



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

GENES DE VIRULENCIA, PRODUCCIÓN DE BIOFILM Y SUSCEPTIBILIDAD
ANTIMICROBIANA EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE *Salmonella enterica* NO
TIFOIDEA DEL 2023

Línea de investigación:

Microbiología, Inmunología y Parasitología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Autor

Chacón Aguilar, Candy Isabel

Asesor

Riveros Ramírez, Maribel Denise

ORCID: 0000-0002-5347-3261

Jurado

Sáez Flores, Gloria María

Murrugarra Bringas, Victoria Ysabel

Velarde Vílchez, Mónica Margarita

Lima - Perú

2026

RECONOCIMIENTO - NO COMERCIAL - SIN OBRA DERIVADA
(CC BY-NC-ND)



GENES DE VIRULENCIA, PRODUCCIÓN DE BIOFILM Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLAMIENTOS CLÍNICOS DE Salmonella enterica NO TIFOIDEA DEL 2023

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%	9%	3%	2%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	alam.science Fuente de Internet	1%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
3	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	<1%
4	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
5	www.coursehero.com Fuente de Internet	<1%
6	eprints.uanl.mx Fuente de Internet	<1%
7	patents.google.com Fuente de Internet	<1%
8	doku.pub Fuente de Internet	<1%
9	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	<1%
10	Comité Editorial Revista Hechos Microbiológicos. "Memorias: XXII Congreso Latinoamericano de Microbiología - ALAM 2014 4 Congreso Colombiano de	<1%



Universidad Nacional
Federico Villarreal

VRIN | VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

GENES DE VIRULENCIA, PRODUCCIÓN DE BIOFILM Y
SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN AISLAMIENTOS
CLÍNICOS DE *Salmonella enterica* NO TIFOIDEA DEL 2023

Línea de Investigación:
Microbiología, Inmunología y Parasitología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Biología

Autora
Chacón Aguilar, Candy Isabel

Asesora Interna
Riveros Ramírez, Maribel Denise
ORCID: 0000-0002-5347-3261

Asesor Externo
Ruiz Blazquez, Joaquim
ORCID: 0000-0002-4431-2036

Jurado
Sáez Flores, Gloria María
Murugarra Bringas, Victoria Ysabel
Velarde Vélchez, Mónica Margarita

Lima – Perú
2026

ÍNDICE

RESUMEN	6
ABSTRACT.....	7
I. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. Descripción y Formulación del Problema.....	8
1.2. Antecedentes	12
1.3. Objetivos	17
1.3.1. <i>Objetivo General</i>	17
1.3.2. <i>Objetivos Específicos</i>	17
1.4. Justificación.....	17
II. MARCO TEÓRICO	20
2.1. <i>Salmonella enterica</i> No Tifoidea	20
2.1.1. <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	20
2.1.2. <i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> No Tifoidea	21
2.2. Salmonelosis.....	22
2.3. Patogénesis de <i>Salmonella enterica</i> No Tifoidea.....	23
2.4. <i>Salmonella enterica</i> No Tifoidea en el mundo y en el Perú.....	24
2.5. Características Genéticas de <i>Salmonella enterica</i> No Tifoidea	25
2.5.1. <i>Genes de Virulencia en S. enterica</i> No Tifoidea	25
2.5.1.1. Gen <i>pagC</i>	26
2.5.1.2. Gen <i>sifA</i>	26
2.5.2. <i>Genes Plasmídicos de Virulencia en S. enterica</i> No Tifoidea	26

2.5.2.1. Gen <i>spvC</i>	28
2.5.2.2. Gen <i>pefA</i>	29
2.6. Producción de biofilm en <i>Salmonella enterica</i> No Tifoidea.....	29
2.6.1. Definición de biofilm	29
2.6.2. Formación del biofilm	30
2.6.3. Métodos de evaluación fenotípica de producción de biofilm	31
2.6.3.1. Método de Microplaca.	31
2.6.4. Biofilm en <i>Salmonella enterica</i> No Tifoidea.....	32
2.6.4.1. Composición del biofilm en <i>S. enterica</i> No Tifoidea.	32
2.6.4.2. Propiedades del biofilm en <i>S. enterica</i> No Tifoidea.	32
2.7. Susceptibilidad y resistencia antimicrobiana en <i>S. enterica</i> No Tifoidea.....	33
2.7.1. Resistencia Antimicrobiana	33
2.7.2. Métodos de Evaluación Fenotípica de Susceptibilidad Antimicrobiana.....	34
2.7.3. Resistencia Antimicrobiana en <i>Salmonella enterica</i> No Tifoidea	35
III. MÉTODO	36
3.1. Tipo de Investigación	36
3.2. Ámbito Temporal y Espacial.....	36
3.3. Variables.....	36
3.4. Población y Muestra.....	38
3.4.1. Población.....	38
3.4.2. Muestra	38

3.5. Instrumentos	38
3.6. Procedimientos	38
3.6.1. <i>Reactivación de los aislamientos e identificación microbiológica</i>	38
3.6.2. <i>Identificación molecular de S. enterica</i>	40
3.6.3. <i>Amplificación de los genes de virulencia</i>	41
3.6.4. <i>Susceptibilidad antimicrobiana</i>	42
3.6.5. <i>Evaluación de producción de biofilm</i>	43
3.7. Análisis de Datos.....	44
3.8. Consideraciones Éticas.....	44
IV. RESULTADOS	45
4.1. Identificación fenotípica y genotípica de aislamientos clínicos de <i>S. enterica</i> No Tifoidea	45
4.2. Identificación de la presencia de genes de virulencia como <i>pagC</i> , <i>sifA</i> , <i>pefA</i> y <i>spvC</i> , en los aislamientos clínicos.....	47
4.3. Caracterización de la formación de biofilm de los aislamientos clínicos a 27°C en un intervalo de 48 horas	50
4.4. Descripción de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos clínicos	54
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	59
VI. CONCLUSIONES	72
VII. RECOMENDACIONES	74
VIII. REFERENCIAS	75

IX. ANEXOS	95
------------------	----

RESUMEN

Salmonella enterica No Tifoidea, es una de las principales causas de enfermedades de transmisión alimentaria a nivel mundial, y posee mecanismos de virulencia para generar cuadros más graves y favorecer su persistencia ambiental. **Objetivo:** Determinar la presencia de genes de virulencia, la producción de biofilm y la susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue del 2023. **Método:** Se reactivaron 21 aislamientos de *Salmonella enterica*. Se identificaron fenotípicamente 20 aislamientos No Tifoideos. Se detectaron los genes de virulencia *pagC*, *sifA*, *spvC* y *pefA* mediante PCR convencional. Se evaluó la formación de biofilm por el método de microplacas. Se caracterizaron los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana frente a siete clases de antibióticos. **Resultados:** Se obtuvo un 30% (6/20) de aislamientos causantes de infecciones invasivas. Los genes de virulencia cromosómicos *pagC* y *sifA* se detectaron en todos los aislamientos, y los plasmídicos *spvC* y *pefA*, en el 35% (7/20). Todos los aislamientos produjeron biofilm a 27°C, donde el 40% (8/20) fueron productores fuertes de biofilm. El 70% (14/20) fue susceptible a cefalosporinas de tercera generación (cefepima y cefotaxima) y cloranfenicol. Se encontró una tasa de susceptibilidad intermedia de 65% (13/20) a ciprofloxacino. **Conclusiones:** Los aislamientos clínicos de *S. enterica* No tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue de Lima del año 2023 presentan una combinación de mecanismos de virulencia y algunas fueron causantes de infecciones invasivas, lo cual resalta la importancia de caracterizar estos mecanismos en cepas del ambiente hospitalario local.

Palabras clave: *Salmonella*, No tifoidea, genes de virulencia, formación de biofilm.

ABSTRACT

Non-typhoidal *Salmonella enterica* is one of the leading causes of foodborne illness worldwide and possesses virulence mechanisms that contribute to more severe clinical presentations and favor its environmental persistence. **Objective:** To determine the presence of virulence genes, biofilm production, and antimicrobial susceptibility in clinical isolates of non-typhoidal *S. enterica* from the Hipólito Unanue National Hospital in 2023. **Methods:** Twenty-one *Salmonella enterica* isolates were reactivated, of which 20 were phenotypically identified as non-typhoidal. The virulence genes *pagC*, *sifA*, *spvC*, and *pefA* were detected by conventional PCR. Biofilm formation was assessed using the microplate method. Antimicrobial susceptibility profiles were characterized against seven antibiotic classes. **Results:** Invasive infections accounted for 30% (6/20) of the isolates. The chromosomal virulence genes *pagC* and *sifA* were detected in all isolates, whereas the plasmid-borne genes *spvC* and *pefA* were detected in 35% (7/20). All isolates produced biofilm at 27 °C, with 40% (8/20) classified as strong biofilm producers. Seventy percent (14/20) of isolates were susceptible to third-generation cephalosporins (cefepime and cefotaxime) and to chloramphenicol. An intermediate susceptibility rate of 65% (13/20) was observed for ciprofloxacin. **Conclusions:** Clinical isolates of non-typhoidal *S. enterica* from the Hipólito Unanue National Hospital in Lima in 2023 exhibited a combination of virulence mechanisms, and some were responsible for invasive infections, underscoring the importance of characterizing these mechanisms in strains circulating within the local hospital environment.

Keywords: *Salmonella*, non-typhoidal, virulence genes, biofilm formation.

I. INTRODUCCIÓN

Salmonella enterica es una Enterobacteria Gram negativa, con más de 2600 serovariedades entre variedades tifoideas y no tifoideas (Cheng et al., 2019), y son las variedades no tifoideas, las cuales son causantes de un poco más de la quinta parte de las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) a nivel mundial (Havelaar et al., 2015). Este patógeno representa una amenaza a la salud pública al originar brotes de ETA, por lo cual la caracterización de los principales aislamientos en determinada región y tiempo contribuye a la prevención de la transmisión de este patógeno. En el presente trabajo de tesis, se realizó la identificación de la presencia de genes de virulencia, la producción de biofilm y la susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* No Tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el año 2023.

1.1. Descripción y Formulación del Problema

Anualmente se registran de 200 millones a 1 billón de infecciones originadas por *S. enterica* a nivel mundial, de las cuales 94 millones de casos corresponden a gastroenteritis y 155 000 muertes al año en humanos (Lamichane et al., 2024). Con cerca de 2600 serovariedades, las serovariedades no tifoideas son todas aquellas que no producen el cuadro clínico de fiebre entérica tifoidea en humanos, y se ha determinado que son todos aquellos serotipos que no sean Typhi, Paratyphi A, Paratyphi B, Paratyphi C, y Sendai (Cheng et al., 2019). Los serotipos No Tifoideos son considerados patógenos de amplio espectro de hospederos, puesto que también infectan a diversos animales (Lamichane et al., 2024). La salmonelosis, llámese así a la infección originada por *S. enterica*, se posiciona como una de las enfermedades de transmisión alimentaria de alto riesgo para la salud pública de manera mundial. En regiones como América Latina, la incidencia de casos de salmonelosis es de 200 a 500 casos por 100 000 habitantes, de manera anual (Quino et al., 2020).

La salmonelosis usualmente es una infección gastrointestinal auto limitada, pero puede convertirse en una infección sistémica (GBD 2017 Non-Typhoidal Salmonella Invasive Disease Collaborators, 2019). Sin embargo, esto último dependerá de diversos factores como las características inherentes de las cepas (la serovariedad, composición genética, etc.) y factores de riesgo del hospedero (Cheng et al., 2019). Niños menores de 5 años, las personas ancianas y personas inmunocomprometidas son más susceptibles a presentar cuadros graves de salmonelosis, como lo es la salmonelosis invasiva o sistémica. Según GBD 2017 Non-Typhoidal Salmonella Invasive Disease Collaborators (2019), la salmonelosis no tifoidea invasiva ha resultado en una tasa de 1.46 muertos por millón de habitantes en América Latina y el Caribe, y señalan que se trataría de una tasa subestimada de mortalidad, debido a la falta de estudios en la región y omisión de los casos que no logran atenderse en un servicio de salud debido a la falta de acceso. En el Perú, *S. enterica* No Tifoidea, es uno de los principales patógenos entéricos causantes de brotes por intoxicación alimentaria (Carrasco-Escobedo et al., 2013; Hurtado et al., 2022; Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú [SENASA], 2023).

Para lograr la supervivencia y adaptación dentro del hospedero, *S. enterica* posee genes de virulencia. Estos se encuentran a lo largo de su genoma en estructuras genéticas como islas de patogenicidad (SPI, por sus siglas en inglés), en otras zonas del cromosoma, y en plásmidos de virulencia o profagos (Jajere, 2019). Estos genes codifican factores de virulencia que llevan a cabo la patogénesis, siendo parte de mecanismos de invasión, adhesión a células del hospedero, secreción y producción de toxinas, además que pueden participar también en la adaptación al entorno ambiental como alimentos, cuerpos de agua y suelos (Wang et al., 2020b). Estudios como el de Ouali et al. (2021) y Pavon et al. (2022), evidencian que la caracterización de perfiles de genes de virulencia en *S. enterica* No Tifoidea, permiten la estimación de cepas con potencial a desarrollar brotes y las que puedan desarrollar una

enfermedad invasiva, y tomar medidas de prevención y control de diseminación de estas cepas. Sin embargo, en el Perú, son muy pocos los estudios que abarcan la caracterización de genes de virulencia de *S. enterica* No Tifoidea (Quino et al., 2020).

Algunos estudios mencionan que la presencia de ciertos genes de virulencia estaría asociada al serotipo de *S. enterica* No Tifoidea. Por ejemplo, Sedrakyan et al. (2022) en un estudio de salmonelosis No Tifoidea en Armenia durante el 2003 al 2021, describen ciertos genes de virulencia presentes en todos los serotipos, y otros genes solo en algunos serotipos, indicando así la variabilidad de la presencia de estos genes en serotipos No Tifoideos. Esto, demuestra la necesidad de seguir en la caracterización de los genes de virulencia de *S. enterica* No Tifoidea.

Entre los factores de virulencia de *S. enterica* No Tifoidea, se encuentra la producción de biofilm, que permite su adaptación a condiciones del ambiente formando complejos de biofilm hasta el momento que pueda infectar a un hospedero (humanos y animales), lo cual contribuye de manera sustancial a la contaminación cruzada y su dispersión (Steenackers et al., 2012). Por ello, una de las vías usuales de transmisión es desde alimentos provenientes de animales hospederos (animales de granja usualmente) (Borges et al., 2018) hacia los humanos, quienes consumen alimentos contaminados provenientes de esos ambientes. Es así como, un estudio demostró que las cepas de *S. enterica* No Tifoidea que forman agrupaciones de biofilm, son más resistentes a desinfectantes y antibióticos que su forma plantónica (Chylkova et al., 2017), lo cual implica un problema de control de dispersión de este patógeno. MacKenzie et al. (2019) describen que la producción de biofilm en *S. enterica* No Tifoidea, ha evolucionado de acuerdo con el tipo de infección que origine, ya sea invasiva o gastrointestinal, a través de cambios en la expresión génica de los componentes del biofilm.

La transmisión de *S. enterica* es a través de alimentos o aguas contaminadas ingeridas por el hospedero; esta característica, permite que esta bacteria funcione como un reservorio

ambiental (fuera del hospedero) de mecanismos de resistencia antimicrobiana (Martone-Rocha et al., 2023), contribuyendo a este problema de salud pública mundial. La Organización Mundial de la Salud, cataloga que *S. enterica* es uno de los patógenos de prioridad alta debido al creciente reporte de aislamientos resistentes a fluoroquinonas, antibiótico de amplio espectro que ha sido utilizado en primera línea para el tratamiento de salmonelosis, y a cefalosporinas de tercera generación (Tacconelli et al., 2018). En el año 2024, la OMS volvió a posicionar a *S. enterica* No Tifoideas resistentes a fluoroquinonas, como patógeno de alta prioridad en cuanto a la vigilancia de resistencia antibiótica (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2024b). Esta alerta, se genera porque la resistencia antimicrobiana en este patógeno contribuye de manera indirecta al aumento de la resistencia de *S. Typhi*, comprometiendo el uso de fluoroquinonas en casos de fiebre tifoidea. En los últimos años se ha visto la creciente aparición de cepas No Tifoideas resistentes a los antibióticos que se suelen utilizar en casos de salmonelosis invasiva (Pietsch et al., 2021; Quino et al., 2019).

La matriz extracelular producida en la formación de biofilm, permite el intercambio de genes de resistencia antibiótica a través de transferencia horizontal, también, y que confiere a las células bacterianas que lo forman, una protección o impermeabilidad de los antimicrobianos o desinfectantes que se utilicen o apliquen contra ellas (Dutt et al., 2022). Y esta problemática, se ve reflejada en recientes estudios, por ejemplo, Zhou et al. (2019) encuentran una correlación positiva entre la resistencia antimicrobiana y la biomasa de biofilm producida por aislamientos de cepas de *S. enterica*. No Tifoidea Serovar Enteritidis aisladas de niños con gastroenteritis. Esto resalta la emergencia de cepas con potencial de poseer este mecanismo de virulencia y a su vez el potencial de diseminar genes o elementos de resistencia antimicrobiana.

Cabe mencionar que la capacidad de formar biofilm en *S. enterica*, ha sido caracterizada, encontrando que esta capacidad no está restringida según el origen de aislamiento de la cepa (humano, animal, ambiental) y que hay diferencias de esta capacidad

entre los diferentes serotipos No Tifoideos de *S. enterica* (Liu et al., 2023). Petrin et al. (2022) hallaron que serotipos No Tifoideos como Tiphymurium y Enteritidis, serotipos frecuentes de infecciones en humanos, mostraron ser productores débiles a moderados de biofilm. mientras que Dublin fue el serotipo que mejor se adaptó a todas las condiciones experimentales siendo un productor fuerte de biofilm en todas las condiciones. Esto resalta la relevancia de la caracterización de cepas No Tifoideas de diversos serotipos y de diferentes orígenes de aislamiento. La producción de biofilm puede contribuir a su supervivencia en el ambiente y superficies, convirtiéndose en un reservorio para originar infecciones humanas.

Por lo expuesto, se desea resolver la siguiente pregunta de investigación ¿Cuáles son los genes de virulencia, la producción de biofilm y la susceptibilidad antimicrobiana de aislados clínicos de *Salmonella enterica* No Tifoideas del Hospital Hipólito Unanue durante el 2023?

1.2. Antecedentes

Salmonella enterica No Tifoidea es una de las bacterias más importantes de la salud pública por originar una enfermedad de transmisión alimentaria y zoonótica, como lo es la salmonelosis. El estudio de los genes de virulencia, mecanismos de producción de biofilm y susceptibilidad antimicrobiana, contribuye a la vigilancia de este patógeno zoonótico importante.

Como bacteria transmitida por alimentos, *S. enterica* No Tifoidea posee mecanismos patogénicos que le permiten el éxito de la infección del hospedero y supervivencia en el ambiente hasta una nueva infección. Estos mecanismos se basan en la expresión de genes de virulencia, que van asociados a rasgos fenotípicos como producción de biofilm, producción de toxinas, adhesión e invasión (Cheng et al., 2019). Se han caracterizado perfiles de diversos genes de virulencia ya sean cromosómicos o plasmídicos, en cepas No Tifoideas de diferentes orígenes: humano (aislamientos clínicos) o no humano (animales, ambiental, alimentos), encontrándose una distribución variada de estos (Bahramianfard et al., 2021; Sedrakyan et al.,

2022; Yue et al., 2020). Por ejemplo, Nikiema et al. (2021) evaluaron genes de virulencia cromosómicos como *fimA* y *stn*, y genes de virulencia plasmídicos como *spvR* y *spvC*, encontrando hasta 11 diferentes tipos de perfiles de genes de virulencia en cepas de *S. enterica* No Tifoidea de origen humano y animal. Además, estos autores sugieren que esta variabilidad genética puede ser producto de una transferencia de plásmidos de virulencia entre cepas de animales (reservorios asintomáticos de *S. enterica* No Tifoidea) y cepas de humanos.

La caracterización de genes de virulencia cromosómicos como *pagC* – asociado a la adhesión, producción de biofilm y vesículas extracelulares (Lu et al., 2020)- y *sifA* – gen asociado a la proteína efectora del sistema de secreción Tipo 3 (T3SS) – se ha realizado en cepas de *S. enterica* y cepas No Tifoideas, de diverso origen. Por ejemplo, Yue et al. (2020) analizaron por amplificación por PCR el gen *pagC*, 61 aislamientos clínicos de *S. enterica* de niños con diarrea entre los años 2013 y 2015, encontrando una frecuencia de 100% (61/61), indicando así a este gen como un posible marcador de virulencia en *S. enterica* No Tifoidea. Este último estudio concuerda con lo encontrado por Sain et al. (2024), donde encuentran que el gen *pagC* estaban presentes todos los aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea aislados de hisopados rectales de pollos, que a la par tenían otros múltiples genes de virulencia. Lozano-Villegas et al. (2023), encuentran que *pagC* y *sifA* tienen una frecuencia de 100% (10/10) en aislamientos humanos de *S. enterica*, mientras que el gen *pagC* tenía una frecuencia de 97.4% (38/39) en aislamientos de aves de corral.

Lu et al. (2020) hallaron también que la presencia del gen *pagC* regularía de manera negativa la producción de biofilm y estaría asociado de manera positiva con la producción de vesículas extracelulares en *S. enterica* No Tifoidea Serovar Pullorum. Por otro lado, Hasson et al. (2022), encuentran una asociación positiva entre la formación de biofilm y la presencia de *pagC* en aislamientos de *S. enterica* aislados de terneros.

Otros genes de virulencia plasmídicos, como *pef* – asociado a la adhesión y colonización de células hospederas – y *spv* – involucrado en la supervivencia intracelular y evasión del sistema inmune del hospedero; han sido evaluados en cepas de *S. enterica* No Tifoidea. Krishnakant et al. (2024), en un estudio genómico de más de 12 000 aislamientos de 46 serotipos diferentes, hallan que serotipos no tifoideos como Typhimurium, Dublin, Enteritidis, Choleraesuis, Gallinarum, y Pullorum eran portadores del plásmido de virulencia de *Salmonella* conteniendo el gen de virulencia *spv*. En China, Yue et al. (2020), analizaron por amplificación por PCR, 61 aislamientos clínicos de *S. enterica* de niños con diarrea entre los años 2013 y 2015, encontrando una frecuencia de 13.11% (8/61) para el gen *spvB*, y 18.03% (11/61) para el gen *pefA*. En Italia, de un total de 150 aislamientos clínicos de *S. enterica*, se encontró una frecuencia de 4.66% (7/150) para el gen *spvC*, y 22.6% (34/150) para el gen *pefA*, analizados por PCR (Proroga et al., 2018).

La caracterización de la producción de biofilm en aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea, se ha descrito en diferentes estudios alrededor del mundo. Por ejemplo, Liu et al. (2023), describieron la producción de biofilm en aislamientos humanos, animales y ambientales en China, mediante el método cuantitativo de microplaca por tinción con cristal violeta. Este estudio encontró que el 99% (240/241) produce algún tipo de biofilm (fuerte, moderado o débil, según la densidad óptica), y de estos, el 2.88% produce biofilm “fuerte”. Cabe mencionar que también encontraron una relación positiva con la frecuencia de detección de los genes del operon *pefABCD* y la producción de biofilm.

