



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

**CARACTERIZACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE
BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) AISLADAS DEL
EXOESQUELETO DE Periplaneta americana EN LOS ALREDEDORES DE UN
MERCADO EN LA VICTORIA, LIMA**

**Línea de investigación:
Salud Pública**

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

Autora

Romero Cabello, Candy Lizeth

Asesora

Velarde Vílchez, Mónica Margarita

ORCID: 0000-0002-8774-8729

Jurado

Sáez Flores, Gloria María

Murrugarra Bringas, Victoria Ysabel

Candia Sulca, Elena

Lima - Perú

2026



CARACTERIZACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE BETALACTAMASAS DE ESPECTRO I (BLEE) AISLADAS DEL EXOESQUELETO DE Periplaneta americana EN LOS ALREDEDORES DE UN M EN LA VICTORIA, LIMA

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%

INDICE DE SIMILITUD

12%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUD

FUENTES PRIMARIAS

1 hdl.handle.net

Fuente de Internet

2 repositorio.unfv.edu.pe

Fuente de Internet

3 Submitted to Universidad Nacional Federico Villarreal

Trabajo del estudiante

4 revistabiomedica.org

Fuente de Internet

5 catalogosiidca.csuca.org

Fuente de Internet

6 worldwidescience.org

Fuente de Internet

7 repositorio.puce.edu.ec

Fuente de Internet

8 pesquisa.bvsalud.org

Fuente de Internet

9 revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe

Fuente de Internet

10 www.coursehero.com

Fuente de Internet

11 docplayer.com.br

Fuente de Internet

12 www.ins.gov.co

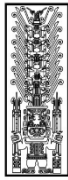
Fuente de Internet

13 docplayer.es

Fuente de Internet

14 es.scribd.com

Fuente de Internet



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

CARACTERIZACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE
BETALACTAMASAS DE ESPECTRO EXTENDIDO (BLEE) AISLADAS DEL
EXOESQUELETO DE *Periplaneta americana* EN LOS ALREDEDORES DE UN
MERCADO EN LA VICTORIA, LIMA.

Línea de investigación:

Salud Pública

Tesis para optar el título profesional de Licenciada en Biología

Autora:

Romero Cabello, Candy Lizeth

Asesor Interno:

Velarde Vílchez, Mónica Margarita

ORCID: 0000-0002-8774-8729

Asesor Externo:

Marcos Carbajal, Pool

ORCID: 0000-0002-7741-0337

Jurado:

Sáez Flores, Gloria María

Murrugarra Bringas, Victoria Ysabel

Candia Sulca, Elena

Lima - Perú

2026

Dedicatoria

A Dios, por darme la fortaleza para alcanzar esta meta.

A mis padres, Antonio y Gladys, por su apoyo incondicional y por ser un soporte clave en mi formación personal y profesional.

A mi hermano, por ser mi guía desde el inicio de la etapa universitaria.

A mi familia, en especial a mis abuelos y a mis tíos Edic y Félix, por su constante apoyo durante mi formación profesional y el desarrollo de esta tesis.

Agradecimientos

A mi asesora interna Mg. Mónica Velarde Vílchez, por el seguimiento y orientación en el desarrollo de la tesis.

Al Mg. Pool Marcos Carbajal, por su paciencia, apoyo y confianza depositada durante el desarrollo metodológico de esta investigación. A mi amiga Mey Farfán, por su apoyo en la elaboración de esta tesis.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN	9
1.1	Descripción y Formulación del Problema.....	10
1.2	Antecedentes.	11
1.3	Objetivos.....	13
1.3.1	<i>Objetivo General</i>	13
1.3.2	<i>Objetivos Específicos</i>	13
1.4	Justificación.	14
II.	MARCO TEÓRICO.....	16
2.1.2	<i>Clasificación Taxonómica de P. americana</i>	16
2.1.3	<i>Ciclo de Vida de P. americana</i>	17
2.1.4	<i>Biología y Hábitat</i>	17
2.1.5	<i>P. americana como Vector de Agentes Patógenos</i>	18
2.1.6	<i>Enterobacterias</i>	19
2.1.7	<i>Resistencia a los Antibióticos.</i>	19
2.1.8	<i>Mecanismos de resistencia a los antibióticos</i>	19
2.1.8.1	<i>Impermeabilización de la Membrana.</i>	19
2.1.8.2	<i>Alteración del Sitio Activo.</i>	20
2.1.8.3	<i>Bombas de Eflujo.</i>	20
2.1.9	<i>Betalactamasas</i>	21
2.1.10.	<i>Clasificación de las Betalactamasas</i>	21

2.1.11 <i>Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE)</i>	25
III. MÉTODO	28
3.1 Tipo de Investigación.....	28
3.2 Ámbito Temporal y Espacial	28
3.3 Variables	28
3.3.1 <i>Variable independiente</i>	28
3.3.2 <i>Variable dependiente</i>	28
3.4 Población y muestra.	28
3.5 Instrumentos.....	29
3.6 Procedimientos.....	30
3.6.1. <i>Diseño de la investigación</i>	30
3.6.2. <i>Materiales y equipos</i>	30
3.6.2.1. <i>Materiales</i>	30
3.6.2.2. <i>Equipos</i>	30
3.6.2.3. <i>Medios de cultivo</i>	31
3.6.2.4. <i>Reactivos</i>	31
3.6.2.5. <i>Antibióticos</i>	32
3.6.4. <i>Recolección de las Muestras</i>	32
3.6.5. <i>Aislamiento e Identificación de Cepas Bacterianas.</i>	33
3.6.6. <i>Identificación Fenotípica de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE)</i>	33
3.7 Análisis de datos	37

3.8 Consideraciones éticas	37
IV. RESULTADOS.....	39
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	46
VI. CONCLUSIONES	52
VII. RECOMENDACIONES.....	53
VIII. REFERENCIAS.....	54
IX. ANEXOS	65

RESUMEN

Objetivo: Caracterizar fenotípica y genotípicamente aislados bacterianos de enterobacterias productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) obtenidas del exoesqueleto de *Periplaneta americana* en los alrededores de un mercado en La Victoria, Lima, Perú. **Método:** Se colectaron 68 individuos de *Periplaneta americana* en frascos estériles, de cuyo exoesqueleto se aislaron enterobacterias con agar MacConkey y agar selectivo CHROMagarTM ESBL. Para la identificación de especies se empleó pruebas bioquímicas convencionales como TSI, LIA, SIM, Citrato de Simmons y Urea. La resistencia fenotípica a BLEE se evaluó con el método de disco difusión. La detección de los genes BLEE (*blaCTX-M*, *blaTEM* y *blaSHV*) se realizó a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés). **Resultados:** Se aislaron 102 enterobacterias, siendo *E. coli* (39.2 %), *E. cloacae* (15.7 %) y *E. aerogenes* (13.7 %), las especies con mayor aislamiento. Se caracterizó una elevada tasa de resistencia fenotípica a BLEE. El análisis genotípico, detectó que la presencia del gen *blaCTX-M* fue el más frecuente (46.2%), seguido de los genes *blaTEM* (28%) y *blaSHV* (11.8%). **Conclusiones:** Se caracterizó fenotípica y genotípicamente enterobacterias productoras de BLEE aisladas del exoesqueleto de *P. americana*.

Palabras clave: resistencia antimicrobiana, cucarachas, *blaTEM*, *blaCTX-M*, *blaSHV*.

ABSTRACT

Objective: To phenotypically and genotypically characterize bacterial isolates of Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae obtained from the exoskeleton of *Periplaneta americana* in the vicinity of a market in La Victoria, Lima, Peru.

Method: Sixty-eight individuals of *Periplaneta americana* were collected in sterile jars, from whose exoskeletons enterobacteria were isolated using MacConkey agar and selective CHROMagar™ ESBL agar. Conventional biochemical tests such as TSI, LIA, SIM, Simmons citrate, and urea were used for species identification. Phenotypic resistance to ESBL was evaluated using the disk diffusion method. Detection of ESBL genes (*blaCTX-M*, *blaTEM*, and *blaSHV*) was performed using polymerase chain reaction (PCR). **Results:** A total of 102 enterobacteria were isolated, with *E. coli* (39.2%), *E. cloacae* (15.7%), and *E. aerogenes* (13.7%) being the most frequently isolated species. A high rate of phenotypic resistance to LEEs was characterized. Genotypic analysis detected that the presence of the *blaCTX-M* gene was the most frequent (46.2%), followed by the *blaTEM* (28%) and *blaSHV* (11.8%) genes. **Conclusions:** ESBL-producing enterobacteria isolated from the exoskeleton of *P. americana* were characterized phenotypically and genotypically.

Keywords: antimicrobial resistance, cockroaches, *blaTEM*, *blaCTX-M*, *blaSHV*.

I. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos se ha consolidado como un desafío crítico para los sistemas de salud a nivel global, al reducir de manera significativa la eficacia de los tratamientos disponibles y aumentar la vulnerabilidad del individuo como de la población. Proyecciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que, de no implementarse medidas efectivas de control, este fenómeno podría estar asociado a alrededor de 10 millones de muertes para el año 2050 (Giono-Cerezo et al., 2020). En este escenario, la creciente resistencia a los antimicrobianos observada en especies de la familia Enterobacteriaceae resulta especialmente alarmante. En particular, los microorganismos con resistencia a cefalosporinas de tercera generación y a carbapenémicos han sido catalogados por la OMS dentro del grupo de patógenos de máxima prioridad, considerando su impacto clínico y epidemiológico (Tadesse et al., 2022).

Periplaneta americana, denominada cucaracha americana, es un insecto hemimetábolo que se disemina con facilidad y rapidez. Tiene gran capacidad adaptativa a diferentes hábitats: como lugares cálidos, húmedos, oscuros y con diferentes fuentes de alimento. Además, pueden sobrevivir y prosperar en condiciones extremas que pueden ser perjudiciales para el ser humano (Siddiqui et al., 2023)

Diversos estudios a nivel mundial, han determinado que las cucarachas asociadas a viviendas residenciales, hospitales y mercados de productos alimenticios pueden portar alrededor de 50 especies de bacterias patógenas, siendo un vector potencial de enfermedades infecciosas (Liu et al., 2024). Estos insectos pueden transportar a través de sus cutículas e intestinos, microorganismos patógenos resistentes a diferentes antimicrobianos como ampicilina, estreptomicina, tetraciclina, eritromicina y otros, diseminándolos en el medio ambiente y seres humanos (Solomon et al., 2018).

1.1 Descripción y Formulación del Problema

Las cucarachas son una de las principales plagas que habitan en zonas urbanas, encontrándolas en viviendas, mercados, supermercados, espacios públicos, y centros de salud (Bodena et al., 2019).

Son insectos sinantrópicos, asociados a la infestación de entornos habitados por el ser humano. Esta característica, asociada al mecanismo de alimentación y su forma de reproducción, los convierte en reservorios y vectores mecánicos importantes de diversos microorganismos patógenos humanos (virus, bacterias, hongos y parásitos) (Liu et al., 2024). Pueden transmitir los patógeno mecánicamente a través de su desplazamiento, reflujo o mediante partículas fecales sobre o dentro de alimentos para el consumo humano directo (Adenusi et al., 2018).

Diversos estudios realizados en relación al entorno hospitalario, han determinado que las cucarachas albergan diferentes especies de bacterias patógenas, particularmente de la familia Enterobacteriaceae, y también especies de bacterias grampositivas (Guzman y Vilcinskas, 2020). Se estima que se han aislado o transmitido mediante las cucarachas alrededor de 100 especies de bacterias virulentas y resistentes a diferentes antibióticos (Abdolmaleki et al., 2019)

En los últimos años, la resistencia a los antibióticos se ha consolidado como uno de los principales retos para la Salud Pública a escala global. Diversos reportes indican que en los laboratorios del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) se detecta de manera periódica la presencia de microorganismos con perfiles de resistencia y que para el año 2050 se producirán mayor número de muertes por resistencia a antibióticos que las ocasionadas por el cáncer (Camacho Silvas, 2023). z

En nuestro país, son escasos los reportes acerca de la diseminación de bacterias patógenas por cucarachas, por lo que es necesario realizar una investigación que permita monitorear e identificar el rol de las cucarachas como agentes de transmisión de microorganismos patógenos (Ruiz-Cabezas et al., 2015). Esta necesidad nos llevó a formular la siguiente pregunta de investigación:

¿Podemos caracterizar cepas de enterobacterias productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) aisladas del exoesqueleto de *Periplaneta americana* en los alrededores de un mercado en La Victoria, Lima?

1.2 Antecedentes.

Cueto et al. (2015), estudiaron el contenido del tracto digestivo de *P. americana* recolectadas de los sistemas de alcantarillados y periferia de los restaurantes en Coahuila, México; con la finalidad de identificar la presencia de *Salmonella* spp. Para ello, el ADN bacteriano fue aislado mediante método CTAB (Bromuro de cetil - trimetil amonio) y posteriormente se aplicó la técnica de amplificación por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando cebadores específicos para la amplificación del gen *invA*. Los resultados evidenciaron que *Salmonella* sp. forman parte de la microbiota presente en el tracto digestivo de *P. americana*.

En la investigación de Astiti et al. (2018) sobre la identificación de bacterias aisladas del exoesqueleto de *P. americana* en el área hospitalaria en Balu, Indonesia, se identificaron 6 especies de bacterias: *Salmonella* sp., *Salmonella arizonae*, *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, y *Klebsiella ozaenae*. Las frecuencias de aislamiento reportadas superaron el 85% para la mayoría de especies. Asimismo, las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana evidenciaron resistencia frente a cloranfenicol, vancomicina y amoxicilina.

Abdolmaleki et al. (2019) caracterizaron fenotípica y genotípicamente la resistencia a antibióticos en cepas de *Staphylococcus aureus* meticilino resistentes (MRSA) aislados de *P. americana* y *Blatella germanica* de entornos hospitalarios en la provincia de Teherán, Irán. Las cepas bacterianas fueron recuperadas tanto del tracto digestivo y de muestras obtenidas mediante el lavado externo. La evaluación del patrón de susceptibilidad antimicrobiana se llevó a cabo mediante el ensayo de difusión en disco, mientras que la identificación de determinantes genéticos asociados a la resistencia se realizó con amplificación por PCR. Los resultados mostraron que en las muestras del lavado externo hubo mayor prevalencia de cepas MRSA (59.57%). Asimismo, las cepas provenientes tanto del tracto digestivo como del lavado externo presentaron resistencia total frente a la penicilina, ceftarolina y tetraciclina. También se evidenció una alta frecuencia de genes asociados a resistencia antimicrobiana, entre los que se incluyeron *rpoB*, *blaZ*, *grlA*, *mrsA*, *aacA-D*, *ermA*, *gyrA*, *tetK* y *dfrA*.

Turki Jalil et al. (2023), evaluaron la contaminación bacteriana de tres especies de cucarachas *P. americana*, *Blatta orientalis* y *B. germanica* colectadas en el entorno hospitalario, restaurantes y domicilios en una ciudad de Iraq. A partir del lavado de la superficie externa con suero fisiológico, se aislaron 290 bacterias pertenecientes a diversos géneros de importancia clínica, como bacilos grampositivos (*Bacillus* sp.), enterobacterias (*Enterobacter* spp., *E. coli*, *Proteus* spp. y *Klebsiella* spp.), cocos grampositivos (*Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN), *Enterococcus* spp.) y bacilos gramnegativos no fermentadores (*Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*). Las cepas de *E. coli*, estafilococos coagulasa negativos y *Bacillus* sp. presentaron mayor prevalencia. Los resultados del perfil de susceptibilidad a antibióticos determinaron que las especies aisladas presentaron mayor resistencia a la cefalotina, ampicilina y cefotaxima. Y las bacterias del entorno hospitalario fueron más resistentes que las cepas aisladas de restaurantes y hogares.

En el Perú, en la ciudad de Iquitos otro estudio reportó el hallazgo de enterobacterias en los individuos adultos de *P. americana* colectadas en el mercado modelo de esta ciudad. De acuerdo con los resultados, de las 68 muestras analizadas, se aislaron 118 colonias de enterobacterias, de las cuáles 71% fueron colonias lactosa positivas y el 29% colonias lactosa negativas. Identificaron 5 géneros de enterobacterias: *Enterobacter*, *Providencia*, *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Edwarsiella* (Ruiz-Cabezas et al., 2015).

