dominio- $\alpha\beta$ ), donde su sitio activo se encuentra en la interfase de las cadenas de ambos dominios y su sitio catalítico Ser70, está ubicado en el Hélice 310, iniciando una de las hélices del dominio helicoidal (Stec et al., 2005).

Se informó por primera vez sobre esta enzima en el año 1965, cuando fue aislada de una cepa de *E. coli* de un paciente de origen griego llamado Temoneira, de ahí el origen del nombre (Paterson y Bonomo, 2005). En Sudamérica, el primer reporte se dio en Argentina en el año 2003, donde se detectaron los tipos TEM-10 y TEM-12 en *K. pneumoniae* (Paterson et al., 2003).

**2.1.7.2. BLEE tipo SHV.** Las enzimas variables sulfhidrilo presentan una conformación que consta de dos dominios  $\alpha/\beta$ : una hoja antiparalela  $\beta$  de cinco cadenas flanqueadas con el  $\alpha$ -hélice y, el subdominio  $\alpha$ helicoidal, con el sitio activo ubicado entre los subdominios, conteniendo un residuo de Ser70. La expresión del espectro extendido de esta enzima se da por las sustituciones pocas comunes de diversos aminoácidos, en las que están incluidos Asp 179, Arg 43, Arg 205, Glu64, Gly 156 y Ile 8 (Liakopoulos et al., 2016).

**2.1.7.3. BLEE tipo CTX-M.** Las cefotaximasas presentan una mayor afinidad de hidrólisis contra los antibióticos cefotaxima y ceftriaxona, pero en menor medida a ceftazidima. Son inhibidas con tazobactam y el ácido clavulánico (Rada et al., 2019). Estas enzimas no guardan relación con respecto a los BLEE tipo TEM y SHV, pues comparten menos del 40% de identidad en sus secuencias nucleotídicas. Esta enzima consta de dos subdominios  $\alpha + \beta$  y un

dominio  $\alpha$ - helicoidal en forma de sándwich. Los subdominios  $\alpha + \beta$  abarca los extremos N- y C-terminal de la proteína y alberga un núcleo de cinco láminas  $\beta$ . Las hojas  $\beta$  2 y 3 están separadas en el espacio de secuencia por los residuos que componen el grupo helicoidal y el sitio activo está formado por la hendidura superficial en la interfaz entre los dos subdominios (Shurina y Page, 2021).

Las variedades de los genes *bla*<sub>CTX-M</sub> difieren por la sustitución de un solo aminoácido, tal como la sustitución de aspartato por glicina en la posición 240 del gen *bla*<sub>CTX-M-3</sub> generando una variación del gen a *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, presentando una actividad hidrolítica aumentada hacia ceftazidima. La mutación de Ser167Pro origina una *bla*<sub>CTX-M-19</sub> y la sustitución de Asp240Gly genera una variación de *bla*<sub>CTX-M-15</sub> a *bla*<sub>CTX-M-16</sub> (Ayzanoa Canales, 2021). Se ha informado hasta la fecha, que existen aproximadamente 246 variantes de CTX-M, catalogándolo como una familia extraordinariamente prolífica (Shurina y Page, 2021).

### 2.1.8. *Integrones*

Los integrones se definen como plataformas con capacidad de capturar genes que desempeñan un papel importante en la propagación de genes de resistencia a los antibióticos (Mazel, 2006). Los plásmidos conjugativos, transposones y secuencias de inserciones en asociación con los integrones, sirven como vehículos en la transmisión de genes de resistencia a los antimicrobianos a nivel de intra e interespecies (Hall y Collis, 1995).

**2.1.8.1. Estructura de un integrón.** Los integrones inicialmente se describieron a mediados de los años 1980 por Stoke y Hall (Stokes y Hall, 1989). Poseen dos segmentos conservados, 5'-CS (5' conserved segment) y 3'-CS (3' conserved segment), entre ambos segmentos, se encuentra una región variable que incluye casetes génicos, que son estructuras con marcos de lecturas abiertas que codifican diversas funciones. La región 5'-CS está conformado por el gen de la integrasa (*intI*), y por tres promotores: el primero es P o P<sub>i</sub>, promotor

que permita la expresión de la integrasa, el promotor Pc o PANT, que permite la expresión de los casetes génicos que carecen de un promotor de expresión y, por último, el promotor P2, que frecuentemente está inactivo ya que solo presenta 14 nucleótidos entre las cajas -35 y -10 en lugar de tener los 17 nucleótidos óptimos. Dentro de esta región, se encuentra también la secuencia de reconocimiento de la integrasa, para la integración de los casetes génicos, denominada sitio *attI* (*attachment site*), que requiere entre 40 a 70 pb para ser activo totalmente (Hall et al., 1999).

**2.1.8.2. Integrasa.** Compuesto por el gen de *intI*, que codifica a la integrasa. Esta enzima pertenece a la familia de las tirosinas recombinasa y pueden integrar unidades discretas de ADN circularizado en forma de casetes génicos a través de un mecanismo conocido como recombinación de sitio específico, donde la enzima cataliza la unión en la región variable entre los sitios de unión integrón *attI* y los sitios de recombinación *attC* del casete o entre dos sitios *attC* para escindir los casetes (Barrantes y Achí, 2016).

**2.1.8.3. Casetes génicos.** Representan pequeños elementos genéticos móviles, conformados por un solo marco de lectura abierta completo o por un gen, además de un sitio de recombinación específico conocido como elemento de 59 pb o sitio *attC*, ubicado en el extremo 3' del gen (González et al., 2004). Estos elementos, a pesar de contar con una secuencia de decodificación, no presentan promotores de expresión, por lo que la eficiencia de la transcripción va a depender de la distancia respecto al promotor Pc (Kaushik y col., 2018). Además, pueden existir libremente en forma de moléculas de DNA circulares covalentemente cerradas, generadas por acción de la integrasa que escinde el casete desde un integrón (González et al., 2004).

La mayoría de los casetes génicos contienen la información codificada de resistencia contra una amplia gama de antibióticos a través de sitios *attC* únicos. En conjunto, estos casetes confieren resistencia a la mayoría de las clases de antibióticos, que incluyen todos los  $\beta$ -

lactámicos conocidos, todos los aminoglucósidos, cloranfenicol, trimetoprima, rifampicina, eritromicina, quinolonas, fosfomicina, lincomicina y también antisépticos de la familia de los compuestos de amonio cuaternario (Deng et al., 2015).

### **2.1.9. Clases de integrones**

En la actualidad, existen varias clases de integrones, que se diferencia de acuerdo con la secuencia nucleotídica del gen de la integrasa (intI), siendo los integrones de clase 1,2 y 3 los denominados integrones de multirresistencia. Las integrasas de los integrones presentan una homología aminoacídica entre el 45% y 58%, lo que sugiere que existió una divergencia evolutiva durante más de 50 años, correspondiendo con la era antibiótica y por lo tanto implicados en la multirresistencia. Generalmente, los integrones de clase 1 y 2 están asociados a plásmidos y transposones, mientras los de clase 3 solo se han encontrado en plásmidos. Existe otro integrón conocido anteriormente como integrón isla, hoy conocido como “Superintegrón” (SI), encontrado en cepas de *Vibrio cholerae* O1, posteriormente, fue encontrado en otros miembros de la familia *vibrionaceae*. El superintegrón contiene 179 genes casetes en una región de 129 kb, que corresponde al 3% del genoma bacteriano (Sulca, 2010).

**2.1.9.1. Integrón de clase I.** Son integrones detectados con mayor frecuencia en cepas clínicas y siguen siendo foco de diversos estudios. Los integrones de clase 1 están constituidos generalmente en 3 partes: la región conservada 5'CS, que contiene el gen intI 1, el sitio attI y los promotores de expresión, luego sigue una región variable en donde se insertaran los casetes génicos, finalmente tenemos la región conservada 3'CS, que contiene los genes *sulI* y *qacEΔ1*, confiriendo resistencia a sulfonamidas y compuestos de amonio cuaternario respectivamente (González et al., 2004).

### III. MÉTODO

#### 3.1. Tipo de investigación

El estudio actual es de tipo descriptivo, porque se describen las frecuencias de las variables. Retrospectivo, porque se investiga la tendencia de un fenómeno previo. Transversal, porque los datos representan un momento en el tiempo.

#### 3.2. Ámbito temporal y espacial

El procedimiento experimental de la presente investigación se desarrolló en el Laboratorio de Referencia Nacional de Bacteriología Clínica del Instituto Nacional de Salud de Lima durante el periodo de Mayo-Noviembre del año 2023.

#### 3.3. Variables

Variable	Definición operacional	Tipo de variable	Criterios de medición	Valores posibles
Perfil de susceptibilidad antimicrobiana	Susceptibilidad fenotípica a diversos antimicrobianos según las directrices del CLSI y realizados mediante antibiograma.	Independiente	Catégorica- politómica	-Susceptible -Intermed - Resistente
Multidrogo- resistente	Resistencia a tres o más clases diferentes de antimicrobianos.	Dependiente	Catégorica- dicotómica	-Presencia - Ausencia
Detección de Gen BLEE	Detección de genes asociados a la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)	Independiente	Catégorica- dicotómica	-Presencia -Ausencia
Detección de integrón de clase 1	Detección del gen <i>int1</i> asociado al integrón de clase 1	Independiente	Catégorica- dicotómica	-Presencia - Ausencia

### **3.4. Población y muestra**

#### **3.4.1. Población**

La población inicial comprendió todas las cepas criopreservadas de la colección del cepario del Laboratorio de Referencia Nacional de Bacteriología Clínica, durante el periodo 2017- 2020.

#### **3.4.2. Muestra**

El criterio para definir el tamaño de la muestra fue por conveniencia. Se analizaron un total de 100 cepas criopreservadas pertenecientes a 4 periodos anuales distintos, con la finalidad de encontrar cepas con genes BLEE e *intI* 1. Se incluirán todas las cepas identificadas como *Shigella* spp.

### **3.5. Instrumentos**

La técnica que se utilizó en el presente trabajo de investigación fue la observación científica.

Para la recolección y registro de la información sobre la identificación, perfil de resistencia antimicrobiana y resultados de electroforesis se utilizó plantillas del programa Microsoft Excel 2023.