En otro estudio, se observó que cerca del 92.2% (224/243) de las cepas de origen animal y de las serovariedades Enteritidis y Typhimurium, de Brasil, producían biofilm a 37°C o 28°C, mediante el método de microplaca (Borges et al., 2018). En Italia, se caracterizaron aislamientos de 15 serotipos diferentes y de diferente origen de aislamiento, encontrando que el 99% (87/88) producían biofilm mediante el método de microplacas, cabe mencionar que este

estudio resalta que la producción de biofilm depende de las condiciones del experimento, como composición del medio de crecimiento (Petrin et al., 2022). Es así como Nair et al. (2015) y Liu et al. (2023), encuentran que no existe relación entre la fuente de aislamiento de cepas de *S. enterica* y la producción de biofilm; ambos estudios encontraron un 24.28% (59/243) y un 17.5% (7/40) de productores moderados de biofilm, respectivamente.

Existe una creciente tasa de aumento de resistencia antimicrobiana en aislamientos de *S. enterica* No Tifoideas (OMS, 2024b), por ello se realizan diversos estudios de descripción de la susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos humanos y no humanos de *S. enterica*, de manera fenotípica y también genotípica. En China, se realizó un estudio descriptivo de la tasa de susceptibilidad antimicrobiana de 1388 aislamientos clínicos de *S. enterica*. No Tifoidea de niños con diarrea del periodo de 2016 – 2021, encontrando que un 84% de las cepas eran resistentes a ampicilinas, cerca de un 40%, eran resistentes a cefalosporinas de tercera generación y un 6.7%, resistentes a ciprofloxacino (Gao et al., 2023). Rezaei et al. (2022) en un estudio de 138 aislamientos de heces de niños de *S. enterica* No Tifoidea, hallaron que el 27% (38/138) eran resistentes a sulfametoxazol-trimetoprima, el 8% (11/138) eran resistentes a ampicilinas, y solo un 4% (5/138) resistentes a ciprofloxacino.

En el Perú se ha realizado la vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *S. enterica* No Tifoidea, y en algunos casos, la descripción de los mecanismos de resistencia. Garcia et al. (2019) en un estudio de 50 aislamientos de *S. enterica* de pacientes con salmonelosis del Hospital Cayetano Heredia, registraron que un 36% (18/50) eran *S. enterica* Serovar Infantis (18/50), y que todas estas cepas producían enzimas Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEE) además de ser resistentes a ceftriaxona y ciprofloxacino, mientras otras cepas No Tifoideas como *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, el 37.5% de aislamientos eran susceptibles a ciprofloxacino.

Quino et al. (2020) encontró porcentajes de resistencia antimicrobiana mayores al 50%, de 520 aislados de *S. enterica* No Tifoidea de origen humano, un 63% eran resistentes a ciprofloxacino, 63% a tetraciclina, y 53% a cefotaxima, entre otros antibióticos que evaluaron. Cabe resaltar que también identificaron la presencia de producción de BLEEs, en un porcentaje de 43.3% (234/240) de los aislamientos de origen humanos y no humano. Esto, difiere con lo reportado por Ruiz et al. (2022), quienes analizaron 63 aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* spp. durante 2009 –2010 y 2012-2014 en un hospital de Lima, y encontraron cerca del 26% de cepas resistentes a levofloxacino y ciprofloxacino, mientras que un 23% a cefotaxima. Al realizar la comparación entre ambos periodos, ellos registran un aumento de las infecciones con aislamientos multidrogo-resistentes y extensivamente drogo-resistentes en pacientes no hospitalizados.

Como se mencionó anteriormente, las serovariedades circulantes en el Perú más comunes son *Infantis*, *Typhimurium* y *Enteritidis*, y los estudios epidemiológicos se han enfocado en la caracterización de estos serotipos en específico. De esta manera, de 193 cepas de *S. Infantis* recolectadas durante los años 2014 y 2016 por el Instituto Nacional de Salud (INS), se halló un 74% (143/193) de *S. Infantis* productoras de BLEE, siendo resistentes a cefotaxima y ampicilina (Quino et al., 2019). Por otro lado, Hurtado et al. (2022), describe los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de 90 aislamientos de *S. Typhimurium* recolectados entre los años 2000 y 2017, donde encuentran que un 12% (11/90) son multidrogo resistentes.

Por otro lado, se tiene que Ćwiek et al. (2020), analizaron cepas de *S. Enteritidis* para encontrar la asociación entre la formación de biofilm y cepas multidrogoresistentes, sin embargo, no hallaron una correlación significativa. Asimismo, Chen et al. (2022), hallaron que *S. Typhimurium* de secuencia tipo 34 (ST34) que poseían comportamiento multicelular - el cual es característico de la formación de biofilm - presentaban una asociación significativa entre una fuerte producción de biofilm y un fenotipo de multidrogorresistencia, en comparación

con las cepas que no tenían este comportamiento multicelular. Voss-Rech et al. (2023) encontraron una correlación negativa entre el fenotipo de multidrogorresistencia y la producción de biofilm en cepas de *S. enterica* aisladas de granjas, por lo que sugieren que la producción de biofilm confiere la protección necesaria a las cepas susceptibles a los antibióticos, para su supervivencia en el ambiente.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Determinar la presencia de genes de virulencia, la producción de biofilm y la susceptibilidad antimicrobiana en aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue del 2023

1.3.2. Objetivos Específicos

- Identificar de manera fenotípica los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea del 2023 del Hospital Nacional Hipólito Unanue
- Identificar de manera genotípica los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea del año 2023 del Hospital Nacional Hipólito Unanue, mediante la amplificación del gen *invA*
- Identificar la presencia de genes de virulencia como *pagC*, *sifA*, *pefA* y *spvC*, en los aislamientos clínicos.
- Caracterizar la formación de biofilm de los aislamientos clínicos a 27°C en un intervalo de 48 horas.
- Describir los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos clínicos.

1.4. Justificación

La caracterización de los aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea provenientes de un hospital de tercer nivel de la región de Lima Este, permite el mapeo de cepas con potencial

para desarrollar brotes epidemiológicos y, en futuros estudios analizar sus relaciones filogenéticas con otras cepas de diferentes orígenes como alimentos, ambiente o animales, recuperadas de la misma zona geográfica (Martínez-Puchol et al., 2020).

S. enterica No Tifoidea al ser uno de los principales patógenos causantes de brotes de enfermedades de transmisión alimentaria en el Perú (Hurtado et al., 2022), este trabajo se centra en esta enfermedad transmisible como lo es la salmonelosis, en marco del logro del Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) 3 de la Organización Mundial de la Salud (Organización Mundial de la Salud [OMS], 2024a).

Si bien, la prevalencia de los casos de salmonelosis invasiva por *S. enterica* No Tifoidea es baja en los hospitales del Perú (Parra-Payano et al., 2019), el presente trabajo de investigación otorga conocimiento basado en evidencia para la toma de medidas de prevención contra estas infecciones, con el fin de reducir los costos económicos e ingresos de hospitalización que las infecciones invasivas conllevan en el sistema nacional de salud.

En el Perú, son escasos los estudios de caracterización de factores de virulencia en *S. enterica* No Tifoideas. La identificación de la presencia de genes de virulencia, en general, permite dar a conocer el perfil de estos genes en los aislamientos clínicos, y caracterizar su capacidad de patogénesis en base a ello. Se vale mencionar que la transmisión de elementos genéticos móviles, como plásmidos, es un mecanismo importante entre bacterias para la transferencia de genes de virulencia y hasta genes de resistencia antimicrobiana (von Wintersdorff et al., 2016). Así también, la identificación de la presencia de genes de virulencia plasmídicos reflejará la frecuencia de plásmidos en los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea, y permitirá reconocer cepas de importancia que representen un riesgo en diseminación horizontal de plásmidos de virulencia en esta especie, como ya se había señalado en un estudio anterior en el Perú (Silva et al., 2017a).

La formación de biofilm constituye un proceso de respuesta y defensa de *S. enterica* No Tifoidea, para su supervivencia en el ambiente antes de la infección al hospedero, durante su ciclo de patogénesis (Aleksandrowicz et al., 2023). Identificar las características del biofilm que producen aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea de origen clínico, cuya área de estudio ha sido poco revisada en el Perú, ayuda a comprender la dinámica y evolución de estas cepas desde su fase en el ambiente hasta lograr la infección en humanos.

El presente estudio contribuye a la vigilancia de la resistencia antimicrobiana de *S. enterica* No Tifoideas en un entorno hospitalario. Esto se realiza en el marco del Plan Multisectorial para la contención de la Resistencia a los Antimicrobianos 2024-2030 bajo el enfoque de “Una Salud” (PNM-RAM), plan organizado por la Comisión Multisectorial de naturaleza permanente para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos conformada por el Decreto Supremo N° 010-2019-SA, en nuestro país (Instituto Nacional de Salud [INS], 2024). A su vez, el presente trabajo, adiciona la información necesaria para realizar un análisis de la tendencia de la resistencia antimicrobiana de esta bacteria en los principales hospitales de Lima, como lo es el Hospital Nacional Hipólito Unanue, entre otros (Ruiz et al., 2022).

II. MARCO TEÓRICO

2.1. *Salmonella enterica* No Tifoidea

2.1.1. *Salmonella enterica* subsp. *enterica*

Salmonella es un género perteneciente a la familia *Enterobacteriaceae*, y son bacterias Gram negativas aerobias facultativas. Este género, comprende 2 especies: *S. enterica* y *S. bongori*. La especie *enterica* a su vez, posee 6 subespecies denominadas *S. enterica* subsp. *enterica*, *indica*, *salamae*, *houtenae*, *diarizonae* y *arizonae*, como se observa en la Figura 1 (Cheng et al. 2019). Estas subespecies son clasificadas según la variación antigénica del antígeno somático (O), de las flagelinas (H) y antígenos de superficie (Vi), siendo así asignadas a una serovariedad, de esta manera, dentro del género existen más de 2600 serovariedades (Patrick y Grimont, 2007).

Dentro de la especie *S. enterica*, existe la subespecie *enterica*, la cual es la causante principal de infecciones entéricas adquiridas de manera comunitaria en países en vías de desarrollo (Gal-Mor, 2018). Esta subespecie se divide desde el punto de vista clínico, en: el complejo de *Salmonella* Tifoidea, que causan el cuadro clínico de fiebre entérica tifoidea como *S. enterica* subsp. *enterica* serovariedad Typhi, Paratyphi, Sendai, y el complejo de *Salmonella* No Tifoidea, la cual comprende las demás serovariedades (Crump et al., 2015). Tal como se observa en la Figura 1, la subespecie *enterica* posee un poco más de 1580 serovariedades entre tifoideas y no tifoideas.

conllevaron a la evolución reductiva de las cepas Tifoideas para convertirse en patógenos estrictos de hospederos humanos (Rana et al., 2021).

2.2. Salmonelosis

Se puede denominar salmonelosis a la infección bacteriana generada por *Salmonella*, la cual ingresa por el tracto digestivo y es transmitida mediante la ingestión de alimentos (vegetales, carne, aves, huevos, leche no pasteurizada) y agua contaminada. Esta infección puede ser: a) invasiva, que se caracteriza por un cuadro de enfermedad extra-intestinal, con fiebre, vómitos, dolor de cabeza; y b) no invasiva, que se caracteriza por presentarse como una gastroenteritis limitada por el sistema inmune del hospedero (Cheng et al., 2019). Cabe mencionar, que la salmonelosis en humanos y animales de sangre caliente por esta bacteria son causadas en su mayoría por las serovariedades de *S. enterica* subsp. *enterica*, mientras que las demás subespecies están relacionadas con infecciones a animales de sangre fría como reptiles y anfibios (Gal-Mor, 2018). No obstante, se han reportado casos clínicos relacionados con algunas de estas otras subespecies, como es el caso de *S. enterica* subsp. *arizonae* (Mahajan et al., 2003).

S. enterica No Tifoidea origina comúnmente una gastroenteritis autolimitada que puede tener una duración de 5 a 7 días, los signos más comunes que acompañan esta infección son náuseas, vómitos, dolor de cabeza, dolor abdominal, diarrea y dolor muscular, cabe resaltar que una prolongada pérdida de líquidos puede ser fatal en recién nacidos o ancianos (Sima et al., 2024). También, existen casos de infecciones invasivas y crónicas por estos serotipos no tifoideos, usualmente en pacientes inmunocomprometidos o pacientes de riesgo como personas ancianas o niños (Wen et al., 2017). Se sustenta que cepas No Tifoideas invasivas emergieron de eventos genéticos como mutaciones puntuales, presencia de polimorfismos de nucleótido único (SNP, por sus siglas en inglés) y degradación del genoma, en cepas No Tifoideas no invasivas (Rana et al., 2021).

2.3. Patogénesis de *Salmonella enterica* No Tifoidea

El periodo de incubación de *S. enterica* No Tifoidea desde el contagio por vía oral, es de 6 horas a 6 días usualmente, y la infección puede tener una duración de 5 a 7 días, con la posibilidad de que la bacteria siga apareciendo en las heces del infectado luego de un mes o más (Sima et al., 2024). De manera usual la infección por *S. enterica* No Tifoidea se localiza en el íleo terminal, colon y nodos linfáticos mesentéricos. Para la invasión del epitelio intestinal, primero *S. enterica* atraviesa la lámina mucosa y enfrenta la resistencia que se le presenta por parte del microbiota intestinal, osmolaridad, pH, oxígeno y sustancias antimicrobianas del intestino. Para la entrada a las células epiteliales del intestino, *S. enterica* se vale de dos mecanismos llamados “trigger” y “zipper” (Li, 2022). Estos se diferencian en las proteínas involucradas y la reestructuración del citoesqueleto de la célula hospedera, mientras que el primer mecanismo utiliza proteínas del Sistema de Secreción Tipo 3 (T3SS, por sus siglas en inglés) y un rearrreglo mayor del citoesqueleto, el segundo mecanismo utiliza la unión de proteínas ligandos de *S. enterica* con proteínas receptoras de las células hospederas generando menos cambios en el citoesqueleto de la célula hospedera (Li, 2022). Cabe mencionar que una vez dentro de la célula hospedera, *S. enterica* sobrevive dentro de una vacuola, que se le denomina “Vacuola Contenedora de Salmonella” (SCV, por sus siglas en inglés).

Luego de la invasión a las células epiteliales, *S. enterica* puede traspasar a la lámina propia, al ser expulsada desde los SCV o en el momento de la extrusión epitelial que ocurre de manera orgánica al renovarse las células epiteliales del intestino cada 3 o 4 días (Rana et al., 2021). En la lámina propia, puede ser fagocitada por células dendríticas o macrófagos intestinales, donde también pueden persistir con el uso de genes de virulencia escapando de la fagocitosis y en forma de SCV (Wen et al., 2017). Se ha visto que la supervivencia dentro de

estos leucocitos, como macrófagos, monocitos, es uno de los mecanismos por el cual se diseminan a través del torrente sanguíneo, generando infecciones extraintestinales (Li, 2022).

2.4. *Salmonella enterica* No Tifoidea en el mundo y en el Perú

En Europa, los casos de salmonelosis entre los años 2017 y 2021, fueron de un poco más de 60 000 afectados, y *S. enterica* No Tifoidea es posicionada como el patógeno líder de brotes alimentarios causando 773 casos de brotes, con 1123 hospitalizaciones (European Food Safety Authority [EFSA] y European Centre for Disease Prevention and Control [ECDC], 2022). En Estados Unidos y en Europa, las serovariedades No Tifoideas como *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium* son reconocidas como las principales en causar salmonelosis en humanos, además de serovariedades como Newport, Javiana, Infantis, y Typhimurium Monofásico 4,[5],12:i:- (National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (U.S.). Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases, 2018), destacando que animales domésticos y salvajes, los cuales funcionan como reservorios de los serotipos No Tifoideos, son la principal ruta de transmisión.

En el Perú, se han reportado hasta 234 brotes de enfermedades de transmisión alimentaria entre los años 2014 y 2018, siendo que *S. enterica* es uno de los principales patógenos de estos brotes, por ejemplo, en el año 2018, 37.9 % (11/29) del total de brotes fueron causados por *Salmonella* (Hurtado et al., 2022; Vargas, 2019). Quino et al. (2020), describen las serovariedades de *S. enterica* No Tifoidea circulantes en el Perú durante los años 2012 y 2015, siendo *Salmonella* Infantis, Enteritidis y Typhimurium, las más comunes. Los autores encontraron aislamientos multidrogo resistentes y productores de betalactamasas, indicando la importancia de la vigilancia epidemiológica de los aislamientos de este patógeno. Garcia et al. (2019), concuerda con el estudio mencionado, al reportar que, de los 50 casos de salmonelosis del Hospital Nacional Cayetano Heredia, los serotipos más frecuentes fueron Infantis, Enteritidis y Typhimurium. Granda et al. (2019) encontraron hasta un 9% (26/280) de

casos de infecciones gastrointestinales en niños menores de 6 años de cuatro hospitales de Lima, originados por las serovariedades Infantis y Typhimurium.

2.5. Características Genéticas de *Salmonella enterica* No Tifoidea

2.5.1. Genes de Virulencia en *S. enterica* No Tifoidea

Para el éxito de la patogénesis de *S. enterica* No Tifoidea, la supervivencia y adaptación dentro del hospedero, esta bacteria posee una serie de genes asociados a la virulencia que se encuentran en el cromosoma, en islas de patogenicidad de *Salmonella* (SPI, por sus siglas en inglés), en plásmidos de virulencia, y en profagos (Cheng et al., 2019; Jajere, 2019). De los 4500 genes identificados en el genoma de *S. enterica* No Tifoidea, se han identificado hasta 135 genes asociados a virulencia gracias al secuenciamiento de genoma completo de estas cepas no tifoideas (Ju et al., 2023). Estos genes codifican para proteínas efectoras de sistemas de secreción, proteínas de sistemas de adhesión, de invasión, toxinas, entre otras funciones que median el éxito de la patogénesis.

Los genes de virulencia más caracterizados en *S. enterica*, son los que pertenecen a los SPI. Se han identificado hasta 24 SPI identificadas para el género, sin embargo, se tienen una distribución variada en las serovariedades, encontrando hasta algunas SPI específicas para una serovariedad (Wang et al., 2020a). Por ejemplo, SPI-1 y SPI-2, son las islas de patogenicidad que contienen los genes que codifican el sistema T3SS que permite introducir proteínas efectoras de la invasión y replicación desde la bacteria hacia la célula hospedera, y las proteínas efectoras para supervivencia dentro de las SCV (Rana et al., 2021; Wen et al., 2017). Lu et al. (2022) describen otras importantes SPI como: SPI-3 involucrada en la supervivencia en ambientes con baja concentración de magnesio y la formación de biofilm; SPI-4 que codifica para el sistema de secreción Tipo 1 (T1SS, por sus siglas en inglés), y SPI-5 que se relaciona con la respuesta al sistema inmune y asociado a la invasión de macrófagos.

2.5.1.1. Gen *pagC*. El gen de virulencia *pagC*, es un gen ubicado en el cromosoma de *S. enterica*, que se ha caracterizado por estar presente en diferentes serovariedades (Wang et al., 2020a). Este gen codifica para una fosfatasa periplásmica no específica, la cual es una proteína de membrana externa (OMP, por sus siglas en inglés), cuya expresión está regulada por un sistema de dos componentes denominado como *phoP/phoQ* (Park y Groisman, 2014). Este gen también promueve la producción de vesículas de membrana externa (OMV, por sus siglas en inglés) las cuales están enriquecidas con esta proteína PagC, en *S. enterica* No Tifoidea, como los serovares Pullorum (Lu et al., 2020) y Typhimurium (Dehinwal et al., 2021). Estos últimos autores, además encuentran que *pagC* facilita la supervivencia y propagación de *S. Typhimurium*, puesto que actúa como inactivador del sistema del complemento C3b del suero del hospedero.

2.5.1.2. Gen *sifA*. El gen *sifA* se encuentra ubicado en la isla de patogenicidad SPI-2 de *S. enterica*, y codifica para una proteína efectora denominada SifA, la cual contribuye para la formación de “filamentos inducidos por *Salmonella*” (SIF), y a la estabilidad de la membrana de las SCVs (Beuzón et al., 2000). Liss et al. (2017) demostraron que los filamentos inducidos por *Salmonella* producidos por la proteína SifA benefician a la supervivencia de las SCVs y a la replicación de *Salmonella* dentro de los SCVs. También, Mitchell et al. (2004), describen a SifA, como la proteína efectora que disminuye la expresión en la superficie de la célula hospedera de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de Clase II, interfiriendo así con el mecanismo de presentación de antígenos a linfocitos del sistema inmune hospedero, de manera que puede sobrevivir intracelularmente.

2.5.2. Genes Plasmídicos de Virulencia en *S. enterica* No Tifoidea

Los plásmidos son elementos genéticos móviles que poseen genes para su propia replicación y su transferencia; estos pueden ser adquiridos de manera horizontal (conjugación), o de manera vertical (plásmidos no conjugativos). Asimismo, existen plásmidos no

conjugativos pero conjugables (pueden transferirse horizontalmente en presencia de plásmidos conjugativos que establezcan la conexión entre bacterias). Los plásmidos presentes en *Salmonella* pueden ser grandes con tamaño desde 50 kilobases hasta 200 kilobases, o pequeños de 2 hasta 10 kilobases (Rychlik et al., 2006).

En *S. enterica*, se han identificado plásmidos que contienen genes de resistencia y de virulencia, mientras que algunos son plásmidos conjugativos, y otros no lo son. Por ejemplo, Abraham et al. (2019), describen que de 15 aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea que contenían plásmidos de tamaños desde 0.4 a 38.4 kilobases, 13 de los aislamientos podían transferir sus plásmidos mediante conjugación. Por otro lado, Feng et al. (2012), señalan que la mayoría de los plásmidos de virulencia de *S. enterica* No Tifoidea son no transferibles, y que se transfieren de manera vertical de generación a generación. Sin embargo, señalan que los plásmidos de virulencia de *S. Typhimurium* (pSTV), sí poseen genes para su conjugación y transferencia como el operón de transferencia conjugativa (*tra*).

Los plásmidos de virulencia de *S. enterica*, han sido identificados en los serotipos No Tifoideos, como Abortusovis, Cholerasuis, Dublin, Gallinarum, Paratyphi C, Enteritidis and Typhimurium (Silva et al., 2017a), cabe resaltar que no se han encontrado plásmidos de virulencia en serotipos Tifoideos. Estos plásmidos de virulencia se caracterizan por ser de tamaño desde 83 a 238 kilobases, y en su mayoría son no transferibles. Estos plásmidos de virulencia de *S. enterica* No Tifoidea, poseen genes de virulencia como los del operon *spvRABCD* que promueve la proliferación intracelular, los operones fimbriales *pae* o *fae*, el gene *rck* de resistencia al complemento, entre otros genes (Silva et al., 2017b).

Cabe mencionar que, estos plásmidos de virulencia pueden interactuar y recombinarse con plásmidos de resistencia (genes de resistencia antimicrobiana), al momento que una cepa adquiere los dos tipos de plásmidos, originándose plásmidos híbridos que confieren resistencia y virulencia. En España, se logró identificar una cepa clínica de *S. Enteritidis*, que poseía un

plásmido de virulencia denominado pUO-SeVR1 que contenía genes del operon *spv*, y genes para la resistencia a ampicilina, cloranfenicol, sulfonamidas, tetraciclina y trimetoprima (Rodríguez et al., 2012). Vázquez et al. (2024), también describen aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea en Italia y España, con plásmidos híbridos, que habrían sido plásmidos de resistencia de tipo IncR que adquirieron genes *spv* de plásmidos de virulencia.