Otro estudio de García Pinedo (2022), evaluó el patrón de resistencia antimicrobiana de cepas de *Klebsiella* sp. y *E. coli* aisladas del exoesqueleto y zona interna de *P. americana*. El muestreo se llevó a cabo durante el año 2018 en dos entornos contrastantes de la ciudad de Iquitos: un establecimiento hospitalario y en viviendas. A partir de una muestra de 25 especímenes de ambos puntos de recolección, se obtuvieron un total de 100 cepas bacterianas, de las cuales 53 correspondieron a *E. coli* y 47 cepas a *Klebsiella* sp. De acuerdo con la evaluación del antibiograma mediante la técnica de disco difusión (Kirby-Bauer), los resultados revelaron una prevalencia de 72% en los aislados de *E. coli* y un 91% en *Klebsiella* sp. a la colistina. Asimismo, el autor destacó el hallazgo significativo del fenotipo multidrogorresistente (MDR) en ambas especies bacterianas.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Caracterizar fenotípica y genotípicamente aislados bacterianos de enterobacterias productoras de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) obtenidas del exoesqueleto de *P. americana* en los alrededores de un mercado en La Victoria, Lima, Perú.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Identificar las especies de enterobacterias aisladas del exoesqueleto de *P. americana* en los alrededores de un mercado de La Victoria, Lima.

- Determinar fenotípicamente las cepas de enterobacterias productoras de BLEE aisladas del exoesqueleto de *P. americana* en los alrededores de un mercado de La Victoria, Lima.
- Determinar los genes CTX-M, TEM y SHV en las cepas de enterobacterias productoras de BLEE aisladas del exoesqueleto de *P. americana* por la técnica de PCR.

1.4 Justificación.

Los insectos son uno de los seres vivos más estudiados, por su importancia en la salud y el medioambiente. Entre ellos destaca *P. americana*, una cucaracha que se encuentra en el entorno humano y tiene un papel clave en la epidemiología de diversas enfermedades. Al ser insectos sinántropicos, son considerados como vectores mecánicos a través de sus exoesqueletos o excrementos, de microorganismos como virus, bacterias y parásitos. Asimismo, por su naturaleza saprófaga son reservorios para la multiplicación de diferentes especies de bacterias que pueden generar diversas patologías (TatTokponnon et al., 2023) .

A nivel mundial, diversas investigaciones indican que las cucarachas son agentes potenciales en la diseminación de bacterias que pueden producir infecciones oportunistas o patógenas, en su mayoría infecciones nosocomiales o transmitidas por alimentos. Una revisión sistemática informó que se han aislado alrededor de 42 especies bacterianas de *P. americana* siendo la mayoría resistentes a múltiples medicamentos. Asimismo, señalan que las cepas bacterianas aisladas del exoesqueleto de las cucarachas son potencialmente más peligrosas que las de las superficies internas (Nasirian, 2019).

En el Perú, son escasos los reportes acerca de la presencia de enterobacterias aisladas en cucarachas y se limitan en su mayoría al estudio de cepas aisladas en el ambiente hospitalario. En ese sentido, es relevante realizar investigaciones sobre las cucarachas como una fuente potencial

de bacterias patógenas con cepas resistentes a diferentes antibióticos. Esta investigación pretende identificar fenotípica y genotípicamente enterobacterias productoras de BLEE en cepas aisladas del exoesqueleto de *P. americana*, en un mercado en La Victoria, Lima, Perú, brindando datos específicos sobre el grado de contaminación bacteriana en superficies externas y las posibles medidas preventivas y de control eficaces que se deben adoptar ante la diseminación de bacterias resistentes.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Bases Teóricas

2.1.1 *Periplaneta americana*

P. americana (Linnaeus, 1758) (Blattodea: Blattidae), la cucaracha americana, constituye un agente de preocupación sanitaria global. Debido a su marcado comportamiento sinantrópico, esta especie se ha consolidado como uno de los principales vectores mecánicos de una vasta diversidad de microorganismos patógenos (Sharawi et al., 2021). Desde una perspectiva evolutiva, los blátidos representan uno de los linajes entomológicos más antiguos que existen, con registros fósiles desde hace aproximadamente tres centenas de millones de años (Zhang et al., 2013).

Por sus características morfológicas, esta especie es identificada con claves taxonómicas estándar. De acuerdo con las claves taxonómicas, morfológicamente pueden identificarse los estadios de huevo, ninfa y adulto (hembra y macho), siendo *P. americana* una de las especies de cucarachas más grandes, llegando a medir de 34 – 53 mm en la etapa adulta. Su cuerpo es de forma ovalada y aplanada, son de color rojizo-marrón; con variación de color en el pronoto que es amarillento. Presentan órganos sensoriales llamados cercos, al final del abdomen. En el caso de los machos, presentan un apéndice con función reproductora denominado estilo entre los cercos (Sharawi et al., 2021).

2.1.2 Clasificación Taxonómica de *P. americana*

Reino: Animal

Filo: Artrópodo

Subfilo: Hexápodo

Clase: Insecta

Orden: Dictyoptera

Familia: Blattaria

Género: Periplaneta

Especie: *Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758)

2.1.3 Ciclo de Vida de *P. americana*

P. americana es un insecto hemimetábolo con metamorfosis incompleta. El cual prescinde de una fase pupal y presenta tres estadios: huevo, ninfa y adulto. Los huevos se encuentran dentro de una cámara llamada ooteca, una estructura endurecida que mide entre 8 – 10 mm aproximadamente; experimenta una transición cromática, virando de una tonalidad rojiza inicial hacia un color café oscuro conforme avanza la maduración. La fase ninfal es la etapa más prolongada, extendiéndose por un periodo de 13 a 14 meses. Durante este periodo las cucarachas no presentan estructuras aladas funcionales y deben pasar por un promedio 13 procesos de ecdisis (mudas) para convertirse en adulto. Los adultos de *P. americana* pueden llegar a vivir 15 meses y en algunos casos, bajo condiciones ambientales óptimas su ciclo biológico puede prolongarse hasta los 24 meses. Los adultos pueden tener una longitud entre 34 y 53 mm. Su anatomía se distingue por un cuerpo dorsoventralmente aplanado y de contorno oval, con una pigmentación tegumentaria en matices café rojizos. Esta etapa se diferencia por la presencia de dos pares de alas completamente desarrolladas (Hernández y Guadalupe, 2023).

2.1.4 Biología y Hábitat

Las cucarachas son insectos cosmopolitas, pueden adaptarse y sobrevivir a diferentes climas. Se encuentran en su mayoría en climas moderados y cálidos, sin embargo, pueden adaptarse a climas polares al usar el glicerol como anticongelante, dando como resultado cucarachas de diferentes tamaños. En el entorno urbano, las cucarachas habitan en cocinas, baños, alcantarillas y otros espacios antihigiénicos (Siddiqui et al., 2023). Para su reproducción necesitan

condiciones ambientales óptimas: humedad (80% - 90%) y temperatura (20°C – 29 °C). Son especies fototrópicas negativas, de hábitos nocturnos, se desplazan y alimentan por la noche (Rivas Sánchez, 2020).

Las cucarachas son omnívoras, tienen una dieta variada. Incluyen todo tipo de alimentos consumidos por seres humanos o animales, los desechos de estos e incluso material fecal. Asimismo, tienen el hábito de regurgitar los alimentos ingeridos, excretar las heces en el entorno humano, contaminando los alimentos, superficies y objetos de uso o consumo directo. Producen una secreción de olor fétido que es potencialmente peligrosa para la salud humana (Turki Jalil et al., 2023).

2.1.5 *P. americana* como Vector de Agentes Patógenos

Los hábitos nocturnos, alimentación y comportamiento de *P. americana*, la convierte en un potencial vector en la diseminación de microorganismos patógenos. Se desplazan en ambientes contaminados, en donde se alimentan de heces, esputo, raspados de piel y desechos. Los patógenos consumidos pueden permanecer en el sistema digestivo por varios meses o años. La diseminación de las bacterias patógenas puede ocurrir por la regurgitación de los alimentos o la deposición de las heces sobre los alimentos de consumo humano. Las cucarachas también pueden propagar los patógenos a través de las patas, alas o cutícula que entran en contacto directo con las superficies contaminadas y los alimentos. Diversos estudios han determinado el potencial de *P. americana* como vector en la diseminación de bacterias patógenas resistentes a diferentes antimicrobianos (Molewa et al., 2022).

2.1.6 Enterobacterias

Enterobacteriaceae es una familia de bacterias relacionada frecuentemente a infecciones de origen comunitario o nosocomiales. Esta familia de bacterias presenta una característica innata y ha desarrollado en los últimos años diferentes mecanismos de resistencia a diversas familias de antimicrobianos. *E. coli*, *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* sp. representan las principales especies de resistencia emergentes a nivel mundial. Las infecciones por bacterias resistentes afectan a diversos sectores, ya que se generan ingresos hospitalarios prolongados, mayor costo en atención médica y mayor mortalidad (Tilahun et al., 2021).

2.1.7 Resistencia a los Antibióticos.

En las últimas décadas, la farmacoresistencia ha significado un desafío epidemiológico emergente que compromete la salud pública y pone en riesgo a millones de vidas. En el informe del Sistema Mundial de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos y de su Uso (GLASS, por sus siglas en inglés), se ha identificado una preocupante tendencia al alza en los niveles de resistencia de patógenos asociados a cuadros de sepsis sistémica. El manejo clínico para tratar estas infecciones, cada vez requiere con mayor frecuencia el uso de antibióticos de amplio espectro, como los carbapenémicos (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2022.).

2.1.8 Mecanismos de resistencia a los antibióticos

2.1.8.1 Impermeabilización de la Membrana. Es un tipo de mecanismo propio de las bacterias gramnegativas, estos microorganismos presentan una membrana externa compuesta por una capa de lipopolisacáridos (LPS) en la superficie y una capa fosfolipídica en el interior.

Las porinas son proteínas que conforman la membrana celular de las bacterias y participan como canales selectivos de sustancias al interior de la célula. Esta vía es empleada por algunos antibióticos para ingresar del medio a la célula. Las bacterias gramnegativas generan mutaciones

a nivel de los genes encargados de la síntesis de las porinas, generando modificaciones estructurales o disminuyendo su expresión, con la finalidad de modular la permeabilidad celular y limitar el paso de los antibióticos (Treviño y Molina, 2022).

2.1.8.2 Alteración del Sitio Activo. Ciertos microorganismos poseen la capacidad de modificar el sitio activo a donde se une el antibiótico, con esta acción la afinidad del antibiótico con la molécula diana disminuye y también la acción antimicrobiana (Gallegos Miranda, 2017). Este mecanismo ha sido descrito con frecuencia en bacterias grampositivas, en donde produce una disminución de la cantidad de Proteínas Fijadoras de Penicilinas (PBP) o una modificación específica en la estructura de la PBP, disminuyendo la afinidad del antibiótico por el sitio activo (Yarin Carrizales, 2023)

2.1.8.3 Bombas de Eflujo. Son proteínas que se encuentran ubicadas en la membrana citoplasmática, participan en el transporte de metabolitos, compuestos tóxicos y sustratos desde el interior celular al ambiente externo. A través de este mecanismo, las bacterias expulsan al exterior los antibióticos. Estas proteínas pueden contribuir con la resistencia intrínseca a los antibióticos en bacterias gramnegativas. Las secuencia nucleotídicas que codifican para las bombas de eflujo suelen ser parte de un operón y su expresión está regulada a nivel transcripcional. El sistema de eflujo puede ser específico actuando sobre una sola familia de antibióticos, y también transportar una amplia clase de antibióticos, denominadas bombas eflujo multidrogorresistente (Sharma et al., 2019).

2.1.8.4 Inactivación Enzimática. La eficacia de los antibióticos depende de su afinidad molecular por sitios de unión específicos, cuya interacción interrumpe procesos fisiológicos vitales para la bacteria. Sin embargo, diversos linajes bacterianos han desarrollado enzimas desintoxicantes capaces de neutralizar la actividad de fármacos de uso clínico frecuente. Dentro

de este grupo, las β -lactamasas destacan por su capacidad hidrolítica dirigida contra el núcleo de las penicilinas. La información genética requerida para la producción de β -lactamasas puede estar integrada en el cromosoma o localizarse en elementos genéticos móviles (ADN extracromosómico) de la bacteria (Treviño y Molina, 2022).

2.1.9 Betalactamasas

Los antibióticos betalactámicos, son los medicamentos de primera elección de uso terapéutico en infecciones bacterianas, debido a su escasa toxicidad y su capacidad de actuar sobre diversos microorganismos patógenos. Esta clase de antibióticos posee un anillo betalactámico que inhiben las proteínas de unión de penicilina extracitoplasmáticas (PBP) que cumplen un función importante en la síntesis de la pared celular (Kaderabkova et al., 2022).

Las betalactamasas, son enzimas con capacidad para hidrolizar el anillo betalactámico central de los antibióticos. Estas enzimas son el determinante de resistencia de mayor relevancia clínica en bacterias gram negativas, se encuentran localizadas en el espacio periplasmático (Looor-Moreira et al., 2021). Las betalactamasas se codifican en plásmidos, elementos transponibles y en miles de enzimas. Tienen una amplia difusión, diversificación y se extienden a través de la filogenia bacteriana (Kaderabkova et al., 2022).

2.1.10. Clasificación de las Betalactamasas

Las betalactamasas se pueden clasificar en función a la similitud de su secuencia de aminoácidos, espectro de hidrólisis, susceptibilidad a inhibidores y estructura molecular.

2.1.10.1 Clasificación de Ambler. Esta categorización se establece considerando las características catalíticas, estructurales, moleculares y la homología de la secuencia de aminoácidos de las enzimas betalactamasas. De acuerdo con la clasificación molecular, se reconocen cuatro grupos principales, denominados, A, B, C y D. Las betalactamasas pertenecientes

de las clases A, C y D, se caracterizan por poseer un residuo de serina en su sitio activo responsable de la hidrólisis del anillo betalactámico y las enzimas de la clase B, metaloenzimas que contienen uno o dos iones de zinc en su zona activa (Ambler, 1980).

La clase A, son productores de enzimas resistentes a penicilinas, cefalosporinas y monobactámicos de primera, segunda y tercera generación. Estas enzimas suelen ser inhibidas por compuestos bloqueadores de betalactamasas, tales como el tazobactam, sulbactam y ácido clavulánico, así como por las cefamicinas. A la actualidad, se han descrito más de 2000 enzimas de clase A, que se encuentran en su mayoría en grupos funcionales de bacilos gramnegativos, como TEM, CTX-M, KPC o CARBA (Philippon et al., 2019)

La clase B, son conocidas como metalobetalactamasas (MBL) porque poseen el metal Zinc (Zn^{2+}) en el centro activo de la enzima. Estas betalactamasas hidrolizan los antibióticos carbapenémicos. El gen de MBL puede albergarse en un integrón, transposón, cromosoma, plásmido, entre otras moléculas. Actualmente, se reconoce la existencia de múltiples variantes de MBL asociadas a resistencia frente a carbapenémicos: imipenemasa (IMP), la metalobetalactamasa codificada en Verona (VIM), la metalobetalactamasa de Sao Paulo (SMP), la imipenemasa de Alemania (GIM), la metalobetalactamasa de Nueva Delhi (NDM) y la imipenemasa de Florencia (FIM) (Sawa et al., 2020).

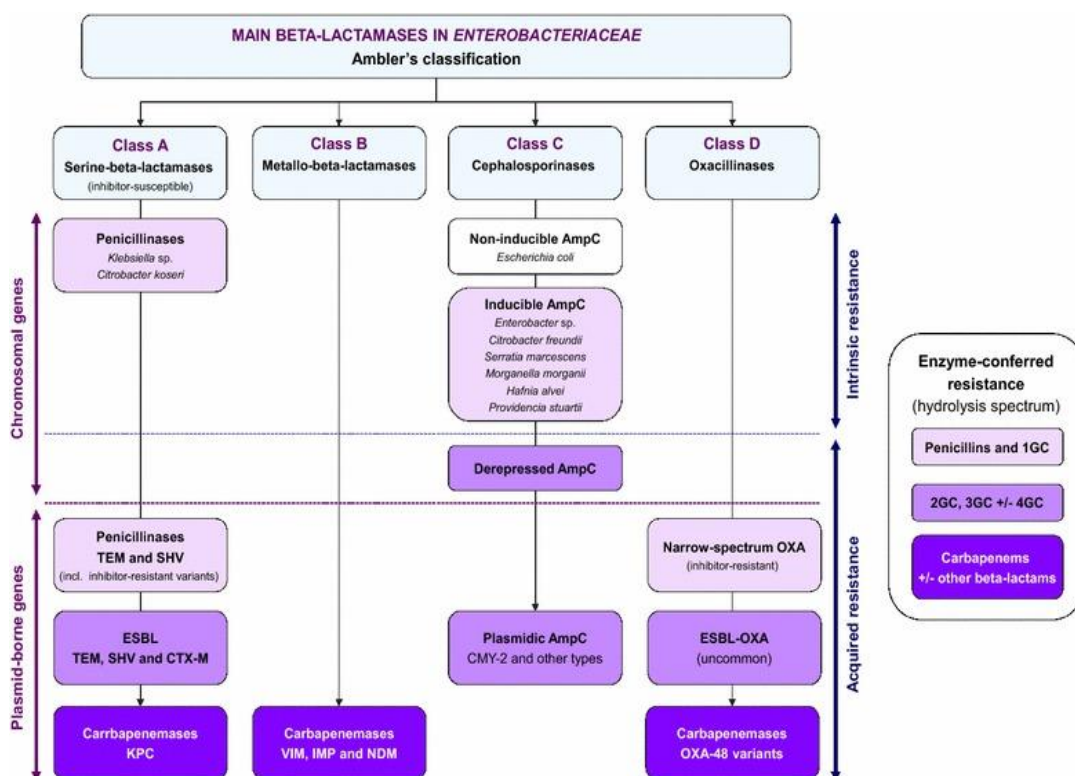
La clase C, son las cefalosporinas, deriva del gen *Amp C* que se encuentra generalmente en el cromosoma. Estas enzimas son producidas por diferentes especies de la familia de las Enterobacteriaceae y es una cefalosporinasa. La codificación *Amp C* también puede ser producida por un plásmido. Son resistentes al ácido clavulánico y sensibles a las cefamicinas (Sawa et al., 2020).