### **3.6. Procedimientos**

#### **3.6.1. Reactivación**

Para la reactivación de las cepas elegidas, se procedió a inocularlas en el caldo de enriquecimiento BHI, posteriormente se incubaron a 37°C durante 24 horas, manteniendo siempre la esterilidad de la zona de trabajo utilizando el mechero de bunsen.

#### **3.6.2. Identificación bacteriana**

A partir de la muestra enriquecida, se extrajo una pequeña porción del cultivo para poder sembrarlo por agotamiento en la placa de agar Salmonella-Shigella (SS), se procedió a incubar a

37°C durante 24 horas. Para la identificación del género, se realizaron pruebas bioquímicas. Se eligieron colonias típicas de cada muestra de la placa SS y se sembró en agar TSI, LIA, Citrato de Simmons, Urea, MIO, Mucato, Acetato y Manitol. Se incubó por 24 horas a 37°C. Una vez realizado la identificación bacteriana, las cepas se sembraron en agar soya tripticasa (TSA) durante 24 horas a 37°C, con la finalidad de realizar las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, identificación serológica y ensayos de PCR para la detección de los genes BLEE e *intI 1* (Koneman y Allen, 2008).

### **3.6.3. Serotipificación**

Para la identificación y confirmación serológica, se realizó por el método de aglutinación en placa, utilizando antisueros monovalentes y polivalentes. En una placa de vidrio, se colocó una gota de solución salina y se emulsificó con una porción de cepa (proveniente del crecimiento en el agar TSA), luego se añadió una gota del antisuero y se mezcló bien con movimientos de vaivén. Se examinó la mezcla a simple vista bajo una luz blanca. Una reacción positiva corresponde a la aparición de aglutinación en un máximo de un minuto (Perilla et al., 2004).

### **3.6.4. Susceptibilidad a los antimicrobianos**

Para evaluar la susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas de *Shigella* spp., se utilizó el método de disco difusión o Kirby Bauer (Bauer et al., 1966) cumpliendo las directrices del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2023). Los antimicrobianos que se utilizaron fueron: ampicilina, AMP (10 µg), trimetoprima / sulfametoxazol, STX (25 µg), ácido nalidíxico, NAL (30 µg), nitrofurantoina, NIT (300 µg), (10 µg), cefotaxima, CTX (30 µg), ceftazidima, CAZ (30 µg), amoxicilina / ácido clavulánico, AMC (20/10 µg), tetraciclina, TCY (30 µg), cloranfenicol, CHL (30 µg) y ciprofloxacina, CIP (5 µg). Para realizar detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), se utilizó el método de Jarlier (Jarlier et al., 1988), teniendo en cuenta que, las sinérgias formadas entre cualquiera de las cefalosporinas

de tercera generación con el disco que contiene amoxicilina / ácido clavulánico se considerará un resultado positivo para producción de BLEE. La lectura se realizó entre las 16-18 horas después de incubar las placas a 37°C. Se utilizó un vernier para medir los halos de inhibición.

### **3.6.5. Extracción del ADN genómico**

La extracción de ADN se realizó a partir del aislamiento de la cepa en el agar TSA y se procedió a realizar la extracción con el kit innuPREP Bacteria DNA (Analytikjena, Alemania), siguiendo el protocolo del fabricante.

### **3.6.6. Detección de genes BLEE**

Para detectar los genes BLEE se realizaron ensayos de PCR múltiplex. Los cebadores específicos que se utilizaron se describen en la Tabla 4. Se utilizó una cabina de flujo laminar para realizar la preparación del Master Mix. La reacción de amplificación de ADN se realizó en un volumen final de 25 µL de acuerdo con los procedimientos estandarizados del Laboratorio de Referencia Nacional de Bacteriología Clínica del INS. Para la mezcla de reacción se empleó 3 µL de muestra de ADN bacteriano, solución tampón para PCR 10X, MgCl<sub>2</sub> 25 mM, Desoxinucleósidos trifosfatos (dNTPs) 10 mM, cebadores 10 µM y Taq Polimerasa 5 U/µL. Las condiciones de la PCR múltiplex para los genes *bla*<sub>TEM</sub>, *bla*<sub>SHV</sub> y *bla*<sub>CTX-M</sub> consistió en un paso de denaturación inicial a 95°C por 5 minutos, seguido por 10 ciclos a 94°C por un 1 minuto para la denaturación, 62°C por 1 minuto para el anidamiento, 72°C por 1 minuto para la extensión y 20 ciclos a 94°C por 1 minuto para la denaturación, 60°C por 1 minuto para el anidamiento, 72°C por 1 minuto para la extensión. Por último 72°C por 10 minutos para la extensión final.

**Tabla 3***Secuencias de primers para la PCR.*

Primer	Secuencia nucleotídica (5' → 3')	Producto (pb)	Referencia
<i>blactX-M Universal F</i>	CGATGTGCAGTACCAGTAA	595	Batchelor et al., 2005
<i>blactX-M Universal R</i>	TTAGTGACCAGAATCAGCGG		
<i>blashV F</i>	TTATCTCCCTGTTAGCCACC	854	Weill et al., 2004
<i>blashV R</i>	GATTTGCTGATTCGCTCGG		
<i>blatEM F</i>	ATGAGTATTCAACATTTCCG	964	Wu et al., 2015
<i>blatEM R</i>	ACCAATGCTTAATCAGTGAG		
<i>intI 1 F</i>	GCCTTGCTGTTCTTCTAC	558	Ng et al., 1999
<i>intI 1 R</i>	GATGCCTGCTTGTTCTAC		

**3.6.7. Detección del integrón de clase 1**

Para la detección del integrón de clase 1 se realizaron ensayos PCR punto final. Los cebadores específicos utilizados se describen en la Tabla 4. Se utilizó una cabina de flujo laminar para realizar la preparación del Master Mix. La reacción de amplificación de ADN se realizó en un volumen final de 25 µL de acuerdo con los procedimientos estandarizados del Laboratorio de Referencia Nacional de Bacteriología Clínica del INS. Para la mezcla de reacción se empleó 3 µL de muestra de ADN, solución tampón para PCR 10X, MgCl<sub>2</sub> 25 mM, desoxinucleósidos trifosfatos (dNTPs) 10 mM, cebadores 10 µM y Taq Polimerasa 5 U/µL. La programación de PCR para el gen *intI 1* consistió en un paso de denaturación inicial a 94°C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos a 94°C por 1 minuto para la denaturación, 58°C por 1 minuto para el anidamiento y 72°C por 1 minuto para la extensión. Finalmente, 72°C por 7 minutos para la extensión final.

### 3.6.8. Electroforesis

La amplificación de los productos de la PCR se observó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5% y una solución tampón compuesto por buffer TAE 1X y solución de tinción SafeView™ en proporción de 10:1. Se colocó el gel dentro de una cámara de electroforesis con suficiente buffer TAE 1X para que el gel quede cubierto. Se utilizó como buffer de carga, DNA Loading Dye y para observar el tamaño del ADN amplificado se empleó un marcador de peso molecular de 100 pb. Las condiciones de la corrida de electroforesis fueron de 100 voltios durante 45-50 minutos. Para cada corrida de PCR se adicionaron controles positivos (*Escherichia coli* ATCC 35218 para el gen *bla*<sub>TEM</sub>, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 como control positivo para el gen *bla*<sub>SHV</sub> e *intI* I y *Salmonella infantis* EQAS 17.1 como control positivo para el gen *bla*<sub>CTX-M</sub>), un control negativo (*Escherichia coli* ATCC 25922 para genes BLEE e *intI* I) y control blanco (agua de grado molecular). Para la lectura del gel, se empleó un transiluminador de UV que permitió la visualización de las bandas formadas. Para documentar la reacción, se tomaron fotografías del gel.

### 3.7. Análisis de datos

Se utilizó una estadística descriptiva para describir las variables categóricas utilizando frecuencias relativas (porcentajes). La resistencia a tres o más clases distintas de antimicrobianos fue considerada para crear una variable MDR. Se utilizó el programa Microsoft Excel para crear los gráficos estadísticos y el gráfico de perfil de resistencia fenotípico.

### 3.8. Consideraciones éticas

No aplica.

## IV. RESULTADOS

### 4.1. Frecuencia de especies y serotipos de *Shigella*

Se confirmaron un total de 100 cepas de *Shigella* spp. perteneciente a los periodos 2017-2020, del cual, 27% (27/100) de cepas confirmadas pertenecen al periodo 2017, 26% (26/100) al periodo 2018, 24% (24/100) al periodo 2019 y 23% (23/100) al periodo 2020. La especie predominante de *Shigella* en el presente estudio fue *Shigella sonnei* con el 56% (56/100), seguido de *Shigella flexneri* con 37% (37/100) y finalmente *Shigella boydii* con 7% (7/100). No se pudo confirmar ninguna cepa de *Shigella dysenteriae*. Los serotipos más frecuentes fueron *S. sonnei* fase II con el 57.1% (32/56) y *S. sonnei* fase I con el 42.9% (24/56), mientras que en *S. flexneri* fue el serotipo 1b con 37.9% (14/37) y en *S. boydii* fueron los serotipos 2 y 11 ambos con el 28.6% (2/7) como se observa en la tabla 4.

**Tabla 4**

*Especies de Shigella confirmadas durante el periodo 2017-2020.*

Especies de <i>Shigella</i>	Año				Total de serotipos N (%)	Total N = 100 N (%)
	2017 (N = 27)	2018 (N = 26)	2019 (N = 24)	2020 (N = 23)		
<i>Shigella sonnei</i> II	10	6	9	7	32 (57.1%)	56%
<i>Shigella sonnei</i> I	-	14	6	4	24 (42.9%)	
<i>Shigella flexneri</i> 1b	6	1	5	2	14 (37.9%)	37%
<i>Shigella flexneri</i> 2a	7	-	1	4	12 (32.4%)	
<i>Shigella flexneri</i> 4	2	2	-	3	7 (18.9%)	
<i>Shigella flexneri</i> 1a	1	1	-	-	2 (5.4%)	
<i>Shigella flexneri</i> 4a	1	-	-	-	1 (2.7%)	
<i>Shigella flexneri</i> 3a	-	1	-	-	1 (2.7%)	
<i>Shigella boydii</i> 11	-	-	2	-	2 (28.6%)	7%
<i>Shigella boydii</i> 2	-	1	-	1	2 (28.6%)	
<i>Shigella boydii</i> 1	-	-	-	1	1 (14.3%)	
<i>Shigella boydii</i> 4	-	-	-	1	1 (14.3%)	
<i>Shigella boydii</i> 10	-	-	1	-	1 (14.3%)	

### 4.2. Susceptibilidad antimicrobiana

Se evaluó el perfil de resistencia antimicrobiana de las cepas de *Shigella* spp. (Tabla 5).