2.5.2.1. Gen *spvC*. El gen *spvC* pertenece al operon *spvRABCD*, el cual codifica para distintos genes de virulencia involucrados con la supervivencia y proliferación intracelular de *S. enterica* No Tifoidea. El gen *spvR* es el factor transcripcional del operón que regula la expresión de los genes *spv* de manera positiva, mientras que los genes *spvB*, *spvC* y *spvD*, codifican para proteínas efectoras que son traslocadas en la célula hospedera por el sistema T3SS (Silva et al., 2017b). Se conoce que el gen *spvC* tiene actividad fosfotreonina liasa y pueden inhibir la señalización por kinasas MAP (Mitogen-activated protein, en inglés), y como resultado actúa como regulador negativo de la producción de citoquinas por parte de la célula hospedera (Mazurkiewicz et al., 2008). Fierer (2001) describe que este operón *spv* en general, ha sido asociado a un cuadro extraintestinal de la infección por *S. enterica* No Tifoidea en humanos.

El gen *spvC*, se ha caracterizado genotípicamente en diferentes aislamientos: clínicos, ambientales, y/o alimentos, de *S. enterica* No Tifoidea, mediante la amplificación del gen y determinando su ausencia o presencia (Nikiema et al., 2021; Sedrakyan et al., 2022; Yue et al., 2020). En el Perú, Silva et al. (2017a), hallaron la presencia de este gen en aislamientos clínicos invasivos (aislados de sangre) de *S. enterica* No Tifoidea como Enteritidis, Typhimurium, Choleraesuis y Dublin, confirmando la presencia del plásmido de virulencia con operon *spv*.

2.5.2.2. Gen *pefA*. El gen *pefA*, se encuentra ubicado en plásmidos de virulencia de *S. enterica* spp. No Tifoidea, y codifica para proteínas adhesinas fimbriales, inducción de respuesta proinflamatoria (Silva et al., 2017b) y además está relacionada con la agregación celular, comportamiento multicelular – que en *Salmonella* es evidenciado a través de la formación de morfotipos en Agar Rojo Congo – y con la formación de biofilm (Giaouris et al., 2015).

El gen *pefA*, ha sido caracterizado molecularmente para determinar su presencia o ausencia en diferentes aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea (Proroga et al., 2018; Yue et al., 2020). Estos estudios encuentran la presencia de este gen en serotipos como Typhimurium, Enteritidis, Heildeberg, entre otros.

2.6. Producción de biofilm en *Salmonella enterica* No Tifoidea

2.6.1. Definición de biofilm

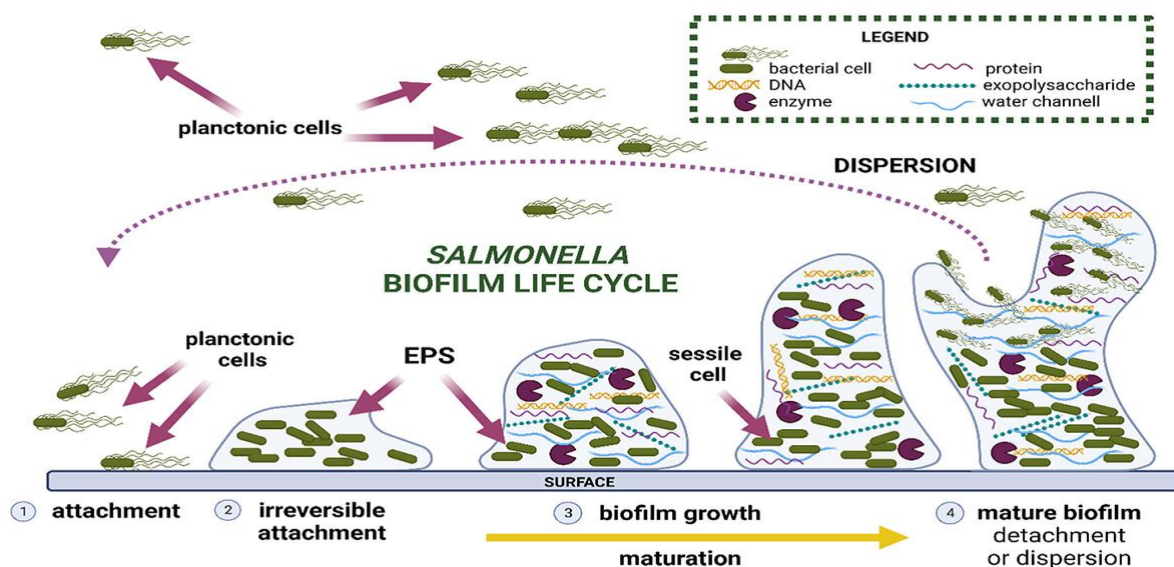
Biofilm o por su nombre en castellano “biopelícula”, puede definirse como una estructura originada por la acumulación de células bacterianas encerradas en una matriz autoproducida de sustancias extracelulares poliméricas (EPS, por sus siglas en inglés) y adheridas a superficies de diversos materiales: ya sean materiales inertes como plástico, vidrio, acero; o superficies de materia viva como el tejido epitelial, superficies vegetales, o conductos biliares (Lamas et al., 2021). Por tanto, el biofilm les confiere protección de las condiciones de estrés que ofrece el ambiente como desecación, pH del medio, temperaturas, entre otros. Las EPS al formar biofilm, promueve la adherencia de las bacterias a las superficies, la adhesión célula a célula, y la agregación celular, además de estabilidad de la estructura de biofilm (Koo et al., 2017). Las bacterias que producen biofilm, son protegidas de las presiones ambientales, antibióticos u otros, y al ser comunidades multicelulares da lugar propicio a la transferencia de genes de resistencia antibiótica o genes de virulencia, mediante transferencia horizontal (Aleksandrowicz et al., 2023).

2.6.2. Formación del biofilm

La formación de biofilm inicia con la adherencia de las bacterias a la superficie mediante proteínas adhesinas; luego al establecerse, comienzan a replicarse y producir las EPS fomentando la adhesión célula a célula y formando la matriz del biofilm; en la siguiente etapa se produce la maduración del biofilm donde se produce la estructura tridimensional del biofilm y pueden existir bacterias sésiles y planctónicas dependiendo de la zona del biofilm; finalmente está la etapa de dispersión donde las bacterias disrumpen el biofilm mediante una lisis controlada, volviendo a su estado planctónico dejando la estructura de biofilm (Koo et al., 2017; Lamas et al., 2021). En la Figura 2, se observa el ciclo de la formación de biofilm, donde se puede identificar los componentes que lo forman como: células bacterianas, proteínas, exopolisacáridos, y ADN extracelular.

Figura 2

Ciclo de Formación de Biofilm



Nota. Adaptada de “Better together-*Salmonella* biofilm-associated antibiotic resistance” por Aleksandrowicz et al., 2023, *Gut Microbes*. 15(1).

2.6.3. *Métodos de evaluación fenotípica de producción de biofilm*

El biofilm producido por las bacterias, puede desarrollarse en interfaces sólido-líquido, líquido-líquido y aire-líquido, siendo el biofilm más estudiado, el que se forma en el interfaz sólido líquido, al ser de gran importancia clínica debido a que este se puede formar entre el inóculo de bacteria y superficies médicas inertes o superficies vivas como tejidos epiteliales del hospedero. Por ello, para la evaluación fenotípica *in vitro* del biofilm producido en el interfaz sólido-líquido existen diversos métodos de evaluación cuantitativos y cualitativos, como el método de microplaca, el método de Agar Rojo Congo, u otras técnicas más especializadas como el ensayo de célula de flujo (Cimdins y Simm, 2017).

2.6.3.1. Método de Microplaca. El método de microplaca consiste en la evaluación del biofilm formado entre la superficie plástica de los pocillos de una microplaca y el cultivo en medio líquido de alguna bacteria (Cimdins y Simms, 2017). La tinción de los pocillos se puede realizar con cristal violeta o safranina, colorantes que se unen a las bacterias adheridas y moléculas cargadas negativamente como exopolisacáridos de la matriz del biofilm; luego, esta tinción es cuantificada mediante el uso de un espectrofotómetro a una longitud de onda determinada según el tipo de colorante, obteniendo así una cuantificación relativa directamente proporcional a la tinción del pocillo (Allkja et al., 2019).

Si bien, para este método existen diferentes variaciones en cuestión a: el diseño experimental, las condiciones para la formación de biofilm, y los parámetros para la evaluación de la producción de biofilm; existen guías como la elaborada por Allkja et al. (2019), donde propone las condiciones mínimas para realizar este método de cuantificación de biofilm, y así lograr la reproducibilidad en los diferentes estudios.

2.6.4. Biofilm en *Salmonella enterica* No Tifoidea

S. enterica No Tifoidea, produce biofilm, y se caracteriza por formarse en diversas superficies, desde bióticas como tejidos vegetales, tejidos epiteliales del hospedero hasta los conductos biliares, hasta abióticas como superficies de dispositivos médicos, de máquinas de procesamiento de alimentos, entre otros (Uğur et al., 2018). Esta característica, le permite ocasionar una infección persistente en el hospedero, evadir el sistema inmune del mismo y hasta ampliar la tolerancia a antibióticos; y también, la formación de biofilm en el ambiente como: superficies de máquinas e instrumentos de la industria de alimentos, actúa como una principal vía de transmisión de este patógeno hacia los alimentos y por consiguiente a los hospederos que consumen estos alimentos (Chylkova et al. 2017). En tanto, el biofilm le permite su sobrevivencia fuera del hospedero, y así continuar su ciclo de infección como causante de enfermedades de transmisión alimentaria.

2.6.4.1. Composición del biofilm en *S. enterica* No Tifoidea. La formación del biofilm en *S. enterica* No Tifoidea inicia con la adhesión en la superficie, y la agregación de las células bacterianas. Los componentes más importantes en estas etapas iniciales son: el flagelo que le confiere motilidad y mayor capacidad de formar las microcolonias iniciales para el biofilm; y las fimbrias de tipo I, como Lpf (Gonzales et al., 2017) y Pef, que le confieren la adhesión (Ledeboer et al., 2006). En las etapas de maduración, se inactiva la expresión del flagelo, y se activa la producción de los componentes de la matriz del biofilm como exopolisacáridos y proteínas (Lamas et al., 2021). Los principales exopolisacáridos son la celulosa y el ácido colónico, mientras que las proteínas principales son curli, fimbria amiloide y la proteína BapA.

2.6.4.2. Propiedades del biofilm en *S. enterica* No Tifoidea. La producción de biofilm en *S. enterica* No Tifoidea, en ensayos *in vitro*, está influenciada por las condiciones de temperatura, el tipo de medio de cultivo, y el serotipo (Shatila et al., 2021). Estos autores

describen las diferencias de la producción de biofilm en cepas de diversos serotipos de *S. enterica* No Tifoidea mediante métodos cualitativos como: método del tubo y método de microplaca, y a diferentes condiciones de temperatura: 27°C y 37°C. En ambos métodos, se demostró que las cepas del serotipo Enteritidis eran productores fuertes de biofilm, y mediante el método de microplaca, se observó que la producción de biofilm era más fuerte a 27°C, con excepción de la cepa *S. Enteritidis* TM 100. Wang et al. (2020b), encontraron que *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis*, fueron los serotipos que más producían biofilm a 28°C durante 24 horas, en comparación con otros serotipos y mediante el método de microplaca.

La producción de biofilm de cepas clínicas y ambientales de *S. enterica* No Tifoidea, ha sido descrita en un estudio de Ćwiek et al. (2020). Este estudio describe que en las condiciones de 28° C y en un intervalo de 24 horas, de 51 cepas ambientales y de 44 cepas humanas de *S. Enteritidis*, más del 66% de ambas cepas producen biofilm fuerte. En otro estudio, cepas ambientales y humanas de *S. Infantis* fueron evaluadas para la producción de biofilm mediante el método de microplaca, encontrando que de manera significativa las cepas eran capaces de formar biofilm fuertemente a condiciones de temperatura de 20°C y en un intervalo de 168 horas (Bezek et al., 2023). Confirmando así que, en condiciones de temperaturas menores a 37°C, *S. enterica* No Tifoidea, se adecúa y tiene una mayor producción de biofilm.

2.7. Susceptibilidad y resistencia antimicrobiana en *S. enterica* No Tifoidea

2.7.1. Resistencia Antimicrobiana

La resistencia antibiótica, se caracteriza por los mecanismos que presenta la bacteria para evitar la acción de los antibióticos sobre sus vías metabólicas, generando así su supervivencia ante la aplicación de antibióticos. Esta puede ser de carácter intrínseco, inherente de la especie bacteriana, o adquirida, la cual involucra la adquisición de cambios genéticos o mecanismos de transferencia horizontal (Boolchandani et al., 2019). Los principales

mecanismos se basan en: a) la modificación o hidrólisis de los antibióticos por enzimas producidas por la bacteria, b) la aparición de mutaciones genéticas en las proteínas objetivo de los antibióticos, c) la permeabilidad de la membrana debido a las proteínas porinas presentes en ella, que sufren mutaciones o pérdidas de expresión, y d) la sobreexpresión de bombas de eflujo que produce la expulsión de los antibióticos.

2.7.2. Métodos de Evaluación Fenotípica de Susceptibilidad Antimicrobiana

Para la evaluación *in vitro* de manera fenotípica de la susceptibilidad antimicrobiana, existen guías estandarizadas y publicadas por organismos internacionales como el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio o CLSI, por sus siglas en inglés, y el Comité Europeo para la Evaluación de Susceptibilidad Antimicrobiana o EUCAST, por sus siglas en inglés (Suravaram et al., 2021). Ambas guías son válidas y son utilizadas dependiendo la región donde se realice el estudio; el presente estudio, estará en acorde a la guía del CLSI.

Los métodos de evaluación fenotípicos de susceptibilidad antimicrobiana son diversos, uno de ellos es el método de difusión de disco, o también llamado método de Kirby Bauer, el cuál es el método más utilizado para la evaluación *in vitro* de la resistencia antimicrobiana (Clinical Laboratory Standards Institute [CLSI], 2023). Este método se caracteriza por el uso de Agar Mueller Hinton y de discos de papel filtro que contienen los compuestos antibióticos; la bacteria es cultivada en el agar y se impregnan los discos de antibióticos, para luego evaluar el crecimiento alrededor del disco, siendo este crecimiento la medición indirecta de la habilidad del antibiótico de inhibir el crecimiento de la bacteria (Hudzicki, 2009). El CLSI, establece los puntos de corte para los halos de inhibición del crecimiento de la bacteria, para cada tipo de antibiótico, clasificando a una cepa como: sensible, intermedia o resistente a determinado antibiótico.

2.7.3. Resistencia Antimicrobiana en *Salmonella enterica* No Tifoidea

Diversos estudios han caracterizado la resistencia antimicrobiana en *S. enterica* No Tifoidea, y actualmente la Organización Mundial de la Salud, declara a *S. enterica* No tifoideas resistentes a fluoroquinonas, como patógeno de alta prioridad en cuanto a la vigilancia de resistencia antibiótica (OMS, 2024b), debido a que contribuye con el aumento de la resistencia en *S. Tifoideas*.

S. enterica No Tifoideas al originar solo cuadros de gastroenteritis autolimitadas, en la mayoría de las infecciones, no se administra terapia antibiótica. Sin embargo, existen casos de salmonelosis invasiva originada por esta bacteria, que requiere la administración de antibióticos, por tanto, se hace imprescindible la vigilancia de la resistencia en *S. enterica* No Tifoidea.

Alvarez et al. (2023), resalta la aparición de una tasa alta de cepas multidrogoresistentes de *S. Infantis* en la región de las Américas en los últimos 40 años, resaltando que estas cepas circulantes poseen un plásmido de virulencia denominado pESI. Otro estudio en Brasil reporta la aparición de resistencia a betalactámicos, fluoroquinonas, tetraciclinas y aminoglicósidos en cepas No Tifoideas aisladas de aguas de desagüe, lo cual implica un riesgo de diseminación hacia sistemas agrícolas, y por tanto su diseminación hacia alimentos (Martone-Rocha et al., 2023).

Por otro lado, se describe que los fenotipos de resistencia más reportados para *S. Typhimurium*, son el patrón ASSuT ((ampicilina, estreptomina, sulfonamidas, y tetraciclina) y ACSSuT (ampicilina, cloranfenicol, estreptomina, sulfonamidas, y tetraciclina), los cuales denotan la aparición de cepas multidrogoresistentes en este serotipo (Gong et al., 2023).

III. MÉTODO

3.1. Tipo de Investigación

Es una investigación de tipo básica, de diseño no experimental y de nivel descriptivo, puesto que tiene como objeto de estudio caracterizar los aislamientos clínicos de *Salmonella enterica* No Tifoidea mediante la identificación de genes de virulencia, la evaluación de la producción de biofilm y la descripción de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana.

Se determina como una investigación de corte transversal y carácter retrospectivo, porque el estudio abarca todos los aislamientos de *S. enterica* recolectados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el año 2023 en marco de un proyecto anterior.

3.2. Ámbito Temporal y Espacial

Los aislamientos pertenecen a un estudio previo denominado: “Caracterización de factores de virulencia de *S. enterica* No Tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el año 2023”, recolectados por el Laboratorio de Microbiología del Hospital Nacional Hipólito Unanue. El presente trabajo se realizó en el año 2025.

3.3. Variables

En la Tabla 1, se muestran las variables del presente estudio.

Tabla 1

Definición Operacional de Variables

<i>Variable</i>	<i>Definición</i>	<i>Método</i>	<i>Escala</i>	<i>Indicador</i>	<i>Categorías</i>
Reactivación de los aislamientos de <i>Salmonella</i>	Reactivación de los aislamientos bacterianos	Siembra en caldo selenito desde stocks de glicerol, y luego desde el caldo selenito en agar <i>Salmonella-Shigella</i> (SS)	Nominal	- Presencia de crecimiento de colonias bacterianas en agar SS. - Ausencia de crecimiento de colonias bacterianas en agar SS	- Aislamiento bacteriano se reactivó - Aislamiento bacteriano no se reactivó
Identificación molecular del aislamiento	Presencia del gen <i>invA</i> para la identificación del aislamiento bacteriano como <i>Salmonella enterica</i>	Amplificación del gen <i>invA</i> a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la reacción de la cadena	Nominal	- Banda electroforética del gen presente - Banda electroforética del gen ausente	- Aislamiento identificado como <i>S. enterica</i> - Aislamiento no identificado como <i>S. enterica</i>

Tabla 1*Definición Operacional de Variables (Continuación)*

<i>Variable</i>	<i>Definición</i>	<i>Método</i>	<i>Escala</i>	<i>Indicador</i>	<i>Categorías</i>
Identificación de la serovariedad del aislamiento de <i>Salmonella enterica</i>	Serovariedades clasificadas según el tipo de patología que ocasionan en humanos.	Perfil bioquímico	Nominal	- Perfil bioquímico: No Tifoidea - Perfil bioquímico: Tifoidea	- Serovariedad No Tifoidea - Serovariedad Tifoidea
Presencia de Gen de Virulencia Cromosómico <i>pagC</i>	Gen productor de factor de virulencia ubicado en cromosoma	Amplificación del gen <i>pagC</i> a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Nominal	- Banda electroforética del gen presente - Banda electroforética del gen ausente	- Presencia de gen: <i>pagC</i> - Ausencia de gen: <i>pagC</i>
Presencia de Gen de Virulencia Cromosómico <i>sifA</i>	Gen productor de factor de virulencia ubicado en SPI-2	Amplificación del gen <i>sifA</i> a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Nominal	- Banda electroforética del gen presente - Banda electroforética del gen ausente	- Presencia de gen: <i>sifA</i> - Ausencia de gen: <i>sifA</i>
Presencia de Gen de Virulencia Plasmídico <i>spvC</i>	Gen productor de factor de virulencia ubicado en plásmido	Amplificación del gen <i>spvC</i> a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Nominal	- Banda electroforética del gen presente - Banda electroforética del gen ausente	- Presencia de gen: <i>spvC</i> - Ausencia de gen: <i>spvC</i>
Presencia de Gen de Virulencia Plasmídico <i>pefA</i>	Gen productor de factor de virulencia ubicado en plásmido	Amplificación del gen <i>pefA</i> a través de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	Nominal	- Banda electroforética del gen presente - Banda electroforética del gen ausente	- Presencia de gen: <i>pefA</i> - Ausencia de gen: <i>pefA</i>
Susceptibilidad a antibióticos	Sensibilidad o Resistencia a antibióticos	Método de Kirby Bauer	Nominal	- Diámetro de inhibición (mm) dentro del rango para cepa sensible - Diámetro de inhibición (mm) dentro del rango para cepa intermedia - Diámetro de inhibición (mm) dentro del rango para cepa resistente	- Susceptible - Intermedio - Resistente
Producción de biofilm	Formación de agregaciones multicelulares y sustancias extracelulares	Método de Microplaca por Tinción con Cristal Violeta	Ordinal	- DO del aislamiento $\leq$ DOc = No productor de biofilm - DOc < DO del aislamiento $\leq$ 2 x DOc = Productor débil de biofilm - 2 x DOc < DO del aislamiento $\leq$ 4 x DOc = Productor moderado de biofilm - 4 x DOc < DO del aislamiento = Productor fuerte de biofilm	- No productor de Biofilm - Productor débil de Biofilm - Productor moderado de Biofilm - Productor Fuerte de Biofilm

3.4. Población y Muestra

3.4.1. Población

La población está formada por todos los aislamientos disponibles de *Salmonella* recuperados en el Hospital Hipólito Unanue durante el año 2023, y que fueron recolectados en marco de un estudio previo titulado: “Caracterización de factores de virulencia de *S. enterica* No Tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el año 2023”, aprobado por el comité de ética del Hospital, mediante la carta N°100-2023-CIEI-HNHU (Anexo A) y con la aprobación de sus modificaciones mediante la carta N°077-2024-CIEI-HNHU (Anexo B).

3.4.2. Muestra

Del total de los aislamientos disponibles, se excluyeron aislamientos duplicados y no viables. Se incluyeron todos los aislamientos identificados como *Salmonella enterica* que lograron ser reactivados y que se identificaron molecularmente mediante la amplificación del gen *invA* como *S. enterica*, en total se obtuvieron 21 aislamientos.

3.5. Instrumentos

Al tratarse de un estudio descriptivo, la recolección de datos se realizó en la Ficha de Recolección de Datos que se muestra en el Anexo C.

3.6. Procedimientos

3.6.1. Reactivación de los aislamientos e identificación microbiológica

Se utilizaron las cepas provenientes de un estudio previo titulado: “Caracterización de factores de virulencia de *Salmonella enterica* No Tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el año 2023”, como se ha mencionado anteriormente. Estas cepas provienen del periodo comprendido entre los meses de enero 2023 y enero 2024. Se tomaron todos los datos del aislamiento en una ficha de recolección de datos (Anexo C), cada aislamiento posee un código interno. Estos aislamientos fueron reactivados desde los stocks de glicerol, hacia caldo selenito, que luego de la incubación se observó el crecimiento bacteriano mediante la

turbidez del caldo y coloración anaranjada. De manera siguiente, desde el caldo selenito con signos de crecimiento bacteriano, se sembró en agar Salmonella-Shigella (SS), y se observó el crecimiento bacteriano luego del periodo de incubación establecido. Las cepas que presentaron crecimiento bacteriano en el agar SS, se consideraron como cepas reactivadas.

Para su cultivo microbiológico convencional e identificación bioquímica como *S. enterica*, se utilizó la cepa control de *S. enterica* subsp. *enterica* Serovar Typhimurium ATCC 14028, y se observaron las características fenotípicas (Agencia de Seguridad Sanitaria del Reino Unido, 2025; Procop et al., 2018). Para la identificación bioquímica y clasificación en serovariedad Tifoidea y No Tifoidea, se utilizó la guía denominada “Biochemical Identification of *Salmonella* and *Shigella* Using an Abbreviated Panel of Tests” de la Organización Mundial de la Salud (Organización Mundial de la Salud Global Foodborne Infections Network [OMS-GFN], 2015), mediante el uso de las pruebas bioquímicas como Agar Triple Azúcar Hierro (TSI, por sus siglas en inglés), Agar Lisina Hierro (LIA, por sus siglas en inglés), Agar Motilidad Indol Ornitina (MIO, por sus siglas en inglés) y Agar Citrato (Tabla 2). Las condiciones de temperatura fueron de 36°C y se incubaron durante 20 horas.