La clase D de betalactamasas agrupa enzimas asociadas a resistencia a penicilinas y cefalosporinas de espectro extendido. Entre ellas, las betalactamasas del tipo OXA son particularmente relevantes, ya que pueden inactivar cefalosporinas de amplio espectro y en algunos subtipo como OXA-48, también pueden actuar sobre los carbapenémicos (Rada et al., 2019).

La resistencia mediada por BLEE en *Enterobacteriaceae* está vinculada a la capacidad de estas bacterias para producir enzimas betalactamasas, este mecanismo puede presentarse de manera natural (intrínseca) o adquirirse a través de elementos genéticos móviles (Figura 1) (Ruppé et al., 2015).

Figura 1.

Principales betalactamasas en enterobacterias de acuerdo con la clasificación de Ambler.



Nota. Tomada de “Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli”, por Ruppé et al., 2015, *Annals of Intensive Care*, 5(21).

2.1.10.2. Clasificación de Busch y Jacoby. En 1989, Karen Bush introdujo un esquema de categorización basado en características funcionales de estas enzimas, incorporando criterios como la especificidad frente a diferentes sustratos y los patrones de inhibición observados con compuestos como el ácido clavulánico y EDTA. Este esquema inicial agrupó a las betalactamasas en cuatro categorías funcionales (Bush, 1989). En 1995, se presentó un esquema de clasificación funcional realizada por Bush, Jacoby y Medeiros, con enzimas adicionales y datos de secuencia incluidos. Se mantiene la clasificación de 4 grupos de betalactamasas (Bush et al., 1995). En el 2010, Bush y Jacoby actualizaron la clasificación incorporando parámetros adicionales, como peso molecular, el punto isoelectrico, perfiles de afinidad por sustrato e inhibidores, así como la secuencia molecular. La hidrólisis de antibióticos betalactámicos, es considerado uno de los mecanismos de resistencia más relevantes en bacterias gramnegativas de importancia clínica (Bush y Jacoby, 2010).

En el grupo 1, está constituido por enzimas con actividad cefalosporinasa, las cuales corresponden a la clase C de acuerdo con la clasificación molecular estructural. Los determinantes genéticos asociados a la producción de estas enzimas se encuentran principalmente en el cromosoma bacteriano. Desde el punto de vista funcional, presentan capacidad para inactivar cefamicinas y cefalosporinas de tercera generación. Son resistentes a la acción inhibitoria por agentes bloqueadores de betalactamasas como el ácido clavulánico y el sulbactam (Rada et al., 2019).

Las betalactamasas incluidas en grupo 2 se distinguen por la presencia de un residuo de serina en su centro catalítico (serinbetalactamasas). En este conjunto se agrupan enzimas capaces de cefalosporinas, hidrolizar penicilinas y también penicilinasas, cefalosporinasas y carbapenémicos, cuya actividad pueden ser neutralizada por inhibidores de betalactamasas como

sulbactam, ácido clavulánico y tazobactam. Estas enzimas se asocian con las clases moleculares A y D (Sawa et al., 2020).

El grupo 3, está conformado por enzimas cuya actividad catalítica depende de la presencia de iones de Zinc. Son conocidas como metalo-betalactamasas y se ubican en la clase B de la clasificación estructural. Estas enzimas presentan una escasa capacidad hidrolítica frente a los monobactámicos y no son afectadas por inhibidores de betalactamasas convencionales como ácido clavulánico o el tazobactam. Sin embargo, su actividad puede ser inactivada por agentes quelantes de iones metálicos, como el EDTA (Bush, 2023).

2.1.11 Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE)

Las BLEE son una clase de enzimas hidrolizantes secretadas por las bacterias gramnegativas de la familia Enterobacteriaceae portadoras de genes BLEE en sus plásmidos o cromosomas. Estas enzimas tienen la capacidad de hidrolizar los enlaces amida del anillo β -lactámico, confiriendo así la resistencia a una amplia variedad de antibióticos betalactámicos como aminoglucósidos, trimetoprima, sulfonamidas, tetraciclinas, cloranfenicol y fluoroquinolonas. Asimismo, provocan la inactivación de oximiinocefalosporina de amplio espectro, causando resistencia a cefalosporina de tercera y cuarta generación (Husna et al., 2023).

2.1.11.1 Clasificación de las BLEE. Las BLEE representan formas enzimáticas derivadas de las betalactamasas tradicionales, las cuales han adquirido cambios estructurales y funcionales que amplían su espectro de acción. Su clasificación puede realizarse a partir de criterios moleculares o funcionales destacando los sistemas propuestos por Ambler y por Bush-Jacoby-Medeiros. Según la clasificación molecular, estas enzimas se ubican en las clases A y D, en donde la serina cumple un rol clave en la actividad catalítica, mientras que desde la clasificación de Bush y Jacob, se agrupan dentro del grupo 2 (Husna et al., 2023).

A. BLEE tipo TEM. Es una variante de betalactamasa mediado por un plásmido, TEM -1, que fue descrito por primera vez en Grecia en 1965. Originalmente se aisló de *E. coli* que provino de un hemocultivo de un paciente denominado Temoneira, lo que dio origen al nombre de la enzima. Posteriormente a partir de TEM-1 se produjo un derivado TEM-2, mediante la sustitución de un aminoácido específico (Gln39Lys), la cual sirvió como modelo para el desarrollo de numerosas BLEE de tipo TEM. Entre los residuos de aminoácidos que frecuentemente participan en la formación de BLEE a la enzima TEM se encuentran Gly238, Glu240, Arg164 y Glu104 (Castanheira et al., 2021).

B. BLEE tipo SHV. Es un tipo de BLEE denominada así por la variable del reactivo sulfihidrido. En 1985, se describió la primera BLEE SHV-2 aislada de *K. ozaenae* en Alemania, que difería de SHV por una sola sustitución del aminoácido Gly por Ser en la posición 238 (Nagshetty et al., 2021).

A la actualidad se han detectado 228 variantes de SHV, sin embargo, no se ha determinado si todas poseen el fenotipo de BLEE. Las BLEE tipo SHV han sido encontradas con frecuencia en aislados de *K. pneumoniae*, también en *P. aeruginosa* y otros géneros de Enterobacterales (Castanheira et al., 2021).

C. BLEE TIPO CTX – M. Estas enzimas fueron descritas inicialmente a fines de 1980. Las CTX-M tienen una elevada actividad hidrolítica contra la cefotaxima, de esta característica deriva su denominación. Las BLEE CTX-M pertenecen al grupo 2be de Bush y a la clase A de Ambler. CTX-M es una enzima que codifica 291 aminoácidos, y la modificación en cualquiera de los aminoácidos genera una nueva variante. A la actualidad se han descrito 128 tipos de CTX-M (Nagshetty et al., 2021).

El origen de CTX-M está estrechamente relacionado con *Kluyvera ascorbata* portadora del gen cromosómico *blaKLUA* y sus regiones flanqueantes comparten mucha homología con las enzimas *blaCTX-M* y las secuencias flanqueantes de los plásmidos. Las CTX-M son el grupo más grande de BLEE, los genotipos *blaCTX-M-15* y *blaCTX-M-14* son los predominantes (Bevan et al., 2017).

III.MÉTODO

3.1 Tipo de Investigación

La presente investigación es de tipo descriptiva y transversal. Descriptiva, porque caracteriza fenotípica y genotípicamente las cepas de enterobacterias resistentes aisladas a BLEE, de *P. americana* en un mercado en La Victoria, Lima, Perú. Transversal, porque la investigación y los datos de las variables se analizan en un periodo de tiempo definido.

3.2 Ámbito Temporal y Espacial

Las muestras de *P. americana* fueron colectadas entre los meses de setiembre y octubre del 2024 en los alrededores del Mercado 3 de febrero (-12.065240482850992 / -77.01127817474284), ubicado en el Jr. Sebastián Barranca 1753, en el distrito de La Victoria, Lima – Perú. El análisis microbiológico, perfil de susceptibilidad antimicrobiana y el análisis molecular se realizó en el Laboratorio de Investigación de Biología Molecular (LIBM) de la Universidad Peruana Unión.

3.3 Variables

3.3.1 Variable independiente

Especies de enterobacterias aisladas del exoesqueleto de *Periplaneta americana*.

3.3.2 Variable dependiente

Caracterización fenotípica y genotípica de enterobacterias productoras de BLEE aisladas del exoesqueleto de *Periplaneta americana*.

3.4 Población y muestra.

La población de estudio estuvo conformada por los individuos de *P. americana* de un Mercado, en La Victoria, Lima.

La muestra de estudio estuvo conformada por 68 individuos de *P. americana*, colectados entre los meses de setiembre y octubre en los alrededores del Mercado 3 de febrero.

El número de muestra se determinó empleando la fórmula para muestra infinita:

$$n = \frac{Z_{\alpha}^2 * p * q}{e^2} = 68$$

$$Z_{\alpha} = 1.645$$

$$p = 0.50$$

$$q = 0.50$$

$$e = 0.10$$

El tamaño muestral se determinó mediante la fórmula para poblaciones infinitas, debido a que no se dispuso de un registro exacto de la población total de *P. americana* presente en los alrededores del mercado evaluado. Al tratarse de un estudio descriptivo transversal, el objetivo no fue estimar prevalencias poblacionales exactas ni establecer asociaciones causales, sino caracterizar los aislados bacterianos obtenidos. Para el cálculo se empleó el criterio estadístico utilizado ante la ausencia de antecedentes epidemiológicos locales, debido a que representa el escenario de máxima heterogeneidad poblacional y permite obtener un tamaño muestral. Asimismo, se estableció un error absoluto de estimación ($e = 0.10$), valor aceptado en estudios descriptivos transversales.

3.5 Instrumentos

Los datos obtenidos durante la investigación fueron registrados mediante una ficha de recolección de datos diseñada en Microsoft Excel 2019, constituyendo la base de datos primaria del estudio. Este instrumento permitió el registro, codificación y organización de la información derivada de las muestras colectadas de *P. americana*. La base de datos incluyó información relacionada con la caracterización microbiológica y molecular de los aislados bacterianos, como:

código de muestra, identificación bacteriana mediante pruebas bioquímicas, perfil de susceptibilidad antimicrobiana, cuantificación de ADN y resultados de amplificación molecular obtenidos mediante reacción por PCR para la detección de los genes *blaTEM*, *blaCTX-M* y *blaSHV* (Anexo E).

3.6 Procedimientos

3.6.1. Diseño de la investigación

El estudio presentó un diseño descriptivo y de tipo transversal, enfocado en la caracterización de enterobacterias productoras de BLEE aisladas de *P. americana*. Para garantizar la validez de los resultados, el procedimiento incluyó un control positivo: *K. pneumoniae* ATCC 700603, cepa productora confirmada de BLEE, y un control negativo: *E. coli* ATCC 25922, cepa no productora de BLEE.

3.6.2. Materiales y equipos

3.6.2.1. Materiales

Tubos de ensayo (13 x 100 mm), guantes, gorro quirúrgico, mascarillas, pinzas, placas Petri, frasco graduado con rosca de borosilicato de 500 ml (ISOLAB:061.01.500), asas de siembra, regla, tips de micropipeta estériles de 10 µL (Concer: PX0010-H-S-T), tips de micropipeta estériles de 20 µL (Gen follower:FTR20-96-R), tips de micropipeta estériles de 200 µL (USA SCIENTIFIC: 1120-8810), tips de micropipeta estériles de 1000 µL (Usa scientific: 1122-1830), hisopos estériles, tubos de PCR de 0.2 ml (BIORAD:TWI0201), tubos de microcentrífuga de 1.5 ml (ISOLAB: 078.03.002), cepas *E. coli* ATCC 25922 (KWIK-STIK™:0335X) y cepa *K. pneumoniae* ATCC 700603 (KWIK-STIK™:0784P).

3.6.2.2. Equipos

Autoclave (J.P. Selecta: 4001725), agitador vortex (Biosan: V1-Plus), horno microondas (Electrolux: EMDL20S2MSQ) , incubadora (Mettler: IN30), balanza analítica (A&D company: HR-250A2), congelador vertical (Electrolux: EFUP22P2HRG), micropipeta 0.5 – 10 μ L (BIOSAN: BS-010506), micropipeta 0.2 – 20 μ L (BIOSAN: BS-010503), micropipeta 20 – 200 μ L (BIOSAN: BS-010506), micropipeta 100 – 1000 μ L (BIOSAN: BS-010508), mechero de Bunsen, microcentrífuga (LABNET: C1301-230V-EU), centrífuga microspin (LABNET: C1301-230 VEV), vortex (BIOSAN: V-1 plus), estereoscopio (Premier:SMP-24), cabina de Flujo laminar Clase II Tipo A2 (ESCO: LA2-4A3-E), cabina para PCR (ESCO: Airstream PCR- 4A 3), termociclador (Bio-Rad: T100™), espectrofotómetro de micro volúmenes (KLAB: OPTIZEN NanoQ), sistema de electroforesis horizontal con fotodocumentador (Cleaver Scientific: CSL-RVMSCHOICE10), cámara fotográfica (Canon: EOS SL3) y estufa de calor en seco (MMM group: Venticell 55).

3.6.2.3. Medios de cultivo

Agar MacConkey (OXOID: M0115B), Agar Mueller Hinton (OXOID:CM0337B), Caldo Trypticase Soya (TSB) (OXOID:CM0129), Agar Trypticase Soya (TSA) (OXOID: CM0131B), Agar Triple Azúcar Hierro (TSI) (Macrogen: DM1021), Agar Lisina Hierro (LIA) (Microgen:DM1021-0500), medio Sulfuro Indol Motilidad (SIM) (BD:2110439), Agar Citrato de Simmons (OXOID:CM0155), Agar Urea (Himedia: M112-500), CHROMagar™ base ESBL (CHROMagar™: ESRT2), CHROMagar™ ESBL supplement (CHROMagar™: ESRT2).

3.6.2.4. Reactivos

Reactivo de Kovacs, suero fisiológico, alcohol 70°, agua destilada, kit de extracción Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep (ZYMO RESEARCH: D6005), kit ADN

polimerasa Taq PerfectStart (Transgen biotech: AP401-01), incluye Tampón Taq PerfectStart 10X incluido MgCl₂, dNTP (2,5 mM) y ADN polimerasa Taq PerfectStart, primers forwards y revers específicos para los genes blaCTX-M, blaSHV y blaTEM (Macrogen: OG181127-014), agua para biología molecular (Biofroxx:1058ML500). Gel de Agarosa (Cleaver Scientific: CSLAG500), Tampón Tris-Acetato-EDTA (TAE) 50 X (Cleaver Scientific: 18485), ADN Gel Loading DYE 6X (Thermo Scientific: R0611), SYBR™ Safe DNA Gel Stain (INVITROGEN: S33102), marcador de ADN de 100 pb (TRANSGEN: B301-01).

3.6.2.5. Antibióticos

Discos de ceftazidima 30 µg (CAZ) (Bioanalyse:ASD02100), cefotaxima 30 µg (CTX) (Bioanalyse:ASD01800), ceftazidima/acido clavulánico 30/10 µg (CAZ/CLA) (Bioanalyse: ASD02110) y cefotaxima/ácido clavulánico 30/10 µg (CTX/CLA) (Bioanalyse:ASD01820).