Todas las cepas confirmadas como *Shigella* presentaron resistencia a por lo menos 1 antimicrobiano y el 94% (94/100) de cepas fueron clasificadas como multidrogoresistentes (anexo A). Los antimicrobianos con mayor porcentaje de resistencia fueron tetraciclina y trimetoprima/sulfametoxazol, ambos con un porcentaje del 96% (96/100), seguido de ampicilina con el 72% (72/100), cloranfenicol con el 63% (63/100), ciprofloxacino con el 49% (49/100), ácido nalidíxico con el 28% (28/100), amoxicilina/ácido clavulánico con el 12% (12/100), cefotaxima con el 2% (2/100) y ceftazidima con el 1% (1/100). Todas las cepas fueron sensibles a nitrofurantoína.

**Tabla 5**

*Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Shigella spp. periodos 2017-2020*

Antibióticos	Sensible (%)	Intermedio (%)	Resistente (%)
Tetraciclina	2%	2%	96%
Trim/Sulfa	4%	0%	96%
Ampicilina	27%	0%	73%
Cloranfenicol	29%	8%	63%
Ciprofloxacino	51%	0%	49%
Ácido nalidíxico	51%	21%	28%
Amox/A Clav	41%	47%	12%
Cefotaxima	92%	6%	2%
Ceftazidima	97%	2%	1%
Nitrofurantoína	98%	2%	0%

*Nota.* Amox/A Clav: amoxicilina con ácido clavulánico; Trim/Sulfa: Trimetoprima sulfametoxazol.

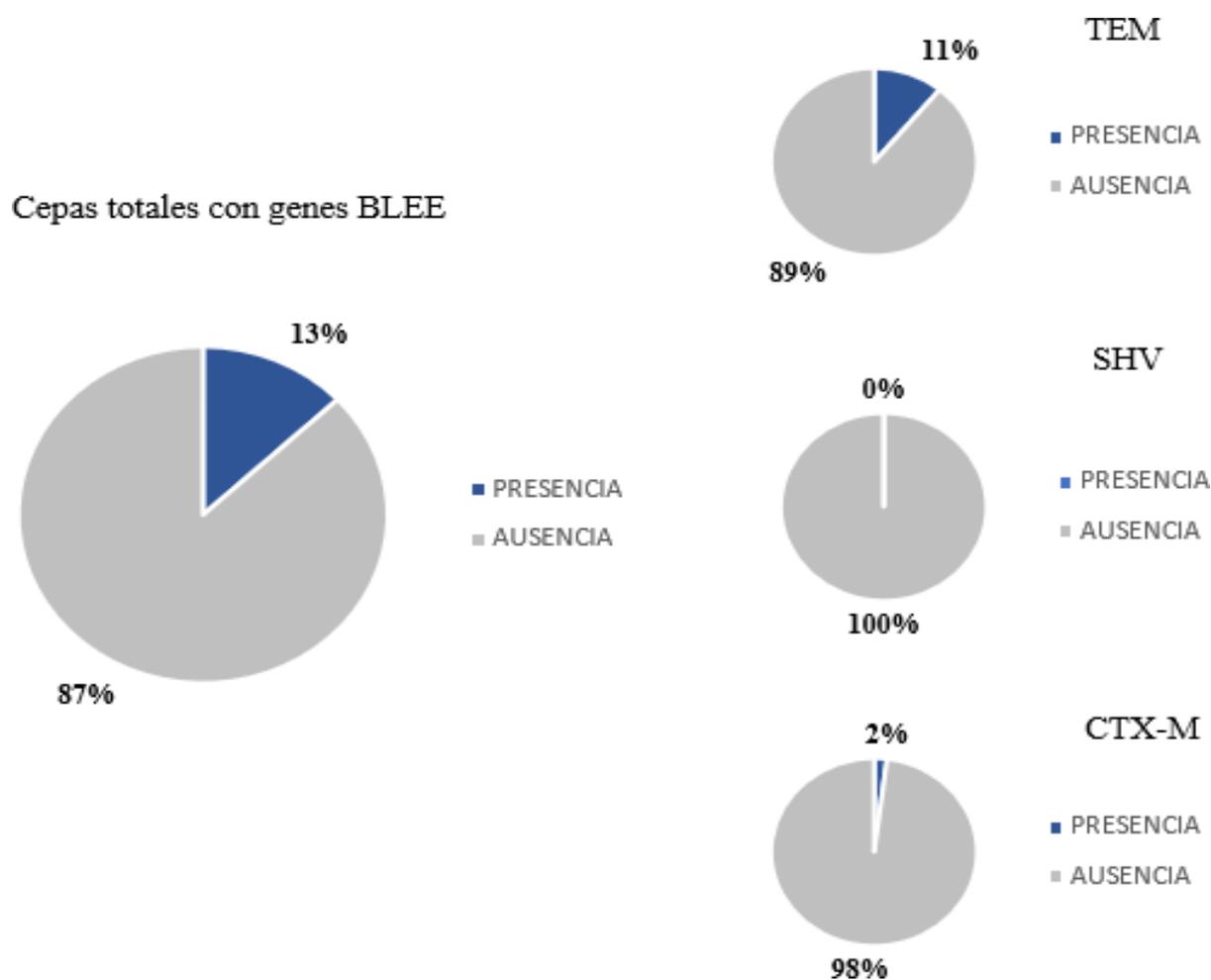
#### 4.3. Frecuencia de genes BLEE

Respecto a la detección de los genes BLEE durante el periodo 2017-2020 (figura 1), se

pudo detectar una frecuencia del 13% (13/100), siendo el gen *bla*<sub>TEM</sub> el más frecuente, con el 11% (11/100) y el gen *bla*<sub>CTX-M</sub> con el 2% (2/100). No se detectó el gen *bla*<sub>SHV</sub> en ninguna de las cepas evaluadas.

### Figura 1

Frecuencia de genes betalactamasa de espectro extendido detectados en los periodos 2017-2020.



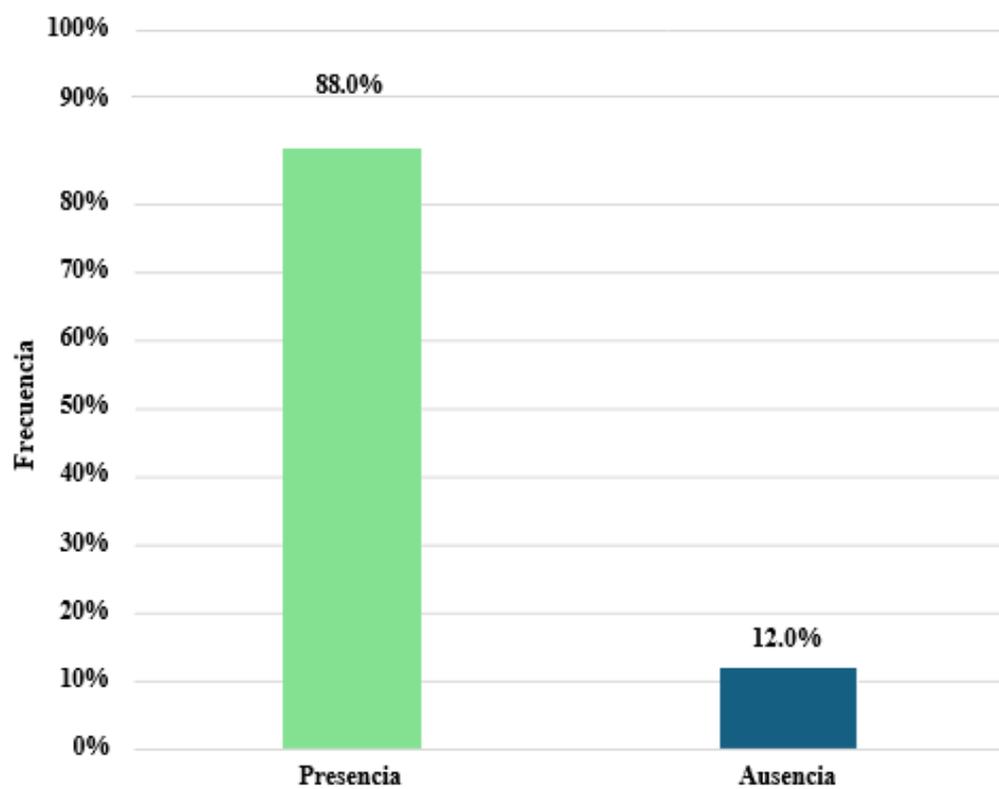
#### 4.4. Frecuencia del integrón de clase 1

La frecuencia de detección del gen *intI1* por PCR punto final mostró que el 88% (88/100) de cepas de *Shigella* spp. presentaron el gen del integrón de clase 1 durante el periodo 2017 – 2020 (figura 2). Así mismo, en la figura 3, se observa la especie donde más se detectó el gen *intI*

1, siendo *S. flexneri* el más frecuente con el 97.3% (36/37), seguido de *S. boydii* con el 85.7% (6/7) y *S. sonnei* con el 82.1% (46/56).

