

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Carola Amparo de la Cruz Gómez

Para optar al título de

Química Bióloga

Guatemala, Agosto de 2006

DL
06
T(2352)

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph. D.	Decano
Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona, M.A	Secretaria
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez	Vocal III
Br. Angel Damián Reyes Valenzuela	Vocal IV
Br. Angel Jacobo Conde Pereira	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS: Por su inmenso amor y misericordia, por ser mi guía y por permitirme llegar hasta donde hoy me encuentro.

A MIS PADRES: Carlos de la Cruz y Floricelda Gómez por su amor, apoyo, confianza, consejos y sacrificios.

A MIS ABUELITOS: Con amor y agradecimiento a mamá Amparo[†] papá Meme[†] y mis abuelitos Antonia[†] y Paulo.

A MIS HERMANOS: Rosario, Juan Manuel y en especial a mi hermano Alex que con su apoyo incondicional no hubiera podido alcanzar el éxito.

A MIS AMIGOS: Les agradezco su cariño, apoyo, confianza, por compartir conmigo una de las experiencias más gratificantes de mi vida; especialmente a mi amiga Pavela, le doy gracias a Dios por tener y contar con ella como una hermana. A Moisés, Wendy, Brenda, Karla, Nidia, Estelita, Evangelina, Nancy, Julia Elisa, Sharon, Ericka, Karina, Lety y a todos mis compañeros que estuvieron junto a mí, mientras avanzamos en el recorrido de la carrera profesional.

A MI ASESOR: Lic. Jorge Matheu, por su apoyo.

MI AGRADECIMIENTO: Al Lic. Osberth Morales, por su apoyo.
Al personal de Laboratorio Nacional de Salud por su colaboración en la elaboración de dicha investigación.

ÍNDICE

I	Resumen	1
II	Introducción	3
III	Antecedentes	5
	A. Generalidades	6
	B. Distribución	8
	C. Reservorio	9
	D. Fuentes de transmisión	10
	E. Características clínicas	10
	F. Diagnóstico	12
	G. Aislamiento e identificación	13
	H. Tratamiento	16
	I. Resistencia antimicrobiana en <i>Salmonella</i>	17
IV	Justificación	22
V	Objetivos	23
VI	Hipótesis	24
VII	Materiales y Métodos	25
VIII	Resultados	31
IX	Discusión de Resultados	37
X	Conclusiones	41
XI	Recomendaciones	42
XII	Referencias	43

I. RESUMEN

En el presente estudio se determinó la resistencia antimicrobiana en 98 aislamientos de *Salmonella* spp, del banco de cepas del Laboratorio Nacional de Salud, referidas a este, durante el periodo del 2000 al 2003.

Estos aislamientos fueron sometidos a pruebas de sensibilidad por el método de difusión en disco de acuerdo con las normas de la NCCLS, para determinar la presencia de β -lactamasas de espectro extendido utilizando los discos de amoxicilina/ácido clavulánico, cefotaxima, cefoxitina y ceftazidima; con el fin de establecer el grado de resistencia antimicrobiana. El programa WHONET permitió establecer y determinar la resistencia de las cepas de *Salmonella* spp hacia agentes β -lactámicos y no β -lactámicos con y sin presencia de β -lactamasas de espectro extendido, la distribución según su origen (hospitalario-comunidad), la resistencia a quinolonas, así como la presencia de mecanismos de resistencia adquiridos como β -lactamasa de espectro ampliado.

Los resultados obtenidos muestran que un 27 por ciento de los aislamientos de *Salmonella* spp presentaban el mecanismo de resistencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEEs). También se pudo determinar la resistencia de los aislamientos de *Salmonella* spp hacia otros antibióticos no β -lactámicos, siendo cloranfenicol y gentamicina los más afectados ya que presentaron un 96 y 85 por ciento de resistencia respectivamente en cepas que mostraron β -lactamasas de espectro extendido.

En la determinación de la disminución a la sensibilidad a quinolonas, se utilizó al ácido nalidixico como predictor en la disminución de los halos de inhibición a ciprofloxacina, observándose que un 5.1 por ciento de los 98 aislamientos de *Salmonella* spp, presentaron resistencia a este, aunque no se encontró resistencia a ciprofloxacina, si hubo disminución en los halos. Por lo que la resistencia mostrada

hacia el ácido nalidixico en este estudio, recalcan la necesidad de realizar monitoreos acerca del uso de antibióticos en la industria alimenticia; tal es el caso de las fluoroquinolonas.

También se analizó estos aislamientos de acuerdo a su procedencia y se observó que un 56 por ciento de los aislamientos provenientes del Hospital Roosevelt presentaban el fenotipo de β -lactamasa de espectro extendido. Por lo que se concluyó que la resistencia presentada en dicho centro hospitalario debe tomarse en cuenta para evaluar los patrones de resistencia encontrados y así determinar el uso y la administración correcta de antibióticos. En el análisis de las cepas de *Salmonella* según su procedencia, las cepas procedentes del Hospital de Quiché no presentaron ninguno de los mecanismos de resistencia evaluados en este estudio.

La presencia del mecanismo de resistencia de β -lactamasa de espectro ampliado (BLEAs) se encontró únicamente en 2 aislamientos provenientes del Hospital Roosevelt. La presencia de este mecanismo en enterobacterias limita el uso de cefalosporinas por lo que no se recomienda su administración al estar presente.

II. INTRODUCCION

En Guatemala uno de los principales problemas de salud que afectan a la población principalmente la infantil, son las enfermedades diarreicas, debido a las precarias condiciones tanto sanitarias como nutricionales de la población general.

Las enfermedades diarreicas producidas por microorganismos entéricos son unas de las principales causas de morbimortalidad, en particular en los países en desarrollo ⁽¹⁾. Las bacterias *Salmonella*, pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos Gram negativo que cuentan con innumerables serotipos que pueden ser patógenos para el humano. En la actualidad, la salmonelosis es considerada una de las causas más importantes de infección que se adquiere por el consumo de comida y agua contaminada ⁽²⁾.

En el año 2002, las áreas de salud notificaron que el grupo de los niños menores de 5 años sigue siendo el que se encuentra en mayor riesgo de enfermar por brotes de enfermedades transmitidas por alimentos y/o agua, lo cual indica que la enfermedad diarreica continúa siendo un problema prioritario en salud pública, ya que en la mayoría de casos, no ha sido posible la identificación etiológica de las diarreas, el elevado riesgo de morir a consecuencia de diarrea se mantienen en general en todo el país, pero es de especial importancia en la región occidental.

Cada año las direcciones de áreas de salud, notifican por medio del sistema rutinario de notificación y alerta de brote del Ministerio de Salud Pública, casos de brotes de fiebre tifoidea producidos por *S.typhi*, sin registrar ni notificar los casos de salmonelosis.

En el año 2002, se notificaron 255 casos de fiebre tifoidea, registrando 7 brotes en 5 áreas de salud: El Quiché (2), Ixil (2), Baja Verapaz, Sololá y Chiquimula (1 brote cada una) con un aporte de 77 casos ⁽²⁾.

Esto evidencia la necesidad de fortalecer la vigilancia de este evento en todo el país, ya que actualmente *Salmonella* spp, ha surgido como uno de los agentes etiológicos de diarrea más importantes, aumentando los casos de infecciones gastrointestinales y por consiguiente el aumento del consumo de antibióticos.

En trabajos realizados en diferentes países se ha observado que en los últimos años *Salmonella* ha desarrollado cierto grado resistencia a agentes antimicrobianos de uso común como ampicilina, cloranfenicol, ciprofloxacina y otros, debido al uso inapropiado de estos, contribuyendo a la aparición e incremento de la resistencia antimicrobiana. También se ha observado que el uso de antimicrobianos en animales para consumo humano, puede afectar la salud de la gente debido a la presencia de residuos de fármacos en los alimentos, contribuyendo de esta forma, en la aparición e incremento de la resistencia antimicrobiana (3,4).

Por lo anterior el presente estudio tiene como finalidad determinar y establecer el grado de resistencia de *Salmonella* spp a diferentes agentes antimicrobianos principalmente β -lactámicos y quinolonas, así como los mecanismos de resistencia adquirida.

Los resultados obtenidos serán presentados a las autoridades correspondientes a fin de tomar las medidas necesarias de prevención y control.

III. ANTECEDENTES

A. Generalidades

El género *Salmonella* fue descrito a principios del siglo XX por el bacteriólogo estadounidense Theobal Smith, recibiendo el nombre por su jefe David Salmon.