Tabla 2

Perfiles Bioquímicos Fenotípicos de Salmonella spp.

		<i>Salmonella</i> serovar <i>Typhi</i>	<i>Salmonella</i> serovar <i>Paratyphi A</i>	Otros serovares de <i>Salmonella</i> <i>spp.</i>
Prueba Bioquímica	Agar hierro triple azúcar (Agar inclinado)	K	K	K
	Agar hierro triple azúcar (Fondo)	A	A	A
	Agar hierro triple azúcar (Producción de SH ₂)	Trazas	-	+
	Agar hierro triple azúcar (Producción de Gas)	-	+	+
	Agar Lisina Hierro (Fondo: Lisina Decarboxilasa)	+	-	+
	Agar Lisina Hierro (Producción de SH ₂)	-	-	+
	Agar Motilidad Indol Ornitina (Motilidad)	+	+	+
	Agar Motilidad Indol Ornitina (Ornitina)	-	+	+
	Agar Motilidad Indol Ornitina (Indol)	-	-	-
	Agar Citrato	-	-	+

Nota. A: Ácido (color amarillo); K: Alcalino (color rojo). Adaptado de “*Laboratory*

Protocol: Biochemical Identification of Salmonella and Shigella Using an Abbreviated Panel of Tests” por la Organización Mundial de la Salud Global Foodborne Infections Network [OMS-GFN], 2015.

3.6.2. Identificación molecular de *S. enterica*

Las cepas identificadas microbiológicamente como *S. enterica*, fueron identificadas de manera molecular mediante la amplificación del gen *invA* y se utilizaron los siguientes cebadores Directo: 5’ CATTCTATGTTTCGTCATTCCATTACC 3’ y Reverso: 5’

AGGAAACGTTGAAAACTGAGGATTCT 3' (Barletta et al., 2013), estos cebadores amplifican una región de 133 pares de bases. La reacción de PCR tuvo un volumen final de 20 uL en el Anexo D se detallan las condiciones de amplificación.

3.6.3. Amplificación de los genes de virulencia

Cada aislamiento fue procesado para la extracción de ADN total por el método utilizado por Silva et al. (2017a). Se conservó el ADN total a -20°C. Para la amplificación de los genes de virulencia como *pagC*, *sifA*, *spvC*, *pefA* en los aislamientos, se utilizaron los cebadores que se muestran en la Tabla 3, con sus respectivas secuencias. La reacción final tuvo un volumen de 20 uL, y en el Anexo D, se detallan las condiciones de amplificación. El control positivo para la amplificación de los genes fue la cepa ATCC 14028 *S. enterica* Typhimurium, y el control negativo, fue agua de grado molecular. Los productos obtenidos de la amplificación fueron cargados en un gel de agarosa al 1.5% preparado con SybrSafe al 5% para la tinción del ADN en el gel, y con una corrida electroforética de 90 V durante 50 minutos. Para estimar el tamaño de las bandas obtenidas se utilizó un marcador de peso molecular con rango de 100-1500 pares de bases (pb). Transcurrido el proceso de electroforesis, el gel de agarosa fue llevado a un transiluminador, para visualizar las bandas de amplificación. Se observó la presencia o ausencia de la banda del tamaño esperado, por cada gen de virulencia.

Tabla 3*Cebadores para la Amplificación de los Genes de Virulencia*

Gen	Cebadores	pb	Referencia
<i>pagC</i>	D: 5'-CGCCTTTTCCGTGGGGTATGC-3' R: 5'-GAAGCCGTTTATTTTGTAGAGGAGATGTT-3'	454	Zhang et al. (2018)
<i>sifA</i>	D: 5'-TTTGCCGAACGCGCCCCCAGACG-3' R: 5'-GTTGCCTTTTCTTGCGCTTCCACCCATCT-3'	449	Zhang et al. (2018)
<i>spvC</i>	D: 5'-ACTCCTTGCACAACCAAATGCGGA-3' R: 5'- TGTCTCTGCATTTTCGCCATCA-3'	550	Silva et al. (2017)
<i>pefA</i>	D: 5'- GCGCCGCTCAGCCGAACCAG – 3' R: 5' – GCAGCAGAAGCCCAGGAAACAGTG -3'	157	Zhang et al. (2018)

Nota. “D”: cebador directo, “R”: cebador inverso, y “pb”: pares de bases.

3.6.4. Susceptibilidad antimicrobiana

Se realizó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer, según los criterios de interpretación del Manual del Clinical y Laboratory Standards Institute (CLSI, por sus siglas en inglés) de la Edición 2024. Los antibióticos tamizados, fueron los siguientes: ampicilina (10ug), cefotaxima (30 ug), cefepima (30 ug), ciprofloxacino (5 µg), tetraciclina (30 µg), imipenem (10 µg), y sulfametoxazol-trimetoprima (ug) (Oxoid, Inglaterra). Las condiciones de incubación fueron: 37°C durante 20 horas, en condiciones estáticas. Las cepas que se utilizaron para el control de calidad de evaluación de la sensibilidad antimicrobiana fueron *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, según correspondió para cada antibiótico. La resistencia a múltiples medicamentos es decir “cepas multidrogo-resistentes o MDR” se definió como la no susceptibilidad adquirida a al menos un agente en tres o más categorías (clases) de antimicrobianos evaluados, como aminopenicilinas (ampicilina), cefalosporinas (cefotaxime, cefepima), carbapenémicos (imipenem), inhibidores del dihidrofolato reductasa

(sulfametoxazol-trimetoprima), tetraciclinas (tetraciclina) y fluoroquinolonas (ciprofloxacino). Las “cepas extensivamente resistentes o XDR”, se definió como la no susceptibilidad a al menos un agente en todas las categorías, excepto en 2 o menos categorías de antimicrobianos testeados. Las “cepas pan resistentes PDR”, se definió como la no susceptibilidad a todas las categorías de antimicrobianos evaluados.

3.6.5. Evaluación de producción de biofilm

Se evaluó la producción de biofilm mediante el método de microplaca propuesto en Petrin et al. (2022). Los aislamientos fueron reactivados en TSA, y luego se inocularon una colonia aislada de cada aislamiento en Caldo Tripticasa Soya (TSB, por sus siglas en inglés) y se dejó crecer a 37°C durante 18 a 24 horas. Para la normalización de los cultivos, se utilizó el espectrofotómetro y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 600 nm, el valor base que se obtuvo para todos los cultivos fue una densidad óptica (DO) de valor 1 (1×10^8 UFC/ml). Se hizo una dilución de 1:100 a partir de los cultivos, y se tomó 200 µl de la dilución para el inóculo de cada aislamiento, en una microplaca de 96 pocillos. Se hicieron cuatro réplicas técnicas por cada aislamiento. El control negativo fue caldo TSB sin inocular y el control positivo fue la cepa *S. enterica* Typhimurium ATCC 14028. Se incubaron las microplacas a una temperatura de 27 °C durante 48 h. Se eligió la temperatura de 27°C al ser una temperatura ambiental promedio para observar la formación de biofilm fuera del hospedero, al ser un mecanismo de supervivencia fuera en el ambiente para su transmisión (Steenackers, et al. 2012). Luego de transcurrido el tiempo, se retiró la suspensión y se realizó el lavado de los pocillos con 250 µl de agua destilada, tres veces para eliminar bacteria no adherida. Se fijó la bacteria adherida mediante calor seco, al colocar la placa a 80°C por 10-15 minutos. Transcurrido el tiempo, se agregó 200 µl de 1% de cristal violeta a cada pocillo para la tinción por 30 min. Se enjuagó con agua destilada 3 veces. Finalmente, se agregó 200 µl de alcohol absoluto para disolver el colorante adherido y se midió la absorbancia en el lector de

microplacas a una longitud de onda de 600 nm, dando como resultado los valores en densidad óptica para cada pocillo. El valor base es el punto de corte (DOc) que ayuda a clasificar la producción de biofilm (Stepanović et al., 2004), este valor se definió como el promedio de los 4 replicados del control negativo más 3 veces de su desviación estándar correspondiente. El valor final de la densidad óptica de cada aislamiento fue el promedio de las 4 réplicas técnicas, y este valor fue utilizado para asignar a cada aislamiento según las siguientes categorías:

- $DO \text{ del aislamiento} \leq DOc = \text{No productor de biofilm}$
- $DOc < DO \text{ del aislamiento} \leq 2 \times DOc = \text{Productor débil de biofilm}$
- $2 \times DOc < DO \text{ del aislamiento} \leq 4 \times DOc = \text{Productor moderado de biofilm}$
- $4 \times DOc < DO \text{ del aislamiento} = \text{Productor fuerte de biofilm}$

3.7. Análisis de Datos

Para el análisis de los datos como la determinación de la frecuencia y porcentajes de la presencia o ausencia de los genes de virulencia, susceptibilidad antimicrobiana o producción de biofilm de los aislamientos clínicos, y su descripción en tablas y gráficos se utilizó el software de Microsoft Excel y el software R versión 4.5.1.

3.8. Consideraciones Éticas

El presente estudio trabajó solo con los aislamientos bacterianos clínicos codificados y recuperados del Laboratorio de Microbiología del HNHU durante 2023, que fueron recolectados en marco del proyecto anterior titulado: “Caracterización de factores de virulencia de *Salmonella* spp. No Tifoidea del Hospital Nacional Hipólito Unanue durante el año 2023”, aprobado por el comité de ética del Hospital, mediante la carta N°100-2023-CIEI-HNHU (Anexo A) y con la aprobación de sus modificaciones mediante la carta N°077-2024-CIEI-HNHU (Anexo B).

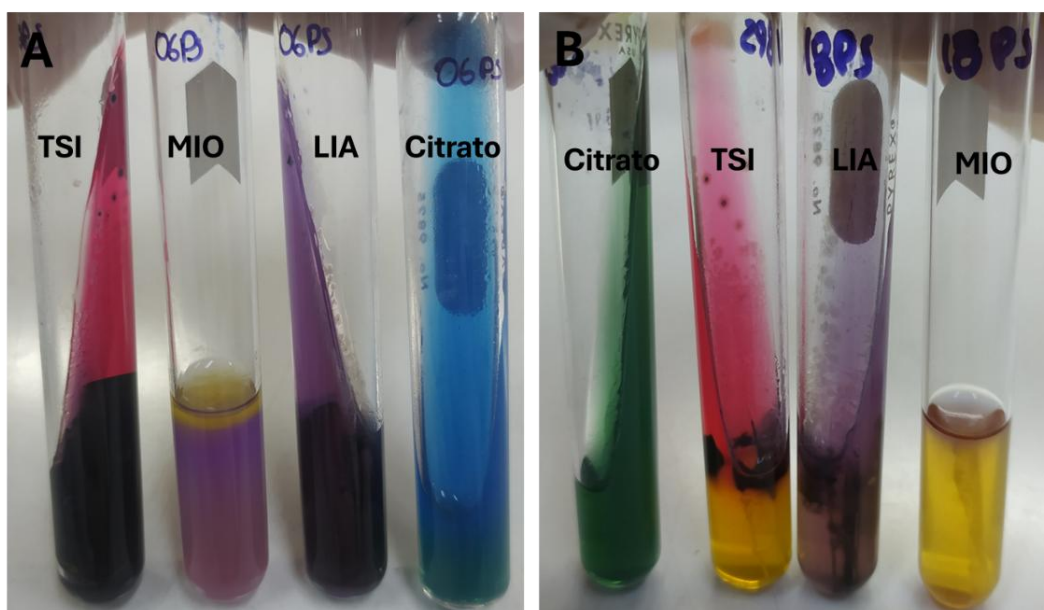
IV. RESULTADOS

4.1. Identificación fenotípica y genotípica de aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea

Se reactivaron 21 cepas clínicas identificadas previamente como *Salmonella* spp., de los cuales 20 aislamientos fueron identificados bioquímicamente como *S. enterica* No Tifoidea y un aislamiento fue identificado como *S. enterica* Tifoidea, tal como se muestra en la Figura 3. En la identificación genotípica, los 21 aislamientos amplificaron el gen *invA*, por lo que se identificaron como *Salmonella enterica* (Figura 4).

Figura 3

Características Bioquímicas de los Aislamientos Clínicos



Nota. Se muestran el aislamiento 06PS, el cual es representativo de la serovariedad No Tifoidea, y el aislamiento 18PS, representativo de la serovariedad Tifoidea. (A) Perfil bioquímico del aislamiento 06PS, de izquierda a derecha: Prueba de TSI: K/A, abundante H₂S; Prueba de LIA: LDC+; Prueba de uso de Citrato: positivo, Prueba de MIO: ornitina positiva. (B) Perfil bioquímico del aislamiento 18PS: Prueba de TSI: K/A, trazas de H₂S; Prueba de LIA: LDC+; Prueba de uso de Citrato: negativo; Prueba de MIO: ornitina negativa.

Figura 4

Amplificación del gen *invA* en los Aislamientos Clínicos de *S. enterica*.



Nota. En la imagen: “*BinvA*”: Control Negativo; “*C+*”: Control Positivo; M: Marcador molecular; “13PS”, “14PS” y “15PS”: Aislamientos del estudio.

De los 20 aislamientos identificados por bioquímica y microbiología convencional como *S. enterica* No Tifoidea, se encontraron cepas provenientes de hisopados rectales, sangre, orina y absceso (Tabla 4). Un 55% (11/20) provienen de hisopados rectales, mientras que un 30% (6/20), de muestras de sangre. Según el área del hospital de donde provenían las muestras, se obtuvo un 50% (10/20) de aislamientos provenientes del área de emergencias, seguido de un 30% (6/20) provenientes del área de hospitalización y un 10% (2/20) del área de UCI.

Tabla 4*Características de los Aislamientos Clínicos de S. enterica No Tifoidea*

Código de aislamiento	Muestra	Tipo de localización	Identificación Bioquímica y Microbiológica
1PS	Rectal	eme	No Tifoidea
10PS	Rectal	eme	No Tifoidea
14PS	Rectal	eme	No Tifoidea
16PS	Rectal	eme	No Tifoidea
17PS	Rectal	eme	No Tifoidea
19PS	Rectal	eme	No Tifoidea
20PS	Rectal	eme	No Tifoidea
21PS	Rectal	eme	No Tifoidea
22PS	Rectal	eme	No Tifoidea
4PS	Rectal	hos	No Tifoidea
23PS	Rectal	uci	No Tifoidea
7PS	Sangre	eme	No Tifoidea
8PS	Sangre	hos	No Tifoidea
9PS	Sangre	hos	No Tifoidea
13PS	Sangre	hos	No Tifoidea
15PS	Sangre	hos	No Tifoidea
12PS	Sangre	uci	No Tifoidea
3PS	Orina	ext	No Tifoidea
6PS	Orina	ext	No Tifoidea
2PS	Absceso	hos	No Tifoidea

Nota. Para: eme = emergencias; hos =hospitalización; uci = unidad de cuidados intensivos; ext = consulta externa.

4.2. Identificación de la presencia de genes de virulencia como *pagC*, *sifA*, *pefA* y *spvC*, en los aislamientos clínicos

Se realizó la identificación de la presencia de los genes de virulencia en los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea mediante la amplificación por PCR convencional de los genes *pagC*, *sifA*, *pefA* y *spvC*. Todos los aislamientos presentaron los genes *sifA* y *pagC* (20/20), y en el 35% (7/20) de los aislamientos se identificaron los genes plasmídicos *spvC* y

pefA (Tabla 5). Tal como se muestra en la Tabla 6, se encontraron 2 perfiles de virulencia: P1 y P2, el perfil de virulencia P1 posee los genes de virulencia *pagC* y *sifA*, y el perfil de virulencia P2 posee los 2 genes *pagC*, *sifA*, y los 2 genes plasmídicos de virulencia *spvC* y *pefA*.

Tabla 5

Genes de virulencia en los aislamientos clínicos de S. enterica No Tifoidea

Gen de Virulencia	Ubicación	Descripción	n (%)
<i>pagC</i>	SPI-11	Codifica para una proteína de membrana externa y producción de vesículas para supervivencia dentro de macrófagos	20 (100)
<i>sifA</i>	SPI-2	Codifica para una proteína que contribuye para la formación de “filamentos inducidos por <i>Salmonella</i> ” (SIF)	20 (100)
<i>spvC</i>	Plásmido	Involucrado con la supervivencia y proliferación intracelular	7 (35)
<i>pefA</i>	Plásmido	Codifica para proteínas adhesinas fimbriales	7 (35)
Total			20 (100)

Tabla 6

Perfiles de virulencia en los aislamientos clínicos de S. enterica No Tifoidea

Perfil de Virulencia	Genes de Virulencia	n (%)
P1	<i>pagC</i> , <i>sifA</i>	13 (65)
P2	<i>pagC</i> , <i>sifA</i> , <i>spvC</i> , <i>pefA</i>	7 (35)
	Total	20 (100)

De acuerdo con el tipo de muestra, se observa que un 50% (3/6) de los aislamientos que provienen de sangre, presentó el perfil de virulencia P2, y el otro 50% (3/6) presentó el perfil P1. En tanto, de los aislamientos que provienen de hisopados rectales, un 81.8% (9/11) presentó el perfil de virulencia P1 y solo un 18.2% (2/11), el perfil P2 (Tabla 7). De acuerdo con el área del hospital, se observa que el 70% (7/10) de aislamientos del área de Emergencias presenta el

perfil de virulencia P1, y además, todas las muestras (2/2) del Área de Cuidados Intensivos presentaron el perfil de virulencia P1 (Tabla 7).

Tabla 7

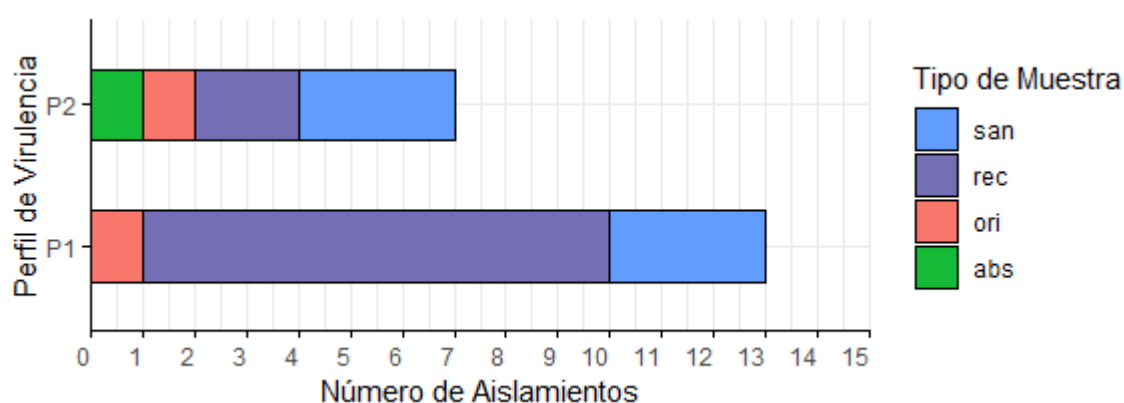
Perfiles de virulencia según las características clínicas de los aislamientos

Características	Perfil de Virulencia			
	P1		P2	
	n	(%)	n	(%)
Tipo de Muestra				
<i>Hisopado rectal</i>	9	81,8	2	18,2
<i>Sangre</i>	3	50,0	3	50,0
<i>Orina</i>	1	50,0	1	50,0
<i>Absceso</i>	0	0	1	100,0
Área del Hospital				
<i>Emergencias</i>	7	70,0	3	30,0
<i>Hospitalización</i>	3	50,0	3	50,0
<i>Unidad de Cuidados Intensivos</i>	2	100,0	0	0,0
<i>Consulta externa</i>	1	50,0	1	50,0

Nota. P1, Perfil de Virulencia 1; P2, Perfil de Virulencia 2.

Figura 5

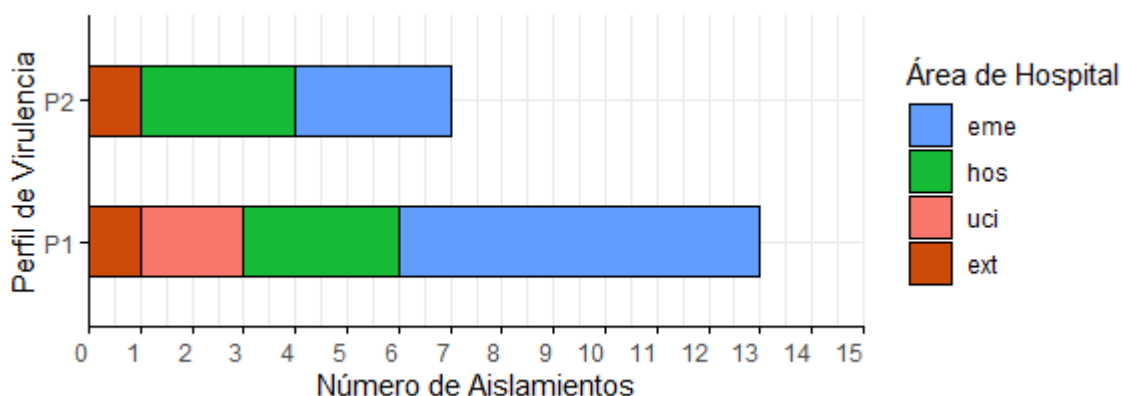
Perfil de Virulencia de S. enterica No Tifoidea según tipo de muestra de origen



Nota. P1 = Perfil de virulencia 1; P2 = Perfil de virulencia 2; san = sangre; rec = hisopado rectal; ori = orina; abs = absceso.

Figura 6

Perfil de Virulencia de S. enterica No Tifoidea según el área del Hospital



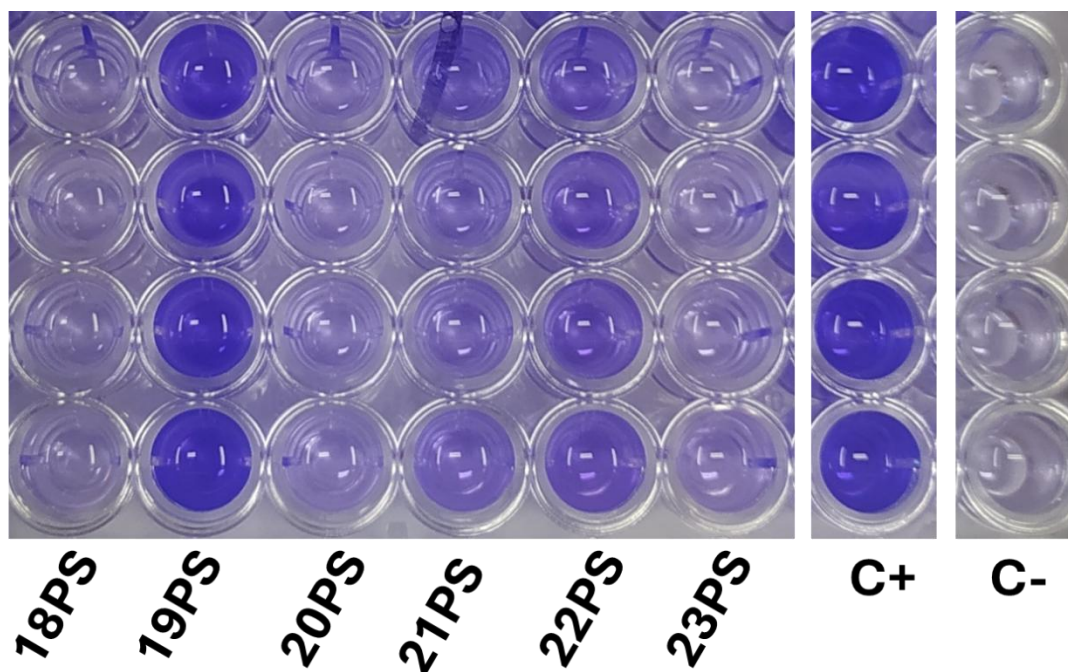
Nota. P1 = Perfil de virulencia 1; P2 = Perfil de virulencia 2; eme = emergencias; hos = hospitalización; uci = unidad de cuidados intensivos; ext = consulta externa.