3.6.4. Recolección de las Muestras.

La recolección de las cucarachas se realizó en los alrededores del Mercado 3 de febrero, ubicado en el distrito de La Victoria, Lima. Se capturaron 68 individuos de *P. americana* utilizando trozos de azúcar como cebos atrayentes. La captura se llevó a cabo de manera manual, empleando guantes quirúrgicos estériles para evitar contaminación. Cada ejemplar fue depositado individualmente en frascos estériles y transportados al LIBM. Una vez en el laboratorio, las muestras fueron inmovilizadas a 4°C durante 5 minutos (Davari et al., 2023).

La identificación de la especie *P. americana* se realizó utilizando claves morfológicas estándar (Sharawi et al., 2021).

3.6.5. Aislamiento e Identificación de Cepas Bacterianas.

La superficie corporal de cada ejemplar de *P. americana* se lavó con 5 ml de solución salina fisiológica estéril. Se tomó 1000 µl de la solución de lavado y se inoculó en un tubo con 3 ml de caldo Tripticasa Soya, posteriormente los tubos fueron incubados a 37°C durante 24 horas (Bisetegn et al., 2024) (Anexo A).

El aislamiento de las especies bacterianas se realizó a partir de la siembra de 10 µl del caldo de cada una de las muestras en placas con agar MacConkey y CHROMagar™ ESB. Luego se incubaron las placas Petri a 37°C durante 24 horas.

Para el aislamiento de especies de enterobacterias productoras de BLEE, cada colonia de diferente color que presentó crecimiento en el medio CHROMagar™ ESB fue inoculada en placas de agar MacConkey. Posteriormente, las placas se incubaron a 37°C por 24 horas (Anexo B).

La identificación de las especies se efectuó mediante una serie de pruebas bioquímicas convencionales, utilizando los medios agar TSI, LIA, SIM, Citrato de Simmons y urea. Cada cepa fue inoculada en los respectivos medios e incubada a 37 °C durante 24 horas (Davari et al., 2023).

Cada una de las especies identificadas fueron almacenadas en crioviales con agar Tripticasa Soya y Glicerol al 50% para su conservación y posterior análisis molecular.

3.6.6. Identificación Fenotípica de Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE)

La presencia de BLEE fue evaluada a través de la prueba fenotípica confirmatoria siguiendo los lineamientos del CLSI (*Clinical Laboratory and Standards Institute*, por sus siglas en inglés). Para este procedimiento, las cepas bacterianas se estandarizaron hasta alcanzar una turbidez equivalente a 0.5 McFarland y se sembraron por extensión en agar Mueller Hinton. Se emplearon discos de antibióticos, incluyendo ceftazidima (30 µg), ceftazidima combinada con

ácido clavulánico (30/10 µg), cefotaxima (30 µg) y cefotaxima con ácido clavulánico (30/10 µg). Las placas se incubaron a 37°C por un periodo de 24 horas. Una diferencia de 5 mm o más entre los halos de los discos con inhibidor y sin inhibidor se interpretó como indicativa de producción de BLEE (Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), 2023).

Se emplearon cepas de referencia como control negativo, *E. coli* ATCC 25922 y como control positivo, *K. pneumoniae* ATCC 700603 para la producción de BLEE (Marcos-Carbajal et al., 2020).

3.6.7. Extracción de ADN

Los aislados bacterianos de cada muestra se reactivaron en caldo Tripticasa Soya y se incubaron a 37°C por 24 horas. La extracción de ADN se realizó en la Cabina de Flujo Laminar ESCO, utilizando el kit Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep (Zymo Research), siguiendo las indicaciones del protocolo descrito por el fabricante.

Las muestras de ADN extraído fueron analizadas en el espectrofotómetro, para evaluar su pureza y concentración. El ADN extraído se almacenó a – 20°C para su conservación.

3.6.8. Identificación genotípica de BLEE

La identificación de genes *blaCTX-M*, *blaTEM* y *blaSHV* se realizó a través de la amplificación por PCR. Para la identificación se utilizaron los cebadores específicos detallados en la Tabla 1.

Tabla 1.

Secuencia de primers empleados en la amplificación de PCR.

Nombre del primer	Cebador	Secuencia (5'-3')	Tamaño del amplicón	Referencia
TEM	Forward	TTGGGTGCACGAGTGGGTTA	503 pb	

SHV	Reverse	TAATTGTTGCCGGGAAGCTA	714 pb	(Galván et al., 2016)
	Forward	GGCCGCGTAGGCATGATA GA		(Ünlü y
CTX – M	Reverse	CCCGGCGATTTGCTGATT TC	544 pb	Yılancıoğlu, 2020)
	Forward	TTTGCGATGTGCAGTACCAGTAA		(Gonzales et al., 2019)
	Reverse	CGATATCGTTGGTGGTGCAT		

Nota. CTX-M; cefotaximasas, TEM; temoneira, SHV; sulfhidrilo variable.

Para la reacción de PCR, se preparó el Máster Mix ajustando a un volumen final de 25 µL por cada muestra, teniendo en cuenta el protocolo estandarizado indicado por el laboratorio en la Tabla 2.

Tabla 2.

Componentes del Máster mix para PCR

Componentes Máster Mix	Volumen
PCR buffer 10x (incluye MgCl ₂)	2.5 µl
dNTPs (2.5 mM)	2.0 µl
Primer Forward (10 µM)	0.5 µl
Primer Reverse (10 µM)	0.5 µl
Taq – polimerasa (5 U/µL)	0.5 µl
H ₂ O Ultra Pura	16.5 µl
ADN	2.5 µl
Volumen final	25.0 µl

La reacción de la amplificación se realizó en el termociclador T100™, para los genes *blaTEM*, *blaCTX-M* y *blaSHV*, la programación de PCR se configuró con los parámetros descritos en la tabla 3, tabla 4 y tabla 5, respectivamente (León-Luna et al., 2021).

Tabla 3.*Parámetros de termociclado para gen blaTEM.*

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
Denaturalización inicial	94 °C	7 minutos	1x
Denaturalización	94 °C	50 segundos	
Hibridación	52 °C	50 segundos	35x
Extensión	72 °C	1 minuto	
Extensión final	72 °C	5 minutos	1x

Nota. Adaptado de León-Luna et al., 2021.

Tabla 4.*Parámetros de termociclado para gen blaCTX-M.*

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
Denaturalización inicial	94 °C	5 minutos	1x
Denaturalización	94 °C	50 segundos	
Hibridación	52 °C	50 segundos	35x
Extensión	72 °C	1 minuto	
Extensión final	72 °C	5 minutos	1x

Nota. Adaptado de León-Luna et al., 2021.

Tabla 5.*Parámetros de termociclado para gen blaSHV.*

Etapa	Temperatura (°C)	Tiempo	Ciclos
Denaturalización inicial	94 °C	5 minutos	1x
Denaturalización	94 °C	30 segundos	
Hibridación	58 °C	1 minuto	35x
Extensión	72 °C	1 minuto	
Extensión final	72 °C	10 minutos	1x

Nota. Adaptado de León-Luna et al., 2021.

3.6.9. Electroforesis post PCR

Los productos obtenidos en la amplificación por PCR fueron visualizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, utilizando solución tampón TAE 1x (TRIS-Acetato-EDTA, como agente colorante se usó SYBR Safe ADN y como buffer de carga ADN Gel Loading DYE 6X. Para determinar el tamaño de los productos obtenidos de la amplificación se empleó un marcador de peso molecular de 100 pares de bases (pb), este marcador contiene once fragmentos de ADN bicatenario que van desde los 100 pb hasta 1500 pb. Se utilizó como control positivo, la cepa *K. pneumoniae* ATCC 700603 y como controles negativos, la cepa *E. coli* ATCC 25922 y agua de biología molecular. Los parámetros para realizar la electroforesis fueron 100 voltios y 300 amperios, durante 40 minutos. Para la lectura de los geles de agarosa, se empleó el fotodocumentador (Cleaver Scientific). Los resultados fueron registrados en una plantilla de datos en Excel 2019.

3.7 Análisis de datos

Los datos obtenidos de los aislamientos bacterianos del exoesqueleto de *P. americana* fueron registrados y organizados en tablas de frecuencia absolutas y relativas (porcentaje) según la especie de enterobacteria aislada, caracterización del fenotipo BLEE y genotipo BLEE (*blaTEM*, *blaCTX-M* y *blaSHV*). Las tablas de frecuencias y gráficos estadísticos fueron elaboradas en el programa Microsoft Excel 2019.

3.8 Consideraciones éticas

Las cepas bacterianas utilizadas en este estudio fueron obtenidas a partir de individuos de *P. americana*. En el caso de las cepas control positivas y negativas, fueron proporcionadas por el laboratorio de investigación, las cuales procedían de colecciones certificadas adquiridas en casas comerciales. Estas cepas se emplearon únicamente con fines de validación experimental. Se

garantizó el cumplimiento estricto de las normas de bioseguridad de nivel 2 (BSL-2) para el manejo de cepas bacterianas potencialmente patógenas.

IV. RESULTADOS

De los 68 individuos de *P. americana* colectados en los alrededores de un mercado en La Victoria, se lograron aislar 102 enterobacterias, correspondientes a 6 géneros y 8 especies de enterobacterias (Anexo C). Entre ellas *E. coli* (n=40, 39.2%), *E. cloacae* (n=16, 15.7%) y *E. aerogenes* (n=14, 13.7%) fueron las especies más frecuentemente aisladas. Seguido de *K. oxytoca* (n=9, 8.8%), *Shigella flexneri* (n=8, 7.8%), *C. koseri* (n=6, 5.9%), *K. pneumoniae* (n=3, 2.9%), *C. freundii* (n=3, 2.9%) y *Salmonella* sp. (n=3, 2.9%) como se observa en la Tabla 6.

Tabla 6.

Especies de enterobacterias aisladas del exoesqueleto de P. americana

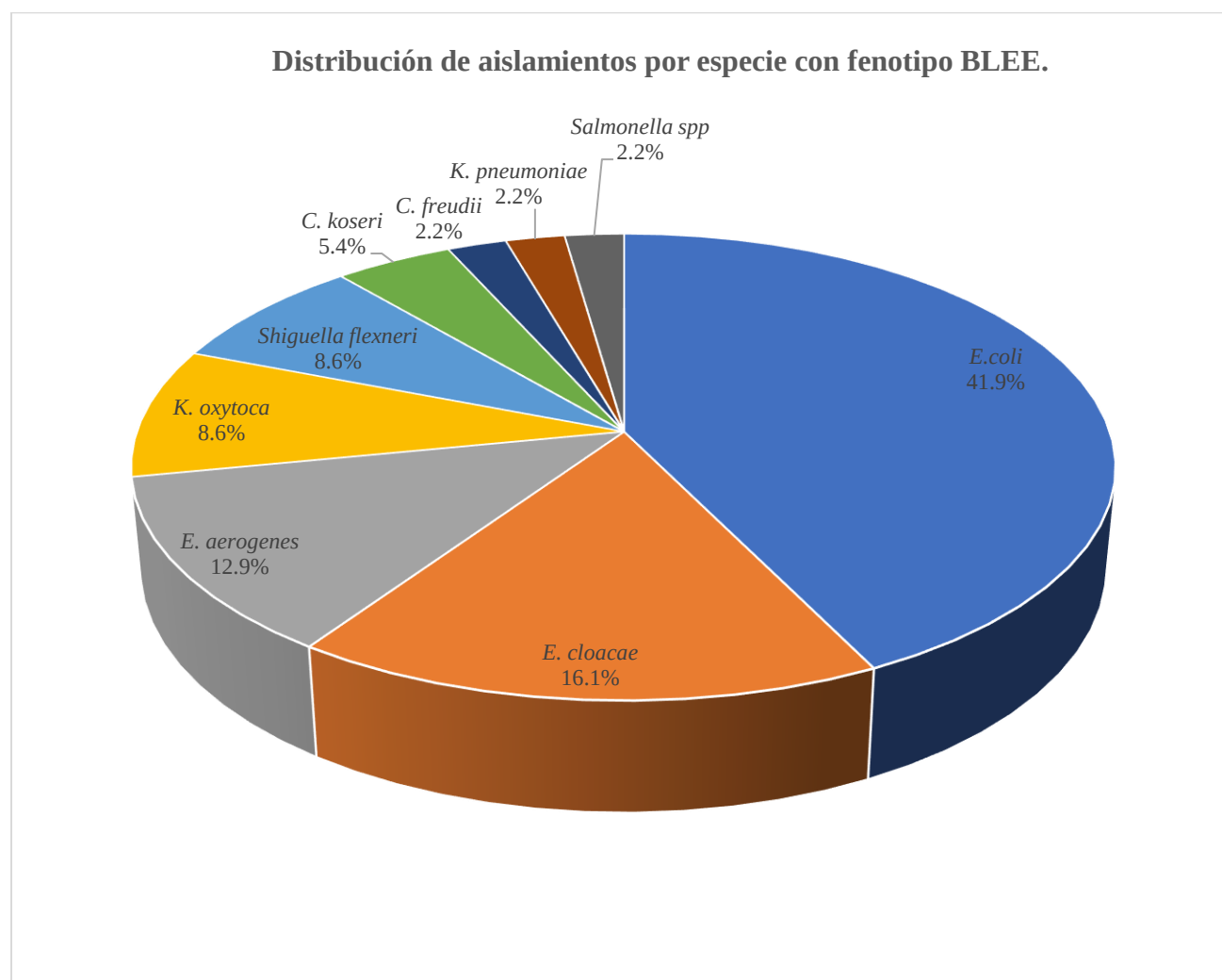
Enterobacteria	Cantidad N°	Total (%)
<i>E. coli</i>	40	39.2
<i>E. cloacae</i>	16	15.7
<i>E. aerogenes</i>	14	13.7
<i>K. oxytoca</i>	9	8.8
<i>K. pneumoniae</i>	3	2.9
<i>Shigella flexneri</i>	8	7.8
<i>C. koseri</i>	6	5.9
<i>C. freundii</i>	3	2.9
<i>Salmonella spp</i>	3	2.9
Total	102	100

Las 102 enterobacterias aisladas, fueron sometidas a la prueba fenotípica confirmatoria para BLEE, hallando que 93 (91.2 %) de las enterobacterias presentaron resistencia fenotípica,

presentando una diferencia mayor o igual a 5 mm entre los halos de inhibición (Anexo D), y 9 (8.8 %) de las enterobacterias no presentaron fenotipo BLEE. La distribución de las especies identificadas con fenotipo BLEE positivo: *E. coli* (n=39, 41.9%), *E. cloacae* (n=15, 16.1%), *E. aerogenes* (n=12, 12.9%), *K. oxytoca* (n=8, 8.6%), *S. flexneri* (n=8, 8.6%), *C. koseri* (n=5, 5.4%), *K. pneumoniae* (n=2, 2.2%), *C. freundii* (n=2, 2.2%) y *Salmonella spp.* (n=2, 2.2%) (Figura 2).

Figura 2.

Distribución de aislamientos por especie con fenotipo BLEE.



La caracterización genotípica de las enterobacterias se realizó mediante PCR convencional, con el objetivo de detectar los genes *blaCTX-M*, *blaTEM* y *blaSHV*. Determinando que el gen más frecuente fue *blaCTX-M* con 43 (46.2 %), seguido del gen *blaTEM* 26 (28.0 %) y *blaSHV* 11 (11.8 %) (Tabla 7).

Tabla 7.

Descripción general de los genes blaCTX, blaTEM y blaSHV en los aislamientos de BLEE.

Enterobacterias	Fenotipo BLEE (n)	Genotipo		
		TEM N (%)	CTX - M N (%)	SHV N (%)
n=102	93	26 (28.0)	43 (46.2)	11 (11.8)

De acuerdo al análisis molecular, se registró que en *E. coli* se detectaron los genes *blaCTX-M* (n=20; 21.5 %) (Figura 3), *blaTEM* (n=16; 17.2 %) (Figura 4) y *blaSHV* (n=3; 3.2 %) (Figura 5), siendo la especie con mayor presencia de genotipo BLEE. En el caso de *C. koseri* se detectaron los genes *blaTEM* (n=1; 1.1%) y *blaCTX-M* (n=1; 1.1 %), en *K. pneumoniae* y en *C. freundii* solo se detectó el gen *blaTEM* (n=1; 1.1%) y *blaCTX-M* (n=1; 1.1 %) respectivamente (Tabla 8), siendo las especies con menor presencia de genotipo BLEE. En *Salmonella* sp. no se reportó ninguno de los tres genes BLEE.

En el 18.3 % (n=17) de las cepas se identificó la presencia de 2 genes y en 3.2 % (n=3) de los aislamientos la coexistencia de los genes *blaCTX-M*, *blaTEM* y *blaSHV* (Anexo F).