Todos los miembros del género son considerados potencialmente patógenos para el ser humano sin embargo, difieren en cuanto a las características y a la gravedad de la enfermedad que provocan. La fiebre tifoidea es considerada como la infección más grave y fue la primera en ser descrita por Bretonneau a principios del siglo XIX. En 1,856 William Budd descubrió que cada caso de fiebre tifoidea estaba conectado con los anteriores y que a través de las heces se disemina una toxina específica.

El bacilo tífico fue observado por primera vez por Eberth y Koch en 1,880 y fue cultivado por primera vez por Gaffky en 1,884. Posteriormente, en 1,896 se aisló el agente causal de una enfermedad clínicamente similar a la fiebre tifoidea, y se le denominó fiebre paratifoidea (5, 6).

En el género *Salmonella* están reconocidas dos especies: *Salmonella enterica*, (esta a su vez compuesta de seis subespecies: I, II, IIIa, IIIb, IV y VI) y *Salmonella bongori* (subespecie V) (7); cada subespecie, a su vez esta subdividida en serotipos o serovares, de los cuales existen más de 2,435 descritos, dependiendo de su capacidad para realizar diferentes reacciones químicas, cada subespecie es clasificado de acuerdo al tipo de antígeno H (flagelar del alemán hauch, por el halo producido en un medio de cultivo a raíz de movimientos) y O (somático: del alemán ohne hauch, sin movimiento). El antígeno H, es termolábil y esta conformado por la proteína más abundante del flagelo, que es la estructura que permite el movimiento. El antígeno O, es termoestable y esta conformado por una cadena repetida de polisacáridos, que forman parte del lipopolisacárido (LPS), que se genera y

sobresale de la membrana externa y que actúa como una barrera de protección contra agentes externos ⁽⁵⁾. Además de los antígenos O y H, tiene en su exterior una cápsula de polisacárido denominada Vi (por antígeno de "virulencia"), existen bacteriófagos específicos para Vi que se utilizan en los complejos procedimientos de diferenciación e identificación de los distintos tipos de bacterias ⁽⁵⁾.

Actualmente la clasificación para *Salmonella* según el esquema de Kauffman-White, están agrupadas (A, B, C, etc.) sobre la base de antígenos somáticos O y subdivididas en serotipos (1,2, 3, etc.) por sus antígenos flagelares H (A1, A2, B1, B2) ^(7,8).

Para efectos epidemiológicos, es necesario un esquema de clasificación más discriminante como lo proporciona el tipificado con fagos, aplicado por primera vez a *S. typhi*.

Las salmonelas pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, son bacilos, Gram-negativo, generalmente móviles, asporógenos, que pueden crecer facultativamente con la presencia o ausencia de oxígeno, con un rango de temperatura de crecimiento entre 5° C y 47° C. Este microorganismo es capaz de duplicarse en 25 minutos a la temperatura del cuerpo humano, 36° C. No soporta el pH menor de 4, pero puede sobrevivir congelado, y hasta 3 semanas en refrigeración ^(9, 10). De los aproximadamente 2,435 serotipos conocidos muchas de ellas son consideradas patógenas para los humanos, algunas son más virulentas que otras ⁽¹¹⁾. En general, todas las salmonelas están relacionadas entre sí desde el punto de vista antigénico ⁽¹²⁾.

B. Distribución

El género *Salmonella* es el agente causal de diferentes infecciones intestinales, conocidas como salmonelosis; es una enfermedad aguda de distribución mundial, con variaciones en frecuencia de serotipos de un país a otro,

con importancia en áreas que no han alcanzado las condiciones de saneamiento e higiene adecuados y no cuenta con medidas de salud pública óptimas. La enfermedad producida por la mayoría de los serotipos es relativamente inofensiva en adultos sanos, pero puede ser muy severa en niños ancianos y personas inmunodeprimidas (13,14).

Cada año las bacterias del género *Salmonella* infectan a un estimado de 1.4 millones de personas. Estas infecciones provocan cientos de muertes anualmente en los Estados Unidos de América. Una de las cepas comúnmente aisladas en humanos es *S. enterica* serotipo *typhimurium* (15,16), bacteria que ha prevalecido en los Estados Unidos. En 1,999, 25% de las infecciones confirmadas, fueron producidas por el serotipo *Salmonella typhimurium*. La National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS) para enterobacterias reportó 114 (31%) de 362 casos aislados para este mismo serotipo (17).

Estudios realizados en Holanda, se encontraron casos de gastroenteritis producidos por *Salmonella*, asociados al consumo de alimentos. En un estudio reciente de los serotipos y fagotipos de la distribución de cepas de *Salmonella* aisladas de muestras humanas y de animales (ganado, cerdos y pollos) entre 1984 al 2001 encontraron que los serotipos más prevalentes durante este periodo fueron los serotipos *typhimurium* (44% de todos los aislamientos de *Salmonella*) y *enteritidis*: (24%) en humanos; los serotipos *dublín* (53%) y *typhimurium* (39%) en ganado; los serotipos *typhimurium* (69%), *panama* (5%) y *london* (4%) en cerdos; y los serotipos *typhimurium* (18%), *infantis* (14%) y *enteritidis* (12%) en pollos. Siendo el serotipo *typhimurium*, el más frecuentemente aislado en humanos y animales con un 37% de todas las salmonelas aisladas en este estudio (18, 19).

En Mumbai, India, *Salmonella typhi*, sigue siendo frecuentemente aislada como agente causal de la fiebre entérica (20).

En Guatemala, la tasa de incidencia de Fiebre tifoidea (*S. typhi*) en el año 2002, fue de 2.2 x 100,000 habitantes. Las mayores tasas se presentaron en Retalhuleu (24.8 x 100,000 hb), Ixil (24.4 x 100,000) y Sololá (14.43 x 100,000 hb) estas notificaron el 52% de todos los casos. 17 áreas de salud notificaron casos. El 76 % de los casos se presentaron en niños mayores de 10 años; y en el grupo de 10 a 19 años ocurrieron la mayor cantidad de casos y registro el mayor riesgo (2.5 x 100,000 hb) (2).

C. Reservorio

Las infecciones humanas por *Salmonella* son frecuentemente transmitidas por alimentos contaminados, pero también con el contacto de animales infectados. Los productos de granja (cerdos, ganado, y aves de corral) para consumo humano son la fuente principal de infecciones por *Salmonella* en humanos (9). Los dos mayores cambios en la serotificación y el fagotipo de la distribución de salmonelosis no tifoidea, viene ocurriendo desde las últimas décadas en muchas ciudades Europeas y en los Estados Unidos, siendo el serotipo *Salmonella enterica* serotipo *enteritidis*, principal patógeno que ha emergido asociado a huevos (21,22). También existen cientos de fagotipos que guardan relación significativa entre ellos relacionadas con virulencia, invasividad, tolerancia y supervivencia en el medio ambiente de granjas (8).

En 1984, inicialmente emergió el serotipo *typhimurium* en el ganado, en Inglaterra y en Escocia, pero se extendió en el Continente Europeo y en los Estados Unidos de América, y de los medios fue aislado de aves de corral, ovejas, cerdos, caballos, y muchas otras especies animales y humanas (22, 23).

D. Fuentes de transmisión

Las salmonelas pueden ser transmitidas por una gran variedad de animales para consumo humano, animales salvajes, roedores, animales de compañía, aves reptiles e insectos, habitualmente sin presentar ninguna enfermedad manifiesta (7). Pueden ser diseminadas por medio de las heces al suelo, al agua, a los alimentos y ganado vacuno y desde estos medios a otros animales (incluidas las personas). La transmisión tiene lugar por la vía fecal-oral por medio de la cual el contenido intestinal de un animal infectado es ingerido con un alimento o con el agua.

Los animales para consumo humano, pueden contraer la infección por salmonelas en la granja a partir de aves salvajes y roedores, pero las fuentes principales son los demás animales, que pueden ser excretos asintomáticos, y las materias primas del ganado contaminado. La transmisión de *Salmonella* en los animales esta especialmente relacionada con situaciones en las que los animales pueden estar hacinados o estresados.

Un factor importante en el mantenimiento del ciclo de la infección por *Salmonella* en los animales para consumo humano, es la costumbre de utilizar subproductos animales tales como la carne y la harina (9).