4.3. Caracterización de la formación de biofilm de los aislamientos clínicos a 27°C en un intervalo de 48 horas

La producción de biofilm fue evaluada mediante el método de microplacas, a 27°C de temperatura y en un intervalo de 48 horas, y se midió la absorbancia a 600 nm de cada aislamiento (Figura 7). En el Anexo E, se detallan los valores de densidad óptica obtenidos de los 20 aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea para cada una de sus 4 réplicas técnicas. Se encontró que el 40% (8/20) de los aislamientos fue clasificado como productor fuerte de biofilm, con una densidad óptica promedio de 1.49 ± 0.4 , mientras el 35% (7/20) fue productor débil de biofilm con un promedio de 0.35 ± 0.07 (Tabla 8). En el Figura 8, se observa los valores de densidad óptica obtenidos para cada aislamiento, y la desviación estándar de las réplicas por cada aislamiento.

Figura 7

Producción de Biofilm de los aislamientos clínicos de S. enterica No Tifoidea



Nota. En la imagen: 18PS, 19PS, 20PS, 21PS, 22PS y 23PS son aislamientos del estudio, “C+”: control positivo, “C-”: control negativo.

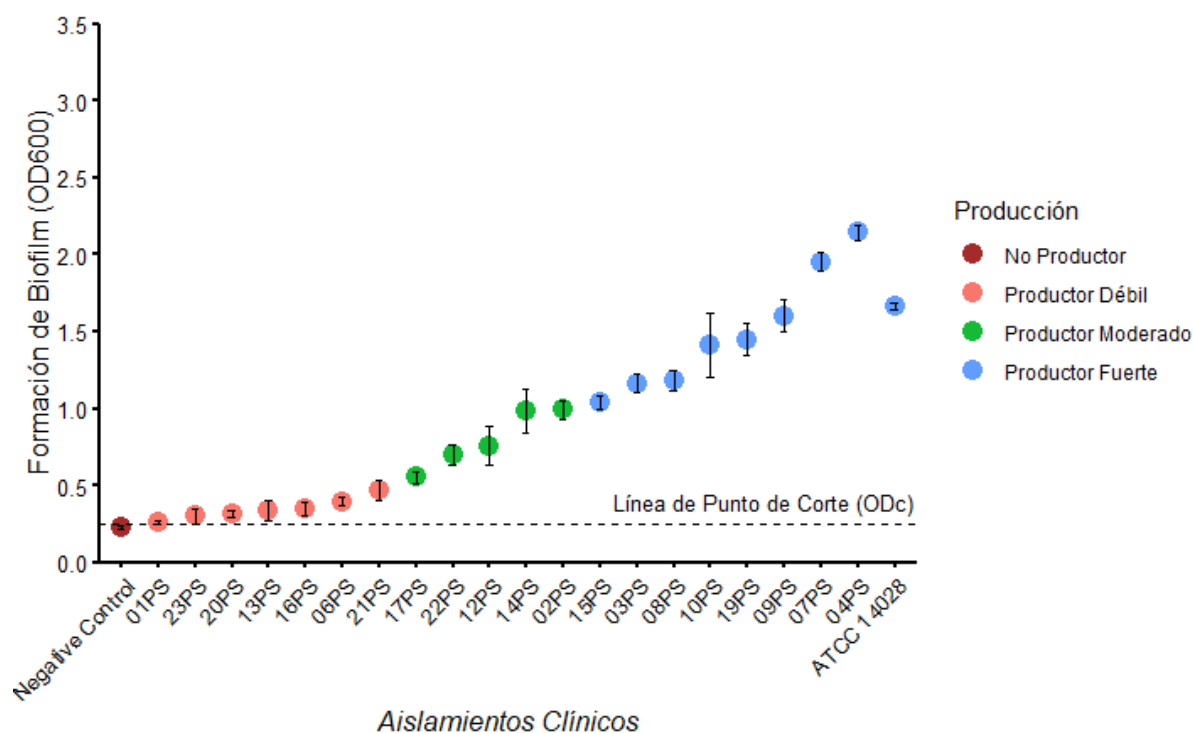
Tabla 8

Producción de Biofilm de los aislamientos clínicos de S. enterica No Tifoidea

Producción de Biofilm	n	(%)	Densidad Óptica Promedio	Desviación Estándar
Productor Débil	7	35	0,35	0,07
Productor Moderado	5	25	0,80	0,19
Productor Fuerte	8	40	1,49	0,39
Total	20	100		

Figura 8

Producción de Biofilm de los aislamientos clínicos de S. enterica No Tifoidea



De acuerdo con las características de los aislamientos como tipo de muestra, se observa que el 45.5% (5/11) de los aislamientos provenientes de hisopados rectales son productores débiles de biofilm y en conjunto, más del 50% son productores moderados o fuertes de biofilm (Tabla 9). Resalta que el 66.7% (4/6) de los aislamientos de sangre, son productores fuertes de biofilm. Asimismo, un 60% (6/10) de los aislamientos del área de Emergencias fueron caracterizados como productores moderados o fuertes de biofilm, mientras que el 66.7% (4/6) de aislamientos de hospitalización, son productores fuertes de biofilm. Según el perfil de virulencia de los aislamientos, se halló que el 53.8% (7/13) de los aislamientos con perfil P1 (*pagC*, *sifA*) se categorizaron como productores débiles de biofilm, mientras que el 71.4% (5/7) de los que poseen el perfil P2 (*pagC*, *sifA*, *spvC*, *pefA*) se caracterizaron como productores fuertes de biofilm (Tabla 9).

Tabla 9

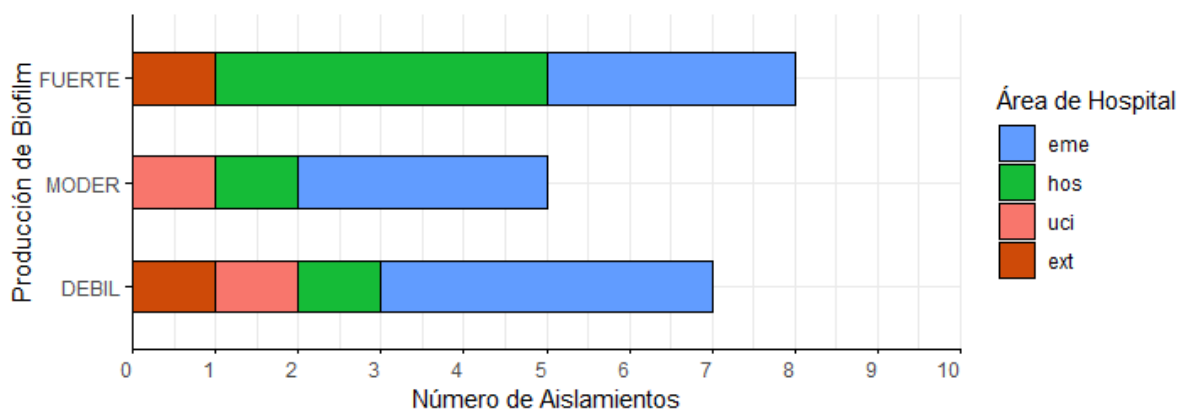
Producción de Biofilm según las características clínicas de los aislamientos

Características	Producción de Biofilm					
	Productor Débil		Productor Moderado		Productor Fuerte	
	n	%	n	%	n	%
Tipo de Muestra						
<i>Hisopado rectal</i>	5	45,5	3	27,3	3	27,3
<i>Sangre</i>	1	16,7	1	16,7	4	66,7
<i>Orina</i>	1	50,0	0	0,0	1	50,0
<i>Absceso</i>	0	0	1	100	0	0
Área del Hospital						
<i>Emergencias</i>	4	40,0	3	30,0	3	30,0
<i>Hospitalización</i>	1	16,7	1	16,7	4	66,7
<i>Unidad de Cuidados Intensivos</i>	1	50,0	1	50,0	0	0,0
<i>Consulta externa</i>	1	50,0	0	0,0	1	50,0
Perfil de Virulencia						
<i>P1</i>	7	53,8	3	23,1	3	23,1
<i>P2</i>	0	0,0	2	28,6	5	71,4

Nota. n = número de aislamientos.

Figura 9

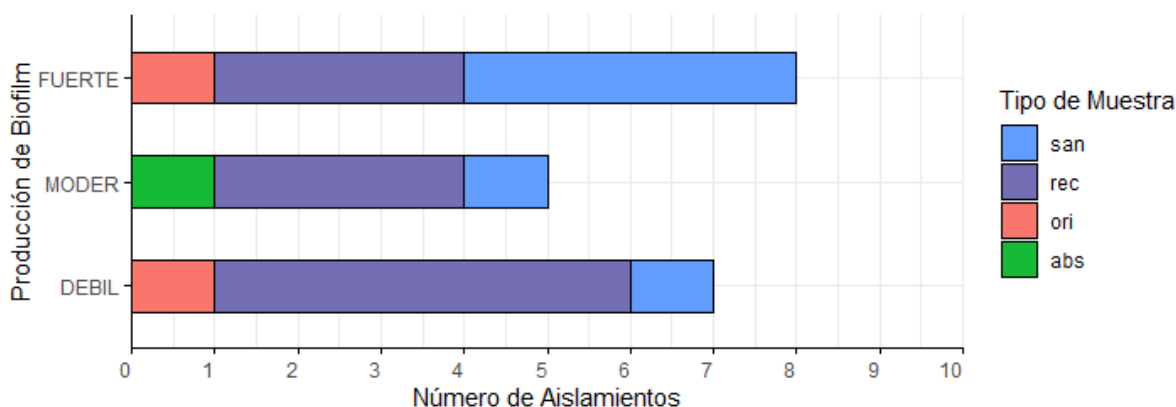
Producción de Biofilm de S. enterica No Tifoidea según el área del Hospital



Nota. san = sangre; rec = hisopado rectal; ori = orina; abs = absceso.

Figura 10

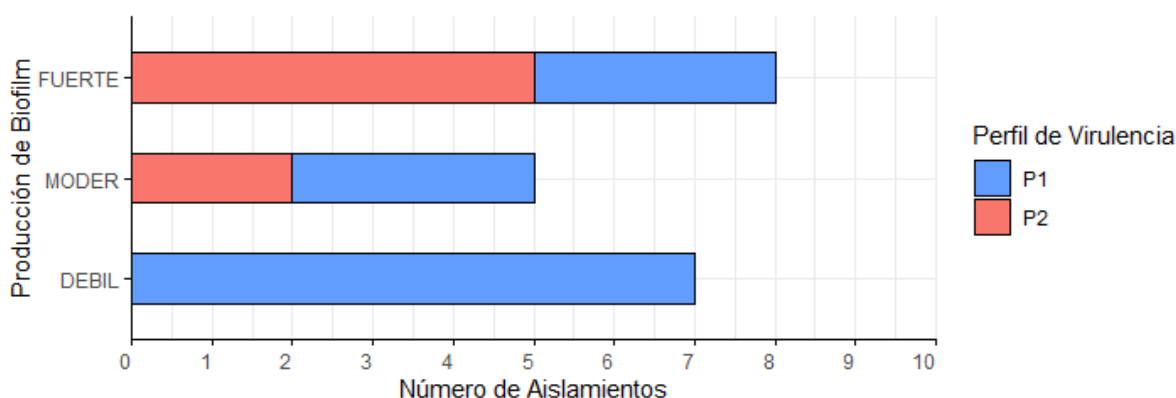
Producción de Biofilm de S. enterica No Tifoidea según tipo de muestra de origen



Nota. san = sangre; rec = hisopado rectal; ori = orina; abs = absceso.

Figura 11

Producción de Biofilm de S. enterica No Tifoidea según el Perfil de Virulencia



Nota. P1 = Perfil de virulencia 1; P2 = Perfil de virulencia 2.

4.4. Descripción de los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos clínicos

Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana a 7 clases de antibióticos de los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea, y se encontró que el 45% (9/20) son aislamientos susceptibles o de susceptibilidad intermedia, donde las frecuencias más altas de susceptibilidad fueron: un 100% (20/20) de aislamientos susceptibles a imipenem, seguido del

70% (14/20) de aislamientos susceptibles a cefalosporinas de tercera generación y cloranfenicol. Dentro de los aislamientos con susceptibilidad intermedia, las tasas más altas fueron un 65% (13/20) frente a ciprofloxacina y un 60% (12/20) frente a sulfametoxazol-trimetoprima. Por otro lado, se obtuvo que el 55% (11/20) es resistente a tetraciclina, un 40% (8/20) a ampicilina, y un 40% (8/20) a sulfametoxazol-trimetoprima (Tabla 10 y Figura 12). Tal como se muestra en la Tabla 11, se encontraron 5 perfiles de multidrogoresistencia, la cual fue definida como la resistencia a más de 3 familias de antibióticos (R3-R6) encontrándose un 40 % (8/20) de aislamientos multidrogoresistentes. El perfil más común fue AMP-CTX-TET-STX-C con un 50% (4/8) de los aislamientos multidrogoresistentes de *S. enterica* No Tifoidea.

Tabla 10

Perfil de Susceptibilidad Antimicrobiana de los Aislamientos Clínicos de S. enterica No Tifoidea

Antibiótico	Susceptibilidad antimicrobiana					
	Sensible		Intermedio		Resistente	
	n	(%)	n	(%)	n	(%)
Ampicilina (AMP)	12	60	0	0	8	40
Cefotaxima (CTX)	14	70	0	0	6	30
Cefepima (FEP)	14	70	6	30	0	0
Imipenem (IPM)	20	100	0	0	0	0
Tetraciclina (TET)	8	40	1	5	11	55
Ciprofloxacina (CIP)	4	20	13	65	3	15
Sulfametoxazol-trimetoprima (STX)	0	0	12	60	8	40
Cloranfenicol (C)	14	70	0	0	6	30

Tabla 11

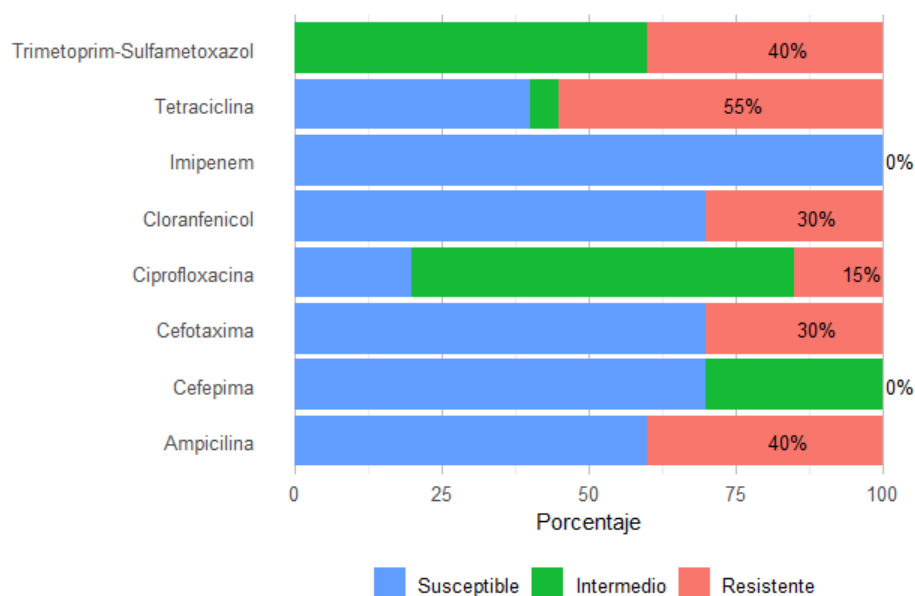
Perfiles de Multidrogoresistencia de los Aislamientos Clínicos de S. enterica No Tifoidea

Clasificación de Multidrogo-resistencia	n (%)	Nivel de Multidrogo-resistencia	Perfil de Multidrogo-resistencia	n (%)
No MDR, XDR o PDR	12 (60)	R0	NA	9 (45)
		R1	TET	2 (10)
		R2	AMP, TET	1 (5)
MDR	3 (15)	R3	TET, STX, CIP	1 (5)
		R4	AMP, TET, STX, C	1 (5)
			AMP, CTX, TET, STX	1 (5)
XDR	5 (25)	R5	AMP, CTX, TET, STX, C	3 (15)
		R6	AMP, CTX, TET, STX, C, CIP	2 (10)
PDR	0 (0)	R7	AMP, CTX, TET, STX, C, CIP, IPM	0 (0)
Total	20 (100)	Total		20 (100)

Nota. Se evaluaron 7 clases de antibióticos. R0 = Susceptible a todas las clases de antibióticos evaluadas, R1 = Resistente a 1 clase de antibiótico evaluada, R2 = Resistente a 1 clase de antibiótico evaluada, R3 = Resistente a 3 clases de antibióticos evaluadas, R4 = Resistente a 4 clases de antibióticos evaluada, R5 = Resistente a 5 clases de antibióticos evaluadas, R6 = Resistente a 6 clases de antibióticos evaluadas.

Figura 12

Porcentajes de Resistencia Antimicrobiana en Aislamientos Clínicos de S. enterica No Tifoidea



De acuerdo con las características de los aislamientos, se observa que el 55% (6/11) de los aislamientos de hisopados rectales son multidrogoresistentes, mientras que el 83% (5/6) de los aislados que provienen de sangre son susceptibles y solo 1 aislamiento de ellos se caracterizó como multidrogoresistente (Tabla 12). Según el área del hospital desde donde provienen las muestras, resalta que el 62.5% (5/8) de los aislamientos multidrogoresistentes provienen del área de Emergencias y los dos aislamientos que provienen del área de Cuidados Intensivos son multidrogoresistentes. Todos los aislamientos multidrogoresistentes poseen el perfil de virulencia P1, mientras que todos los aislamientos que presentan el perfil de virulencia P2 son aislamientos susceptibles (Tabla 12). También, se observa que el 75% (6/8) de las cepas multidrogoresistentes, son productores débiles de biofilm, y todos los productores fuertes de biofilm fueron caracterizados como cepas susceptibles a todos los antibióticos evaluados.

Tabla 12*Multidrogoresistencia según las características clínicas de los aislamientos*

Características	Multidrogoresistencia			
	No MDR		MDR, XDR, PDR (R3-R6)	
	n	(%)	n	(%)
<i>Tipo de Muestra</i>				
<i>Hisopado rectal</i>	5	45	6	55
<i>Sangre</i>	5	83	1	17
<i>Orina</i>	1	50	1	50
<i>Absceso</i>	1	100	0	0
<i>Área del Hospital</i>				
<i>Emergencias</i>	5	50	5	50
<i>Hospitalización</i>	6	100	0	0
<i>Unidad de Cuidados Intensivos</i>	0	0	2	100
<i>Consulta externa</i>	1	50	1	50
<i>Perfil de Virulencia</i>				
P1	8	62	5	38
P2	7	100	0	0
<i>Productor de Biofilm</i>				
Débil	1	14	6	86
Moderado	3	60	2	40
Fuerte	8	100	0	0

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El presente estudio tuvo como objetivo identificar los genes de virulencia, la capacidad de formación de biofilm y la susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea en un hospital de tercer nivel en Lima durante el año 2023. Para el éxito de su infección en el hospedero y de su supervivencia en el ambiente, *S. enterica* No Tifoidea posee un extenso repertorio de factores de virulencia (Jajere, 2019), de esta manera la caracterización de estos rasgos en cepas circulantes dentro un entorno hospitalario, contribuye al manejo clínico de las mismas, y además a la vigilancia epidemiológica de cepas con potencial a desarrollar un brote.

De los 21 aislamientos de *S. enterica* recuperados en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, durante el periodo del año 2023, de manera fenotípica se identificó 20 aislamientos No Tifoideos y solo un aislamiento Tifoideo. Esta frecuencia de aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea recuperados, coincide con otros estudios en hospitales de Lima realizados en la última década. Por ejemplo, en un estudio desde Octubre 2015 hasta Mayo 2017 en el Hospital Cayetano Heredia, ubicado en la zona norte de Lima, se recuperaron 50 aislamientos clínicos, de los cuales se tipificaron 47 aislamientos como No Tifoideos y solo 3 aislamientos Tifoideos (Garcia et al., 2019). Cabrera y Díaz (2023) también describen una mayor frecuencia de *S. enterica* No Tifoidea en su estudio en diferentes hospitales de Lima. Estos autores durante el periodo 2017 a 2019, recuperaron 15 aislamientos No Tifoideos y 4 Tifoideos del Hospital Cayetano Heredia, 12 aislamientos No tifoideos y un aislamiento Tifoideo del Hospital María Auxiliadora y 2 aislamientos No Tifoideos del Hospital Hipólito Unanue. Rosso et al. (2022) reporta también esta tendencia de mayor recuperación de aislamientos No Tifoideos frente a los Tifoideos, en un estudio retrospectivo de aislamientos clínicos de *Salmonella* desde el año 2012 al año 2021 en un hospital de tercer nivel en Colombia. Todo ello refleja la alta frecuencia

de *Salmonella* No Tifoidea frente a *Salmonella* Tifoidea en Latinoamérica, y en especial en Perú, en los últimos años.

Una tendencia similar se observa en la frecuencia de *S. enterica* No Tifoidea recuperada de muestras de sangre. Cabe mencionar que de los 7 aislamientos de sangre de *S. enterica* recuperados, el 85% (6/7) fueron aislamientos No Tifoideos. Esto coincide con lo encontrado por Silva et al. (2017a), donde tipificaron 89 aislamientos de *Salmonella* provenientes de hemocultivos de diferentes hospitales de Lima durante el periodo desde el año 2008 hasta el 2013, identificando un 88% (78/89) de aislamientos No Tifoideos. También coincide con lo reportado por Parra-Payano et al. (2019), quienes encontraron una frecuencia similar: el 85.7% (60/70) de los casos de salmonelosis invasiva del Hospital Cayetano Heredia durante enero de 2013 hasta diciembre de 2017, fueron no tifoideas. Además, en el presente estudio, el 30% (6/20) de los aislamientos no tifoideos provienen de muestras de sangre y cerca del 55% (11/20) provienen de muestras de hisopados rectales. Lo anterior mencionado, concuerda con lo encontrado por Reis et al. (2018), en un hospital de Brasil, donde cerca del 27.4% (79/289) de los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea en un periodo de 6 años provenían de muestras de sitios estériles como: sangre y líquido cefalorraquídeo.

Se sabe que los aislamientos No Tifoideos pueden ser causantes de bacteremia o sepsis (Crump et al., 2015), y esto es influenciado por las características inherentes de las cepas y de las características del hospedero, que en la mayoría de los casos son niños y personas inmunocomprometidas (Wen et al., 2017). En otras regiones del mundo, como en África, las infecciones sistémicas por *S. enterica* No Tifoidea son un problema endémico y con una alta tasa de infecciones (GBD 2017 Non-Typhoidal Salmonella Invasive Disease Collaborators, 2019). En cambio, en América Latina la situación es distinta, la frecuencia de este tipo de infecciones no es alta. Sin embargo, se describen frecuencias como la de este estudio, donde las serovariedades no tifoideas son más frecuentes en infecciones invasivas que las

serovariedades tifoideas, lo cual puede ser una ventana a la evolución de aislamientos con alta capacidad invasiva y en un futuro, convertirse en un problema de mayor magnitud en el sistema de salud de América Latina.