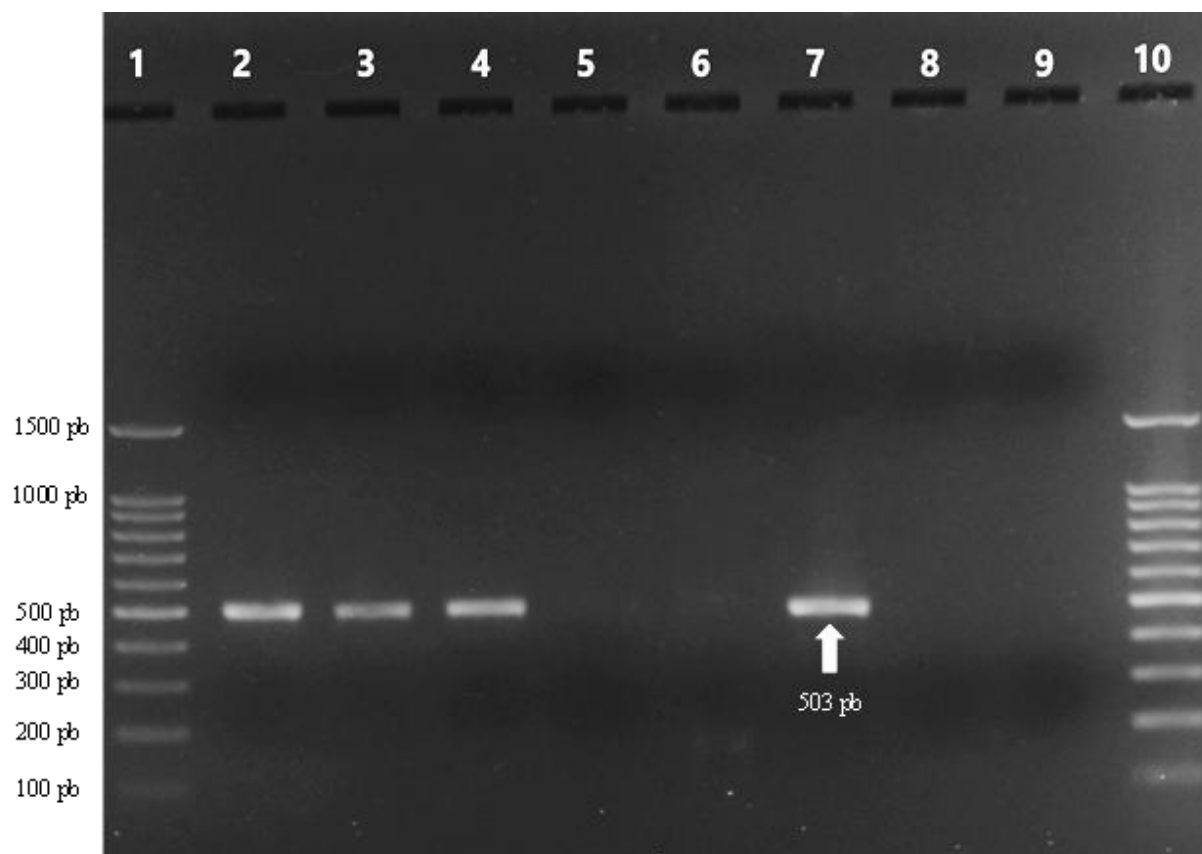
Tabla 8.

Presencia de genes BLEE (TEM, CTX – M Y SHV) según especie.

Enterobacteria	TEM (n)	TEM (%)	CTX (n)	CTX (%)	SHV (n)	SHV (%)
<i>E. coli</i>	16	17.2	20	21.5	3	3.2
<i>E. cloacae</i>	3	3.2	6	6.5	2	2.2
<i>E. aerogenes</i>	2	2.2	5	5.4	2	2.2
<i>K. oxytoca</i>	2	2.2	6	6.5	2	2.2
<i>Shigella flexneri</i>	2	2.2	4	4.3	1	1.1
<i>C. koseri</i>	0	0.0	1	1.1	1	1.1
<i>C. freundii</i>	0	0.0	1	1.1	0	0.0
<i>K. pneumoniae</i>	1	1.1	0	0.0	0	0.0
<i>Salmonella sp</i>	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Total	26	28.0	43	46.2	11	11.8

Figura 3.

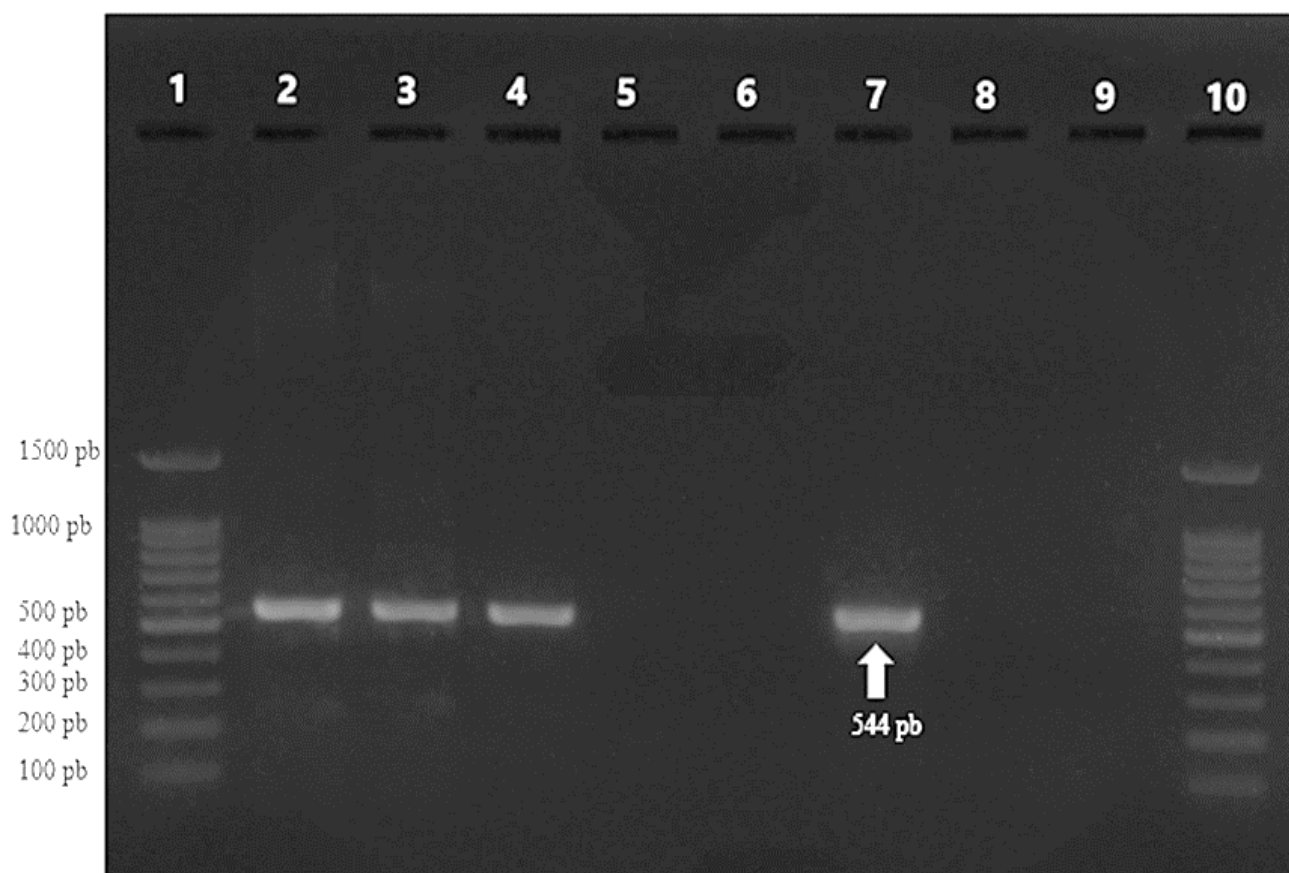
Electroforesis de los productos de PCR del gen TEM 503 pb.



Nota: 1: Marcador de peso molecular 100 pb, 2: PAM5 (*E. aerogenes*), 3: PAM9 (*E. coli*), 4: PAM10 (*K. oxytoca*), 5: PAM3 (*E. cloacae*), 6: PAM4 (*E. aerogenes*), 7: Control positivo (*K. pneumoniae* ATCC 700603, portador del gen TEM), 8: Control negativo 1 (*Escherichia coli* ATCC 25922), 9: Control negativo 2 (agua molecular), 10: Marcador de peso molecular 100 pb.

Figura 4.

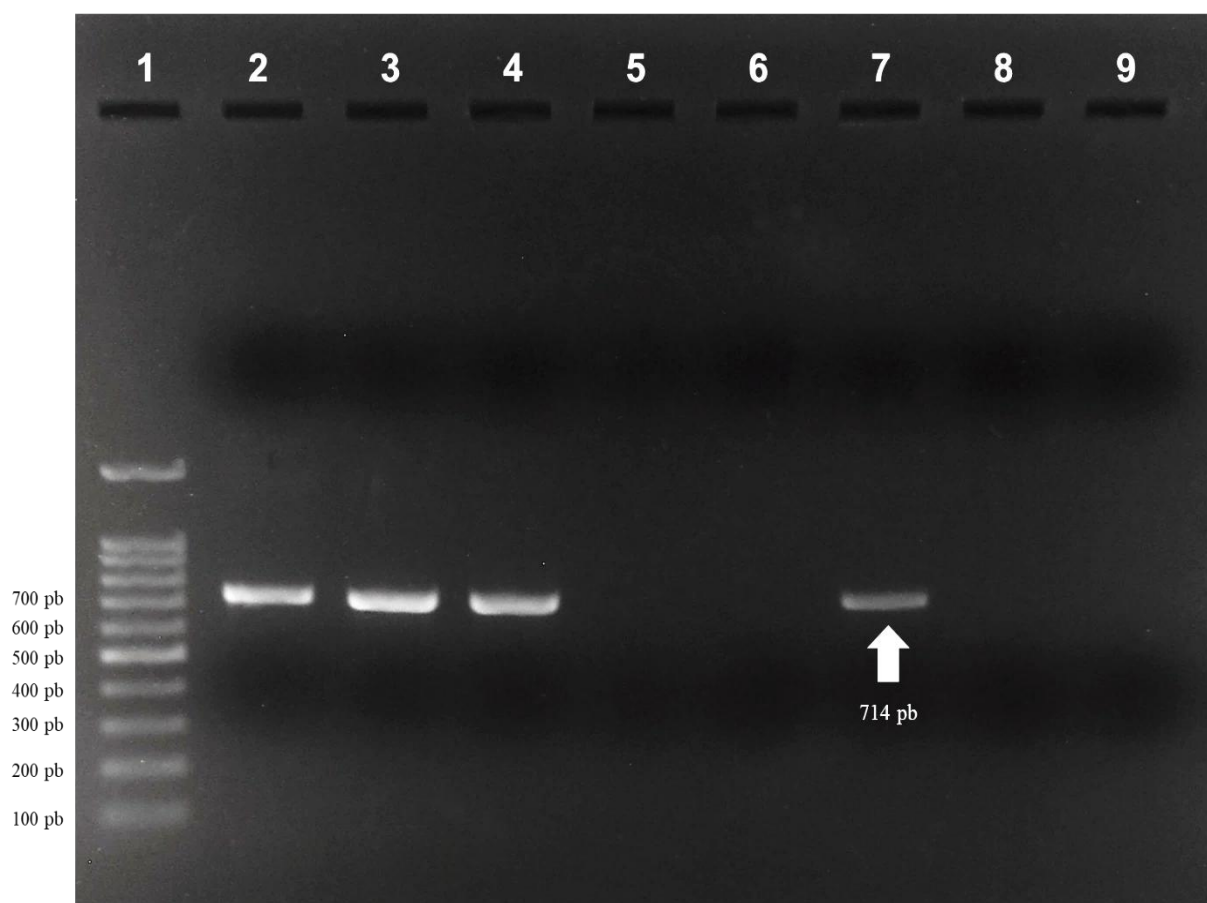
Electroforesis de los productos de PCR del gen CTX - M 544 pb.



Nota: 1: Marcador de peso molecular 100 pb, 2: PAM5 (*E. aerogenes*), 3: PAM5 (*E. coli*), 4: PAM9 (*E. coli*), 5: PAM3 (*E. cloacae*), 6: PAM3 (*E. aerogenes*), 7: Control positivo (*K. pneumoniae* ATCC 700603, portador del gen CTX-M), 8: Control negativo 1 (*Escherichia coli* ATCC 25922), 9: Control negativo 2 (agua molecular) y 10: Marcador de peso molecular 100 pb.

Figura 5.

Electroforesis de los productos de PCR del gen SHV 714 pb.



Nota: 1: Marcador de peso molecular 100 pb, 2: PAM3 (*E. cloacae*), 3: PAM5 (*E. aerogenes*), 4: PAM10 (*K. oxytoca*), 5: PAM3 (*E. aerogenes*), 6: PAM4 (*E. coli*), 7: Control positivo (*K. pneumoniae* ATCC 700603, portador del gen SHV), 8: Control negativo 1 (*Escherichia coli* ATCC 25922) y 9: Control negativo 2 (agua molecular).

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En la presente investigación se aislaron e identificaron 102 enterobacterias pertenecientes a seis géneros y ocho especies del exoesqueleto de 68 ejemplares de *P. americana* recolectados en los alrededores de un mercado en La Victoria, Lima. El hallazgo de la elevada frecuencia de *E. coli* (n = 40; 39%) en nuestra investigación es relevante, ya que este microorganismo ha sido clasificado por la OMS como uno de los patógenos prioritarios debido a su resistencia a los antibióticos (OMS, 2017). *E. coli* es considerado como una problemática sanitaria relevante porque es un patógeno oportunista responsable de infecciones gastrointestinales, extraintestinales y nosocomiales. Asimismo, por la elevada prevalencia en diferentes organismos y entornos; y por su capacidad de circular entre ellos contribuyen en la dispersión de genes involucrados con la resistencia a los antimicrobianos en los entornos naturales (Gomes et al., 2024). El predominio de *E. coli* en nuestro estudio demuestra la capacidad de *P. americana* de actuar como reservorio y vector mecánico de bacterias de importancia clínica en entornos urbanos, representando una grave amenaza para la salud pública. Los hallazgos observados en el presente estudio son consistentes con lo reportado por Davari et al. (2023) en Irán y por Turki Jalil et al. (2023) en Irak, en donde *E. coli* fue la principal especie bacteriana detectada en cucarachas capturadas en ambientes comunitarios y hospitalarios, reforzando nuestros hallazgos de que esta especie es uno de los principales microorganismos patógenos relacionados a *P. americana*.

Las especies del género *Enterobacter* representaron el 29.4% de los aislamientos, conformando el segundo grupo de enterobacterias más frecuente. Este hallazgo coincide con lo reportado por Ruiz-Cabezas et al. (2015) en Iquitos, en donde el género *Enterobacter* alcanzó el 31% de los aislamientos de las 118 cepas de enterobacterias aisladas del exoesqueleto de *P. americana* capturadas en el Mercado Modelo de la ciudad. La presencia significativa de este

género es alarmante, debido a que las especies de *Enterobacter* son miembros del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* y especies de *Enterobacter*), este grupo de microorganismos tiene un rol predominante como agente etiológico de infecciones hospitalarias resistentes y por la capacidad de adquirir mecanismos de resistencia antimicrobiana (Davin-Regli et al., 2019).

La importancia epidemiológica de la presencia de *Salmonella* spp (2.9 %) aunque en una proporción reducida, reside en que evidencia la capacidad de las cucarachas como vectores de microorganismos asociados a infecciones humanas. En relación con estos hallazgos, el estudio de TatTokponnon et al. (2023) identifican a *P. americana* y a *Musca domestica* como relevantes vectores mecánicos en la transmisión de infecciones causadas por *Salmonella* spp. y *E. coli*, lo cual representa un riesgo significativo en la diseminación de estos enteropatógenos en la población.

En esta investigación se identificaron seis géneros y ocho especies de enterobacterias, destacando la frecuencia *E. coli*, especies de *Enterobacter* spp. y de *Klebsiella* sp. Este patrón es consistente con lo reportado por Moges et al. (2016) en Etiopía, donde aislaron 181 bacterias pertenecientes a 12 géneros a partir de 60 cucarachas. En dicho estudio, los aislamientos de la familia *Enterobacteriaceae* también fueron predominantes, con la identificación de seis géneros y el predominio marcado de *E. coli*, *Enterobacter* spp. y *K. pneumoniae*. La similitud entre los resultados refuerza la capacidad de *P. americana* para albergar enterobacterias de importancia clínica y subraya su papel potencial en la epidemiología de infecciones bacterianas.