La dosis infectiva de 20 a 100 células; depende tanto de la edad, la salud del hospedero como el tipo de cepa (9). En el caso de adultos saludables, generalmente la dosis infecciosa es de 10^6 células por gramo de alimento, pero en niños, ancianos y personas inmunodeprimidas o con enfermedad de base (leucemia, linfoma, anemia de células falciformes), o por hipoclorhidria puede ser menor de 10 células por gramo de alimento (9). La mayor incidencia de salmonelosis se observa en niños menores de un año, y las infecciones son más graves en los más pequeños y en los ancianos (10,24).

E. Características clínicas

La salmonelosis puede presentar síntomas agudos como náusea, vómitos dolor abdominal, diarrea, fiebre y dolor de cabeza. Si es crónica: Artritis reactiva (22).

La salmonelosis humana puede presentarse en cuatro formas diferentes: Gastroenteritis, bacteremia, fiebre entérica y portador asintomático (9, 14).

1. Gastroenteritis (envenenamiento alimentario)

Es la manifestación más corriente por *Salmonella*. Es una zoonosis que se transmite por la ingestión de alimentos agua o fomites contaminados por las heces o personas infectadas (25). La gravedad de la infección puede variar desde la forma benigna hasta la muy grave. Los síntomas suelen presentarse entre 6-48 horas después de consumirse agua o alimentos contaminados, inicialmente se observa náuseas, vómitos y diarrea no sanguinolenta acompañados de cólicos y dolor abdominal intenso, la fiebre y la postración pueden ser notables (6). Son comunes la sensación de debilidad y frío, estos casos no pueden distinguirse clínicamente de la disentería bacilar. En infecciones muy graves, el paciente puede presentar deshidratación y adelgazamiento; un cuadro semejante al choque, con cianosis, hipotermia y colapso circulatorio, puede preceder a la muerte.

En algunos casos, el tipo gastrointestinal de infección va seguido del síndrome de fiebre entérica o síndrome septicémico, o de signos de localización como meningitis, neumonía y osteomielitis (14).

Salmonella enterica es una de las causas más comunes de gastroenteritis humana a nivel mundial (26).

2. Bacteremia y septicemia

Todas las salmonelas causan bacteremias, aunque esta es más frecuente en las infecciones producidas por *S. choleraesuis*, *S. paratyphi*, *S. typhi* y *S. dublin*. La bacteremia por *Salmonella* es más habitual en pacientes pediátricos y en los ancianos, pueden darse hasta un 10% de complicaciones locales supurativas, como osteomielitis, endocarditis o artritis. Los coprocultivos de estos pacientes suelen ser negativos, aunque el hemocultivo proporciona generalmente el microorganismo etiológico (27).

3. Fiebre entérica (fiebre tifoidea)

S. typhi y *S. paratyphi* producen una enfermedad febril que se denomina fiebre tifoidea o fiebre paratifoidea respectivamente (28,29). Las presentaciones clínicas de ambas enfermedades son similares, si bien la fiebre paratifoidea suele ser más leve. Después de un período de incubación de 10 y 20 días tras la ingestión de los bacilos, el paciente experimenta fiebre remitente que aumenta progresivamente así como dolor de cabeza, mialgias, malestar y anorexia, estos síntomas persisten durante una o más semanas y van seguidos de síntomas gastrointestinales (9).

4. Portador asintomático

La infección por *Salmonella typhi* se perpetúa por los portadores. El 1-5% de los pacientes desarrollan el estado de portador durante más de un año después de la enfermedad sintomática, siendo la vesícula biliar el reservorio en la mayoría de los casos. El estado de portador puede desaparecer tanto espontáneamente como persistir por años (12).

F. Diagnóstico

En todo caso de diarrea se debe investigar salmonelosis y realizar el diagnóstico diferencial con otras enfermedades diarreicas agudas, como shigelosis amibiasis, envenenamiento alimentario por estafilococos, enteritis viral y otras causas de gastroenteritis (10).

El diagnóstico de una infección por *Salmonella* se realiza a través del aislamiento de la bacteria de sangre, heces orina, aspirado de médula ósea y bilis. Estas pruebas tardan de 2 a 3 días en aportar los resultados, pues la muestra se diluye en un medio de cultivo y dado que se estima que un paciente con fiebre tifoidea presenta, por ejemplo 20 bacterias o menos por mililitro de sangre, se requiere esperar a que se multiplique lo suficiente para ser observada por turbidez del medio. El cultivo de la sangre (hemocultivo) es el método más frecuentemente usado para un diagnóstico preciso, aunque su sensibilidad no es mayor del 90 por ciento, incluso cuando se toman tres muestras consecutivas. El cultivo de aspirado de médula Ósea es más sensible, pero el procedimiento de extracción del aspirado es delicado y doloroso (8).

Los enfermos con fiebre entérica (tifoidea y paratifoidea) suelen presentar hemocultivos positivos desde la primera semana de la enfermedad, mientras que los coprocultivos se vuelven positivos más tarde, generalmente entre la tercera y cuarta semana (7,30).

Varios inmunoensayos como ELISA y la Sonda de genes también se ha utilizado para la detección de antígenos o anticuerpos específicos en suero. Así mismo métodos moleculares como la hibridación con ARN ribosomal, con el gen del antígeno Vi o con la secuencia de inserción IS200, han sido usados. La limitante principal de estos métodos requiere de una infraestructura sofisticada de laboratorio y personal altamente especializado, además pueden tomar de varias horas a varios días en aportar resultados.

G. Aislamiento e Identificación

La identificación de especímenes de *Salmonella* de muestras fecales, se logra utilizando un caldo de enriquecimiento, aunque el aislamiento en personas con enfermedad aguda es posible por siembra directa de la muestra.

Los caldos de enriquecimiento para *Salmonella* son altamente selectivos con ciertos serotipos de *Salmonella*. Las cepas que pueden ser inhibidas por caldos selectivos de enriquecimiento son mejor aisladas por siembra directa o enriquecimiento en un caldo no selectivo (31).

Los tres medios selectivos de enriquecimiento más usados para muestras fecales son: caldo de tetrionato, caldo de tetrionato con verde brillante y caldo de selenito (SEL). El caldo de selenito, además es usado para la recuperación de *Salmonella typhi* y *Shigella*.

1. Medios de siembra:

Muchos medios de siembra son usados para aislar la *Salmonella* a partir de muestras fecales. Estos medios son diferenciales y varían desde ligeramente selectivos hasta altamente selectivos. Los medios de baja selectividad incluyen MAC y azul de metileno-eosina (EMB), los medios de selectividad intermedia son: XLD, DCA, SS y HE. Los medios altamente selectivos incluyen agares de sulfito de bismuto (BS) y verde brillante. Los nuevos medios selectivos para la identificación de *Salmonella* incluyen al agar rambach, xilosa-lisina-tergitol 4 (XLT4). Los agares para la identificación de *Salmonella* como el novobiocin-brillante, verde-glicerol-lactosa y el agar BS, XLD y HE tienen como indicador al ácido sulfhídrico, el cual es necesario para la detección de *Salmonella* lactosa positiva. La mayoría de laboratorios de hoy usan HE o XLD porque además permiten el aislamiento de *Shigella*.

En los países en vías de desarrollo, la fiebre tifoidea es frecuentemente diagnosticada con bases clínicas, pero el aislamiento del organismo causal es necesario para un diagnóstico definitivo. *S. typhi* es frecuentemente aislado de muestras de sangre que de muestras de heces. Los hemocultivos son positivos para un 80% de pacientes tifoideos durante la primera semana de fiebre pero muestran una disminución de resultados positivos luego de ello.

Las colonias sospechosas para *Salmonella* pueden ser inoculadas en los medios KIA o TSI. En el TSI, la mayoría de cepas de *Salmonella* producen un K/A,g+, indicando que la glucosa es fermentada con producción de gas y ácido sulfhídrico. En estos medios los aislados de *S. typhi* característicamente son K/A pero no producen gas y solo una pequeña cantidad de ácido sulfhídrico es visible en el sitio de inoculación y en la línea de estriado. El agar lisina hierro LIA es también un medio útil, porque la mayoría de aislados de *Salmonella*, aun aquellos en los cuales se fermenta la lactosa, descarboxilan la lisina y producen ácido sulfhídrico. De manera alterna los aislamientos pueden ser identificados por una batería de pruebas bioquímicas o por tests de aglutinación con antisueros para *Salmonella* O grupo A, B, C1, C2, D y E. Los aislados sospechosos de ser *Salmonella typhi* deberían ser analizados serológicamente con antisuero de *Salmonella* Vi y/o grupo D.