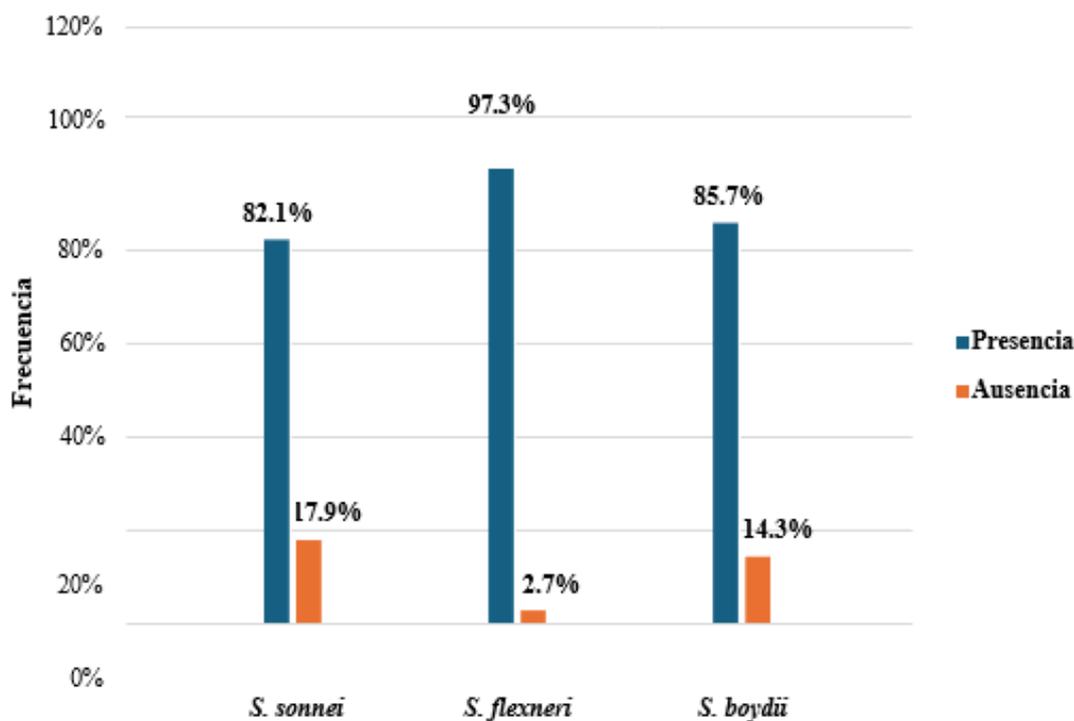
## Figura 2

*Frecuencia de detección del gen intI 1 en Shigella spp. durante el periodo 2017-2020*



**Figura 3**

Porcentaje de detección del gen *intI* I en especies de *Shigella* durante el periodo 2017-2020.



Finalmente, en la figura 4 se observa las cepas que presentaron los genes BLEE e *IntI* I. 6 cepas en total de *S. flexneri* presentaron los genes *bla*TEM e *intI* 1 en los 4 periodos de estudio, *S. boydii* presentó en total 3 cepas con los mismos genes durante los periodos 2018 y 2020 *S. sonnei* presentó 2 cepas durante el periodo 2020. Además, para el caso de los genes *bla*CTX-M e *intI* 1 se detectaron también en otras 2 cepas de *S. sonnei* perteneciente al periodo 2020. Todas las cepas presentaron fenotipos multidrogoresistentes (MDR), teniendo resistencia como mínimo a 3 antimicrobianos de clases distintas.

**Figura 4**

Perfil de resistencia fenotípico y genes BLEE e *IntI 1* en aislados de *Shigella* spp. durante los periodos 2017-2020.

N	Especie y serotipo	Año	Genes bla	Gen <i>intI 1</i>	Perfil de resistencia fenotípico										Resistencia fenotípica	
					AMP	C	SXT	CIP	NA	N	AMC	CAZ	CTX	T		
2	<i>Shigella flexneri 2a</i>	2017	TEM	X	■	■	■					■			■	MDR
	<i>Shigella flexneri 4</i>	2017	TEM	X	■	■	■					■			■	MDR
2	<i>Shigella flexneri 4</i>	2018	TEM	X	■	■	■								■	MDR
	<i>Shigella boydii 2</i>	2018	TEM	X	■		■				■				■	MDR
2	<i>Shigella flexneri 1b</i>	2019	TEM	X	■	■	■	■			■				■	MDR
	<i>Shigella sonnei II</i>	2019	TEM	X	■		■	■	■						■	MDR
7	<i>Shigella boydii 1</i>	2020	TEM	X	■		■				■				■	MDR
	<i>Shigella boydii 2</i>	2020	TEM	X	■		■			■	■				■	MDR
	<i>Shigella flexneri 4</i>	2020	TEM	X	■	■	■				■				■	MDR
	<i>Shigella flexneri 4</i>	2020	TEM	X	■	■	■								■	MDR
	<i>Shigella sonnei II</i>	2020	TEM	X	■		■	■	■						■	MDR
	<i>Shigella sonnei II</i>	2020	CTX-M	X	■		■	■	■				■	■	■	MDR
	<i>Shigella sonnei I</i>	2020	CTX-M	X	■		■	■	■					■	■	MDR

Nota. En el perfil de resistencia fenotípico, la caja de color negro indica la resistencia, la caja blanca indica la sensibilidad, la caja de color plomo indica sensibilidad intermedia. En el gen *intI 1*, la X indica la presencia del gen.

AMP: ampicilina; C: cloranfenicol; SXT: trimetoprim/sulfametoxazol; CIP: ciprofloxacino; NA: ácido nalidixico; N: nitrofurantoína; AMC: amoxicilina/ac.clavulánico; CAZ: ceftazidima; CTX: cefotaxima; T: tetraciclina.

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La shigelosis es considerada una de las enfermedades diarreicas agudas (EDAS) más prevalentes en el mundo, siendo *Shigella* spp. una de las etiologías más comunes que causa este trastorno gastrointestinal. En este estudio se analizaron un total de 100 cepas de *Shigella*, las cuales fueron confirmadas por serogrupo y serotipo (tabla 4). De las especies confirmadas, *Shigella sonnei* fue la más común, representando el 56% del total de aislados durante los 4 periodos evaluados, seguido de la especie *Shigella flexneri* que representó el 37% y *Shigella boydii* con el 7% del total de cepas. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Guevara et al., (2014), donde del total de cepas de *Shigella* aisladas en el Hospital Nacional Daniel Alcides Carrión durante el año 2011, el 55.6% correspondieron a

*S. sonnei*, el 40% de aislamientos fueron de *S. flexneri* y el 4.4% pertenecen a *S. boydii*. Esta tendencia es mencionada también por Riveros y Ochoa et al., (2015), donde indican que durante el 2008 encontraron que el 50% de cepas de *Shigella* recuperadas en la Unidad de Investigación Médica No. 06 de la Marina de los EE. UU (NAMRU-6) fueron identificadas como cepas de *Shigella sonnei*. Asimismo, Quino et al., (2023) informaron en un estudio descriptivo donde analizaron un total de 1668 cepas de *Shigella* que fueron remitidas al Instituto Nacional de Salud del Perú durante los periodos 2011-2020, que *S. sonnei* fue la especie más frecuente, representando el 49.2% del total de cepas, seguido de *S. flexneri* con el 42.2% y *S. boydii* con el 7.9%. Reportan también el aislamiento de *S. dysenteriae* con el 0.7%, valor que difiere con nuestros resultados, ya que no se pudo confirmar ninguna cepa de *S. dysenteriae*.

Estudios previos en países de Europa y Asia mencionan también la mayor frecuencia de *S. sonnei* frente a las otras especies de *Shigella*, como indica Pons et al., (2013), el cual aislaron 191 cepas de *Shigella* provenientes de casos de diarrea del viajero en el Hospital Clínic

de Barcelona durante el periodo de estudio del 1995-2010, siendo *S. sonnei* la especie más común con el 57.6%, mientras que *S. flexneri* representó el 37.7% y *S. boydii* 0.5%. Caso similar reportaron Farshad et al., (2006), en un estudio en Irán, donde aislaron y clasificaron 82 cepas de *Shigella*, siendo la especie más común *S. sonnei* con el 74.3%, *S. flexneri* con el 19.5% y *S. boydii* con el 2.4%, datos que concuerdan con lo reportado en el presente estudio.

Los resultados concuerdan también con trabajos previos en países de la región, donde se ha observado la alta frecuencia de *S. sonnei* frente a las otras especies de *Shigella*, tal es el caso de Colombia, donde Rodríguez et al., (2018) informaron un aumento constante de *S. sonnei* con el 52.7% de aislamientos, frente a *S. flexneri* con el 43.9% y *S. boydii* con el 3.5%; asimismo, en Brasil se ha reportado un predominio de cepas de *S. sonnei* con el 88.2% frente a *S. flexneri* con el 11.8% (Sousa et al., 2013). Estos datos muestran el cambio que existe en la frecuencia de especies de *Shigella*, teniendo un predominio *S. sonnei* sobre *S. flexneri*, y esto puede ser debido a que varios países Latinoamericanos han experimentado una creciente industrialización durante los últimos años, lo que ha generado el surgimiento de economías nuevas que han contribuido al saneamiento del agua, así como el acceso de este recurso a más población (Quino et al., 2023).