En los últimos años, las cucarachas han adquirido importancia médica como vector externo de especies de bacterias patógenas resistentes a múltiples fármacos. La multidrogoresistencia (MDR) bacteriana es considerada un grave problema para la salud pública y la gestión clínica ,

limitando las opciones terapéuticas disponibles en el tratamiento de las infecciones por enterobacterias resistentes (Noureldin et al., 2020). La elevada presencia de enterobacterias productoras de BLEE con resistencia fenotípica (91.2 %) observada en nuestro estudio, en géneros como *E. coli*, *Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp. y *Salmonella* spp. que están asociados a infecciones nosocomiales y comunitarias, refuerza la importancia médica de las cucarachas como potencial vector de patógenos. Este hallazgo concuerdan con la prevalencia fenotípica de cepas BLEE positivas reportadas previamente en diferentes estudios, en el caso de Landolsi et al. (2022), en Túnez, reportaron que de las 144 cepas de *Enterobacteriaceae* aisladas de la superficie externa y homogenizado intestinal de cucarachas, el 73.3% de las cepas presentaron el fenotipo BLEE positivo. En la investigación de Bisetegn et al. (2024) en Etiopia, de las 108 bacterias gramnegativas de homogenizados externos de cucarachas, reportaron que el 53.8% de los aislamientos eran BLEE positivos y de manera similar Noureldin et al. (2020), en Arabia Saudita informaron que el 50% de las cepas aisladas eran multidrogorresistentes, con una marcada resistencia frente a antibióticos de la familia de los betalactámicos como ampicilina, cefazolina y cefoxitina.

En nuestra investigación se utilizó el medio cromogénico CHROMagar ESBL para la identificación inicial de enterobacterias productoras de BLEE aisladas de *P. americana*, obteniendo un elevado número de aislamientos resistentes (n=93, 91.2%). Este hallazgo confirma la utilidad del CHROMagar™ ESBL como método para la detección preliminar de cepas productoras de BLEE. Diversos estudios respaldan la fiabilidad diagnóstica del CHROMagar ESBL por su elevada sensibilidad y especificidad en la identificación de BLEE en entornos clínicos y urbanos. Mannathoko et al. (2023), destacan que el agar cromogénico es una herramienta confiable para el aislamiento y vigilancia de Enterobacterales resistentes a cefalosporinas de espectro extendido. De igual manera, Lee et al. (2021), validaron diferentes medios selectivos

cromogénicos y determinaron que CHROMagar™ ESBL presenta un desempeño superior en el aislamiento de cepas resistentes a cefalosporinas, en comparación con otros medios. En el contexto nacional, Tena Contreras (2024) reportó un óptimo rendimiento del CHROMagar ESBL en relación con el sistema automatizado Vitek para la detección fenotípica de BLEE. En conjunto, los hallazgos reportados refuerzan la efectividad del uso CHROMagar ESBL en la caracterización de cepas bacterianas resistentes.

El análisis genotípico de las enterobacterias productoras de BLEE aisladas en esta investigación, registró un patrón genotípico de alta relevancia clínica. De acuerdo a los productos obtenidos mediante la PCR convencional, permitió evidenciar que *blaCTX-M* representó la mayor proporción de genes detectados con (46.2%), seguido del gen *blaTEM* (28%) y el gen *blaSHV* (11.8%). El predominio del gen *blaCTX-M* en las cepas de enterobacterias coinciden con diversos estudios que reportan al gen *blaCTX-M* como el principal determinante genético de resistencia en bacterias productoras de BLEE.

En relación con nuestros resultados, Puspita et al. (2021), evaluaron la presencia de genes productores de BLEE en aislamientos bacterianos provenientes de cucarachas recolectadas en ambientes hospitalarios y comunitarios, determinando que el gen *CTX-M* fue el más prevalente en entornos hospitalarios y el segundo gen más frecuente en ambientes comunitarios. Estos resultados sugieren una amplia diseminación ambiental del gen *CTX*, incluso fuera del entorno clínico. Bevan et al. (2017), explican que la expansión del gen *CTX-M* a nivel mundial está asociada a la transferencia genética mediada por plásmidos, la propagación de clones predominantes de *E. coli*, el contacto con animales de producción, factores ambientales, la migración de personas y las condiciones sanitarias insuficientes. Asimismo, señalan que la presencia de genes de resistencia en un entorno está estrechamente relacionada con las actividades antropogénicas. Estos

enunciados, explican el predominio global del *CTX-M*, un patrón que coincide con los hallazgos genotípicos obtenidos en nuestra investigación, la frecuencia del gen *CTX-M* se alinea con lo reportado en contextos clínicos y comunitarios internacionales.

Por otro lado, Ikechukwu et al. (2017) reportaron una mayor frecuencia del gen *TEM* (85%), seguido de *CTX-M* (75%) y *SHV* (60%) en cepas de *E. coli* y *Salmonella* aisladas de cucarachas provenientes de entornos hospitalarios y urbanos, la variación en la prevalencia de los genes podría reflejarlas diferencias geográficas o las particularidades en la selección de los antibióticos en las áreas de muestreo.

El estudio de Crespo et al. (2025) llevo a cabo un análisis exhaustivo de las investigaciones publicadas sobre los patógenos transportados por cucarachas recolectadas a nivel global entre el 2000 y 2024, enfatizando los distintos mecanismos de resistencia antimicrobiana a los antibióticos y su relevancia para la salud pública. Los hallazgos principales señalan que *E. coli* y *P. aeruginosa* fueron las especies bacterianas más frecuentes aisladas. En cuanto a la resistencia a los antibióticos, la revisión reporta que el 51.2 % de los artículos sobre *E. coli* documenta algún tipo de resistencia extendida a fármacos antimicrobianos. Estos hallazgos concuerdan con la detección fenotípica de *BLEE* obtenido en nuestra investigación. Asimismo, en cuanto a la identificación genotípica la revisión hace énfasis en la escasez de estudios que apliquen técnicas moleculares para la detección de mecanismos de resistencia.

Nuestros hallazgos, demuestran que la detección fenotípica de enzimas de tipo *BLEE* y la identificación molecular de determinantes genéticos de resistencia en enterobacterias recuperadas de *P. americana*, evidencia el papel activo de este insecto en la diseminación ambiental de bacterias resistentes. Según Gwenzi et al. (2021), los insectos como las moscas y cucarachas pueden funcionar como vectores mecánicos y como reservorios biológicos de genes de resistencia

antimicrobiana, dado que a través de su exoesqueleto y tracto digestivo albergan microorganismos capaces de transferir genes de resistencia de manera horizontal. Este planteamiento coincide con nuestros hallazgos, en donde identificamos géneros de importancia clínica como *E. coli*, *Enterobacter* spp y *Klebsiella* sp., con resistencia a cefalosporinas de tercera generación, relacionada a la prevalencia y diseminación de genes como *blaCTX-M* en el entorno urbano. En relación con los hallazgos, *P. americana* se establece como un centinela del resistoma ambiental. De acuerdo con Gwenzi et al. (2021), este insecto se considera como vector potencial en la diseminación de la resistencia antimicrobiana hacia los seres humanos, mediante la contaminación de alimentos, el contacto con superficies o la transferencia horizontal de genes.

VI. CONCLUSIONES

- En esta investigación, se caracterizó fenotípica y genotípicamente enterobacterias productoras de BLEE aisladas del exoesqueleto de *P. americana* en los alrededores de un mercado en La Victoria, Lima, Perú.
- Se aislaron 102 enterobacterias, identificando microbiológicamente 6 géneros y 8 especies de enterobacterias aisladas del exoesqueleto *P. americana*.
- A nivel fenotípico, se determinó que el 91.2% de las cepas bacterianas aisladas presentaron resistencia mediada por la producción de BLEE.
- El análisis genotípico por PCR determinó la presencia del gen *blaCTX-M* el cual fue el más frecuente (46.2%), seguido por *blaTEM* (28%) y *blaSHV* (11.8%), confirmando la importancia epidemiológica del grupo *CTX-M* como principal determinante genético de resistencia.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios complementarios de *P. americana* como vector de enteropatógenos resistentes diversificando las áreas de estudio a entornos hospitalarios, urbanos y domésticos, con la finalidad de comparar la variabilidad en la presencia de enterobacterias productoras de BLEE.
- Implementar el uso de plataformas automatizadas para la identificación bacteriana y susceptibilidad antimicrobiana, como MicroScan, con la finalidad de optimizar el tiempo de procesamiento en el laboratorio y mejorar la precisión en la identificación de especies bacterianas. Además, estas plataformas facilitan la detección eficiente de diversos mecanismos de resistencia.
- Realizar estudios complementarios de identificación fenotípica y genotípica de resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de las zonas internas de *P. americana*, con el fin de profundizar en la comprensión de su rol como reservorio de genes de resistencia.
- Ampliar futuras investigaciones hacia la identificación de otros tipos de determinantes genéticos de resistencia presentes en enterobacterias.

VIII. REFERENCIAS

- Abdolmaleki, Z., Mashak, Z., y Safarpour Dehkordi, F. (2019). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance in the methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated from hospital cockroaches. *Antimicrobial Resistance y Infection Control*, 8(54). <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0505-7>
- Adenusi, A. A., Akinyemi, M. I., y Akinsanya, D. (2018). Domiciliary Cockroaches as Carriers of Human Intestinal Parasites in Lagos Metropolis, Southwest Nigeria: Implications for Public Health. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 12(2), 141-151. <https://doi.org/10.18502/jad.v12i2.40>
- Ambler, R. P. (1980). The structure of beta-lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321-331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>
- Astiti, P. M. A., Bialangi, M., y Kundera, I. N. (2018). Identification of bacteria on Cockroach feet from Hospital area in Palu city and test of sensitivity to antibiotic. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 434(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/434/1/012123>
- Bevan, E. R., Jones, A. M., y Hawkey, P. M. (2017). Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: Temporal and geographical shifts in genotype. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(8), 2145-2155. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx146>
- Bisetegn, F. S., Azene, H., Ahmed, K. S., Wadilo, F., y Tufa, E. G. (2024). Extended spectrum and metallo beta lactamase producing gram negative bacterial pathogens from cockroaches collected at hospital, Southern Ethiopia. *Antimicrobial Resistance y Infection Control*, 13(87). <https://doi.org/10.1186/s13756-024-01442-0>

- Bodena, D., Teklemariam, Z., Balakrishnan, S., y Tesfa, T. (2019). Bacterial contamination of mobile phones of health professionals in Eastern Ethiopia: Antimicrobial susceptibility and associated factors. *Tropical Medicine and Health*, 47(15). <https://doi.org/10.1186/s41182-019-0144-y>
- Bush, K. (1989). Characterization of beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 33(3), 259-263. <https://doi.org/10.1128/aac.33.3.259>
- Bush, K. (2023). Classification for β -lactamases: Historical perspectives. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 21(5), 513-522. <https://doi.org/10.1080/14787210.2023.2194633>
- Bush, K., y Jacoby, G. A. (2010). Updated Functional Classification of β -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/aac.01009-09>
- Bush, K., Jacoby, G. A., y Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(6), 1211-1233. <https://doi.org/10.1128/aac.39.6.1211>
- Camacho Silvas, L. A. (2023). Resistencia bacteriana, una crisis actual: e202302013. *Revista Española de salud pública*, 97, 10. <https://ojs.sanidad.gob.es/index.php/resp/article/view/93>
- Castanheira, M., Simner, P. J., y Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(3), dlab092. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
- Clinical Laboratory Standards Institute, (CLSI). (2023). *CLSI M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (No. 33er Ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Crespo, A., de Armas, Y., Capó, V., Iglesias, E., Palomares-Marín, J., Fonte, L., Plascencia-Hernández, A., Cueto-Aragón, C. L., Calderón, E. J., y Pérez-Gómez, H. R. (2025). Pathogens of Medical Importance Identified in Hospital-Collected Cockroaches: A Systematic Review. *Microorganisms*, 13(2), 337. <https://doi.org/10.3390/microorganisms13020337>
- Cueto, S., Castillo-Martínez, A., Hernández-Rodríguez, S., Robles, M., Ramos, F., y Ortega, A. (2015). *Presencia de Salmonella spp en cucaracha americana Periplaneta americana L, (Blattodea: Blattidae) en Torreón, Coahuila, México*. [Tesis de maestría, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro]. <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/7399>
- Davari, B., Hassanvand, A. E., Salehzadeh, A., Alikhani, M. Y., y Hosseini, S. M. (2023). Bacterial Contamination of Collected Cockroaches and Determination Their Antibiotic Susceptibility in Khorramabad City, Iran. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 17(1), 63-71. <https://doi.org/10.18502/jad.v17i1.13202>
- Davin Regli, A., Lavigne, J., y Pages, J. (2019). *Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance*. *Clinical Microbiology Reviews*, 32(4), Artículo e00002-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-19>.
- Galván, F., Agapito, J., Bravo, N., Lagos, J., y Tamariz, J. (2016). Caracterización fenotípica y molecular de *Escherichia coli* productoras de β -Lactamasas de espectro extendido en pacientes ambulatorios de Lima, Perú. *Revista Médica Herediana*, 27(1), 22. <https://doi.org/10.20453/rmh.v27i1.2780>
- García Pinedo, J. (2022). *Perfil de resistencia antibiótica de Escherichia coli y Klebsiella sp. Aisladas de Periplaneta americana en un centro hospitalario y en domicilios de la ciudad*

- de Iquitos, Iquitos-Perú, 2018*. [Tesis de grado, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP)]. <https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/20.500.12737/8870>
- Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Morfín-Otero, M. del R., Torres-López, F. J., y Alcántar-Curiel, M. D. (2020). Antimicrobial resistance. Its importance and efforts to control it. *Gaceta Médica de México*, 156(2). <https://doi.org/10.24875/gmm.m20000358>.
- Gomes, L., Bordalo, A. A., y Machado, A. (2024). Characterization of *Escherichia coli* Isolates in Recreational Waters: Implications for Public Health and One Health Approach. *Water*, 16(18), 2695. <https://doi.org/10.3390/w16182695>
- Gonzales, E., Patiño, L., Ore, E., Martínez, V., Moreno, S., Cruzado, N. B., Rojas, R., Quispe, M. del C., Carbonell, I., Villarreal, F., Maza, G., Olivo, J., Vicuña, R., y Bustamante, D. (2019). β -lactamasas de espectro extendido tipo CTX-M en aislamientos clínicos de *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* en el Instituto Nacional de Salud del Niño-Breña, Lima, Perú. *Revista Médica Herediana*, 30(4), 242-248. <https://doi.org/10.20453/rmh.v30i4.3659>
- Guzman, J., y Vilcinskas, A. (2020). Bacteria associated with cockroaches: Health risk or biotechnological opportunity? *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(24), 10369-10387. <https://doi.org/10.1007/s00253-020-10973-6>
- Gwenzi, W., Chaukura, N., Muisa-Zikali, N., Teta, C., Musvuugwa, T., Rzymiski, P., y Abia, A. L. K. (2021). Insects, Rodents, and Pets as Reservoirs, Vectors, and Sentinels of Antimicrobial Resistance. *Antibiotics*, 10(1), 68. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010068>
- Hernández, G., y Guadalupe, A. (2023). *Cucarachas (HEXAPODA: BLATTODEA) domésticas y peridomésticas en el área urbana de Cuencamé, Durango, México*. [Tesis de Maestría,

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro].

<https://repositorio.uaaan.mx/xmlui/handle/123456789/49608>.

Husna, A., Rahman, Md. M., Badruzzaman, A. T. M., Sikder, M. H., Islam, M. R., Rahman, Md.

T., Alam, J., y Ashour, H. M. (2023). Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBL): Challenges and Opportunities. *Biomedicines*, 11(11), 2937.

<https://doi.org/10.3390/biomedicines11112937>

Ikechukwu, O., Ifeanyichukwu, I., David, I. O., Agwu, E. U., y Ogbonnaya, O. (2017). *Antibiotic*

Resistance and Beta-Lactamase Genes Detection among Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing Escherichia coli and Salmonella Species Isolated from Cockroaches (Periplaneta americana) in Abakaliki, South-East Nigeria. 14 (4), 113-120.

<https://doi.org/10.5829/idosi.wjms.2017.113.120>

Kaderabkova, N., Bharathwaj, M., Furniss, R. C. D., Gonzalez, D., Palmer, T., y Mavridou, D. A.