Si las reacciones bioquímicas para un aislamiento en particular no son características pero se encuentran antígenos de *Salmonella*, los cultivos debieran ser sembrados en MAT O EMB, para obtener un cultivo puro, y ser probados bioquímicamente por un completo grupo de pruebas o enviado a un laboratorio de referencia (31).

2. Identificación bioquímica

Las colonias sospechosas de *Salmonella* pueden ser identificadas bioquímicamente como *Salmonella spp.*, con medios tradicionales en tubos o sistemas bioquímicos comerciales (Sistema Api20E).

3. Serotipificación

Según el esquema Kauffman- White, la formulación antigénica de serotipos de *Salmonella* es expresada como sigue: Antígeno O; Vi (cuando este presente); antígeno H (fase 1); antígeno H (fase 2 cuando este presente). La actualización del esquema Kauffman-White es responsabilidad de WHO centro de colaboración para la referencia e investigación en *Salmonella* (32).

4. Determinación de Antígeno O

La aproximación más comúnmente usada para determinar antígenos O es inicialmente el análisis de los aislamientos por aglutinación con antisueros del grupo O en contra del A al E4 porque el 98 al 99% de aislamientos de *Salmonella* pertenecen a alguno de estos grupos O.

Si no ocurre aglutinación en el antisuero para los primeros nueve grupos O, el aislado es analizado en pool, conteniendo el remanente del antisuero *Salmonella* O, del O11 al O67 (33).

5. Detección del antígeno Vi e identificación de *Salmonella typhi*

El antígeno Vi es un antígeno capsular lábil al calor, es comúnmente encontrado en cepas de *Salmonella typhi* y es útil para la identificación de este serotipo. Es también ocasionalmente detectado en *Salmonella dublin*, *Salmonella paratyphi* C y algunas cepas de *Citrobacter*. El antígeno Vi es identificado por aglutinación con un antisuero específico.

6. Determinaciones de antígenos H

Los antígenos H (flagelar) son determinados típicamente por pruebas de aglutinación en tubos con caldos de cultivo como antígenos y antisueros tipo H con factor simple (absorbido). Los aislamientos son inicialmente analizados con antisueros tipo H, el cual reconoce antígenos individuales o múltiples, y luego con antisuero tipo H factor simple el cual reconoce antígenos individuales (32).

H. Tratamiento

La terapia antimicrobiana no es recomendada para gastroenteritis por *Salmonella* no complicada. La salmonelosis en niños y adultos es una enfermedad autolimitante (presentándose como una gastroenteritis aguda) y la terapia principalmente consiste en prevenir la deshidratación (34, 35). Sin embargo esta justificada el uso de la terapia antimicrobiana en infantes ≤ 3 meses con gastroenteritis, así como en pacientes inmunocomprometidos y pacientes con septicemia (36).

En pacientes con salmonelosis invasiva e infecciones tifoideas complicadas el tratamiento con el agente antimicrobiano apropiado es crucial.

La fiebre tifoidea se trata con antibióticos. Los regímenes incluyen amoxicilina, cotrimoxazol y cloranfenicol (5, 28).

En caso de fiebre entérica o septicemia, la ampicilina o el cloranfenicol son las drogas de elección (37).

Según el centro de terapia de Mumbai, India, se determinó que los pacientes deben seguir ciertos regímenes para el tratamiento de fiebre entérica en el cual la cefalosporina de tercera generación, Ceftriaxona es utilizada como un tratamiento estándar (20).

Para el tratamiento de infecciones gastrointestinales invasivas, así como salmonelosis, las drogas de elección son las fluoroquinolonas (15, 17).

I. Resistencia antimicrobiana en *Salmonella*

Se considera a la resistencia antimicrobiana como la pérdida de la sensibilidad de un microorganismo a un antimicrobiano al que originalmente era susceptible.

Aunque la resistencia no es un fenómeno universal, se afirma que tarde o temprano las bacterias desarrollan resistencia a cualquier antimicrobiano. La resistencia antimicrobiana en general, es actualmente un problema importante de salud pública en particular, ya que obliga al desarrollo y utilización de nuevos agente antimicrobianos.

La resistencia antimicrobiana en *Salmonella*, afecta no solo la salud pública humana, sino también en la industria alimentaria, a consecuencia del uso incrementado de antimicrobianos en la producción alimenticia y la selección de bacterias resistentes en los animales (38, 39, 40, 41).

La administración de antimicrobianos a los animales de consumo humano puede afectar la salud de la gente, debido a la presencia de residuos de fármacos en los alimentos y, especialmente por la selección de bacterias resistentes en los animales. Las consecuencias incluyen el aumento del riesgo de que se transmitan a las personas, agentes patógenos resistentes por contacto directo con los animales o a través del consumo de agua o alimentos contaminados (24, 25).

Desde 1979 y 1980 el CDC ha conducido estudios en intervalos de 5 años, para monitorear la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Salmonella* no tifoidal, que causan infecciones en humanos en los Estados Unidos. Datos obtenidos en una inspección de 1996 de aislados de *Salmonella* revelaron que el

37 por ciento, fueron resistentes hacia al menos un agente antimicrobiano (42, 43, 44).

La extensión emergente de *S. typhi* con plásmidos resistentes a múltiples drogas, incluyendo cloranfenicol, cotrimoxazole, y amoxicilina hace imprescindible la búsqueda de otras opciones. Tal resistencia es conferida a la presencia de un plásmido 100 mega dalton (17).

Sin embargo, la tasa de resistencia a drogas como ampicilina, trimetroprim-sulfametoxazole y cloranfenicol han tenido una escala en muchas áreas del mundo (45, 46, 47).

Desde 1991, las especies de *Salmonella* han mostrado resistencia a cefalosporinas de amplio espectro, mostrando un severo incremento en algunas ciudades. Algunos investigadores epidemiológicos han demostrado que el uso de agentes antimicrobianos en ganado es la principal causa de la emergencia y diseminación de la resistencia a agentes antimicrobianos, incluyendo cefalosporinas de amplio espectro en cepas de *Salmonella*. Esto es cierto en la resistencia de salmonelas diseminadas a través de comidas de animales y humanas lo cual provoca una reacción en cadena (alimentaria).

A principios de 1990 en Dinamarca se determinó que la resistencia a las fluoroquinolonas tiene particular importancia ya que ahora estas son las drogas de elección para infecciones extraintestinales e intestinales serias y la resistencia a esta droga, puede ser que se reduzca la eficiencia con este tratamiento de elección (48). Recientemente *Salmonella enteritidis*, ha sido reportada como responsable de infecciones en humanos, observándose un incremento de resistencia a quinolonas (18) por lo que su uso y la concomitante emergencia de este incremento en la incidencia de cepas *Salmonella* quinolona-resistente tienen como resultado, un intenso debate a nivel mundial (49).

Desde 1,994 a 1,997 en Inglaterra y Escocia, *Salmonella enteritidis*, ha mostrado un incremento a la resistencia de quinolonas de un 0.4% a 1.3% (23).

Durante los pasados 10 años, en Mumbai, India, la resistencia de cepas de *S. typhi* ha decrecido de un 74% en 1990 a 40% en 1994, sin embargo con la introducción del uso de fluoroquinolonas en 1989 y durante la última década, se ha documentado un incremento en la concentración mínima inhibitoria (MICs) para ciprofloxacina, demostrándose que en pacientes infectados con *Salmonella* y susceptibilidad decreciente a fluoroquinolonas muchas veces puede ocurrir un fracaso en el tratamiento. La resistencia al ácido nalidíxico in vitro, ha emergido como un predictor del fracaso de la terapia con fluoroquinolonas (28), por lo que la susceptibilidad al ácido nalidíxico puede ser usada como un test de tamizaje en la determinación de la MIC para ciprofloxacina (20,49).

1. Mecanismos de resistencia en *Salmonella*

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato genético intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. La resistencia intrínseca es especie o género, mientras que la resistencia adquirida se presenta en ciertas cepas de determinada especie o género. Los cambios genéticos que explican la resistencia pueden producirse por varios mecanismos que involucran ya sea el DNA cromosomal, como en la mutación, o por la adquisición de material genético extracromosomal, por transducción, transformación o conjugación.

En *Salmonella*, la resistencia se da por cambios genéticos en la cuales involucran cambios en el DNA, por mutación o por adquisición de material genético extracromosomal, (plásmidos, transposones o integrones) (50, 51).