Los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea provenientes de hisopados rectales tuvieron mayor frecuencia, siendo el 55% (11/20) de los aislamientos y además 9 de los 11, fueron recuperados del servicio de Emergencias del Hospital. Esto coincide con lo esperado, puesto que la mayoría de los casos de *S. enterica* No tifoidea se asocian generalmente con infecciones agudas gastrointestinales, por lo cual los pacientes asisten al servicio de emergencias, y que luego de la atención médica necesario como rehidratación y uso de antipiréticos, la mayoría de las infecciones se resuelven en menos de una semana (Chen et al., 2013).

S. enterica No Tifoidea se caracteriza por poseer un extenso repertorio de genes que codifican factores de virulencia (Cheng et al., 2019), que determinan el éxito de su infección en el hospedero y de su supervivencia. Tal como se ha reportado en otro estudio, *S. enterica* presenta hasta 135 genes de virulencia que codifican para proteínas efectoras de sistemas de secreción, proteínas de sistemas de adhesión, de invasión, toxinas, entre otros (Ju et al., 2023). El presente estudio es el primer reporte de detección de genes de virulencia como *pagC*, *sifA*, *pefA*, y *spvC* en aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea de un Hospital de Tercer Nivel de Lima, Perú. Se registró que todos los aislamientos presentaron los genes *pagC* y *sifA*, mientras que *pefA* y *spvC* se detectaron en el 35% de los aislamientos. Estos resultados evidencian que los factores de virulencia asociados a la supervivencia intracelular y a la invasión se encuentran ampliamente distribuidos entre los aislamientos analizados, a diferencia de los genes plasmídicos *pefA* y *spvC*.

El gen *pagC* está relacionado con la supervivencia intracelular dentro de los macrófagos del hospedero y con la formación de vesículas extracelulares (Lu et al., 2020). Todos los

aislamientos del presente estudio presentaron este gen, lo cual concuerda con diversos estudios como el de Yue et al. (2020), donde reporta de igual manera una frecuencia de 100% (58/58) del gen *pagC* en aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea de niños con diarrea, en un hospital en China. Estos autores remarcan el posible uso que el gen *pagC* puede tener como marcador de virulencia para la detección de *S. enterica*. Kagirita et al. (2017) encuentra que un 92% (23/25) de aislamientos clínicos en Uganda, presentaban el gen *pagC*, no alcanzando un 100%. Sin embargo, Lozano-Villegas et al. (2023) encuentran un 97.4% (38/39) en aislamientos ambientales de granjas y un 100% (10/10) en aislamientos de humanos. Ante ello, se infiere que la presencia del gen *pagC* varía entre los aislamientos recuperados de *S. enterica* No Tifoidea, impidiendo su uso como marcador universal de virulencia para su detección. Además, esta variabilidad, estaría relacionada con el serotipo no tifoideo de los aislamientos, que como ya se mencionó anteriormente, influye en la presencia o ausencia de los genes de virulencia.

El gen de virulencia *sifA*, codifica para una proteína que forma parte de los filamentos inducidos por *Salmonella*, y cuya función es permitir su supervivencia y replicación dentro de las “vacuolas que contienen *Salmonella*” o “SCV”, por sus siglas en inglés. En el presente estudio, el total de los aislamientos presentaron este gen. En un estudio anterior, desarrollado en México por Hernández-Ledesma et al. (2023) donde se describe una frecuencia de 100% (142/142) en aislamientos provenientes de humanos, mientras que para los aislamientos provenientes de alimentos vegetales, la frecuencia fue de 96.4%. Además, los mismos autores encuentran que la presencia de *sifA* está significativamente relacionada según el tipo de muestra, de esta manera, los aislamientos de origen ambiental, de alimentos de origen animal, o vegetales, no alcanzaron una frecuencia de 100%. De esta manera, lo encontrado en este estudio, concuerda con la hipótesis de que la frecuencia de *sifA* es mayor en aislamientos provenientes de humanos, y esto debido a la función de virulencia que ejerce el gen *sifA* en

células hospederas humanas al producirse las SCV. Morasi et al. (2022) encuentran la presencia del gen *sifA* en solo 86.4% (204/238) de aislamientos provenientes de carne de pollo, reforzando más la hipótesis antes mencionada.

Los genes de virulencia plasmídicos *pefA* y *spvC* están relacionados con la supervivencia intracelular y con la formación de filamentos fimbriales para la agregación multicelular. En este estudio, ambos genes fueron detectados en conjunto en solo 35% (7/20) de los aislamientos, denotando su naturaleza plasmídica, puesto que anteriormente se ha reportado que su presencia es variable entre las diferentes serovariedades No Tifoideas de *S. enterica* (Silva et al., 2017b). Si bien coincide con lo encontrado por Nikiema et al. (2021) en Uganda, quien reporta que un 48.4% (44/91) de los aislamientos clínicos de *S. enterica* no tifoidea poseen el gen *spvC*; y con el reporte de Higgins et al. (2020) en Estados Unidos donde encuentran hasta un 47.4% (100/211) de aislamientos clínicos que presentan el gen *pefA*, y un 38.4% (81/211), el gen *spvC*. Las frecuencias de ambos genes, es variable y dependerá de las características inherentes del aislamiento como serovariedad no tifoidea, tipo de muestra, entre otros. Por ejemplo, Seribelli et al. (2020) encuentran una frecuencia de 65% (13/20) de aislamientos de *S. Typhimurium* provenientes de humanos en Brasil, en los que se detectaron los genes *spvC* y *pefA*. Proroga et al. (2018) halla en un estudio de aislamientos clínicos en Italia, que solo el 22,6% (34/150) poseían el gen *pefA* y el 4,7% (7/150) poseían el gen *spvC*.

En este estudio se obtuvieron dos tipos de perfil de virulencia el perfil P1 (*pagC*, *sifA*) y el perfil P2 (*pagC*, *sifA*, *pefA*, *spvC*). Según el tipo de muestra de donde proviene el aislamiento, se registró que el 50% de las muestras de sangre (3/6) y orina (1/2), presentaron el perfil P2, mientras solo el 18.2% (2/11) de los aislamientos entéricos presentaron el perfil P2. Los aislamientos de origen entérico, es decir provenientes de hisopados rectales, presentaron en mayor porcentaje (81.8%) el perfil P1 (*pagC*, *sifA*). Esto indica una posible asociación entre la presencia de genes plasmídicos como *spvC* y *pefA*, con infecciones

invasivas, como anteriormente se reportó como cepas con potencial invasivo y bacterémico a aislamientos que presentaban estos genes (Silva et al., 2017a). En un estudio realizado por Li et al. (2025), encuentran frecuencias similares según el tipo de muestra, el 50% (3/6) de aislamientos de muestras de sangre, presentaron los genes plasmídicos de virulencia *pefA* y *spvC*, mientras que solo el 23.3% (7/30), de los aislamientos de hisopados rectales presentaron los genes. Hua et al. (2024) encuentran en aislamientos clínicos de muestras de sangre en China, que el 81.8% (18/22) poseían el gen *pefA* y el 77.3% (17/22), el gen *spvC*. mientras que solo el (2/11) de los aislamientos entéricos clínicos, presentaron los genes *pefA* y *spvC*. Es así, como las frecuencias de estos genes de virulencia plasmídicos, pueden estar relacionados a infecciones invasivas, al tener una tasa mayor de presencia en aislamientos provenientes de sangre, que en aislamientos entéricos. De manera similar, se encontró en este estudio que el perfil de virulencia P2 está presente en los aislamientos del área de hospitalización y del área de consulta externa, lo cual refleja la circulación de aislamientos con potencial a infecciones sistémicas, fuera y dentro del entorno hospitalario.

La formación de biofilm en aislamientos clínicos de serovariedades no tifoideas, ha sido evaluada en condiciones de temperatura corporal como 37°C (debido a la naturaleza de la infección) en otros estudios (Bialucha et al., 2020), donde se encuentran que todos los aislamientos producen biofilm, pero con un mayor porcentaje de productores débiles. Sin embargo, *S. enterica* No Tifoidea, es una bacteria capaz de persistir en ambientes inertes y propagarse en superficies de alimentos, agua y material inerte (Silva et al., 2014; Uğur et al., 2018), y es la capacidad de formar biofilm y agregarse multicelularmente, un factor de virulencia que le permite esa persistencia fuera del hospedero.

La capacidad de formar biofilm a 27 °C es importante, ya que esta temperatura favorece la expresión de factores asociados a la adherencia y persistencia ambiental de *Salmonella*, a diferencia de temperaturas fisiológicas donde predomina la expresión de genes relacionados

con la invasión del hospedero. Por ello en el presente estudio, los aislamientos fueron evaluados a 27 °C durante un periodo de 48 horas, condiciones que simula el ambiente exterior, como superficies inertes hospitalarias. Así se encontró que todos los aislamientos produjeron biofilm en diferente grado. Entre productores fuertes y moderados, se tiene un 65% de los aislamientos evaluados, y un 35% de productores débiles. Esto sugiere que los aislamientos analizados poseen la capacidad y los mecanismos para su adherencia y agregación en superficies inertes, como lo es la superficie de las microplacas. Lo cual es conveniente para una transmisión dentro del entorno hospitalario a través de sus superficies, y se ha demostrado que la capacidad de formar biofilm permite a *S. enterica* No Tifoidea a resistir condiciones ambientales adversas, desinfectantes y antimicrobianos (Chylkova et al., 2017), que suelen ser usados con mayor frecuencia en entornos hospitalarios. Es así como lo encontrado en este estudio, como el 66.7% de los aislamientos del área de hospitalización son productores fuertes, refuerza la hipótesis mencionada.

De acuerdo con el tipo de muestra, se registró que el 66.7% (4/6) de los aislamientos de sangre se caracterizaron como productores fuertes, a diferencia de los aislamientos entéricos donde casi el 45.5% (5/11) son productores débiles. Esto concuerda con lo reportado por Li et al. (2025), quienes encuentran que los aislamientos clínicos no tifoideos provenientes de sangre produjeron significativamente mayor biofilm que los aislamientos entéricos. El diferente grado de formación de biofilm entre aislamientos entéricos e invasivos, es una característica adicional que distingue a los aislamientos, así como su perfil de virulencia. Adicionalmente, esto demuestra que los aislamientos clínicos de sangre y por tanto de infecciones invasivas, tienen el potencial suficiente para adaptarse al ambiente y permanecer en superficies, equipos médicos o sistemas de agua contribuyendo a infecciones recurrentes o brotes intrahospitalarios. En otro estudio reportado por Hua et al. (2024), demuestran que, a 37°C por un lapso de 48 horas, el 72.7% (16/22) de los aislamientos de infecciones en sangre fueron caracterizados como

productores débiles de biofilm. Esto indica que la formación de biofilm, no es un mecanismo principal de supervivencia y persistencia dentro del hospedero, y que fuera del hospedero, sí configura como un mecanismo.

En este estudio, el 71.4% (5/7) de los aislamientos que poseen el perfil de virulencia P2 (genes *pefA* y *spvC*), son productores fuertes de biofilm y el 28,6% (2/7) restante son productores moderados de biofilm. Tal como Locke et al. (2025), evaluaron la formación de biofilm en 48 horas en aislamientos no tifoideos, pero aislados de animales de granja enfermos, y su relación con la presencia de ciertos genes, entre ellos el gen *pefA*. Estos autores encuentran que todos los aislamientos que solo los productores moderados y fuertes de biofilm, poseían el gen *pefA* de manera significativa. Lo mencionado, concuerda con lo encontrado en el presente estudio, y refuerza la idea de que se necesitan más estudios sobre la expresión de estos genes y su implicancia en el proceso de la formación de biofilm.

En el presente estudio, se evaluó la sensibilidad antimicrobiana de los aislamientos clínicos de *S. enterica* No tifoidea. Con respecto al grupo de antibióticos generalmente usados para el manejo de infecciones invasivas de *S. enterica* No Tifoideas (Crump et al., 2015), si bien se describieron tasas de susceptibilidad mayores a 50%, las mayores tasas de resistencias fueron para los antibióticos como cloranfenicol con un 30%, ampicilina con un 40%, y sulfametoxazol-trimetoprima con un 40%. Este resultado concuerda con lo encontrado por Cabrera y Díaz (2023), en aislamientos de 40 *S. enterica* No tifoidea provenientes de diferentes hospitales de regiones del Perú, encontraron un 60% (24/40) de resistencia a ampicilina, un 42.5% (17/40) a cloranfenicol y un 30% (12/40), a sulfametoxazol-trimetoprima. Mientras que Quino et al. (2020), en 513 aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea de origen humano del periodo del 2012 al 2015 de varias regiones del Perú, halló un 50.3% (258/513) de aislamientos resistentes a cloranfenicol y un 57% (291/513) a ampicilina. Las tasas de resistencia encontradas coinciden con la tendencia de una creciente resistencia antimicrobiana a estos

antibióticos clasificados como primera opción para el tratamiento, y que está resultando en la búsqueda de otras alternativas de tratamiento.

La Organización Mundial de la Salud (2024b), clasifica a las cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas, como opción para el tratamiento de las infecciones invasivas de *Salmonella* No Tifoidea, y cuya resistencia debe ser monitoreada. A la par de ello, la Organización Mundial de la Salud, declaró a *S. enterica* No Tifoidea resistente a fluoroquinolonas, como patógeno de alta prioridad en cuanto a la vigilancia de resistencia antibiótica, debido a que contribuye con el aumento de la resistencia en *S. enterica* Tifoideas.

Cabe resaltar que en este estudio se registró un 65% de aislamientos con sensibilidad intermedia y un 15% de aislamientos resistentes a ciprofloxacino. En el Perú ya se habían reportado aislamientos resistentes a ciprofloxacino, como Silva et al. (2017) que describen solo un 3.6% (1/84) de resistentes a ciprofloxacino de *S. enterica* No Tifoidea de hospitales de Lima de los años 2008 hasta el 2013, mientras que Quino et al. (2020), quienes describen una tasa de resistencia a ciprofloxacino de 63% (324/513), en aislamientos de origen humano del periodo de 2012 al 2015, provenientes de diversas regiones del Perú. Otro estudio, concuerda con lo reportado aquí, y este es de Cabrera y Díaz (2023), donde reportan un 12.5% (5/40) de aislamientos resistentes en hospitales del Perú del periodo de 2017-2019, y teniendo en cuenta los no susceptibles (susceptibilidad intermedia) el porcentaje fue de 62.5% (25/40). Esto señala como en el tiempo se ha ido manteniendo la frecuencia de aislamientos con susceptibilidad intermedia, lo que genera la alarma, debido a que en el futuro estas cepas puedan evolucionar a resistentes, agotando así las opciones de antibióticos de segunda línea (OMS, 2024b). Tal como lo señala Kim et al. (2025), los niveles de resistencia a ciprofloxacino de *Salmonella* en Latinoamérica han aumentado hasta en un 60% comparando los niveles que se encontraban en los años 2012-2013, a los encontrados en los años 2020-2021, el presente estudio se alinea a esta tendencia.

Para la sensibilidad en la familia de las cefalosporinas, se detectó un porcentaje de susceptibilidad de 70% (14/20) a cefotaxima y cefepime, mientras que un perfil de resistencia a cefotaxima en el 30% de los aislamientos y un perfil de resistencia intermedia frente a cefepima en el mismo porcentaje. Otros autores, como Quino et al. (2020), encontraron una tasa de resistencia a cefotaxima de 54% (277/513), en aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea del periodo de 2012 al 2015. Mientras que Cabrera y Díaz (2023), reportan un 42.5% (17/40) de aislamientos resistentes a ceftriaxona en hospitales del Perú del periodo de 2017-2019, lo cual concuerda con lo descrito en este estudio. Lo encontrado aquí también puede indicar la producción de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE). Se sabe que las cefalosporinas de tercera y cuarta generación son las alternativas para la terapia antibiótica de infecciones sistémicas o invasivas originadas por aislamientos de *S. enterica* (Crump et al., 2015; OMS, 2024b), por lo que es importante mantener la vigilancia de la resistencia de esta familia de antibióticos. Si comparamos lo encontrado en este estudio, con el estudio de Silva et al. (2017), donde describen la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *S. enterica* No Tifoidea de hospitales de Lima de los años 2008 hasta el 2013, podemos observar que hay una tendencia creciente a lo largo del tiempo en aislamientos resistentes a ampicilina, cefotaxima, sulfametoxazol-trimetoprima, cloranfenicol, ciprofloxacino y tetraciclina.

Un punto importante es la detección de aislamientos multidrogorresistentes, del total de los aislamientos el 15% (3/20) fue MDR y el 25% (5/20) fue XDR. Encontrar una tasa mayor de aislamientos XDR que MDR, concuerda con lo reportado por Ruiz et al. (2022), quienes describen para aislamientos de *S. enterica* entre los años 2012 al 2014 en un hospital de tercer nivel, tasas de 17.9% y 20.5% de aislamientos multidrogorresistentes y extensivamente resistentes, respectivamente. Cabrera y Díaz (2023) concuerdan al encontrar un tasa de 2.5% (1/40) de aislamientos MDR, un 12.5% (5/40) de aislamientos XDR y un 12.5% (5/40) de aislamientos PDR, de las cepas no tifoideas de *S. enterica* de diversos hospitales del Perú. En

cambio, Silva et al (2017), solo encontraron un 3.6% (3/84) de cepas MDR de *S. enterica* No Tifoidea de hospitales de Lima de los años 2008 hasta el 2013. Con todo ello, encontrar una tasa de 40% de aislamientos MDR, realza las alarmas sobre la diseminación de los mecanismos de resistencia a los diversos antibióticos, y que ha ido aumentando a lo largo del tiempo en el Perú. Ello puede ir explicado por el uso irracional de los mismos en ambientes de producción, como granjas y de alimentos, y también la automedicación en ocasiones de infecciones gastrointestinales. Cabe resaltar que los aislamientos de *S. enterica* No Tifoidea de origen de alimentos o granjas poseen mayores tasas de resistencia a diversos antibióticos como cefotaxima, ciprofloxacino, tetraciclina, ampicilina (Tiba-Casas et al., 2024), lo cual puede indicar que el uso indiscriminado de antibióticos en estos ambientes de producción de alimentos contribuye al esparcimiento de cepas multidrogoresistentes que finalmente se adaptan y logran infecciones en hospederos humanos.

De acuerdo con el tipo de muestra, las muestras de hisopado rectal, mostraron una distribución similar entre aislamientos No MDR (45%) y MDR (55%), a diferencia de los aislamientos invasivos provenientes de sangre, donde el 83% (5/6) fueron No MDR. Esto último, muestra que las infecciones invasivas por *S. enterica* No Tifoidea en un hospital de tercer nivel de Lima aún pueden ser tratadas por los antibióticos de primera línea (Crump et al., 2015). En este estudio, se caracterizaron como aislamientos multidrogoresistentes: el 50% (5/10) de los aislamientos del área de Emergencias, el 50% (1/2) de los dos aislamientos del área de consulta externa y todos los aislamientos del área de UCI. Esto refleja el traslado desde la comunidad hacia el ambiente hospitalario, de las cepas multidrogoresistentes, resaltando la importancia de monitorear la resistencia antibiótica de las cepas provenientes de alimentos, y que son el vehículo para las infecciones gastrointestinales de los pacientes que llegan al área de Emergencias del hospital.

Al relacionar la susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos, con los perfiles de virulencia, se registró que los aislamientos con perfil P1 (*pagC*, *sifA*) presentaron una proporción de cepas multidrogoresistentes de 38%, mientras los otros aislamientos con perfil P2 (*pagC*, *sifA*, *spvC*, *pefA*) fueron todos aislamientos “No MDR”, es decir susceptibles completamente o resistentes a 1 o 2 clases de antibióticos. Esto concuerda con otros estudios donde mencionan que la resistencia antimicrobiana y la virulencia en bacterias, siguen trayectorias evolutivas distintas. Sin embargo, difiere, de lo reportado por Higgins et al. (2020), donde encuentra una asociación significativa de aislamientos multidrogoresistentes a más de 5 antibióticos, con la presencia de los genes de virulencia plasmídicos como *spvC* y *pefA*. De acuerdo con estas diferencias, aún no es posible establecer una verdadera relación entre la virulencia y la susceptibilidad antimicrobiana de *S. enterica*.

También, al relacionar la susceptibilidad antimicrobiana con la capacidad de formación de biofilm, se observó que los aislamientos productores de biofilm débil presentaron la mayor proporción de MDR (86%), mientras que los productores fuertes de biofilm fueron aislamientos “No MDR”. Esto coincide con lo reportado por Voss-Rech et al. (2023), quienes encontraron una correlación negativa entre el fenotipo de multidrogorresistencia y la producción de biofilm en cepas de *S. enterica* aisladas de granjas, y que sugieren que la producción de biofilm y la multifdrogoresistencia son procesos que no pueden suceder de manera simultánea, puesto que la bacteria invierte recursos metabólicos para un mecanismo de supervivencia u otro. Por otro lado, también concuerda con lo encontrado por Ćwiek et al. (2020), quienes analizaron cepas de *S. Enteritidis* para encontrar la asociación entre la formación de biofilm y cepas multidrogoresistentes, sin embargo, no hallaron una correlación significativa. Esto puede sugerir que la resistencia antimicrobiana en estos aislamientos está más relacionada con otros mecanismos (bombas de eflujo, enzimas inactivantes) y no con los beneficios de la agregación multicelular y la formación de biofilm. Por otro lado, Chen et al. (2022), hallaron que *S.*

Typhimurium de secuencia tipo 34 (ST34) que poseían comportamiento multicelular - el cual es característico de la formación de biofilm - presentaban una asociación significativa entre una fuerte producción de biofilm y un fenotipo de multidrogorresistencia, en comparación con las cepas que no tenían este comportamiento multicelular. Lo cual se opone a lo encontrado en este estudio, sin embargo, se necesitaría un mayor número de aislamientos para investigar la relación entre la capacidad de producción de biofilm y la resistencia antimicrobiana.

VI. CONCLUSIONES

- Durante el año 2023, en el Hospital Nacional Hipólito Unanue, se identificaron 21 aislamientos microbiológica y genotípicamente, mediante el gen *invA*, como *Salmonella enterica*, de los cuales se identificaron 20 aislamientos como *S. enterica* No Tifoidea de manera bioquímica. Dentro de estos, se obtuvo un porcentaje de 30% (6/20) de aislamientos provenientes de muestras de sangre, indicando la circulación de cepas con potencial invasivo de *S. enterica* No Tifoidea en el hospital evaluado.
- Los genes de virulencia cromosómicos como *pagC* y *sifA* estuvieron presentes en un 100% (20/20) de los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea analizados, mientras que se detectaron los genes plasmídicos *pefA* y *spvC* solo en el 35% (7/20) de los aislamientos, identificándose dos perfiles de virulencia: P1 (*pagC* y *sifA*), y P2 (*pagC*, *sifA*, *pefA* y *spvC*). Lo encontrado evidencia que, los aislamientos clínicos presentan diferentes combinaciones de genes de virulencia que podrían influir en su capacidad de patogénesis, resaltando que el 50% (3/6) de los aislamientos provenientes de muestras de sangre, presentaron el perfil de virulencia P2.
- Todos los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea formaron biofilm en condiciones ambientales (27 °C), lo cual muestra que es una característica ampliamente distribuida en los aislamientos clínicos evaluados y que poseen un potencial de persistencia en el ambiente y, por tanto, favorecería la transmisión y diseminación de las cepas clínicas en superficies hospitalarias. Se encontró un 40% (8/20) de los aislamientos clínicos como productores fuertes de biofilm, destacando dentro de estos los aislamientos de origen invasivo.
- Los perfiles de susceptibilidad antimicrobiana de los aislamientos clínicos de *S. enterica* No Tifoidea evidenciaron un 100% (20/20) de aislamientos susceptibles a imipenem, y hasta un 70% (14/20) de aislamientos susceptibles a cefalosporinas de

tercera generación (cefepima y cefotaxima) y cloranfenicol, mientras que, se encontraron tasas de resistencia de 30-40% frente a antibióticos como ampicilina y sulfametoxazol-trimetoprima.