La resistencia antimicrobiana en *Shigella* se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial, debido a la aparición de cepas con resistencia a la mayoría de antimicrobianos que se utilizan para su tratamiento (Gu et al., 2017). En el presente estudio, se evaluó el perfil de resistencia de las 100 cepas confirmadas como *Shigella* (tabla 5), destacando la elevada resistencia frente a diferentes antimicrobianos como es el caso de tetraciclina (96%), trimetoprima sulfametoxazol (96%), ampicilina (73%) y cloranfenicol (63%), además, se observó la resistencia a las quinolonas, como es el caso de ciprofloxacino (49%) y ácido nalidíxico (28%). Contrariamente, la resistencia contra las cefalosporinas de tercera generación

como ceftazidima (1%) y cefotaxima (2%) fueron mínimos. Además, el 94% (94/100) de cepas presentaron un fenotipo multidrogoresistente (anexo A). La resistencia frente a estos antimicrobianos se reporta con frecuencia, pero en menor medida las cefalosporinas de tercera y cuarta generación; sin embargo, esto varía dependiendo según el país. Kosek et al., (2008), en un estudio realizado en la Amazonía peruana donde realizaron pruebas de sensibilidad antimicrobiana a 403 aislados de *Shigella*, reportaron valores de resistencia contra diferentes antimicrobianos utilizados en la terapia de primera línea contra la shigelosis, donde hubo altas tasas de resistencias frente a ampicilina (73%), cloranfenicol (62%), trimetoprima-sulfametoxazol (79%) y tetraciclina (83%), siendo valores similares a lo reportado en este estudio. Sin embargo, en el caso de las quinolonas, reportaron una resistencia frente al ácido nalidíxico del 2% y ciprofloxacino 1%, valores que difieren en gran medida con lo reportado por nosotros. Otro estudio, realizado por Baca et al., (2013), en el Instituto Nacional de Salud del Niño en Perú, evaluaron 85 aislamientos de *Shigella* spp. provenientes de coprocultivos, reportando la resistencia frente a tetraciclina (90.6%), ampicilina (88.2%), trimetoprima sulfametoxazol (87.1%), cloranfenicol (78.8%), amoxicilina/ac. clavulánico (71.8%) y ceftazidima (2.4%). Además, mencionan sobre un alto porcentaje de cepas multidrogoresistente (82.6%). Lluque et al., (2015), en un estudio donde caracterizaron una colección de 83 aislados de *Shigella* spp. provenientes de niños menores de 2 años en comunidades periurbanas de Lima, Perú, reportaron tasas elevadas de resistencia de algunos antimicrobianos como trimetoprima-sulfametoxazol (84%), tetraciclina (74%), ampicilina (67%) y cloranfenicol (65%), siendo estos valores similares a lo obtenido en el presente estudio. Además, indican que no obtuvieron aislados resistentes a las quinolonas como el ácido nalidíxico y ciprofloxacina ni tampoco cepas resistentes a cefotaxima. Indican también que el 60% de cepas fueron MDR. Toro et al., (2022), reportaron sobre la resistencia en 349 aislados

de *Shigella sonnei* pertenecientes al periodo 1995 a 2013 en Chile, donde presentaron altas tasas de resistencia contra ampicilina (73.6%), tetraciclina (73.6%), trimetoprima sulfametoxazol (73.4%), cloranfenicol (55.9%), ácido nalidíxico (9.5%) y cefotaxima (0.9%), indicando la frecuencia del 86% de aislados MDR, resultados similares a lo reportado por nosotros. Por otro lado, no reportaron aislados resistentes a ciprofloxacino, lo cual difiere con nuestros resultados.

Abbasi et al., (2019) en un estudio donde analizaron 19 casos de shigelosis en niños en el centro de Irán reportaron la resistencia frente a ampicilina (100%), trimetoprima sulfametoxazol (100%), tetraciclina (75%), cloranfenicol (50%), ácido nalidíxico (26.3%), ciprofloxacino (10,5%), ceftazidima (31.5%) y cefotaxima (63.1%). En china, Wang et al., (2019), en un trabajo retrospectivo donde analizaron los perfiles de resistencia a los antimicrobianos de los aislados *de Shigella* de la provincia de Shanxi durante 2006 a 2016, encontraron tasas de resistencias a diversos antimicrobianos como ampicilina (97.7%), trimetoprima sulfametoxazol (88,4%), tetraciclina (78,3%), cloranfenicol (57,4%) y a cefalosporinas de tercera generación como ceftazidima (0,6%) y cefoxitina (0,2%). Observaron también que el 91.1% de los aislados fueron MDR.

Todos estos datos muestran la tendencia sobre un perfil marcado en la resistencia de *Shigella* frente a ciertos antimicrobianos en diferentes partes del mundo, lo que sugiere que ya no serían tan efectivos para un tratamiento empírico contra la shigelosis. Además, surge la preocupación por la aparición de aislados resistentes a quinolonas y cefalosporinas de tercera generación, antimicrobianos recomendados por la OMS como alternativas de primera y segunda línea contra la shigelosis (OMS, 2005). La aparición de aislados resistentes a estos antimicrobianos, básicamente se traduce por el uso excesivo o indebido de antimicrobianos, lo que genera un incremento de la resistencia antimicrobiana y limita las alternativas terapéuticas

para el tratamiento de infecciones por este patógeno.

Los resultados de la PCR para detectar los genes betalactamasa de espectro extendido, mostraron que, de las 100 cepas analizadas, el 13% (13/100) fueron positivos para uno de los genes BLEE (figura 1). El gen *bla*<sub>TEM</sub> fue el gen que se detectó con mayor frecuencia en las cepas de *Shigella* con el 11% (11/100) y el gen *bla*<sub>CTX-M</sub> con el 2% (2/100). No se detectó en ninguna de los aislados analizados la presencia del gen *bla*<sub>SHV</sub>. Gonzales- Escalante et al., (2013) informaron acerca de dos aislamientos de *S. flexneri* productoras de BLEE resistentes a ceftriaxona (cefalosporina de tercera generación) recuperados de muestras de heces de dos pacientes pediátricos con diarrea aguda, en el servicio de emergencia del Instituto Nacional de Salud del Niño del Perú y en el que detectó el gen *bla*<sub>CTX-M</sub> en ambos aislamientos. Lluque et al., (2015) encontraron que el 9% de los aislados de *Shigella* presentaron el gen *bla*<sub>TEM</sub>, sin embargo, ningún aislado presentó el gen *bla*<sub>SHV</sub>, lo que concuerda con lo expuesto en el presente trabajo. Por último, Gonzales Rodríguez, et al., (2024), informaron recientemente sobre la aparición de dos aislados de *S. sonnei* recuperados en noviembre del 2019 en Perú, indicando que ambos aislados albergaron el gen *bla*<sub>CTX-M-15</sub>, que se encontraban en un plásmido conjugativo perteneciente al grupo IncI-  $\gamma$ . Hasta donde se sabe, estos reportes son los únicos en los que se ha detectado la presencia de genes BLEE en aislados de *Shigella* en nuestro país. Estos datos muestran que existe una circulación de cepas con estos determinantes genéticos de resistencia en nuestro medio, siendo esto uno de los mecanismos utilizados por *Shigella* para presentar resistencia contra antimicrobianos betalactámicos.

Poramathikul et al., (2016) en un estudio de vigilancia de casos de diarrea en Camboya, reportaron la presencia de genes BLEE en 10 aislados de *Shigella*, del cual el 90% de cepas presentaron el gen *bla*<sub>TEM</sub> y el 20% el gen *bla*<sub>CTX-M</sub>. No reportaron cepas con presencia del gen *bla*<sub>SHV</sub>. Shahin et al., (2020) analizaron la presencia de 21 genes BLEE en 70 aislados de

*Shigella* provenientes de diferentes centros médicos y laboratorios en Irán, encontrando que el 55.7% de aislamientos presentaron el gen *bla*<sub>TEM</sub>, 40% el gen *bla*<sub>CTX-M</sub> y 14.3% el gen *bla*<sub>SHV</sub>. Bose et al., (2024) reportaron sobre la existencia del gen *bla*<sub>TEM</sub> en el 12.3% de cepas de *Shigella* que presentaron resistencia a 1 o más antimicrobianos, así mismo, señalan que el 37.5% de cepas con resistencia a ceftriaxona, presentaron el gen *bla*<sub>CTX-M</sub>.

Los integrones son estructuras genéticas que han tomado mucha importancia en salud pública durante los últimos años, ya que se ha observado una asociación con el fenómeno de la resistencia antimicrobiana, debido a su capacidad de adquirir y diseminar genes de resistencia en bacterias gramnegativas (Pormohammad et al., 2019). Esta importancia se ha visto reflejado a través de su vigilancia, seguimiento y prevalencia a través de diversos trabajos realizados a nivel mundial. El presente trabajo muestra la frecuencia de detección del integrón de clase 1 a través de la técnica de PCR para detectar la integrasa *intI* 1 durante el periodo 2017-2020, donde se obtuvo que el 88% (88/100) de cepas analizadas presentaron el gen (figura 2). Además, la especie donde más se detectó fue en *S. flexneri* con el 97.3% (36/37), seguido de *S. boydii* 85.7% (6/7) y *S. sonnei* con el 82.1% (46/56) como se observa en la figura 3. Así mismo, en la figura 4, se muestra el perfil de resistencia de las cepas que presentaron tanto los genes BLEE e integrón de clase 1, destacando la multidrogoresistencia de todos los aislados.

Lluque et al., (2015), reportaron sobre la frecuencia del gen *intI* 1, donde el 49% del total de aislados de *Shigella* analizados, fueron positivos para el integrón de clase 1, siendo *S. sonnei* la especie que presentó el gen con mayor frecuencia (90%), seguido de *S. flexneri* (50%) y *S. boydii* (9%). Cabe destacar, que este trabajo, es hasta el momento, el único que ha reportado la presencia del gen *intI* 1 en aislados de *Shigella* en nuestro país.

En Brasil, Yu et al., (2010), reportaron la prevalencia de integrones en aislados de *S. sonnei*, indicando que el 92% de aislados presentaron el gen *intI* 1 y fueron MDR, sin embargo,

no pudieron demostrar la asociación entre los antimicrobianos evaluados y la presencia de integrones. Barrantes et al., (2013), informaron sobre la detección del gen *intI* 1 en el 98% de aislados de *Shigella*, detectando también, un cassette génico *bla*<sub>TEM</sub>, asociado a la resistencia a ampicilina. Además, observaron que el 87% de aislados presentaron multidrogoresistencia. Toro et al., (2022), informaron sobre la frecuencia del integrón de clase 1 en el 55.6% de aislados chilenos de *S. sonnei*.

Abassi et al., (2019), encontraron que el 94.7% de aislados de *Shigella* presentaron el gen *intI* 1, siendo *S. flexneri* la más frecuente con el 100% (4/4), seguido de *S. sonnei* 93.3% (14/15). En otro estudio, Xu et al., (2016) informaron acerca del integrón de clase 1 en aislados de *S. flexneri* en pacientes ambulatorios y hospitalizados en hospitales de la provincia de Jiangsu desde enero de 2001 hasta diciembre de 2011, donde la frecuencia del integrón de clase 1 fue de 69.3%, indicando que la mayoría de integrones detectados, portaban genes que codifican la resistencia a trimetoprima y estreptomicina. Zamanlou et al., (2018) reportaron sobre la prevalencia de integrones en especies de *Shigella* en Irán, indicando que el 55.6% de aislamientos analizados presentaron el gen *intI* 1, además, presentaron un fenotipo MDR.