Los plásmidos y transposones son elementos genéticos móviles donde se transportan los genes de resistencia. Algunos plásmidos y transposones poseen elementos génicos denominados integrones, que les permiten capturar varios

genes exógenos determinando la aparición de una resistencia a varios antibióticos (resistencia múltiple), además la vinculación de los genes de resistencia para múltiples antibióticos en un plásmido caracteriza a muchos de los microorganismos resistentes nuevos.

Desde el punto de vista molecular y bioquímico existen básicamente tres mecanismos por medio de los cuales una bacteria puede hacerse resistente al efecto del antibiótico:

I. Inactivación del Antibiótico:

Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico, como por ejemplo: la producción de β -lactamasa de amplio espectro, eritromicinas, estereasa, enzimas modificadoras de aminoglucósidos, cloranfenicol, lincosamidas y estreptograminas.

II. Alteración del sitio blanco:

En este mecanismo de resistencia bacteriana se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular, como pared celular, subunidad 50s, 30s ribosomales, etc.

III. Barreras de permeabilidad:

Existen fundamentalmente dos mecanismos de resistencia:

1. Entrada disminuida, dada por:

- Permeabilidad de la membrana externa
- Permeabilidad de la membrana interna
- Porinas

2. E flujo activo: Debido a la presencia de proteínas de membrana especializadas, se produce una alteración de la producción de la energía y se disminuye no solamente la entrada del antibiótico, sino que reducen la concentración del mismo y promueven la extracción activa del mismo.

1.1 Mecanismos de resistencia a los antibióticos β -lactámicos

Estos antibióticos tienen un mecanismo de acción común. Inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, en especial la formación de puentes cruzados entre las diversas capas de peptidoglicano, que normalmente brinda rigidez a la pared celular y protege a la membrana celular de la bacteria, del ingreso de cantidades excesivas de agua. Los antibióticos β -lactámicos pueden ser expuestos a enzimas del grupo de las β -lactamasas, que inactivan a los β -lactámicos, debido a la destrucción (ruptura) del anillo β -lactámico, o la modificación de las enzimas blanco (proteínas fijadoras), de tal forma que ya no tienen acceso a la cadena de peptidoglicano en elongación (52).

1.2 Mecanismos de resistencia a Quinolonas

Las quinolonas son los quimioterápicos antimicrobianos que han tenido un mayor desarrollo en los últimos años. Su actividad antimicrobiana depende de su capacidad de inhibir a la DNA girasa, complejo enzimático formado por subunidades A y B, que intervienen en los procesos de replicación y transcripción del DNA.

En miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, como *Salmonella*, la resistencia a quinolonas, obedece a la modificación por mutaciones en dos sitios: una mutación en el Gen *gyrA* mediante la completa resistencia en el espectro angosto de la quinolonas, y una segunda mutación en otro gen *gyrA* o *gyrB*, que codifican las topoisomerasas II y IV.

Se ha observado un incremento en la resistencia a la fluoroquinolonas, dependiendo en algunos casos de mutaciones que pueden conferir resistencia a fluoroquinolonas. En el Reino Unido se realizó una investigación en la cual se determinó que la resistencia a las quinolonas es comúnmente adquirida por mutaciones (52, 53).

IV. JUSTIFICACIÓN

La salmonelosis no tifoïdal es una enfermedad zoonótica en humanos, siendo un importante problema de salud pública a nivel mundial.

Las infecciones por *Salmonella* en humanos son a menudo transmitidas por alimentos contaminados pero también a través del contacto con animales infectados.

Salmonella spp es uno de los principales agentes causantes de diarrea en el humano, especialmente en niños menores de cinco años y en personas inmunosuprimidas, estos dos aspectos predisponen la susceptibilidad a la salmonelosis, por lo que deben administrarse antibióticos con mayor frecuencia para contrarrestar los efectos de las infecciones gastrointestinales que son muy frecuentes.

Los antibióticos siguen siendo indispensables para disminuir la morbilidad y mortalidad causadas por enfermedades infecciosas, sin embargo el uso indiscriminado y el incremento en el uso de estos productos en la industria alimentaria ha generado un incremento en la aparición de la resistencia antimicrobiana, ya que se ha observado que *Salmonella* ha desarrollado cierta resistencia a cefalosporinas y quinolonas, siendo estas utilizadas en las granjas para prevenir la salmonelosis en el ganado porcino, bovino y aves los cuales son destinados al consumo humano. Por lo que es necesario determinar los patrones de susceptibilidad antimicrobiana que presentan el grupo de cepas en estudio de *Salmonella*, provenientes de algunos Hospitales Nacionales y Centros de Salud del país, pues los problemas fundamentales relacionados con la resistencia antimicrobiana radican en que no sabemos el grado de resistencia, pues no existe una vigilancia de los patrones de susceptibilidad.

V. OBJETIVOS

General

- Determinar la resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp.

Específicos

- Determinar el perfil de resistencia a β -lactámicos y quinolonas en *Salmonella* spp.
- Determinar mecanismos de resistencia adquiridos.

VI. HIPÓTESIS

Este estudio no presenta hipótesis por ser de tipo descriptivo

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de Trabajo:

Cepas de *Salmonella* spp referidas al Laboratorio Nacional de Salud durante enero del 2000 a mayo del 2003.

B. Muestra de Trabajo:

Para el presente trabajo se estudiaron 98 cepas de *Salmonella* spp, del banco de cepas al Laboratorio Nacional de Salud del periodo comprendido del año 2000 al 2003 provenientes de Centros de Salud, y algunos laboratorios de los diferentes Hospitales Nacionales.

C. Recursos:

1. Humanos

Br. Carola Amparo de la Cruz Gómez (tesista)

Lic. Jorge Matheu (asesor)

Personal Técnico del Laboratorio Nacional de Salud

2. Institucionales

Laboratorio Nacional de Salud

3. Equipo

3.1 Equipo

Campana Bacteriológica

Congeladores a -20C y - 70C

Autoclave

Incubadoras a 37C

Refrigeradora

Microscopio de Luz

Vortex

Mechero Bunsen

3.2 Materiales de Laboratorio

Estándar de McFarland 0.5

Cajas de Petri de 15 cm de diámetro

Asas bacteriológicas

Pipetas Serológicas

Pipetas pasteur

Bolsas plásticas

Papel mayordomo

Guante de látex

Cinta Testigo

3.3 Cristalería

Tubos de vidrio con tapón de rosca de 10 ml

Tubos Vacutainer

Láminas porta-objetos

3.4 Medios de Cultivo

Agar Tripticasa soya

Caldo BHI

Agar Sangre de Carnero

Agar Chocolate

Agar XLD

Agar TSI
Agar LIA
Agar MIO
Agar Citrato
Agar Urea
Agar Muller Hinton
Discos de Susceptibilidad de Ampicilina
Discos de Susceptibilidad de Cefotaxime
Discos de Susceptibilidad de Cefuroxime
Discos de Susceptibilidad de Cefepime
Discos de Susceptibilidad de Amoxicilina/Acido clavulónico
Discos de susceptibilidad de Cefoxitin
Discos de susceptibilidad de Gentamicina
Discos de susceptibilidad de Cefalotina
Discos de Susceptibilidad de Ciprofloxacina
Discos de Susceptibilidad de Imipenem
Discos de Susceptibilidad de Acido Nalidíxico
Discos de Susceptibilidad de Cloranfenicol
Discos de Susceptibilidad de Trimetoprim/Sulfametoxazole
Discos de Susceptibilidad de Amikacina
Discos de Susceptibilidad de Tetraciclina
Discos de susceptibilidad de Ticarcilina
Discos de Susceptibilidad de Ceftazidime
Cepa control *Staphylococcus aureus* ATCC 29213
Cepa control *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
Cepa control *Escherichia coli* ATCC 25922
Cepa control *Enterococcus faecalis* ATCC 29212

3.5 Reactivos

Agua destilada estéril

Reactivo Indol

API 20E

Alcohol-acetona

Lugol (Gram)

Colorante Cristal violeta

Colorante de Safranina para Gram

D. Diseño de Estudio

1. **Muestra:** 98 cepas referidas al Laboratorio Nacional de Salud durante enero del 2000 a mayo del 2003

2. Variables de Interés

- Susceptibilidad antimicrobiana

3. Análisis de Resultados

- Presentación de susceptibilidad a antibióticos, utilizando el sistema WHONET (programa estadístico para estudiar la resistencia bacteriana).