I. (2022). The biogenesis of β -lactamase enzymes. *Microbiology*, 168(8), 001217.

<https://doi.org/10.1099/mic.0.001217>

Landolsi, S., Selmi, R., Hadjadj, L., Ben Haj Yahia, A., Ben Romdhane, K., Messadi, L., y Rolain,

J. M. (2022). First Report of Extended-Spectrum β -Lactamase (blaCTX-M1) and Colistin Resistance Gene mcr-1 in E. coli of Lineage ST648 from Cockroaches in Tunisia. *Microbiology Spectrum*, 10(2), e00036-21. <https://doi.org/10.1128/spectrum.00036-21>

Lee, Z. Z., Abraham, R., O'Dea, M., Harb, A., Hunt, K., Lee, T., Abraham, S., y Jordan, D. (2021).

Validation of Selective Agars for Detection and Quantification of Escherichia coli Strains Resistant to Critically Important Antimicrobials. *Microbiology Spectrum*, 9(3), e00664-21.

<https://doi.org/10.1128/Spectrum.00664-21>

León-Luna, D., Fajardo-Loyola, A., Yareta-Yareta, J., Burgos-Espejo, A., Peralta-Siesquen, C.,

Galarza-Pérez, M., y Marcos-Carbajal, P. (2021). Caracterización molecular de

- enterobacterias multirresistentes en dos departamentos de la selva peruana. *Biomédica*, 41(Suppl 2), 180-187. <https://doi.org/10.7705/biomedica.5720>
- Liu, J., Yuan, Y., Feng, L., Lin, C., Ye, C., Liu, J., Li, H., Hao, L., y Liu, H. (2024). Intestinal pathogens detected in cockroach species within different food-related environment in Pudong, China. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52306-x>
- Loor-Moreira, J., Parraga-Roca, C., y Párrales, E. N. L. (2021). Betalactamasas de espectro extendido en bacilos Gram negativos: Caracterización y prevalencia por tipo de infección. Revisión Sistemática. *Kasmera*, 49(Supl 1), Article Supl 1. <https://doi.org/10.5281/zenodo.5529681>
- Mannathoko, N., Lautenbach, E., Mosepele, M., Otukile, D., Sewawa, K., Glaser, L., Cressman, L., Cowden, L., Alby, K., Jaskowiak-Barr, A., Gross, R., Mokomane, M., Paganotti, G. M., Styczynski, A., Smith, R. M., Snitkin, E., Wan, T., Bilker, W. B., y Richard-Greenblatt, M. (2023). Performance of CHROMagar ESBL media for the surveillance of extended-spectrum cephalosporin-resistant Enterobacterales (ESCrE) from rectal swabs in Botswana. *Journal of Medical Microbiology*, 72(11), 001770. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001770>
- Marcos-Carbajal, P., Galarza-Pérez, M., Huancahuire-Vega, S., Otiniano-Trujillo, M., y Soto-Pastrana, J. (2020). Comparación de los perfiles de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* uropatógena e incidencia de la producción de betalactamasas de espectro extendido en tres establecimientos privados de salud de Perú. *Biomédica*, 40(Supl. 1), Article Supl. 1. <https://doi.org/10.7705/biomedica.4772>
- Moges, F., Eshetie, S., Endris, M., Huruy, K., Muluye, D., Feleke, T., G/Silassie, F., Ayalew, G., y Nagappan, R. (2016). Cockroaches as a Source of High Bacterial Pathogens with

- Multidrug Resistant Strains in Gondar Town, Ethiopia. *BioMed Research International*, 2016, 2825056. <https://doi.org/10.1155/2016/2825056>
- Molewa, M. L., Barnard, T., y Naicker, N. (2022). A potential role of cockroaches in the transmission of pathogenic bacteria with antibiotic resistance: A scoping review. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 16(11), Article 11. <https://doi.org/10.3855/jidc.16893>
- Nagshetty, K., Shilpa, B. M., Patil, S. A., Shivannavar, C. T., y Manjula, N. G. (2021). An Overview of Extended Spectrum Beta Lactamases and Metallo Beta Lactamases. *Advances in Microbiology*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.4236/aim.2021.111004>
- Nasirian, H. (2019). Contamination of Cockroaches (Insecta: Blattaria) by Medically Important Bacteria: A Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of Medical Entomology*, 56(6), 1534-1554. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz095>
- Noureldin, E., Sirdar, M., Shrwani, K., Daffalla, O., Waheed, M., Hobani, Y., Ageeli, M., Hakami, A., Bakri, M. y Eisa, Z. (2020). Prevalence and Antimicrobial Resistance of Pathogenic Bacteria Isolated from Cuticles of *Blattella germanica* and *Periplaneta americana* in Gizan City, Saudi Arabia. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 13(2), 627-633. <https://doi.org/10.21786/bbrc/13.2/40>
- Organización Mundial de la Salud [OMS], (2017). *Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis*. Recuperado 6 de octubre de 2025, de <https://iris.who.int/items/9a3cd832-8c17-4499-9ba4-54082872cb79>
- Organización Mundial de la Salud [OMS], (2022). *Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS)*. Recuperado 15 de marzo de 2025, de <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240062702>

- Philippon, A., Jacquier, H., Ruppe, E., y Labia, R. (2019). Structure-based classification of class A beta-lactamases, an update. *Current Research in Translational Medicine*, 67(4),115-122.
<https://doi.org/10.1016/j.retram.2019.05.003>
- World Health Organization. (2017). *Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis*. Recuperado 6 de octubre de 2025, de <https://iris.who.int/items/9a3cd832-8c17-4499-9ba4-54082872cb79>
- Puspita, A., Arizandy, R. Y., Wasito, E. B., y Kuntaman, K. (2021). The Carrier Rate of Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) Producing Bacteria in Cockroaches (*Periplaneta americana*) in Hospital and Community. *Folia Medica Indonesiana*, 57(4), 283.
<https://doi.org/10.20473/fmi.v57i4.17590>
- 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. *Biomédica*, 39(1), 199-220. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v39i3.4351>
- Rivas Sánchez, J. M. (2020). Capacidad biodegradativa de la cucaracha *Periplaneta americana* (Linnaeus, 1758) sobre la bolsa plástica y el FILM para la elaboración de abono. *Universidad Nacional Agraria de la Selva*. [Tesis de pregrado].
<https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/3389022>
- Ruiz-Cabezas, X. A., Hernández-Vargas, J. C., Díaz-Bardales, B. M., y Dávila-Flores, C. R. (2015). Enterobacteriáceas en partes externas del estadio adulto de *Periplaneta americana* “cucaracha” capturadas en el mercado Modelo, Iquitos, Perú. *Ciencia Amazónica (Iquitos)*, 5(1), Article 1. <https://doi.org/10.22386/ca.v5i1.88>

- Ruppé, É., Woerther, P.-L., y Barbier, F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Annals of Intensive Care*, 5, 21. <https://doi.org/10.1186/s13613-015-0061-0>
- Sawa, T., Kooguchi, K., y Moriyama, K. (2020). Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal of Intensive Care*, 8(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>
- Sharawi, S., Mahyoub, J., y Assagaf, A. (2021). *Morphological and molecular identification of the American cockroaches (Periplaneta americana) in Jeddah province (Dictyoptera: Blattidae)*. 6(5). 31 - 36. <https://www.entomologyjournals.com/assets/archives/2021/vol6issue5/6-4-73-471.pdf>
- Sharma, A., Gupta, V. K., y Pathania, R. (2019). Efflux pump inhibitors for bacterial pathogens: From bench to bedside. *The Indian Journal of Medical Research*, 149(2), 129-145. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_2079_17
- Siddiqui, R., Elmashak, Y., y Khan, N. A. (2023a). Cockroaches: A potential source of novel bioactive molecule(s) for the benefit of human health. *Applied Entomology and Zoology*, 58(1), 1-11. <https://doi.org/10.1007/s13355-022-00810-9>
- Solomon, F., Kibru, G., y Ali, S. (2018). Multidrug-resistant pattern of food borne illness associated bacteria isolated from cockroaches in meal serving facilities, Jimma, Ethiopia. *African Health Sciences*, 18(1), 32. <https://doi.org/10.4314/ahs.v18i1.6>
- Tadesse, S., Mulu, W., Genet, C., Kibret, M., y Belete, M. A. (2022). Emergence of High Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase and Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* Species among Patients in Northwestern Ethiopia Region. *BioMed Research International*, 2022, (1), 5727638. <https://doi.org/10.1155/2022/5727638>

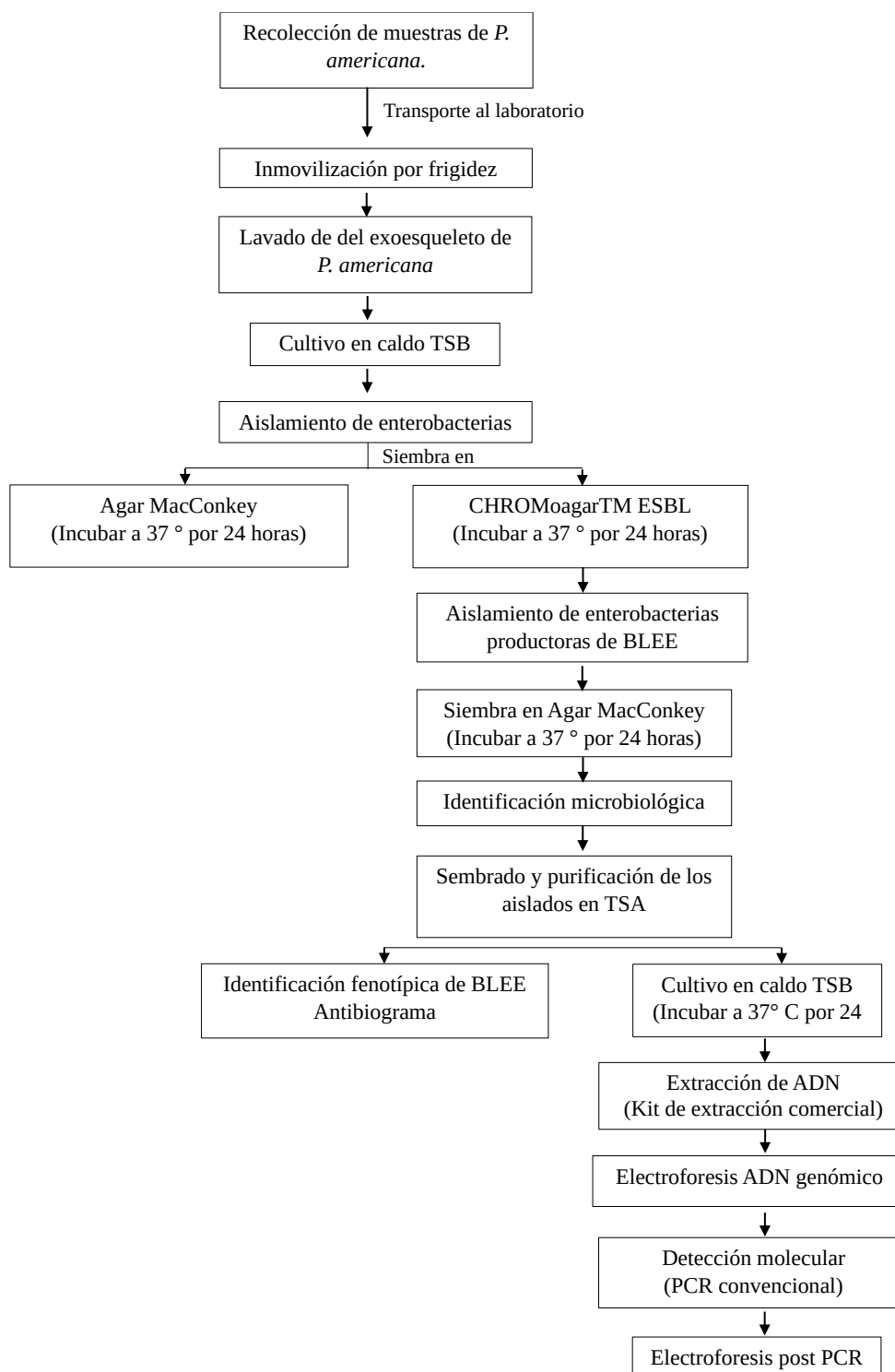
- TatTokponnon, T. F., Agassounon, B. B. E., Kougblenou, D. S., Osse, R., Dougnon, V., Daga, C. N., Kossou, J., Yerima, I. J. G., Houessinon, F., Zoulikifilou, S. D., y Akogbeto, M. (2023). Potential Risk of Transmission of *Escherichia coli* and *Salmonella* spp. Infections by the *Musca domestica* Fly and the *Periplaneta americana* Cockroach in the City of Cotonou (South Benin). *Advances in Microbiology*, 13(9), Article 9. <https://doi.org/10.4236/aim.2023.139029>
- Tena Contreras, R. A. (2024). *Rendimiento diagnóstico del chromagar esbl frente al sistema automatizado vitek 2 para la detección fenotípica de betalactamasas de espectro extendido en urocultivos, Lima 2023*. <https://hdl.handle.net/20.500.13053/11600>
- Tilahun, M., kassa, Y., Gedefie, A., y Ashagire, M. (2021). Emerging Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Infection, Its Epidemiology and Novel Treatment Options: A Review. *Infection and Drug Resistance*, 14, 4363-4374. <https://doi.org/10.2147/IDR.S337611>
- Treviño, N. P., y Molina, N. B. (2022). *Antibióticos: Mecanismos de acción y resistencia bacteriana*. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/136280>
- Turki Jalil, A., Abdulhadi, M. A., Al-Ameer, L. R., Jaafar Naser, S., Merza, MunaS., Alsandook, T., al-hili, A., y Zabibah, R. S. (2023). Bacterial contamination of cockroaches in different wards of hospital, restaurant and home. *Heliyon*, 9(11), Artículo e22103. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22103>
- Ünlü, Ö., y Yılcıoğlu, K. (2020). *Exploration Of Synergistic Antibiotic Interactions In Klebsiella Pneumoniae*. 25(1). 1246 -1252. <https://doi.org/10.25083/rbl/25.1/1246.1252>
- Yarin Carrizales, J. M. (2023). Identificación fenotípica de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas de heces de cerdos de un matadero de Lima. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*. [Tesis de pregrado]. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/20684>

Zhang, Z., Schneider, J. W., y Hong, Y. (2013). The most ancient roach (Blattodea): A new genus and species from the earliest Late Carboniferous (Namurian) of China, with a discussion of the phylomorphogeny of early blattids. *Journal of Systematic Palaeontology*, 11(1), 27-40. <https://doi.org/10.1080/14772019.2011.634443>

IX. ANEXOS

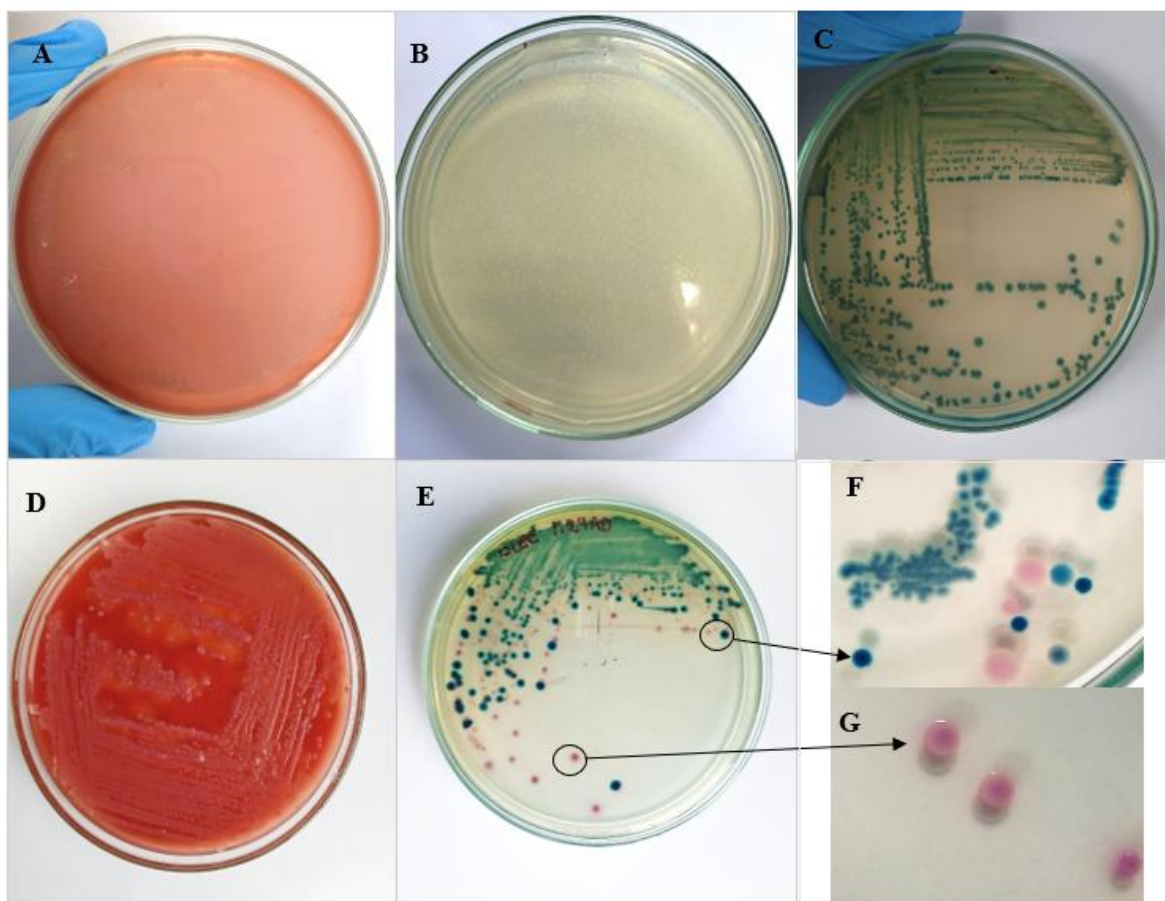
Anexo A.