## VI. CONCLUSIONES

- Se confirmó la identificación de especie y serotipo de 100 aislados de *Shigella* spp. por métodos microbiológicos convencionales.
- Se evaluó el perfil de resistencia antimicrobiana por el método de disco difusión en 100 aislados de *Shigella* spp.
- Se logró detectar la presencia de los genes *bla*<sub>TEM</sub> y *bla*<sub>CTX-M</sub> mediante PCR múltiplex a partir de los aislados de *Shigella* spp. No se detectó la presencia del gen *bla*<sub>SHV</sub> en ninguno de los aislados confirmados.
- Se detectó la presencia del gen *intI* 1 mediante PCR punto final a partir de los aislados de *Shigella* spp.

## VII. RECOMENDACIONES

- Es de vital importancia mantener una vigilancia activa de la resistencia antimicrobiana en patógenos entéricos, especialmente en *Shigella*, ya que se ha observado en los últimos años un incremento alarmante de la resistencia frente a diversos antimicrobianos que son utilizados como terapia de primera línea para casos de shigelosis. Tener el conocimiento de los perfiles de resistencia de los aislados que circulan en nuestro país es crucial para la toma de mejores decisiones para un adecuado tratamiento antimicrobiano y evitar así, la aparición de aislados con perfiles multidrogoresistentes.
- Se recomienda seguir realizando estudios retrospectivos de este patógeno, teniendo en cuenta la detección de los determinantes genéticos de resistencia y virulencia, así como de elementos genéticos que están asociados a la transferencia de genes de resistencia, utilizando metodologías más modernas, como el secuenciamiento genómico, que nos permitirá caracterizar mejor los aislados, no solo en *Shigella*, sino de otros patógenos de importancia en salud pública.
- Realizar estudios complementarios donde se tenga en cuenta un mayor número de muestras, teniendo un enfoque descentralizado, ya que esa información permitirá tener un mejor panorama de lo que realmente sucede a nivel nacional.

## VIII. REFERENCIAS

- Abbasi, E., Abtahi, H., van Belkum, A., y Ghaznavi-Rad, E. (2019). Multidrug-resistant *Shigella* infection in pediatric patients with diarrhea from central Iran. *Infection and Drug Resistance*, 12, 1535–1544. <https://doi.org/10.2147/IDR.S203654>
- Ayzanoa Canales, B. S. (2021). Caracterización genotípica y fenotípica de betalactamasas de espectro extendido en enterobacterias fermentadoras de lactosa aisladas de aguas residuales de un Hospital De Lima, Perú. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio institucional UNFV. <https://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5448>
- Baca, C., Yupanqui, L., Canales, J., Zamudio, M. L., Quispe, M. del C., y Tamariz, J. H. (2014). Serotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *Shigella* aisladas en un instituto de salud pediátrico de Lima, Perú entre enero y julio 2013. *Revista Medica Herediana: Organo Oficial de La Facultad de Medicina “Alberto Hurtado”, Universidad Peruana Cayetano Heredia*, Lima, Peru, 25(2), 73-79. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2014000200004&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2014000200004&lng=es)
- Barrantes, K., Chacón, L., Solano, M., y Achí, R. (2013). Class 1 integrase and genetic cassettes bla<sub>oxa</sub> and bla<sub>tem</sub> among multi-drug resistant *Shigella* isolates in Costa Rica. *International Journal of Biological Sciences and Applications*, 1(1), 24-27. <https://www.kerwa.ucr.ac.cr/server/api/core/bitstreams/d600743a-a4fb-42b4-acec-54fb19404df0/content>
- Barrantes, K., y Achí, R. (2016). The importance of integrons for development and propagation of resistance in *Shigella*: the case of Latin America. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47(4), 800–806. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.07.019>

- Batchelor, M., Hopkins, K., Threlfall, E. J., Clifton-Hadley, F. A., Stallwood, A. D., Davies, R. H., y Liebana, E. (2005). bla CTX-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>
- Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., y Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American journal of clinical pathology*, 45(4), 493–496.
- Behzadi, P., García-Perdomo, H. A., Karpiński, T. M., y Issakhanian, L. (2020). Metallo- $\beta$ -lactamases: a review. *Molecular Biology Reports*, 47(8), 6281–6294. <https://doi.org/10.1007/s11033-020-05651-9>
- Berbers, B., Vanneste, K., Roosens, N. H. C. J., Marchal, K., Ceysens, P.-J., y De Keersmaecker, S. C. J. (2023). Using a combination of short- and long-read sequencing to investigate the diversity in plasmid- and chromosomally encoded extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in clinical Shigella and Salmonella isolates in Belgium. *Microbial Genomics*, 9(1). <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000925>
- Bian, F., Yao, M., Fu, H., Yuan, G., Wu, S., y Sun, Y. (2019). Resistance characteristics of CTX- M type Shigella flexneri in China. *Bioscience Reports*, 39(9), BSR20191741. <https://doi.org/10.1042/BSR20191741>
- Bose, P., Chowdhury, G., Halder, G., Ghosh, D., Deb, A. K., Kitahara, K., Miyoshi, S. I., Morita, M., Ramamurthy, T., Dutta, S., y Mukhopadhyay, A. K. (2024). Prevalence and changing antimicrobial resistance profiles of Shigella spp. isolated from diarrheal patients in Kolkata during 2011-2019. *PLoS neglected tropical diseases*, 18(2), e0011964. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011964>

- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: Characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 933-951. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Bush, K. (2018). Past and Present Perspectives on  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(10), e01076-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
- Bush, K., y Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
- Chiş, A. A., Rus, L. L., Morgovan, C., Arseniu, A. M., Frum, A., Vonica-Țincu, A. L., Gligor, F. G., Mureşan, M. L., y Dobrea, C. M. (2022). Microbial resistance to antibiotics and effective antibiotherapy. *Biomedicines*, 10(5), 1121. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10051121>
- Dantas Palmeira, J., y Ferreira, H. M. N. (2020). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae in cattle production - a threat around the world. *Heliyon*, 6(1), e03206. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03206>
- Deng, Y., Bao, X., Ji, L., Chen, L., Liu, J., Miao, J., Chen, D., Bian, H., Li, Y., y Yu, G. (2015). Resistance integrons: class 1, 2 and 3 integrons. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12941-015-0100-6>
- Elkenany, R., Eltaysh, R., Elsayed, M., Abdel-Daim, M., y Shata, R. (2022). Characterization of multi-resistant Shigella species isolated from raw cow milk and milk products. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 84(7), 890. <https://doi.org/10.1292/JVMS.22-0018>

- Farshad, S., Sheikhi, R., Japoni, A., Basiri, E., y Alborzi, A. (2006). Characterization of Shigella strains in Iran by plasmid profile analysis and PCR amplification of ipa genes. *Journal of clinical microbiology*, 44(8), 2879–2883.  
<https://doi.org/10.1128/JCM.00310-06>
- Fernández-Riverón F, López Hernández J, PonceMartínez LM, Machado-Betarte C. (2003) Resistencia bacteriana. *Rev Cubana Med Milit*, 32(1):44-48.  
<http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v32n1/mil07103.pdf>
- Guevara, J. M., Cipriani, R., Giraldo, D., Mezarina, E., Sánchez, I., Villagómez, Z., ... y Carranza, R. (2014). Shigella sonnei: ¿Está ocurriendo un cambio en nuestro medio? In *Anales de la Facultad de Medicina* (Vol. 75, No. 2, pp. 189-191). UNMSM. Facultad de Medicina. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832014000200018](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832014000200018)
- Gonzales-Escalante E., Sevilla-Andrade R., León-Sandoval S. (2013).  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido tipo CTX-M en aislamientos de Shigella flexneri de pacientes pediátricos con diarrea aguda [carta]. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 30(3):527- 8.  
<https://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/artrevista/pdf/rpmesp2013.v30.n3.a29.pdf>
- González, G., Mella, S., Zemelman, R., Bello, H., y Domínguez, M. (2004). Integrons and resistance gene cassettes: structure and role against antimicrobials. *Revista médica de Chile*, 132(5), 619–626. <https://doi.org/10.4067/s0034-98872004000500013>
- Gonzales Rodriguez, A., Gonzales Escalante, E., Lezameta Abarca, L., y Saavedra Gutierrez, J. (2024). Emergence of lineage III of Shigella sonnei ST152 belonging to a high-risk clone harboring the blaCTX-M-15 gene in Peru. *Revista Argentina de Microbiologia*.  
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.02.007>

- Gu, B., Xu, T., Kang, H., Xu, Y., Liu, G., Pan, S., Qian, H., y Ma, P. (2017). A 10-year surveillance of antimicrobial susceptibility patterns in *Shigella sonnei* isolates circulating in Jiangsu Province, China. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 10, 29–34. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2017.03.009>
- Hall, R. M., y Collis, C. M. (1995). Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Molecular Microbiology*, 15(4), 593–600. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1995.tb02368.x>
- Hall, R. M., Collis, C. M., Kim, M. J., Partridge, S. R., Recchia, G. D., y Stokes, H. W. (1999). Mobile gene cassettes and integrons in evolution. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 870(1 MOLECULAR STR), 68–80. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb08866.x>
- Instituto Nacional de Salud (2019). Plan Multisectorial para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos 2019 – 2021. [https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/plannacional/Decreto\\_Supremo\\_010-2019-SA-c.pdf](https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/plannacional/Decreto_Supremo_010-2019-SA-c.pdf)
- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., y Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum betalactamases conferring transferable resistance to newer beta-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>
- Kahsay, A. G., y Muthupandian, S. (2016). A review on Sero diversity and antimicrobial resistance patterns of *Shigella* species in Africa, Asia and South America, 2001– 2014. *BMC Research Notes*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-016-2236-7>