E. Procedimiento

Para la determinación de la resistencia a antimicrobianos en las cepas de *Salmonella* spp se utilizó el test de difusión por disco siguiendo las normas del Nacional Comité for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

1. Obtención de Cepas

Las cepas en estudio fueron enviadas al laboratorio Nacional de Salud, durante el periodo 2,000 hasta el 2,003, provenientes de los centros de Salud y algunos Hospitales Nacionales de toda la República.

2. Aislamiento e identificación de las Cepas:

Las cepas fueron sembradas en el medio XLD, Agar chocolate y Agar sangre incubándose 37° C por 24 horas.

3. Identificación

La identificación y caracterización de las colonias se realizó por medio de la coloración de Gram, pruebas bioquímicas (Inoculación en TSI, LIA, MIO, CITRATO, UREA, API20E).

4. Determinación de Susceptibilidad Antimicrobiana

Se realizó el test de difusión por disco, siguiendo las normas del Nacional Comité for clinical Laboratory Standards (NCCLS) del año 2003.

4.1 Procedimiento para la realización del test de difusión por disco (Bauer-Kirby)

4.1.1 Preparación del inóculo: se preparó una suspensión de una placa de cultivo en 5 mililitros de caldo tripticasa soja, ajustándose a la escala de 0.5 Mcfarland.

4.1.2 Inoculación de las placas: Se sembró en placas de Mueller-Hinton con un hisopo estéril. Se inoculó la superficie seca del Mueller-Hinton por hisopado en tres direcciones para asegurar una completa distribución del inóculo. Se esperó 3-5 minutos, pero no más de 15 minutos para la aplicación de los discos.

4.1.3 Aplicación de los discos de Antibióticos en placas inoculadas: Se colocaron los discos sobre la superficie del agar inoculado con pinza estéril. Se incubó a 35° C. No se aplicó más de 6 discos por placa.

4.1.4 Lectura de las placas e interpretación de resultados: Después de 16 a 18 horas de incubación se examinaron y midieron los diámetros de las zonas de inhibición. Las zonas de inhibición deben de presentar un crecimiento confluyente, uniformes y circulares, deben de interpretarse los resultados según tabla del NCCLS (tabla M2-A7).

4.1.5 Control de Calidad: El monitoreo de la precisión y exactitud del procedimiento, esta dado por la calidad de los reactivos; se utiliza para ello, cepas ATCC: *E. coli* ATCC 25922, *Ps. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212.

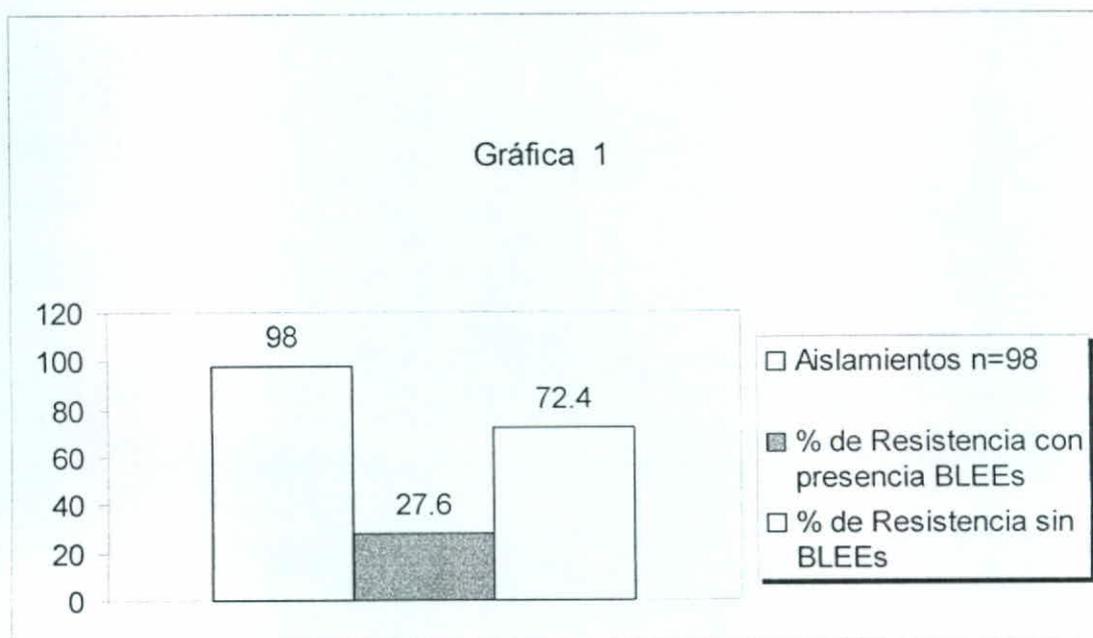
F. Análisis de Datos

Las muestras se analizaron como resistentes o susceptibles a los antibióticos a los cuales se enfrentaron, así como la presencia de β -lactamasas, perfiles de resistencia adquiridos y resistencia a quinolonas (ácido nalidíxico, ciprofloxacina), por medio de WHONET.

VII. RESULTADOS

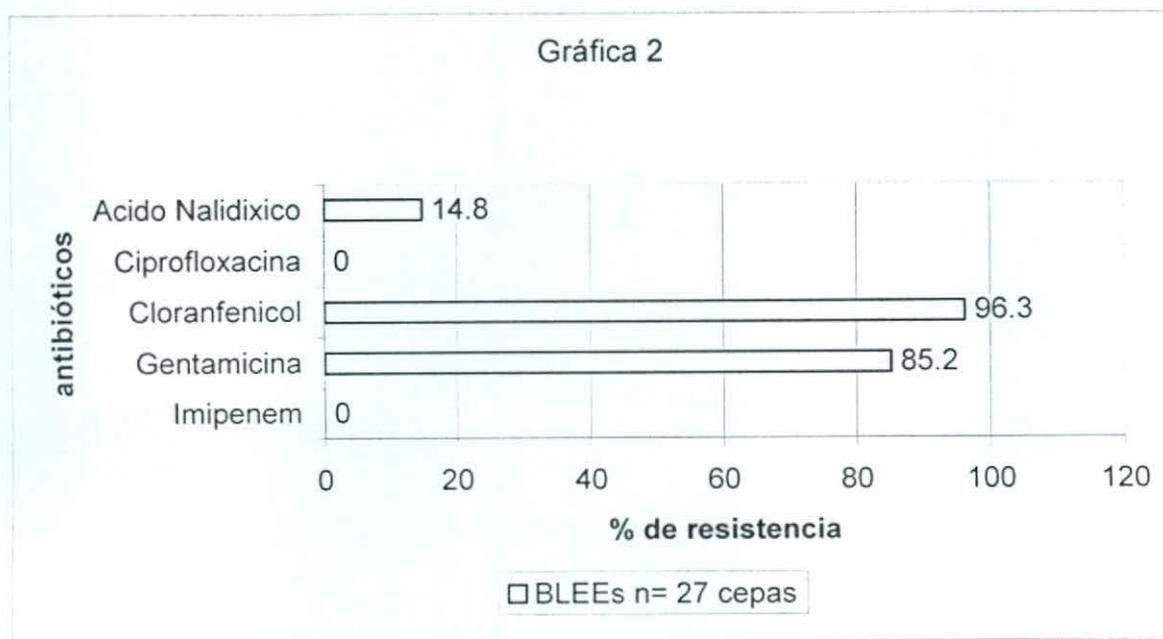
De los 98 aislamientos de *Salmonella* spp, el 27.6 por ciento de los aislamientos presentaron el mecanismo de resistencia de β -lactamasa de espectro extendido (BLEEs), esto indicó que todos ellos tienen resistencia a cefalosporinas, comparado con el 72.4 por ciento en el cual no se observó este mecanismo (gráfica 1).

Gráfica 1. Distribución en porcentajes de resistencia de *Salmonella* spp, con y sin BLEEs.