Flujograma de la metodología para la caracterización fenotípica y genotípica de enterobacterias productoras de BLEE.



Anexo B.

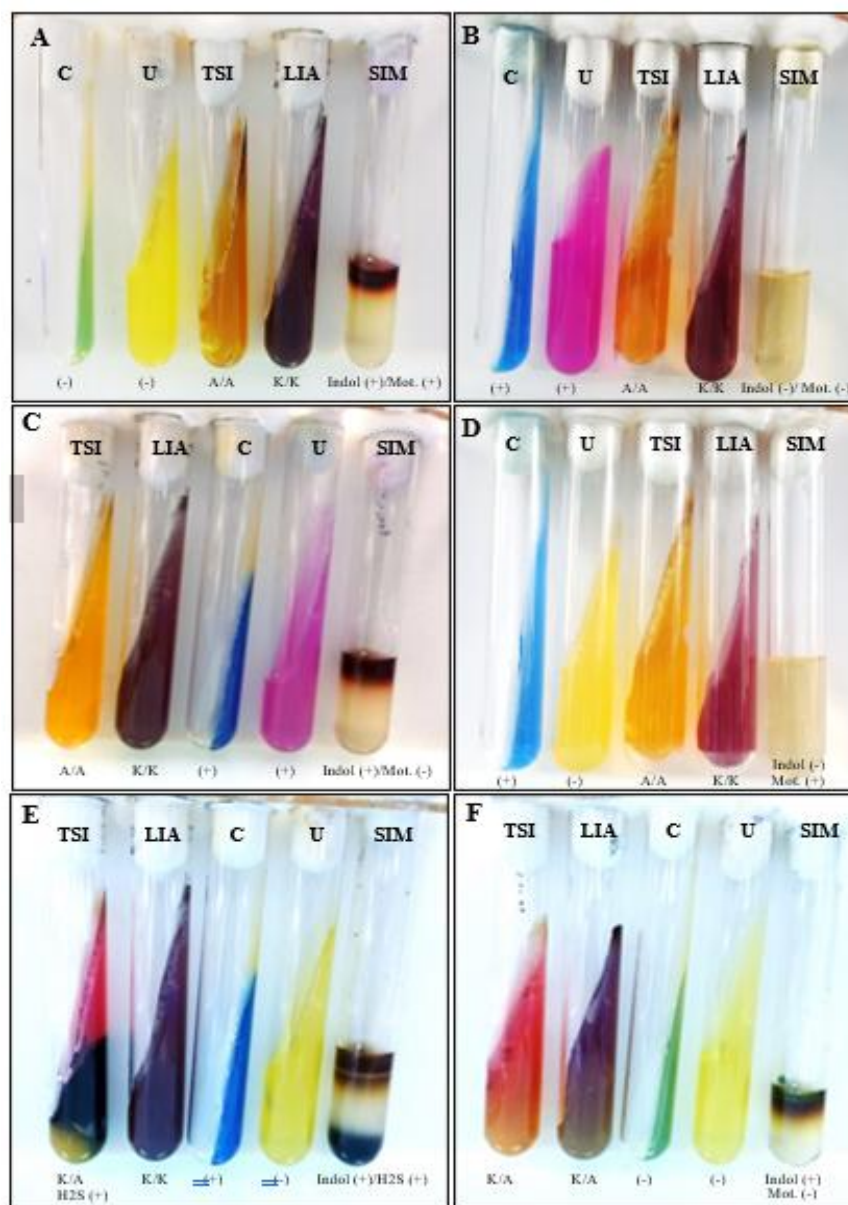
Aislamientos de enterobacterias en agar MacConkey y CHROMagar ESBL.



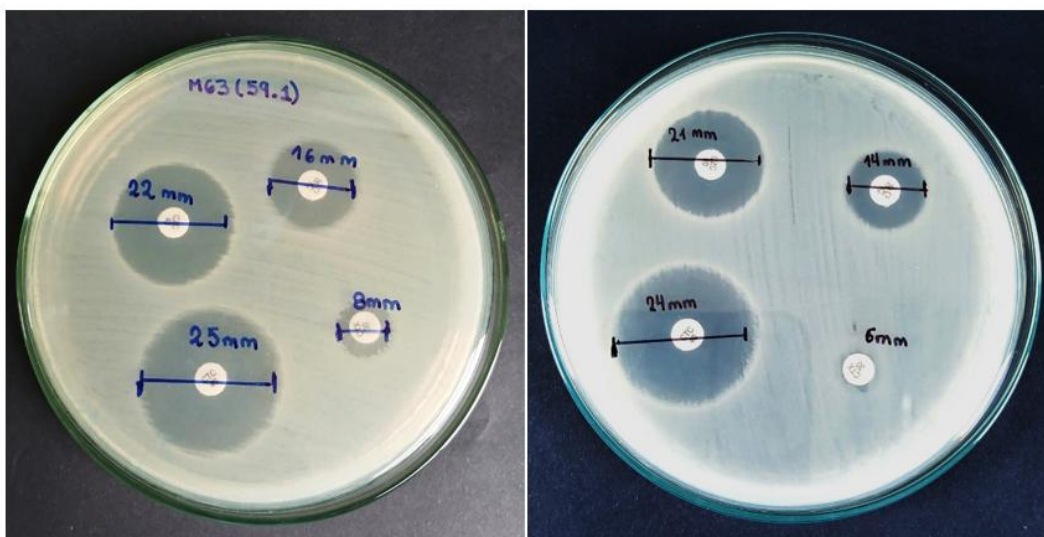
Nota. A: Placa de agar MacConkey sin inocular, **B:** placa de CHROMagar BLEE con *E. coli* ATCC 25922, control negativo, **C:** crecimiento de cepa *K. pneumoniae* ATCC 700603, control positivo en CHROMagar BLEE, **D:** Aislamiento de enterobacterias en agar MacConkey, **E:** Aislamiento de enterobacterias en agar cromogénico, **F:** colonias de color azul metálico representativo del grupo KEC BLEE (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*) y **G:** colonias de color rosa oscuro representativo de *E. coli* BLEE.

Anexo C.

Resultados de las pruebas bioquímicas para la identificación de especies de las enterobacterias aisladas.



Nota. C: citrato de Simmons; U: urea; TSI: Triple Azúcar Hierro; LIA: Lisina Hierro Agar; SIM: Sulfuro Indol Motilidad. **A:** *E. coli*, **B:** *K. pneumoniae*, **C:** *K. oxytca*, **D:** *E. aerogenes*, **E:** *Salmonella* spp. y **F:** *Shigella flexneri*.

Anexo D.*Prueba confirmatoria fenotípica para BLEE.*

Nota. Resultado positivo de la prueba confirmatoria para la determinación fenotípica de BLEE, se observa una diferencia mayor a 5 mm entre los halos de inhibición.

Anexo E.

Registro general de datos obtenidos de las muestras de *Periplaneta americana*.

N°	Código de colecta	Código de aislamiento	PRUEBAS BIOQUIMICAS													Especie	FENOTIPO BLEE (Antibiograma)						DIFERENCIA ≥ 5	ADN		GENOTIPO						
			TSI					LIA			SIM			CITRATO	UREA		CZC (mm)	CAZ (mm)	CTC (mm)	CTX (mm)	CZC - CAZ	CTC - CTX		Conc. ADN (ng/μl)	Peso A260/A280	TEM	CTX - M	SHV				
			GLU	SAC	LAC	GAS	H2S	Dc. Lisina	Da. Lisina	H2S	INDOL	MOVIL.	H2S																			
1	PAM__	PAM__(. _)																														
2	PAM__	PAM__(. _)																														
3	PAM__	PAM__(. _)																														
4	PAM__	PAM__(. _)																														
5	PAM__	PAM__(. _)																														
6	PAM__	PAM__(. _)																														
7	PAM__	PAM__(. _)																														
8	PAM__	PAM__(. _)																														
9	PAM__	PAM__(. _)																														
10	PAM__	PAM__(. _)																														
11	PAM__	PAM__(. _)																														
12	PAM__	PAM__(. _)																														
13	PAM__	PAM__(. _)																														
14	PAM__	PAM__(. _)																														
15	PAM__	PAM__(. _)																														

Nota: Glu: glucosa, SAC: sacarosa; LAC: lactosa, Dc.: descarboxilación de la lisina, Da: desaminación de la lisina; Movil.: movilidad, CZC: ceftazidima con ácido clavulánico (30/10), CTC: cefotaxima con ácido clavulánico (30/10), CAZ: ceftazidima, CTX: cefotaxima.

Anexo F.

Resultados del análisis fenotípico y genotípico de enterobacterias productoras de BLEE aisladas de *P. americana*.

Código	Especie bacteriana	Antibiograma BLEE	Conc. ADN (ng/μl)	Ratio (A260/A280)	Genes detectados por PCR		
					TEM	CTX-M	SHV
PAM 1 (1.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	106.230	2.21	Ausencia	Ausencia	Presencia
PAM 2 (2.1)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	117.320	1.99	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 3 (3.1)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	47.916	2.15	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 4 (4.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	71.973	2.06	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 5 (5.1)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	79.497	2.11	Presencia	Presencia	Presencia
PAM 5 (5.2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Positivo	40.128	1.90	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 6 (6.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	45.606	1.97	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM 7 (7.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	37.257	2.16	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM8 (8.2)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Negativo	49.797	2.08	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM8 (8.1)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	36.927	1.83	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM9 (9.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	24.321	1.92	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM9 (9.2)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	41.052	2.17	Ausencia	Ausencia	Presencia
PAM9 (9.3)	<i>Citrobacter koseri</i>	Positivo	56.958	1.83	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM9 (9.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	32.505	2.06	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM10 (10.1)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	43.296	2.12	Presencia	Presencia	Presencia
PAM11 (11.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	55.506	2.18	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM11 (11.2)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	64.350	1.94	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM12 (12.1)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	51.051	2.14	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM13 (13.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	23.859	2.13	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 14 (11.1)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	182.090	2.26	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM 14 (11.2)	<i>Citrobacter koseri</i>	Positivo	125.140	2.04	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM15 (15.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	61.677	2.12	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM15 (15.2)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	39.204	2.28	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM15 (15.3)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	44.781	1.87	Ausencia	Ausencia	Presencia

Código	Especie bacteriana	Antibiograma BLEE	Conc. ADN (ng/μl)	Ratio (A260/A280)	Genes detectados por PCR		
					TEM	CTX-M	SHV
PAM16 (16.1)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Negativo	47.289	2.29	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM17 (17.2)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	56.298	2.16	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM17 (17.1)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	67.881	2.29	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM18 (18.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	35.145	2.06	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM18 (18.2)	<i>Salmonella spp</i>	Positivo	42.240	2.26	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM19 (19.1)	<i>Escherichia coli</i>	Negativo	21.516	2.27	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM20 (20.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Negativo	105.830	2.00	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM20 (20.2)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Negativo	84.018	2.13	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM21 (21.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	61.710	2.06	Presencia	Presencia	Presencia
PAM21 (21.2)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	19.239	2.02	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM21 (21.3)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	57.552	1.81	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM22 (22.1)	<i>Salmonella spp</i>	Positivo	44.880	2.25	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM22 (22.2)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	97.878	1.99	Presencia	Ausencia	Ausencia
PAM23 (23.1)	<i>Salmonella spp</i>	Negativo	129.460	2.25	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM23 (23.2)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	58.707	1.90	Presencia	Ausencia	Ausencia
PAM23 (23.3)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	140.880	2.09	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM24 (24.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	79.002	2.29	Presencia	Ausencia	Ausencia
PAM25 (25.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	71.478	1.75	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM26 (26.1)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	99.726	2.27	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM27 (27.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	94.710	1.83	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM28 (28.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	70.587	2.29	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM29 (29.1)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	100.880	2.09	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM29 (29.2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Positivo	61.017	2.16	Presencia	Ausencia	Ausencia
PAM30 (30.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	28.248	2.02	Presencia	Ausencia	Ausencia
PAM30 (30.2)	<i>Citrobacter koseri</i>	Positivo	53.361	1.85	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM30 (30.3)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	191.660	2.28	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM31 (31.1)	<i>Citrobacter freundii</i>	Positivo	11.024	1.63	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Código	Especie bacteriana	Antibiograma BLEE	Conc. ADN (ng/μl)	Ratio (A260/A280)	Genes detectados por PCR		
					TEM	CTX-M	SHV
PAM32 (32.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	24.948	2.16	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM33 (33.1)	<i>Citrobacter freundii</i>	Positivo	47.190	1.94	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM33 (33.2)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	54.780	1.93	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM34 (34.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	38.478	1.95	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM34 (34.2)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	87.318	2.27	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM35 (35.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	47.553	2.11	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM35 (35.2)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	55.077	2.22	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM36 (36.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	95.799	1.99	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM36 (36.2)	<i>Citrobacter koseri</i>	Positivo	54.153	1.85	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM37 (37.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	43.131	2.06	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM37 (37.2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Negativo	36.498	1.96	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM37 (37.3)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	102.140	2.13	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM38 (38.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	160.710	2.25	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM39 (39.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	33.396	1.92	Ausencia	Ausencia	Presencia
PAM39 (39.2)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	124.250	2.09	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM40 (40.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	34.254	2.07	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM40 (40.2)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	51.249	1.99	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM40 (40.3)	<i>Citrobacter koseri</i>	Positivo	22.506	1.97	Ausencia	Ausencia	Presencia
PAM41 (41.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	44.484	2.09	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM42 (42.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	16.533	2.08	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM42 (42.2)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	109.560	2.28	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM43 (43.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	31.515	2.50	Presencia	Ausencia	Ausencia
PAM43 (43.2)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	61.083	2.23	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM44 (44.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	12.573	1.72	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM45 (45.1)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	84.051	2.21	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM46 (46.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	7.524	2.01	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM47 (47.1)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	81.675	2.10	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Código	Especie bacteriana	Antibiograma BLEE	Conc. ADN (ng/μl)	Ratio (A260/A280)	Genes detectados por PCR		
					TEM	CTX-M	SHV
PAM48 (48.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	9.300	1.88	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM49 (49.1)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	39.171	1.94	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM50 (50.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	22.572	2.27	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM51 (51.1)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	117.510	2.10	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM52 (52.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	42.801	2.23	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM53 (53.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	203.870	2.22	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM54 (54.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	110.650	1.84	Ausencia	Ausencia	Presencia
PAM55 (55.1)	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Positivo	32.802	2.04	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM56 (56.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	58.146	1.99	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM 57 (57.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	96.294	1.87	Presencia	Ausencia	Ausencia
PAM 57 (57.2)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	99.726	2.27	Ausencia	Ausencia	Presencia
PAM 58 (58.1)	<i>Shigella flexneri</i>	Positivo	28.806	1.83	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 59 (59.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	85.734	1.85	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM 60 (60.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	87.318	2.04	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM 61 (61.1)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	27.522	2.24	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 62 (62.1)	<i>Citrobacter freundii</i>	Negativo	81.312	2.23	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 63 (63.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	93.456	2.24	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 64 (64.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	34.551	2.27	Ausencia	Presencia	Ausencia
PAM 65 (65.1)	<i>Citrobacter koseri</i>	Negativo	133.750	2.26	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 66 (66.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	19.239	2.02	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 66 (66.2)	<i>Enterobacter cloacae</i>	Positivo	57.222	1.83	Ausencia	Ausencia	Ausencia
PAM 67 (67.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	51.942	1.80	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM 68 (68.1)	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	53.823	2.26	Presencia	Presencia	Ausencia
PAM 68 (68.2)	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Positivo	26.631	2.06	Ausencia	Presencia	Presencia

Nota. Los datos corresponden a los resultados obtenidos en este estudio. **PAM:** *P. americana*; **Conc. ADN:** concentración de ADN.