- El porcentaje de la susceptibilidad intermedia de 65% (13/20) a ciprofloxacino, evidencia un riesgo potencial de disminución de la susceptibilidad a las opciones terapéuticas, como las fluoroquinolonas utilizadas para casos de salmonelosis invasiva. Además, se identificaron aislamientos multidrogorresistentes (MDR) y extensamente drogorresistentes (XDR), lo que pone en evidencia la circulación de aislamientos con importancia clínica y epidemiológica en el hospital estudiado.

VII. RECOMENDACIONES

- Para el presente estudio, se recomienda realizar estudios futuros con un mayor número de aislamientos (de diversos hospitales de Lima) y la subsiguiente tipificación de serovariedades, que permitan establecer asociaciones significativas entre virulencia, formación de biofilm y resistencia antimicrobiana.
- Se recomienda realizar estudios de expresión génica y análisis genómico que permitan evaluar la función de los genes de virulencia plasmídicos como *pefA* y *spvC* en la formación de biofilm y en la invasión sistémica.
- También, realizar estudios comparativos entre aislamientos clínicos, ambientales y de origen alimentario, ayudará a comprender mejor las rutas de transmisión de cepas multidrogorresistentes desde la comunidad hacia el entorno hospitalario.

VIII. REFERENCIAS

- Abraham, A., Ifeanyi, S. S., Muinah, F., Ibidunni Oreoluwa, B. S., Coulibaly, K. J., y Adeyemi, A. I. (2019). Plasmid profile and role in virulence of salmonella enterica serovars isolated from food animals and humans in Lagos Nigeria. *Pathogens and Global Health*, 113(6), pp. 282–287. <https://doi.org/10.1080/20477724.2019.1691364>
- Agencia de Seguridad Sanitaria del Reino Unido (30 de setiembre de 2025). *UK Standards for Microbiology Investigations: Identification of Salmonella species*. <https://www.rcpath.org/static/ba491b57-5f61-4e69-b31e59dbb8883a8c/uk-smi-id-24i4-1-identification-of-salmonella-species-september-2025-pdf.pdf>
- Aleksandrowicz, A., Carolak, E., Dutkiewicz, A., Błachut, A., Waszczuk, W., y Grzymajło, K. (2023). Better together-Salmonella biofilm-associated antibiotic resistance. *Gut Microbes*, 15(1), 2229937. <https://doi.org/10.1080/19490976.2023.2229937>
- Allkja, J., Bjarnsholt, T., Coenye, T., Cos, P., Fallarero, A., Harrison, J. J., Lopes, S. P., Oliver, A., Pereira, M. O., Ramage, G., Shirtliff, M. E., Stoodley, P., Webb, J. S., Zaat, S. A. J., Goeres, D. M., y Azevedo, N. F. (2019). Minimum information guideline for spectrophotometric and fluorometric methods to assess biofilm formation in microplates. *Biofilm*, 2, 100010. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2019.100010>
- Alvarez, D. M., Barrón-Montenegro, R., Conejeros, J., Rivera, D., Undurraga, E. A., y Moreno-Switt, A. I. (2023). A review of the global emergence of multidrug-resistant Salmonella enterica subsp. enterica Seroovar Infantis. *International Journal of Food Microbiology*, 403, 110297. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110297>
- Bahramianfard, H., Derakhshandeh, A., Naziri, Z., y Khaltabadi Farahani, R. (2021). Prevalence, virulence factor and antimicrobial resistance analysis of Salmonella Enteritidis from poultry and egg samples in Iran. *BMC Veterinary Research*, 17(1), 196. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02900-2>

- Barletta, F., Mercado, E. H., Lluque, A., Ruiz, J., Cleary, T. G., y Ochoa, T. J. (2013). Multiplex real-time PCR for detection of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella*. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(9), pp. 2822–2829. <https://doi.org/10.1128/JCM.01397-13>
- Beuzón, C. R., Méresse, S., Unsworth, K. E., Ruíz-Albert, J., Garvis, S., Waterman, S. R., Ryder, T. A., Boucrot, E., y Holden, D. W. (2000). *Salmonella* maintains the integrity of its intracellular vacuole through the action of SifA. *The EMBO Journal*, 19(13), 3235–3249. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.13.3235>
- Bezek, K., Avberšek, J., Zorman Rojs, O., y Barlič-Maganja, D. (2023). Antimicrobial and Antibiofilm Effect of Commonly Used Disinfectants on *Salmonella* Infantis Isolates. *Microorganisms*, 11(2), 301. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020301>
- Białucha, A., Gospodarek-Komkowska, E., Kwiecińska-Piróg, J., y Skowron, K. (2020). Influence of Selected Factors on Biofilm Formation by *Salmonella enterica* Strains. *Microorganisms*, 9(1), 43. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010043>
- Boolchandani, M., D'Souza, A. W., y Dantas, G. (2019). Sequencing-based methods and resources to study antimicrobial resistance. *Nature reviews. Genetics*, 20(6), pp. 356–370. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0108-4>
- Borges, K. A., Furian, T. Q., de Souza, S. N., Menezes, R., de Lima, D. A., Fortes, F. B. B., Salle, C. T. P., Moraes, H. L. S., y Nascimento, V. P. (2018). Biofilm formation by *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium isolated from avian sources is partially related with their in vivo pathogenicity. *Microbial pathogenesis*, 118, 238–241. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.03.039>
- Cabrera, J. y Diaz, D. (2023). Vigilancia de la resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp. [Tesis de pregrado, Universidad Peruana Cayetano Heredia] Repositorio Institucional

de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

<https://hdl.handle.net/20.500.12866/13953>

Carrasco-Escobedo, E. J., Sánchez-Hurtado, L., Carrasco-Lozano, J. G., y Velásquez-Pomar, J. (2013). Un brote de salmonelosis no tífica entre internos de medicina en un hospital general. *Revista de La Sociedad Peruana de Medicina Interna*, 26(3), pp. 105-109. <http://revistamedicinainterna.net/index.php/spmi/article/view/402>

Chen, H. M., Wang, Y., Su, L. H., y Chiu, C. H. (2013). Nontyphoid salmonella infection: microbiology, clinical features, and antimicrobial therapy. *Pediatrics and neonatology*, 54(3), pp. 147–152. <https://doi.org/10.1016/j.pedneo.2013.01.010>

Chen, K., Gao, Y., Li, L., Zhang, W., Li, J., Zhou, Z., He, H., Chen, Z., Liao, M., y Zhang, J. (2022). Increased Drug Resistance and Biofilm Formation Ability in ST34-Type *Salmonella* Typhimurium Exhibiting Multicellular Behavior in China. *Frontiers in Microbiology*, 13, 876500. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.876500>

Cheng, R. A., Eade, C. R., y Wiedmann, M. (2019). Embracing Diversity: Differences in Virulence Mechanisms, Disease Severity, and Host Adaptations Contribute to the Success of Nontyphoidal *Salmonella* as a Foodborne Pathogen. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1368. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01368>

Chylkova, T., Cadena, M., Ferreiro, A., y Pitesky, M. (2017). Susceptibility of *Salmonella* Biofilm and Planktonic Bacteria to Common Disinfectant Agents Used in Poultry Processing. *Journal of Food Protection*, 80(7), pp. 1072–1079. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-16-393>

Cimdins, A., y Simm, R. (2017). Semiquantitative Analysis of the Red, Dry, and Rough Colony Morphology of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Escherichia coli* Using Congo Red. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1657, pp. 225–241. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7240-1_18

- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). (2023). CLSI M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (No. 33er Ed.). Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Crump, J. A., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M. A., y Parry, C. M. (2015). Epidemiology, Clinical Presentation, Laboratory Diagnosis, Antimicrobial Resistance, and Antimicrobial Management of Invasive *Salmonella* Infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(4), pp. 901–937. <https://doi.org/10.1128/CMR.00002-15>
- Ćwiek, K., Korzekwa, K., Tabiś, A., Bania, J., Bugla-Płoskońska, G., y Wieliczko, A. (2020). Antimicrobial Resistance and Biofilm Formation Capacity of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Strains Isolated from Poultry and Humans in Poland. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 9(8), 643. <https://doi.org/10.3390/pathogens9080643>
- Dehinwal, R., Cooley, D., Rakov, A. V., Alugupalli, A. S., Harmon, J., Cunrath, O., Vallabhajosyula, P., Bumann, D., y Schifferli, D. M. (2021). Increased Production of Outer Membrane Vesicles by *Salmonella* Interferes with Complement-Mediated Innate Immune Attack. *mBio*, 12(3), e0086921. <https://doi.org/10.1128/mBio.00869-21>
- Dutt, Y., Dhiman, R., Singh, T., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., Raj, V. S., Chang, C. M., y Priyadarshini, A. (2022). The Association between Biofilm Formation and Antimicrobial Resistance with Possible Ingenious Bio-Remedial Approaches. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 11(7), 930. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11070930>
- European Food Safety Authority [EFSA] y European Centre for Disease Prevention and Control [ECDC] (2022). The European Union One Health 2021 Zoonoses Report. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 20(12), e07666. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7666>

- Feng, Y., Liu, J., Li, Y. G., Cao, F. L., Johnston, R. N., Zhou, J., Liu, G. R., y Liu, S. L. (2012). Inheritance of the *Salmonella* virulence plasmids: mostly vertical and rarely horizontal. *Infection, Genetics And Evolution : Journal Of Molecular Epidemiology And Evolutionary Genetics In Infectious Diseases*, 12(5), pp. 1058–1063. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.03.004>
- Fierer J. (2001). Extra-intestinal *Salmonella* infections: the significance of *spv* genes. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication Of The Infectious Diseases Society Of America*, 32(3), pp. 519–520. <https://doi.org/10.1086/318505>
- Gal-Mor, O. (2018). Persistent infection and long-term carriage of Typhoidal and Nontyphoidal *Salmonellae*. *Clinical Microbiology Reviews*, 32, e00088-18. <https://doi.org/10.1128/CMR.00088>
- Gal-Mor, O., Boyle, E. C., y Grassl, G. A. (2014). Same species, different diseases: how and why typhoidal and non-typhoidal *Salmonella enterica* serovars differ. *Frontiers in Microbiology*, 5, 391. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00391>
- Gao, F., Huang, Z., Xiong, Z., Zheng, H., Deng, Q., Zhong, H., Zhu, S., Long, Y., y Wang, J. (2023). Prevalence, serotype, and antimicrobial resistance profiles of children infected with *Salmonella* in Guangzhou, southern China, 2016-2021. *Frontiers in Pediatrics*, 11, 1077158. <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1077158>
- Garcia, C., Hinostroza, N., Astocondor, L., Ochoa, T., Jacobs, J., y For The Salmoiber Cytel Network (2019). Characterization of ESBL-Producing *Salmonella enterica* Serovar Infantis infection in humans, Lima, Peru. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 101(4), pp. 746–748. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.19-0213>
- GBD 2017 Non-Typhoidal *Salmonella* Invasive Disease Collaborators (2019). The global burden of non-typhoidal salmonella invasive disease: a systematic analysis for the

- Global Burden of Disease Study 2017. *The Lancet. Infectious Diseases*, 19(12), pp. 1312–1324. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30418-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30418-9)
- Giaouris, E., Heir, E., Desvaux, M., Hébraud, M., Møretrø, T., Langsrud, S., Doulgeraki, A., Nychas, G. J., Kačániová, M., Czaczyk, K., Ölmez, H., y Simões, M. (2015). Intra- and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 6, 841. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00841>
- Gong, B., Feng, Y., Zhuo, Z., Song, J., Chen, X., y Li, X. (2023). Epidemiological, Genetic, and Phenotypic Characteristics of Non-Typhoidal *Salmonella* in Young Children, as Obtained from a Tertiary Hospital in Guangzhou, China. *Microorganisms*, 11(10), 2433. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102433>
- Gonzales, A. M., Wilde, S., y Roland, K. L. (2017). New Insights into the Roles of Long Polar Fimbriae and Stg Fimbriae in *Salmonella* Interactions with Enterocytes and M Cells. *Infection and Immunity*, 85(9), e00172-17. <https://doi.org/10.1128/IAI.00172-17>
- Granda, A., Riveros, M., Martínez-Puchol, S., Ocampo, K., Laureano-Adame, L., Corujo, A., Reyes, I., Ruiz, J., y Ochoa, T. J. (2019). Presence of Extended-Spectrum β -lactamase, CTX-M-65 in *Salmonella enterica* serovar Infantis Isolated from Children with Diarrhea in Lima, Peru. *Journal of Pediatric Infectious Diseases*, 14(4), pp. 194– 200. <https://doi.org/10.1055/S-0039-1685502>
- Hasson, S. O., Judi, H. K., Salih, H. H., Al-Khaykan, A., Akrami, S., Sabahi, S., Saki, M., y Al-Rubaie, Z. A. (2022). Intimin (*eae*) and virulence membrane protein *pagC* genes are associated with biofilm formation and multidrug resistance in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* isolates from calves with diarrhea. *BMC Research Notes*, 15(1), 321. <https://doi.org/10.1186/s13104-022-06218-6>

- Havelaar, A. H., Kirk, M. D., Torgerson, P. R., Gibb, H. J., Hald, T., Lake, R. J., Praet, N., Bellinger, D. C., de Silva, N. R., Gargouri, N., Speybroeck, N., Cawthorne, A., Mathers, C., Stein, C., Angulo, F. J., Devleesschauwer, B., y World Health Organization Foodborne Disease Burden Epidemiology Reference Group (2015). World Health Organization Global Estimates and Regional Comparisons of the Burden of Foodborne Disease in 2010. *PLoS Medicine*, 12(12), e1001923. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001923>
- Hernández-Ledesma, A., Cabrera-Díaz, E., Arvizu-Medrano, S. M., Gómez-Baltazar, A., Hernández-Iturriaga, M., y Godínez-Oviedo, A. (2023). Virulence and antimicrobial resistance profiles of *Salmonella enterica* isolated from foods, humans, and the environment in Mexico. *International journal of food microbiology*, 391-393, 110135. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110135>
- Higgins, D., Mukherjee, N., Pal, C., Sulaiman, I. M., Jiang, Y., Hanna, S., Dunn, J. R., Karmaus, W., y Banerjee, P. (2020). Association of Virulence and Antibiotic Resistance in *Salmonella*-Statistical and Computational Insights into a Selected Set of Clinical Isolates. *Microorganisms*, 8(10), 1465. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8101465>
- Hua, M. M., Li, J., Zheng, J., Wang, J. J., Liu, C., Zhang, Y., Zhang, Z. F., Cao, X. L., y Shen, H. (2024). Molecular Characteristics of *Salmonella* Spp. Responsible for Bloodstream Infections in a Tertiary Hospital in Nanjing, China, 2019-2021. *Infection and drug resistance*, 17, pp. 2363–2377. <https://doi.org/10.2147/IDR.S459941>
- Hudzicki (2009). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>

- Hurtado, R., Barh, D., Weimer, B. C., Viana, M. V. C., Profeta, R., Sousa, T. J., Aburjaile, F. F., Quino, W., Souza, R. P., Mestanza, O., Gavilán, R. G., y Azevedo, V. (2022). WGS-Based Lineage and Antimicrobial Resistance Pattern of *Salmonella* Typhimurium Isolated during 2000–2017 in Peru. *Antibiotics*, 11(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091170>
- Instituto Nacional de Salud [INS] (2024) *Comisión Multisectorial organizó taller para revisión del Plan Multisectorial para la Contención de la Resistencia a los Antimicrobianos*. <https://www.gob.pe/institucion/ins/noticias/932010-comision-multisectorial-organizo-taller-para-revision-del-plan-multisectorial-para-la-contencion-de-la-resistencia-a-los-antimicrobianos>
- Jajere, S. M. (2019). A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Veterinary World*, 12(4), 504–521. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.504-521>
- Ju, Z., Cui, L., Lei, C., Song, M., Chen, X., Liao, Z., Zhang, T., y Wang, H. (2023). Whole-Genome Sequencing Analysis of Non-Typhoidal *Salmonella* Isolated from Breeder Poultry Farm Sources in China, 2020-2021. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(11), 1642. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111642>
- Kim, C., Frost, I., Naylor, N. R., Au, H., Kim, Y., Lee, Y., Bzymek, A., Majgier, K., Moldoveanu, A. L., Salman, O. M., Simiyu, S., Youssef, D. M., Hasso-Agopsowicz, M., y Abbas, K. (2025). Length of hospital stay and associated treatment costs for patients with susceptible and antibiotic-resistant *Salmonella* infections: a systematic review and meta-analysis. *BMJ open*, 15(6), e092494. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2024-092494>

- Koo, H., Allan, R. N., Howlin, R. P., Stoodley, P., y Hall-Stoodley, L. (2017). Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nature Reviews. Microbiology*, 15(12), 740–755. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.99>
- Krishnakant, S., Wu, Y., Leonardo Avila, H., Anand, A., Sicheritz-Pontén, T., Millard, A., Amol Marathe, S., y Nobrega, F. L. (2024). Comprehensive blueprint of *Salmonella* genomic plasticity identifies hotspots for pathogenicity genes. *PLoS Biology*, 22(8), e3002746. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3002746>
- Lamas, A., Regal, P., San Julián, L., López-Santamarina, A., Manuel Franco, C., y Cepeda, A. (2021). An Overview of *Salmonella* Biofilms and the Use of Bacteriocins and Bacteriophages as New Control Alternatives. *IntechOpen*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98208>
- Lamichane, B., Mawad, A. M. M., Saleh, M., Kelley, W. G., Harrington, P. J., 2nd, Lovestad, C. W., Amezcua, J., Sarhan, M. M., El Zowalaty, M. E., Ramadan, H., Morgan, M., y Helmy, Y. A. (2024). Salmonellosis: An Overview of Epidemiology, Pathogenesis, and Innovative Approaches to Mitigate the Antimicrobial Resistant Infections. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 13(1), 76. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13010076>
- Ledeboer, N. A., Frye, J. G., McClelland, M., y Jones, B. D. (2006). *Salmonella enterica* serovar Typhimurium requires the Lpf, Pef, and Tafi fimbriae for biofilm formation on HEp-2 tissue culture cells and chicken intestinal epithelium. *Infection and Immunity*, 74(6), 3156–3169. <https://doi.org/10.1128/IAI.01428-05>
- Li Q. (2022). Mechanisms for the Invasion and Dissemination of *Salmonella*. *The Canadian Journal of Infectious Diseases y Medical Microbiology = Journal Canadien des Maladies Infectieuses et de la Microbiologie Medicale*, 2022, 2655801. <https://doi.org/10.1155/2022/2655801>

- Li, Y., Lu, B., Qiang, X., Lin, Y., He, J., y Cai, Y. (2025). AI-2 Signaling: A Potential Driver of Bacteremia in Non-Typhoidal *Salmonella* Infections. *Infection and drug resistance*, 18, pp. 1521–1537. <https://doi.org/10.2147/IDR.S507908>
- Liss, V., Swart, A. L., Kehl, A., Hermanns, N., Zhang, Y., Chikkaballi, D., Böhles, N., Deiwick, J., y Hensel, M. (2017). *Salmonella enterica* Remodels the Host Cell Endosomal System for Efficient Intravacuolar Nutrition. *Cell Host y Microbe*, 21(3), pp. 390–402. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.02.005>
- Liu, X., Jiang, Z., Liu, Z., Li, D., Liu, Z., Dong, X., Yan, S., Zhu, L., Cui, D., Chen, L., y Wang, J. (2023). Biofilm-forming ability of *Salmonella enterica* strains of different serotypes isolated from multiple sources in China. *Microbial Pathogenesis*, 182, 106275. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106275>
- Locke, S. R., Vinayamohan, P. G., Diaz-Campos, D., y Habing, G. (2025). Biofilm-forming Abilities of *Salmonella* Serovars Isolated From Clinically Ill Livestock at 48 and 168 h. *Journal of food protection*, 88(4), 100466. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2025.100466>
- Lozano-Villegas, K. J., Herrera-Sánchez, M. P., Beltrán-Martínez, M. A., Cárdenas-Moscoso, S., y Rondón-Barragán, I. S. (2023). Molecular Detection of Virulence Factors in *Salmonella* serovars Isolated from Poultry and Human Samples. *Veterinary Medicine International*, 2023, 1875253. <https://doi.org/10.1155/2023/1875253>
- Lu, J., Li, L., Pan, F., Zuo, G., Yu, D., Liu, R., Fan, H., y Ma, Z. (2020). PagC is involved in salmonella pullorum OMVs production and affects biofilm production. *Veterinary Microbiology*, 247, 108778. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108778>
- Lu, Y., Sun, P., Shao, W., Yang, C., Chen, L., Zhu, A., y Pan, Z. (2022). Detection and Molecular Identification of *Salmonella* Pathogenic Islands and Virulence Plasmid

- Genes of *Salmonella* in Xuzhou Raw Meat Products. *Journal of food protection*, 85(12), pp. 1790–1796. <https://doi.org/10.4315/JFP-22-169>
- MacKenzie, K. D., Wang, Y., Musicha, P., Hansen, E. G., Palmer, M. B., Herman, D. J., Feasey, N. A., y White, A. P. (2019). Parallel evolution leading to impaired biofilm formation in invasive *Salmonella* strains. *PLoS Genetics*, 15(6), e1008233. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008233>
- Mahajan, R. K., Khan, S. A., Chandel, D. S., Kumar, N., Hans, C., y Chaudhry, R. (2003). Fatal case of *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* gastroenteritis in an infant with microcephaly. *Journal Of Clinical Microbiology*, 41(12), pp. 5830–5832. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.12.5830-5832.2003>
- Martínez-Puchol, S., Pons, M. J., Ruiz-Roldán, L., Laureano-Adame, L., Corujo, A., Ochoa, T. J., y Ruiz, J. (2020). Nitrofurantoin resistance in *Salmonella enterica* isolated from meat for human consumption. Resistencia a nitrofuranos en *Salmonella enterica* aisladas de carne para consumo humano. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 37(1), pp. 99–103. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2020.371.4745>
- Martone-Rocha, S., Dropa, M., Moreira Calixto da Cruz, B., Belisário Mendes Oliveira Leite, D., Pereira Dos Santos, T., y Pepe Razzolini, M. T. (2023). Antimicrobial profile of non-typhoidal *Salmonella* isolated from raw sewage in the Metropolitan Region of São Paulo, Brazil. *Journal of Infection in Developing Countries*, 17(1), pp. 86–92. <https://doi.org/10.3855/jidc.16946>
- Mazurkiewicz, P., Thomas, J., Thompson, J. A., Liu, M., Arbibe, L., Sansonetti, P., y Holden, D. W. (2008). SpvC is a *Salmonella* effector with phosphothreonine lyase activity on host mitogen-activated protein kinases. *Molecular Microbiology*, 67(6), pp. 1371–1383. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06134.x>

- Mitchell, E. K., Mastroeni, P., Kelly, A. P., y Trowsdale, J. (2004). Inhibition of cell surface MHC class II expression by *Salmonella*. *European Journal of Immunology*, 34(9), pp. 2559–2567. <https://doi.org/10.1002/eji.200425314>
- Morasi, R. M., da Silva, A. Z., Nuñez, K. V. M., Dantas, S. T. A., Faganello, C., Juliano, L. C. B., Tiba-Casas, M. R., Pantoja, J. C. F., Amarante, A. F., Júnior, A. F., Rall, V. L. M., y Silva, N. C. C. (2022). Overview of antimicrobial resistance and virulence factors in *Salmonella* spp. isolated in the last two decades from chicken in Brazil. *Food research international* (Ottawa, Ont.), 162(Pt A), 111955. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111955>
- Nair, A., Rawool, D. B., Doijad, S., Poharkar, K., Mohan, V., Barbuddhe, S. B., Kolhe, R., Kurkure, N. V., Kumar, A., Malik, S. V. S., y Balasaravanan, T. (2015). Biofilm formation and genetic diversity of *Salmonella* isolates recovered from clinical, food, poultry and environmental sources. *Infection, Genetics and Evolution*, 36, pp. 424–433. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2015.08.012>
- National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (U.S.) Division of Foodborne, Waterborne, and Environmental Diseases. (2018). *National Enteric Disease Surveillance : Salmonella annual report, 2016*. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/58450>
- Nikiema, M., Kakou-Ngazon, S., Ky/Ba, A., Sylla, A., Bako, E., Addablah, A., Ouoba, J. B., Sampo, E., Gnada, K., Zongo, O., Traoré, K. A., Sanou, A., Bonkougou, I., Ouédraogo, R., Barro, N., y Sangaré, L. (2021). Characterization of virulence factors of *Salmonella* isolated from human stools and street food in urban areas of Burkina Faso. *BMC Microbiology*, 21(1), 338. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02398-6>
- Organización Mundial de la Salud [OMS] (2024a) Objetivos de Desarrollo Sostenible. <https://www.paho.org/es/temas/objetivos-desarrollo-sostenible>

Organización Mundial de la Salud [OMS] (2024b). WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>

Organización Mundial de la Salud Global Foodborne Infections Network [OMS-GFN] (2015) *Laboratory Protocol: “Biochemical Identification of Salmonella and Shigella Using an Abbreviated Panel of Tests”*. https://antimicrobialresistance.dk/CustomerData/Files/Folders/2-newsletter-pdf/20_07-gfn-biochem-v002-final-16oct2015.pdf

Ouali, B. E. F., Chiou, T. H., Chen, J. W., Lin, I. C., Liu, C. C., Chiang, Y. C., Ho, T. S., y Wang, H. V. (2021). Correlation Between Pathogenic Determinants Associated with Clinically Isolated Non-Typhoidal *Salmonella*. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(1), 74. <https://doi.org/10.3390/pathogens10010074>

Park, S. Y., y Groisman, E. A. (2014). Signal-specific temporal response by the *Salmonella* PhoP/PhoQ regulatory system. *Molecular Microbiology*, 91(1), pp. 135–144. <https://doi.org/10.1111/mmi.12449>

Parra-Payano, V. D., Rondón-Paz, C. R., y García, C. (2019). Salmonelosis invasiva en un hospital de Lima, Perú [Invasive salmonellosis in a hospital in Lima, Peru]. *Revista Peruana De Medicina Experimental y Salud Publica*, 36(3), pp. 464–468. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.363.4330>

Patrick A. D y Grimont F. (2007). *Antigenic formulae of the Salmonella serovars*. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, Pasteur Institute.