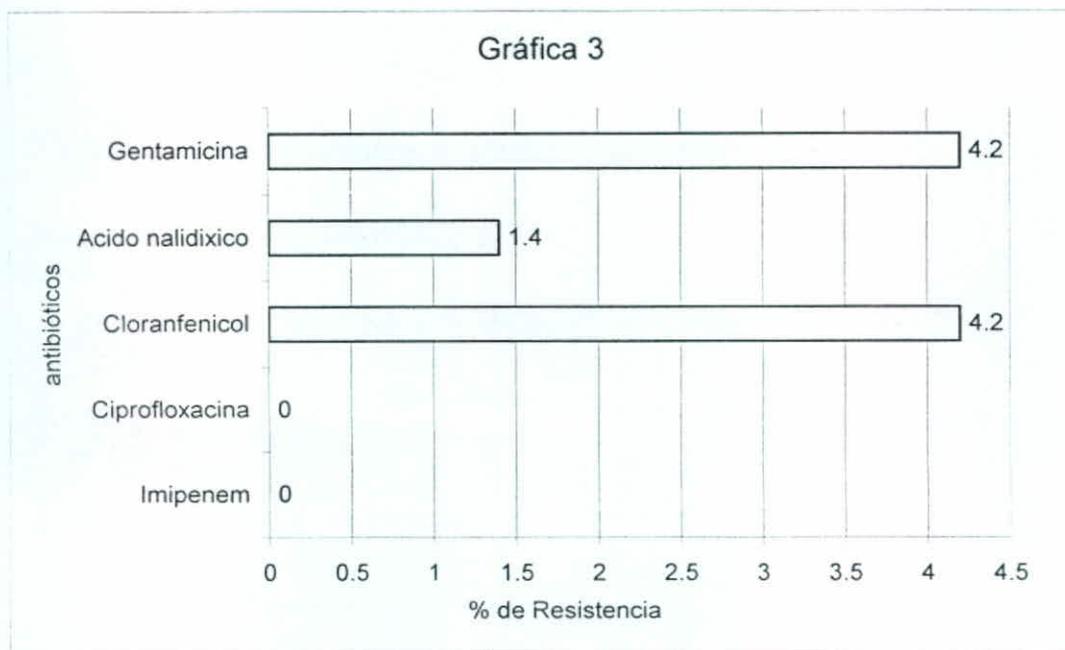
En el análisis de los 27 aislamientos de *Salmonella* spp, con la presencia de BLEEs y la relación con otros antibióticos no β -lactámicos se observó que el cloranfenicol y la gentamicina presentaron un alto porcentaje de resistencia: 96.3 y 85.2 por cientos respectivamente y en menor porcentaje el ácido nalidixico con solamente 14.8 por ciento. La ciprofloxacina e imipenem presentaron una excelente actividad *in vitro* es decir no se observó resistencia (gráfica 2).

Gráfica 2. Distribución de resistencia de *Salmonella* spp, con BLEEs y la relación con otras familias de antibióticos no β -lactámicos.



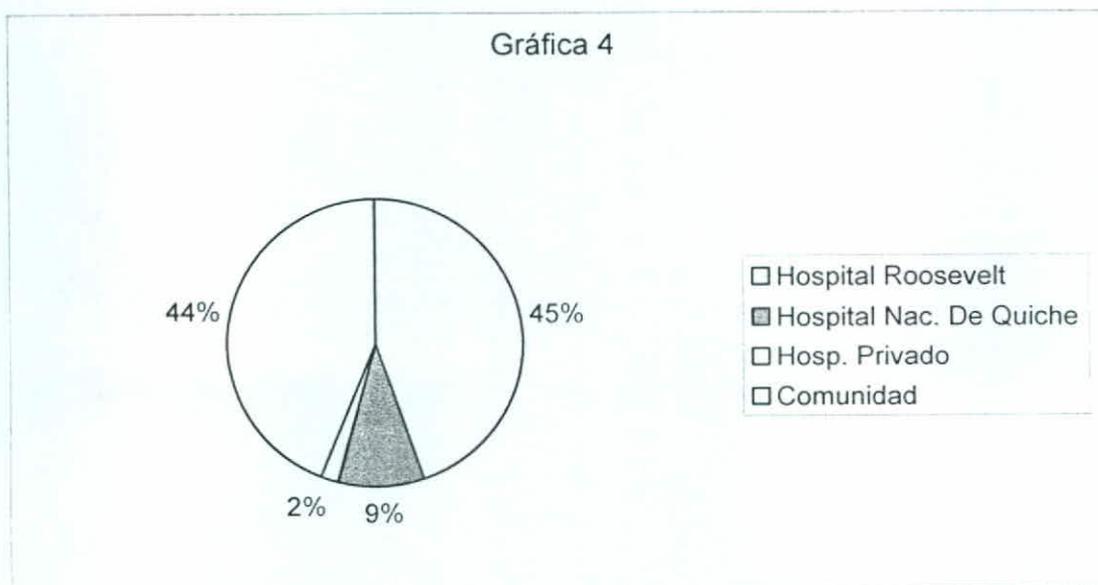
En el caso de los 71 aislamientos de *Salmonella* spp sin la presencia del mecanismo de resistencia BLEEs y la relación con otros antibióticos no β -lactámicos, se observó que el porcentaje de resistencia presentado fue insignificativo ya que se obtuvo un 4.2 por ciento para cloranfenicol y gentamicina y en un 1.4 por ciento para el ácido nalidixico (gráfica 3).

Gráfica 3. Distribución de resistencia de *Salmonella* spp, sin BLEEs y la relación con otras familias de antibióticos no β -lactámicos.



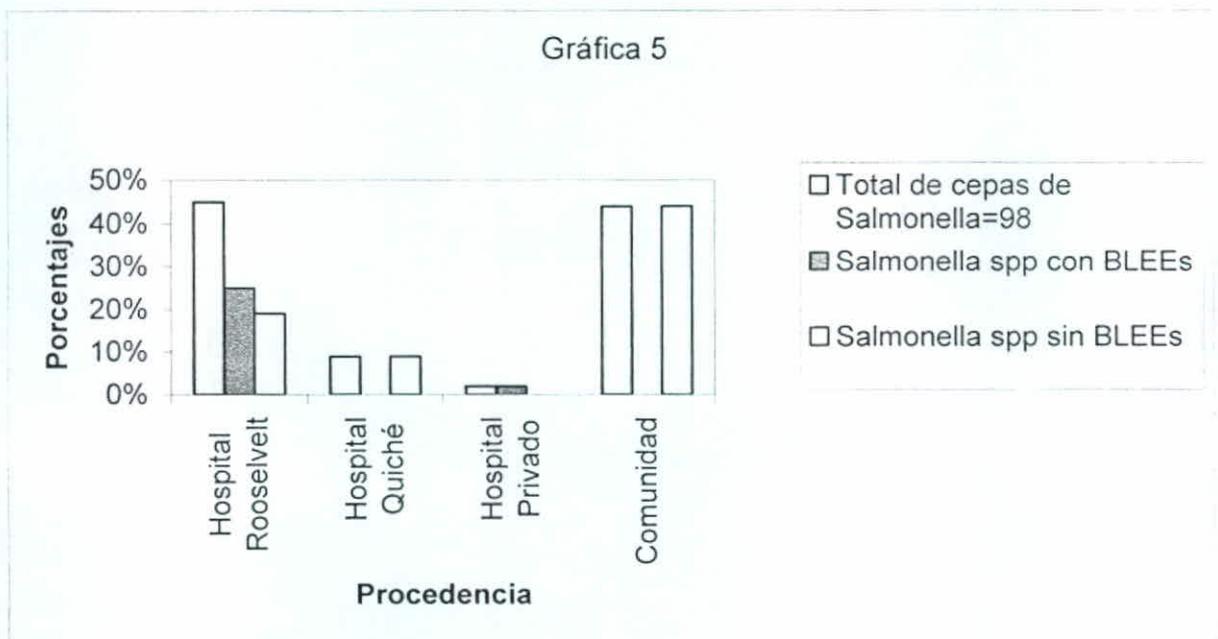
En el análisis de los 98 aislamientos de *Salmonella* spp, según su procedencia, se observó que el 56 por ciento de estos procedían de los Hospitales Nacionales y el 44 por ciento de la comunidad. La distribución de porcentajes de los aislamientos de *Salmonella* spp provenientes de Hospitales Nacionales fueron en un 44 por ciento del Hospital Nacional Roosevelt, 9 por ciento del Hospital de Quiché y en un 2 por ciento de un Hospital privado (gráfica 4).