- Kaushik, M., Kumar, S., Kapoor, R. K., Viridi, J. S., y Gulati, P. (2018). Integrons in Enterobacteriaceae: diversity, distribution and epidemiology. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(2), 167–176.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.10.004>
- Khalil, I. A., Troeger, C., Blacker, B. F., Rao, P. C., Brown, A., Atherly, D. E., Brewer, T. G., Engmann, C. M., Houpt, E. R., Kang, G., Kotloff, K. L., Levine, M. M., Luby, S. P., MacLennan, C. A., Pan, W. K., Pavlinac, P. B., Platts-Mills, J. A., Qadri, F., Riddle, M. S., ... Reiner, R. C., Jr. (2018). Morbidity and mortality due to shigella and enterotoxigenic Escherichia coli diarrhoea: the Global Burden of Disease Study 1990-2016. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(11), 1229–1240.  
[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30475-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30475-4)
- Koneman, E. W. y Allen, S. (2008). *Diagnostico Microbiológico*. (6ta ed.). Editorial Médica Panamericana.  
[https://books.google.com.pe/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=jyVQueKro88C&printsec=frontcover&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Kosek, M., Yori, P. P., Pan, W. K., Olortegui, M. P., Gilman, R. H., Perez, J., Chavez, C. B., Sanchez, G. M., Burga, R., y Hall, E. (2008). Epidemiology of highly endemic multiply antibiotic-resistant shigellosis in children in the Peruvian Amazon. *Pediatrics*, 122(3), e541–e549. <https://doi.org/10.1542/peds.2008-0458>
- Kotloff, K. L., Riddle, M. S., Platts-Mills, J. A., Pavlinac, P., y Zaidi, A. K. M. (2018). Shigellosis. *Lancet*, 391(10122), 801–812. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)33296-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)33296-8)

- Liakopoulos, A., Mevius, D., y Ceccarelli, D. (2016). A review of SHV extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: Neglected yet ubiquitous. *Frontiers in microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01374>
- Liu, H., Zhu, B., Qiu, S., Xia, Y., Liang, B., Yang, C., Dong, N., Li, Y., Xiang, Y., Wang, S., Xie, J., Mahe, M., Sun, Y., y Song, H. (2018). Dominant serotype distribution and antimicrobial resistance profile of *Shigella* spp. in Xinjiang, China. *PloS One*, 13(4), e0195259. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195259>
- Liu, Y., Li, R., Xiao, X., y Wang, Z. (2019). Molecules that Inhibit Bacterial Resistance Enzymes. *Molecules*, 24(1). <https://doi.org/10.3390/molecules24010043>
- Lluque, A., Mosquito, S., Gomes, C., Riveros, M., Durand, D., Tilley, D. H., Bernal, M., Prada, A., Ochoa, T. J., y Ruiz, J. (2015). Virulence factors and mechanisms of antimicrobial resistance in *Shigella* strains from periurban areas of Lima (Peru). *International Journal of Medical Microbiology: IJMM*, 305(4–5), 480–490. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2015.04.005>
- Mazel, D. (2006). Integrons: agents of bacterial evolution. *Nature Reviews. Microbiology*, 4(8), 608–620. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1462>
- Miranda Sanabria, J. V. (2018). Mecanismos de resistencia bacteriana en uropatógenos aislados de pacientes geriátricos en la Clínica Centenario Peruano Japonesa, Enero 2014- Octubre 2016. [Tesis de pregrado, Universidad Privada San Juan Bautista]. Repositorio institucional USJB. <http://repositorio.upsjb.edu.pe/handle/upsjb/1796>
- Moges, F., Gizachew, M., Dagne, M., Amare, A., Sharew, B., Eshetie, S., Abebe, W., Million, Y., Feleke, T., y Tiruneh, M. (2021). Multidrug resistance and extended-spectrum beta- lactamase producing Gram-negative bacteria from three Referral Hospitals of Amhara region, Ethiopia. *Annals of Clinical Microbiology and*

- Antimicrobials, 20(1). <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00422-1>
- Mosquito S, Ruiz J, Bauer JL, Ochoa TJ. (2011). Mecanismos moleculares de Resistencia antibiotic en Escherichia coli asociadas a diarrea. Rev Peru Med Exp Salud Publica, 28(4):648-656. <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/430/430>
- Niyogi, S. K. (2007). Increasing antimicrobial resistance--an emerging problem in the treatment of shigellosis. Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 13(12), 1141–1143. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01829.x>
- Ng, L. K., Mulvey, M. R., Martin, I., Peters, G. A., y Johnson, W. (1999). Genetic characterization of antimicrobial resistance in Canadian isolates of Salmonella serovar Typhimurium DT104. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 43(12), 3018–3021. <https://doi.org/10.1128/AAC.43.12.3018>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2005). Directrices para el control de la shigelosis, incluidas las epidemias debidas a Shigella Dysenteriae tipo 1. <https://iris.who.int/handle/10665/43252>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2016). Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos: Opciones para establecer un marco mundial de desarrollo y rectoría a fin de respaldar el desarrollo, el control, la distribución y el uso adecuado de nuevos antimicrobianos, instrumentos diagnósticos, vacunas y otras intervenciones: Informe de la Secretaría. Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/253061>
- Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2021). Resistencia a los antimicrobianos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

- Paterson, D. L., Hujer, K. M., Hujer, A. M., Yeiser, B., Bonomo, M. D., Rice, L. B., Bonomo, R. A., y the International Klebsiella Study Group. (2003). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Klebsiella pneumoniae* bloodstream isolates from seven countries: Dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type  $\beta$ -lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(11), 3554–3560.  
<https://doi.org/10.1128/aac.47.11.3554-3560.2003>
- Paterson, D. L., y Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4), 657–686.  
<https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005>
- Pérez-Cano HJ. y Robles-Contreras, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista MédicaMD*, 4(3), 186-191 pp.  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/revmed/md-2013/md133i.pdf>
- Perilla, M. J., Ajello, G., Bopp, C., Elliot, J., Facklam, R., Knapp, J. S., ... y Dowell, S. (2004). Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo. *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Salmonella* serotipo Typhi y *Vibrio cholerae*. OMS, (pp. 131-150).
- Perozo Mena, A., Marín, M., Castellano, M., Ling Toledo, E., Núñez, D., Ginestre, M., Villasmil, J., Bermúdez-González, J., Villalobos, R., y Gómez-Gamboa, L. (2017). Detección de Betalactamasas de espectro extendido en Enterobacteriaceae en un Centro de Salud de Maracaibo, Venezuela. *Rev. Kasmera*, 45(2), 88–99.  
<https://www.redalyc.org/journal/3730/373061523003/373061523003.pdf>

- Pons, M. J., Gomes, C., Martínez-Puchol, S., Ruiz, L., Mensa, L., Vila, J., Gascón, J., y Ruiz, J. (2013). Antimicrobial resistance in *Shigella* spp. causing traveller's diarrhoea (1995–2010): a retrospective analysis. *Travel Medicine and Infectious Disease*, 11(5), 315–319. <https://doi.org/10.1016/j.tmaid.2013.06.010>
- Poramathikul, K., Bodhidatta, L., Chiek, S., Oransathid, W., Ruekit, S., Nobthai, P., Lurchachaiwong, W., Serichantalergs, O., Lon, C., y Swierczewski, B. (2016). Multidrug-resistant *Shigella* infections in patients with diarrhea, Cambodia, 2014–2015. *Emerging infectious diseases*, 22(9), 1640–1643. <https://doi.org/10.3201/eid2209.152058>
- Pormohammad, A., Pouriran, R., Azimi, H., y Goudarzi, M. (2019). Prevalence of integron classes in Gram-negative clinical isolated bacteria in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(2), 118–127. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2018.32052.7697>
- Puzari, M., Sharma, M., y Chetia, P. (2018). Emergence of antibiotic resistant *Shigella* species: A matter of concern. *Journal of Infection and Public Health*, 11(4), 451–454. <https://doi.org/10.1016/J.JIPH.2017.09.025>
- Qiu, S., Liu, K., Yang, C., Xiang, Y., Min, K., Zhu, K., Liu, H., Du, X., Yang, M., Wang, L., Sun, Y., Zhou, H., Mahe, M., Zhao, J., Li, S., Yu, D., Hawkey, J., Holt, K. E., Baker, S., y Song, H. (2022). A *Shigella sonnei* clone with extensive drug resistance associated with waterborne outbreaks in China. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-35136-1>
- Quino, W., Bellido, G., Flores-León, D., Caro-Castro, J., Mestanza, O., Lucero, J., y Gavilan, R. G. (2023). Trends in antimicrobial resistance of *Shigella* species in Peru, 2011–2020. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 5(5). <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad110>

- Rada, A. M., Hernández-Gómez, C., Restrepo, E., y Villegas, M. V. (2019). Distribución y caracterización molecular de betalactamasas en bacterias Gram negativas en Colombia, 2001-2016. *Biomedica: Revista Del Instituto Nacional de Salud*, 39(s1), 199–220. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4351>
- Ranjbar, R., y Farahani, A. (2019). Shigella: Antibiotic-Resistance Mechanisms And New Horizons For Treatment. *Infection and drug resistance*, 12, 3137–3167. <https://doi.org/10.2147/IDR.S219755>
- Raso, M. M., Arato, V., Gasperini, G., y Micoli, F. (2023). Toward a Shigella vaccine: Opportunities and challenges to fight an antimicrobial-resistant pathogen. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(5). <https://doi.org/10.3390/ijms24054649>
- Réjiba, S., Mercuri, P. S., Power, P., y Kechrid, A. (2011). Emergence and dominance of CTX-M-15 extended spectrum beta-lactamase among Escherichia coli isolates from children. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 17(2), 135–140. <https://doi.org/10.1089/mdr.2010.0098>
- Riveros, M., y Ochoa, T. J. (2015). Enteropatógenos de importancia en salud pública. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 32(1), 157. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2015.321.1588>
- Rodríguez, E. C., Bautista, A. M., Montaña, L. A., Ovalle, M. V., y Correa, F. P. (2021). Laboratory-based surveillance of Shigella spp. from human clinical cases in Colombia, 1997-2018. Vigilancia por el laboratorio de Shigella spp. aislada de casos clínicos humanos en Colombia, 1997-2018. *Biomedica: revista del Instituto Nacional de Salud*, 41(1), 65–78. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5113>