- Pavon, R. D. N., Mendoza, P. D. G., Flores, C. A. R., Calayag, A. M. B., y Rivera, W. L. (2022). Genotypic virulence profiles and associations in *Salmonella* isolated from meat samples in wet markets and abattoirs of Metro Manila, Philippines. *BMC Microbiology*, 22(1), 292. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02697-6>
- Petrin, S., Mancin, M., Losasso, C., Deotto, S., Olsen, J. E., y Barco, L. (2022). Effect of pH and Salinity on the Ability of *Salmonella* Serotypes to Form Biofilm. *Frontiers in Microbiology*, 13, 821679. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.821679>
- Pietsch, M., Simon, S., Meinen, A., Trost, E., Banerji, S., Pfeifer, Y., y Flieger, A. (2021). Third generation cephalosporin resistance in clinical non-typhoidal *Salmonella enterica* in Germany and emergence of bla CTX-M-harboring pESI plasmids. *Microbial Genomics*, 7(10), 000698. <https://doi.org/10.1099/mgen.0.000698>
- Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., Janda, W. M., Koneman, E. W., Schreckenberger, P. C., y Woods, G. L. (2018). *Koneman's Color Atlas And Textbook Of Diagnostic Microbiology*.
- Proroga, Y. T. R., Capuano, F., Capparelli, R., Bilei, S., Bernardo, M., Cocco, M. P., Campagnuolo, R., y Pasquale, V. (2018). Characterization of non-typhoidal *Salmonella enterica* strains of human origin in central and southern Italy. *Italian Journal Of Food Safety*, 7(1), 6888. <https://doi.org/10.4081/ijfs.2018.6888>
- Quino, W., Hurtado, C. V., Escalante-Maldonado, O., Flores-León, D., Mestanza, O., Vences-Rosales, F., Zamudio, M. L., y Gavilán, R. G. (2019). Multidrogorresistencia de *Salmonella infantis* en Perú: un estudio mediante secuenciamiento de nueva generación [Multidrug resistance of *Salmonella infantis* in Peru: a study through next generation sequencing]. *Revista Peruana De Medicina Experimental y Salud Publica*, 36(1), 37–45. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.3934>

- Quino, W., Hurtado, C. V., Meza, A. M., Zamudio, M. L., y Gavilan, R. G. (2020a). Patrones de resistencia a los antimicrobianos en serovares de *Salmonella enterica* en Perú, 2012-2015 [Patterns of resistance to antimicrobials in serovars of *Salmonella enterica* in Peru, 2012-2015]. *Revista Chilena De Infectologia : Organo Oficial De La Sociedad Chilena De Infectologia*, 37(4), 395–401. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182020000400395>
- Rana, S., Maurya, S., Chadrsekhar, H., y Srikanth, C. V. (2021). Molecular determinants of peaceful coexistence versus invasiveness of non-Typhoidal *Salmonella*: Implications in long-term side-effects. *Molecular Aspects Of Medicine*, 81, 100997. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2021.100997>
- Reis, R. O. D., Souza, M. N., Cecconi, M. C. P., Timm, L., Ikuta, N., Simon, D., Wolf, J. M., y Lunge, V. R. (2018). Increasing prevalence and dissemination of invasive nontyphoidal *Salmonella* serotype Typhimurium with multidrug resistance in hospitalized patients from southern Brazil. *The Brazilian journal of Infectious Diseases*, 22(5), 424–432. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2018.08.002>
- Rezaei, A., Hashemi, F. B., Heshteli, R. R., Rahmani, M., y Halimi, S. (2022). Frequency of *Salmonella* serotypes among children in Iran: antimicrobial susceptibility, biofilm formation, and virulence genes. *BMC Pediatrics*, 22(1), 557. <https://doi.org/10.1186/s12887-022-03614-6>
- Rodríguez, I., Rodicio, M. R., Guerra, B., y Hopkins, K. L. (2012). Potential international spread of multidrug-resistant invasive *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Emerging Infectious Diseases*, 18(7), 1173–1176. <https://doi.org/10.3201/eid1807.120063>
- Rosso, F., Rebellón-Sánchez, D. E., Llanos-Torres, J., Hurtado-Bermudez, L. J., Ayerbe, L., Suárez, J. H., Orozco-Echeverri, N., Rojas-Perdomo, C. C., Zapata-Vasquez, I. L.,

- Patiño-Niño, J., y Parra-Lara, L. G. (2023). Clinical and microbiological characterization of *Salmonella* spp. isolates from patients treated in a university hospital in South America between 2012-2021: a cohort study. *BMC infectious diseases*, 23(1), 625. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08589-y>
- Ruiz, J., Flores-Paredes, W., Luque, N., Albornoz, R., Rojas, N., Espinoza, M., y Pons, M. J. (2022). Retrospective analysis of the emergence of antibiotic-resistant *Salmonella enterica* infections in a level IV hospital from Lima, Peru. *Tropical Doctor*, 52(1), 68–73. <https://doi.org/10.1177/00494755211060990>
- Rychlik, I., Gregorova, D., y Hradecka, H. (2006). Distribution and function of plasmids in *Salmonella enterica*. *Veterinary Microbiology*, 112(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2005.10.030>
- Sain, A., Sharma, D. K., Singathia, R., Gaurav, A., Patidar, C., Suthar, P., Rathore, K., y Juneja, R. (2024). Antibiotic resistance and virulence genes profile of Non typhoidal *Salmonella* species isolated from poultry enteritis in India. *Tropical Animal Health And Production*, 56(2), 91. <https://doi.org/10.1007/s11250-024-03932-0>
- Sedrakyan, A., Ktsoyan, Z., Arakelova, K., Gevorgyan, Z., Zakharyan, M., Hakobyan, S., Hovhannisyan, A., Arakelyan, A., y Aminov, R. (2022). Molecular Epidemiology and Virulence of Non-Typhoidal *Salmonella* in Armenia. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(16), 9330. <https://doi.org/10.3390/ijms23169330>
- Seribelli, A. A., Cruz, M. F., Vilela, F. P., Frazão, M. R., Paziani, M. H., Almeida, F., Medeiros, M. I. C., Rodrigues, D. D. P., Kress, M. R. V. Z., Allard, M. W., y Falcão, J. P. (2020). Phenotypic and genotypic characterization of *Salmonella* Typhimurium isolates from humans and foods in Brazil. *PloS one*, 15(8), e0237886. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237886>

- Servicio Nacional de Sanidad Agraria del Perú [SENASA] (2023). Perfil de Riesgo SENASA 2022 *Salmonella* spp. (no tifoidea) en carne de aves de corral y cerdo, Perú. https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/4050848/Manual_Perfil_de_Riesgo_Salmonella_para%20publicaci%C3%B3n.pdf.pdf
- Shatila, F., Yaşa, İ., y Yalçın, H. T. (2021). Biofilm Formation by *Salmonella enterica* Strains. *Current Microbiology*, 78(4), 1150–1158. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02373-4>
- Silva, C., Calva, E., y Maloy, S. (2014). One Health and Food-Borne Disease: *Salmonella* Transmission between Humans, Animals, and Plants. *Microbiology Spectrum*, 2(1), . <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.OH-0020-2013>
- Silva, C., Betancor, L., García, C., Astocondor, L., Hinostroza, N., Bisio, J., Rivera, J., Perezgasga, L., Pérez Escanda, V., Yim, L., Jacobs, J., García-Del Portillo, F., SalmoIber CYTED Network, Chabalgoity, J. A., y Puente, J. L. (2017a). Characterization of *Salmonella enterica* isolates causing bacteremia in Lima, Peru, using multiple typing methods. *PloS One*, 12(12), e0189946. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189946>
- Silva, C., Puente, J. L., y Calva, E. (2017b). *Salmonella* virulence plasmid: pathogenesis and ecology. *Pathogens And Disease*, 10.1093/femspd/ftx070. Advance online publication. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx070>
- Sima, C. M., Buzilă, E. R., Trofin, F., Păduraru, D., Luncă, C., Duhaniuc, A., Dorneanu, O. S., y Nastase, E. V. (2024). Emerging Strategies against Non-Typhoidal *Salmonella*: From Pathogenesis to Treatment. *Current Issues In Molecular Biology*, 46(7), 7447–7472. <https://doi.org/10.3390/cimb46070442>

- Steenackers, H., Hermans, K., Vanderleyden, J., y De Keersmaecker, S. C. (2012). Salmonella biofilms: an overview on occurrence, structure, regulation and eradication. *Food research international*, 45(2), 502-531. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.01.038>
- Stepanović, S., Cirković, I., Ranin, L., y Svabić-Vlahović, M. (2004). Biofilm formation by *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* on plastic surface. *Letters in applied microbiology*, 38(5), 428–432. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2004.01513.x>
- Suravaram, S., Hada, V., y Ahmed Siddiqui, I. (2021). Comparison of antimicrobial susceptibility interpretation among Enterobacteriaceae using CLSI and EUCAST breakpoints. *Indian Journal Of Medical Microbiology*, 39(3), 315–319. <https://doi.org/10.1016/j.ijmmb.2021.05.004>
- Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outtersson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., Theuretzbacher, U., ... WHO Pathogens Priority List Working Group (2018). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet. Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3)
- Tiba-Casas, M. R., Almeida, E. A., Costa, G. L., Bertani, A. M. J., Vieira, T., y Camargo, C. H. (2024). Trends in antimicrobial susceptibility patterns in *Salmonella* from human and nonhuman sources in Sao Paulo State, Brazil, 2016-2023. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 66, e64. <https://doi.org/10.1590/S1678-9946202466064>
- Uğur, S., Akçelik, N., Yüksel, F. N., Taşkale Karatuğ, N., y Akçelik, M. (2018). Effects of *dam* and *seqA* genes on biofilm and pellicle formation in *Salmonella*. *Pathogens And Global Health*, 112(7), 368–377. <https://doi.org/10.1080/20477724.2018.1539803>

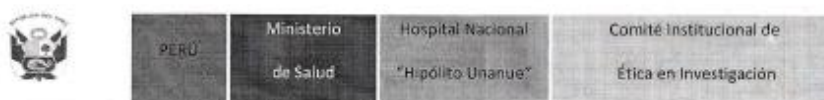
- Vargas E. (2019) Las enfermedades transmitidas por alimentos: un grave problema de salud pública. *Boletín Epidemiológico del Perú*. 28 (08): 191-192
- Vázquez, X., Fernández, J., Heinisch, J. J., Rodicio, R., y Rodicio, M. R. (2024). Insights into the Evolution of IncR Plasmids Found in the Southern European Clone of the Monophasic Variant of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 13(4), 314. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13040314>
- von Wintersdorff, C. J., Penders, J., van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., van Alphen, L. B., Savelkoul, P. H., y Wolffs, P. F. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7, 173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
- Voss-Rech, D., Ziech, R. E., Vaz, C. S. L., Coldebella, A., Kuchiishi, S. S., Balzan, C., Matter, L., Vargas, Á. C., y Botton, S. A. (2023). Association between antimicrobial resistance and biofilm forming ability of *Salmonella enterica* serotypes from commercial broiler farms in Brazil. *British Poultry Science*, 64(2), 224–230. <https://doi.org/10.1080/00071668.2022.2136511>
- Wang, M., Qazi, I. H., Wang, L., Zhou, G., y Han, H. (2020a). *Salmonella* Virulence and Immune Escape. *Microorganisms*, 8(3), 407. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030407>
- Wang, F., Deng, L., Huang, F., Wang, Z., Lu, Q., y Xu, C. (2020b). Flagellar Motility Is Critical for *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Biofilm Development. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1695. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01695>
- Wen, S. C., Best, E., y Nourse, C. (2017). Non-typhoidal *Salmonella* infections in children: Review of literature and recommendations for management. *Journal of paediatrics and child health*, 53(10), 936–941. <https://doi.org/10.1111/jpc.13585>

- Yue, M., Li, X., Liu, D., y Hu, X. (2020). Serotypes, antibiotic resistance, and virulence genes of *Salmonella* in children with diarrhea. *Journal of clinical laboratory analysis*, 34(12), e23525. <https://doi.org/10.1002/jcla.23525>
- Zhang, D., Zhuang, L., Wang, C., Zhang, P., Zhang, T., Shao, H., Han, X., y Gong, J. (2018). Virulence Gene Distribution of *Salmonella* Pullorum Isolates Recovered from Chickens in China (1953-2015). *Avian diseases*, 62(4), 431–436. <https://doi.org/10.1637/11927-071318-ResNote.1>
- Zhou, X., Li, M., Xu, L., Shi, C., y Shi, X. (2019). Characterization of Antibiotic Resistance Genes, Plasmids, Biofilm Formation, and *In Vitro* Invasion Capacity of *Salmonella* Enteritidis Isolates from Children with Gastroenteritis. *Microbial Drug Resistance (Larchmont, N.Y.)*, 25(8), 1191–1198. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0421>

IX. ANEXOS

Anexo A

Carta N°100-2023-CIEI-HNHU de Aprobación por el Comité de Ética del Hospital Nacional Hipólito Unanue



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

CARTA N° 100 - 2023 - CIEI-HNHU

A : **MARIBEL DENISE RIVEROS RAMÍREZ**
 ASUNTO : **Aprobación de Proyecto de Investigación**
 Referencia : Expediente N° 23 - 018088 - 001
 FECHA : El Agustino, 10 de agosto del 2023

Es grato dirigirme a usted, para saludarle y dar respuesta al documento de referencia donde presenta el Proyecto de Investigación titulado: **"Caracterización de factores de virulencia de Salmonella spp. no tifoidea causante de salmonelosis en niños de 0 a 5 años en el Hospital Hipólito Unanue de julio a noviembre del 2023"**. Como Investigador principal y docente de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la UNFV. El anhelo del grupo de investigación es realizar el estudio planificado, motivo por el cual solicito amablemente a su despacho, la revisión y aprobación del Proyecto.

El Comité, en sesión virtual de fecha miércoles 19 de julio del presente año, y según consta en el Libro de actas N° 9, Acordó por unanimidad: Aprobar el Proyecto de Investigación antes mencionada.

La vigencia del periodo de la aprobación del proyecto antes mencionada, caducará el 19 de julio del 2024. Notificar inmediatamente al CIEI de cualquier incidente, desviación o enmienda. El Investigador reportará cada seis (06) meses el avance del Protocolo de investigación y alcanzar al término de este estudio un informe final.

Los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Atentamente,

The image shows a blue ink signature over a circular official stamp. The stamp contains the text: "MINISTERIO DE SALUD", "HOSPITAL NACIONAL HIPÓLITO UNANUE", "DRA. ANGELICA ROSA MURILLO", and "Presidenta del Comité de Ética en Investigación".

Anexo B**Carta N°077-2024-CIEI-HNHU de Aprobación de Modificaciones por el Comité de Ética del Hospital Nacional Hipólito Unanue**

PERÚ	Ministerio de Salud	Hospital Nacional Hipólito Unanue	Comité Institucional de Ética en Investigación
Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho			
CARTA N° 077 - 2024 - CIEI-HNHU			
A	: MARIBEL DENISE RIVEROS RAMÍREZ		
ASUNTO	: Cambio de título del Proyecto de Investigación		
Referencia	: Expediente N° 24 - 006139 - 001		
FECHA	: El Agustino, 20 de mayo del 2024		
Es grato dirigirme a usted, para dar respuesta al documento de referencia donde solicita cambio de título del Proyecto de Investigación : "Caracterización de factores de virulencia de Salmonella spp no tifoidea causante de salmonelosis en niños de 0 a 5 años en el Hospital Nacional Hipólito Unanue de julio a noviembre del 2023", aprobada en sesión ordinaria del CIEI-HNHU de fecha 19 de julio del 2023, mediante Carta N° 100 - 2023 - CIEI-HNHU; Para cambiar por el título de : "Caracterización de factores de virulencia de Salmonella spp. no tifoidea causante de salmonelosis en el Hospital Hipólito Unanue durante el año 2023". Este cambio es debido a la orientación de los Investigadores del grupo de investigación, para sí ampliar el tamaño muestral del estudio. El Comité, en sesión virtual de fecha miércoles 08 de mayo del presente año, y según consta en el Libro de actas N° 9, Acordó por unanimidad: Aprobar el cambio de título del proyecto de Investigación por el de: "Caracterización de factores de virulencia de Salmonella spp. no tifoidea causante de salmonelosis en el Hospital Hipólito Unanue durante el año 2023". Atentamente,  MINISTERIO DE SALUD Hospital Nacional Hipólito Unanue DRA. ANGELICA RICCI YAURIVILCA C.M.P. 5482 Presidente del Comité de Ética en Investigación			
ARY Archivo			
Avenida César Vallejo N° 1390 distrito El Agustino - Lima - Perú Correo electrónico: ciei@hnhu.gob.pe - teléfono: 2919092, 3627777 anexo 2196			

[illegible]

Anexo D

Condiciones de amplificación de los genes: *invA*, *pagC*, *sifA*, *spvC* y *pefA*.

- Para los genes *invA* y *pagC*

Fase	Tiempo	T (°C)	N° de Ciclos
Denaturación Inicial	5 min	95	1
Denaturación	30 s	95	30
Hibridación	30 s	60	30
Extensión	30 s	72	30
Extensión Final	3 min	72	1

- Para el gen *sifA*

Fase	Tiempo	T (°C)	N° de Ciclos
Denaturación Inicial	5 min	95	1
Denaturación	30 s	95	30
Hibridación	30 s	60	30
Extensión	40 s	72	30
Extensión Final	3 min	72	1

- Para los genes *spvC* y *pefA*

Fase	Tiempo	T (°C)	N° de Ciclos
Denaturación Inicial	5 min	95	1
Denaturación	30 s	95	30
Hibridación	30 s	60	30
Extensión	30 s	72	30
Extensión Final	3 min	72	1

Anexo E

Valores de Absorbancia de la Producción de biofilm de 21 Aislamientos Clínicos de *S.*

enterica a 27°C durante 48 horas.

Aislamiento	Origen	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Media	Desviación Estándar	Producción de Biofilm
01PS	Rectal	0,272	0,255	0,267	0,254	0,262	0,0089	Productor Débil
02PS	Absceso	0,926	0,983	1,073	0,985	0,99175	0,0607	Productor Moderado
03PS	Orina	1,22	1,202	1,09	1,134	1,1615	0,0604	Productor Fuerte
04PS	Rectal	2,22	2,11	2,133	2,109	2,143	0,0525	Productor Fuerte
06PS	Orina	0,417	0,369	0,383	0,416	0,39625	0,0241	Productor Débil
07PS	Sangre	1,913	1,994	1,887	2,01	1,951	0,0602	Productor Fuerte
08PS	Sangre	1,278	1,144	1,175	1,132	1,18225	0,0664	Productor Fuerte
09PS	Sangre	1,683	1,63	1,444	1,657	1,6035	0,1085	Productor Fuerte
10PS	Rectal	1,559	1,528	1,456	1,112	1,41375	0,2057	Productor Fuerte
12PS	Sangre	0,592	0,755	0,779	0,903	0,75725	0,1278	Productor Moderado
13PS	Sangre	0,266	0,306	0,365	0,419	0,339	0,0671	Productor Débil
14PS	Rectal	0,824	0,908	1,068	1,135	0,98375	0,1429	Productor Moderado
15PS	Sangre	1,075	1,021	1,075	0,985	1,039	0,0441	Productor Fuerte
16PS	Rectal	0,32	0,321	0,346	0,408	0,34875	0,0413	Productor Débil
17PS	Rectal	0,536	0,514	0,558	0,603	0,55275	0,0380	Productor Moderado
18PS	Sangre	0,251	0,258	0,267	0,275	0,26275	0,0105	Productor Débil
19PS	Rectal	1,292	1,534	1,476	1,488	1,4475	0,1066	Productor Fuerte
20PS	Rectal	0,305	0,299	0,324	0,346	0,3185	0,0212	Productor Débil
21PS	Rectal	0,485	0,413	0,432	0,557	0,47175	0,0645	Productor Débil
22PS	Rectal	0,608	0,692	0,709	0,768	0,69425	0,0661	Productor Moderado
23PS	Rectal	0,264	0,275	0,288	0,365	0,298	0,0457	Productor Débil
ATCC 14028		1,628	1,677	1,686	1,67	1,66525	0,0257	Productor Fuerte
CN		0,221	0,227	0,223	0,237	0,227	0,0071	Negativo