- Salleh, M. Z., Nik Zuraina, N. M. N., Hajissa, K., Ilias, M. I., Banga Singh, K. K., y Deris, Z. (2022). Prevalence of multidrug-resistant and extended-spectrum beta- lactamase-producing *Shigella* species in Asia: A systematic review and meta- analysis. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 11(11), 1653. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111653>
- Sandner-Miranda, L., Vinuesa, P., Cravioto, A., y Morales-Espinosa, R. (2018). The genomic basis of intrinsic and acquired antibiotic resistance in the genus *Serratia*. *Frontiers in Microbiology*, 9, 828. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00828>
- Shahin, K., Bouzari, M., Komijani, M., y Wang, R. (2020). A new phage cocktail against multidrug, ESBL-producer isolates of *Shigella sonnei* and *Shigella flexneri* with highly efficient bacteriolytic activity. *Microbial Drug Resistance* (Larchmont, N.Y.), 26(7), 831–841. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0235>
- Shurina, B. A., y Page, R. C. (2021). Structural comparisons of cefotaximase (CTX-M-ase) sub family 1. *Frontiers in Microbiology*, 12, 688509. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.688509>
- Sousa, M. Â., Mendes, E. N., Collares, G. B., Péret-Filho, L. A., Penna, F. J., y Magalhães, P. P. (2013). *Shigella* in Brazilian children with acute diarrhoea: prevalence, antimicrobial resistance and virulence genes. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108(1), 30–35. <https://doi.org/10.1590/s0074-02762013000100005>
- Stec, B., Holtz, K. M., Wojciechowski, C. L., y Kantrowitz, E. R. (2005). Structure of the wild-type TEM-1  $\beta$ -lactamase at 1.55 Å and the mutant enzyme Ser70Ala at 2.1 Å suggest the mode of noncovalent catalysis for the mutant enzyme. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*, 61(8), 1072- 1079. <https://doi.org/10.1107/S0907444905014356>

- Stokes, H. W., y Hall, R. M. (1989). A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons. *Molecular Microbiology*, 3(12), 1669– 1683. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1989.tb00153.x>
- Sulca, M. (2010). Identificación y caracterización de integrones y su asociación con la resistencia a antibióticos en cepas de *Vibrio* spp. aisladas de ambientes marinos contaminados de Lima-Perú. [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. Repositorio Institucional. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/ba521b67-c040-4e81-b1db-702010ada789/content>
- Tafur, J. D., Torres, J. A y Villegas, M. V. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Asociación Colombiana de Infectología*, 12(3), 217–226. [https://revistainfectio.org/P\\_OJS/index.php/infectio/article/view/123/206](https://revistainfectio.org/P_OJS/index.php/infectio/article/view/123/206)
- Toro, C. S., Salazar, J. C., Montero, D. A., Ugalde, J. A., Díaz, J., Cádiz, L. A., Henríquez, T., García, C., Díaz, P., Camponovo, R., Hermosilla, G., y Ulloa, M. T. (2022). Antimicrobial Resistance Dynamics in Chilean *Shigella sonnei* Strains Within Two Decades: Role of *Shigella* Resistance Locus Pathogenicity Island and Class 1 and Class 2 Integrons. *Frontiers in microbiology*, 12, 794470. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.794470>
- von Wintersdorff, C. J. H., Penders, J., van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., van Alphen, L. B., Savelkoul, P. H. M., y Wolffs, P. F. G. (2016). Dissemination of antimicrobial resistance in microbial ecosystems through horizontal gene transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7, 173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
- Vubil, D., Balleste-Delpierre, C., Mabunda, R., Acácio, S., Garrine, M., Nhampossa, T., Alonso, P., Mandomando, I., y Vila, J. (2018). Antibiotic resistance and molecular

- characterization of shigella isolates recovered from children aged less than 5 years in Manhiça, Southern Mozambique. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 51(6), 881–887. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.02.005>
- Wang, Y., Ma, Q., Hao, R., Zhang, Q., Yao, S., Han, J., Ren, B., Fan, T., Chen, L., Xu, X., Qiu, S., y Yang, H. (2019). Antimicrobial resistance and genetic characterization of *Shigella* spp. in Shanxi Province, China, during 2006–2016. *BMC Microbiology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1495-6>
- Weill, F.-X., Demartin, M., Tandé, D., Espié, E., Rakotoarivony, I., y Grimont, P. A. D. (2004). SHV-12-like extended-spectrum-beta-lactamase-producing strains of *Salmonella enterica* serotypes Babelsberg and Enteritidis isolated in France among infants adopted from Mali. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6), 2432–2437. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.6.2432-2437.2004>
- World Health Organization. (2005). Guidelines for the control of shigellosis, including epidemics due to *Shigella dysenteriae* type 1. World Health Organization. <http://www.who.int/iris/handle/10665/43252>
- Wu, H., Wang, Y., Wu, Y., Qiao, J., Li, H., Zheng, S., Xia, X., Cui, S., Wang, X., Xi, M., Meng, J., y Yang, B. (2015). Emergence of  $\beta$ -lactamases and extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) producing *Salmonella* in retail raw chicken in China. *Foodborne Pathogens and Disease*, 12(3), 228–234. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1859>
- Xu, Y., Zhuang, L., Kang, H., Ma, P., Xu, T., Pan, S., y Gu, B. (2016). Prevalence, resistance patterns, and characterization of integrons of *Shigella flexneri* isolated from Jiangsu Province in China, 2001–2011. *European journal of clinical microbiology y infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 35(8), 1347–1353. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2671-3>

- Yu, J., Stehling, E. G., Angelini, M., Leite, J. L., Pace, F., Jadhav, S., y Da Silveira, W. D. (2010). Prevalence of integrons in *Shigella sonnei* from Brazil. *The Journal of Antibiotics*, 63(10), 607-609. <https://www.nature.com/articles/ja201085.pdf>
- Zamanlou, S., Ahangarzadeh Rezaee, M., Aghazadeh, M., Ghotaslou, R., Babaie, F., y Khalili, Y. (2018). Characterization of integrons, extended-spectrum  $\beta$ -lactamases, AmpC cephalosporinase, quinolone resistance, and molecular typing of *Shigella* spp. from Iran. *Infectious Diseases (London, England)*, 50(8), 616–624. <https://doi.org/10.1080/23744235.2018.1455222>

## IX. ANEXOS

## Anexo A

Tabla general de los datos recolectados de la presente investigación.

Especie y serotipo	Año	Antimicrobianos										Genes <i>Blee</i>		Gen de integrasa	Cantidad de resistencia antimicrobiana			
		AMP	C	SXT	CIP	NA	N	AMC	CAZ	CTX	T	TEM	SHV	CTX-M	<i>int1</i>	R=1	R=2	R≥3
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2017	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2017	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	SI	NO
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	I	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2017	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	SI	NO
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 4	2017	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	SI	NO	NO
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2017	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	SI	NO
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2017	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	SI	NO
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2017	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	SI	NO
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2017	R	R	R	I	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 4a	2017	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	S	I	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2017	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 1a	2017	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2017	R	R	R	S	S	S	R	S	I	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella flexneri</i> 4	2017	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> I	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> I	2018	R	R	R	R	I	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI
<i>Shigella sonnei</i> II	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI

Especie y serotipo	Año	Antimicrobianos											Genes <i>Blee</i>			Gen de integrasa	Cantidad de resistencia antimicrobiana		
		AMP	C	SXT	CIP	NA	N	AMC	CAZ	CTX	T	TEM	SHV	CTX-M	<i>intI 1</i>	R=1	R=2	R≥3	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 4</i>	2018	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2018	R	R	R	R	I	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 1b</i>	2018	R	R	R	R	R	S	I	S	I	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 3a</i>	2018	R	I	S	R	I	S	I	S	I	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	SI	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	I	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	I	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella boydii 2</i>	2018	R	S	R	S	S	S	R	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2018	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 1a</i>	2018	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 4</i>	2018	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2018	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2018	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2018	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2019	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2019	S	I	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2019	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 1b</i>	2019	R	R	R	R	I	I	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2019	S	I	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2019	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2019	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	

Especie y serotipo	Año	Antimicrobianos											Genes <i>Blee</i>			Gen de integrasa	Cantidad de resistencia antimicrobiana		
		AMP	C	SXT	CIP	NA	N	AMC	CAZ	CTX	T	TEM	SHV	CTX-M	<i>int1</i>	R=1	R=2	R≥3	
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2019	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> I	2019	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> I	2019	S	I	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella boydii</i> 10	2019	R	R	R	R	I	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella boydii</i> 11	2019	R	R	R	R	I	S	R	I	I	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2019	S	I	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2019	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> I	2019	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella boydii</i> 11	2019	R	R	R	R	I	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> I	2019	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2019	R	I	R	S	S	S	I	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2019	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2019	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2019	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2019	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2019	S	I	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2019	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2020	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella boydii</i> 1	2020	R	S	R	S	S	S	I	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2020	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	SI	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 4	2020	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2020	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> I	2020	S	S	R	R	R	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2020	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2020	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 1b	2020	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella boydii</i> 2	2020	R	S	R	S	S	I	I	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella boydii</i> 4	2020	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei</i> II	2020	S	I	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri</i> 2a	2020	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	

Especie y serotipo	Año	Antimicrobianos											Genes <i>Blee</i>			Gen de integrasa	Cantidad de resistencia antimicrobiana		
		AMP	C	SXT	CIP	NA	N	AMC	CAZ	CTX	T	TEM	SHV	CTX-M	<i>intI 1</i>	R=1	R=2	R≥3	
<i>Shigella flexneri 4</i>	2020	R	R	R	S	S	S	I	S	S	R	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 4</i>	2020	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2020	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 2a</i>	2020	R	R	S	S	S	S	R	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella flexneri 1b</i>	2020	R	R	S	S	S	S	R	I	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2020	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2020	R	S	R	R	R	S	S	S	S	I	PRESENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2020	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	PRESENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei II</i>	2020	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	
<i>Shigella sonnei I</i>	2020	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	NO	NO	SI	

Nota: **R**: resistente; **I**: Resistencia intermedia; **S**: sensible. **R = 1**: resistencia a 1 antimicrobiano; **R = 2**: resistencia a 2 antimicrobianos; **R ≥ 3**: resistencia a 3 o más antimicrobianos.

## Anexo B

Flujograma de trabajo para la detección de genes b-lactamasa de espectro extendido e integrón de clase 1 en cepas de shigella spp. del instituto nacional de salud, periodo 2017- 2020