Gráfica 4. Porcentaje de distribución de aislamientos de *Salmonella* spp, según su procedencia



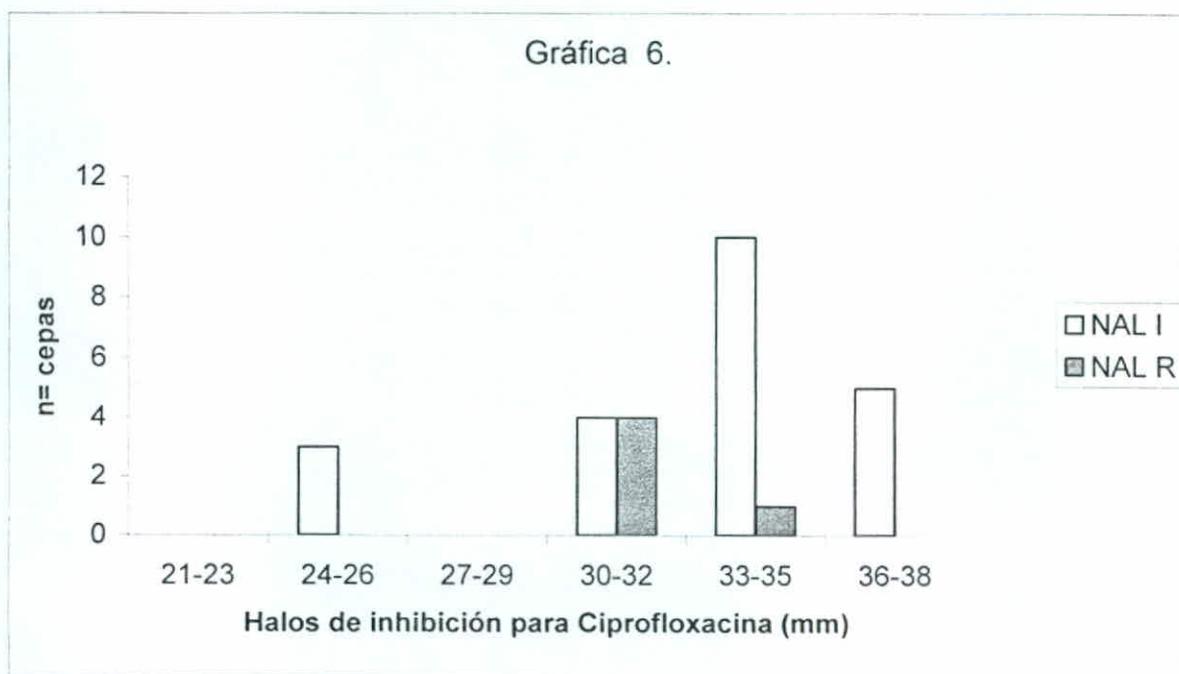
En el estudio de los 98 aislamientos de *Salmonella* spp, con la presencia y ausencia del mecanismo de resistencia β -lactamasa de espectro extendido (BLEEs), según su procedencia, los aislamientos provenientes del Hospital Nacional Roosevelt presentaron en un 56.8 por ciento la presencia de BLEEs, la dos cepas provenientes de un hospital privado también presentaron este mecanismo de resistencia. Las cepas que provenían del Hospital de Quiché y de la comunidad no presentaron ningún mecanismo de resistencia (gráfica 5).

Gráfica 5. Distribución de los aislamientos de *Salmonella* spp, según su procedencia y con la presencia y ausencia de BLEEs



En la determinación del mecanismo de resistencia a quinolonas (ciprofloxacina), en los aislamientos de *Salmonella* spp, se utilizó al ácido nalidíxico (grafica 6). El histograma en este caso permite comparar los halos de inhibición obtenidos para ciprofloxacina vrs ácido nalidíxico resistente (intermedio y resistente), observándose que hubo disminución en los halos de inhibición para ciprofloxacina.

Gráfica 6. Distribución de los halos de inhibición obtenidos para ciprofloxacina vrs no susceptibles al ácido nalidíxico



VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La resistencia bacteriana se ha convertido en un problema de salud pública grave y es indispensable obtener información sobre la magnitud y tendencia de esta, pues a la fecha se han reconocido diversas especies bacterianas con susceptibilidad disminuida a los antibióticos, tal es el caso del genero *Salmonella*, que causa infecciones comunitarias como intrahospitalarias.

Dado que el 27.6 por ciento de los aislamientos de *Salmonella* spp en el estudio, presentó el mecanismo de resistencia a β -lactamasas de espectro extendido (BLEEs), se pueden considerar a todos ellos como resistentes a: ampicilina, cefalotina, cefotaxima, cefuroxima sodica, ceftazidima y cefepime. Esto significa que de los aislados de *Salmonella* sensibles a estos, pero con la presencia de BLEEs pueden ser clínicamente refractarios al tratamiento por causa de la producción de BLEEs. El hecho que el 72.4 por ciento de los aislamientos no presentó este mecanismo de resistencia (BLEEs), indican que *Salmonella* presenta un nivel bajo de resistencia a cefalosporinas, por lo que todavía no constituye un problema grave en cuanto a las opciones terapéuticas con los cuales se cuentan actualmente, sin embargo es importante mantener la vigilancia epidemiológica nacional para poder informar pertinentemente estas tendencias de resistencia presentadas por *Salmonella*.

Con respecto a la distribución de resistencia de los aislamientos de *Salmonella* con presencia de BLEEs y la relación de resistencia con otras familias no β -lactámicos; se observó que hubo un alto porcentaje de resistencia a cloranfenicol seguido de gentamicina, indicando que la presencia de BLEEs brinda a la bacteria un alto nivel de resistencia o multirresistencia (a más de dos antibióticos) hacia otras familias antimicrobianas no β -lactámicos. A pesar de ello, el ácido nalidixico presento un nivel bajo de resistencia. Sin embargo para ciprofloxacina e

imipenem se observó que no hubo resistencia aún con la presencia de BLEEs. Esto indica que la acción de las β -lactamasas afecta más a los grupos de aminoglucósidos y anfenicoles.

Con respecto a los aislamientos que no presentaron el mecanismo BLEEs, se observó que los antibióticos no β -lactámicos que presentaron resistencia fueron gentamicina, cloranfenicol y el ácido nalidixico, aunque fue en un bajo porcentaje. Cabe mencionar que el incremento de la resistencia a algunos antibióticos se debe a su empleo terapéutico, tal es el caso de cloranfenicol que es utilizado como fármaco de elección para fiebre tifoidea.

En cuanto a la procedencia de los aislamientos, se encontró que el 56 por ciento de los aislamientos provenientes del hospital Roosevelt y un dos por ciento de un hospital privado, presentaron el mecanismo de resistencia β -lactamasa de espectro extendido, lo que indica la existencia de un fenotipo productor de BLEEs, en estos hospitales que a nivel hospitalario puede surgir debido al uso de terapias combinadas de antibióticos de amplio espectro que ejercen una presión selectiva sobre las bacterias del ambiente intrahospitalario, facilitando así la selección de cepas resistentes y su diseminación entre unas especies a otras. Los mecanismos de resistencia en *Salmonella*, es producida mediante la adquisición de genes transportados en plásmidos extracromosomales, mediante transducción, transformación o conjugación, ya que no es un productor natural de BLEEs.

Los aislamientos de *Salmonella* procedentes de los otros hospitales, incluían 9 por ciento provenientes del Hospital Nacional de Quiché, que no presentaron este mecanismo de resistencia. La resistencia observada en los aislamientos provenientes del Hospital de Quiché se da un fenómeno interesante ya que a pesar de que la ampicilina es utilizada ampliamente en el interior, en el caso del departamento del Quiché, la bacteria mantiene un perfil bajo de resistencia, debido probablemente a que la población tiene acceso limitado a agentes antimicrobianos

de amplio espectro y los datos de mortalidad persisten debido a que el tratamiento de infecciones en la población se ve influido por el costo de los medicamentos y por consiguiente el poco uso de estos.

Los aislamientos provenientes de la comunidad, no mostraron producción de β -lactamasas, por lo que destaca un muy bajo porcentaje de resistencia a los diferentes antimicrobianos. Lo que implica que la actividad de los diferentes antimicrobianos contra *Salmonella* spp es muy variable y depende de la serovariedad y su procedencia ya sea hospitalaria o de la comunidad.

En la determinación de la disminución de la actividad antimicrobiana de ciprofloxacina, utilizando al ácido nalidíxico, se observó que los aislamientos que fueron resistentes e intermedios al ácido nalidíxico, no presentaron resistencia a ciprofloxacina, pero si hubo una disminución de los halos obtenidos para ciprofloxacina, permitiendo predecir una posible resistencia a ciprofloxacina. Por lo que en estos casos se debe tener cuidado o hacer un uso controlado de ciprofloxacina, al presentarse no susceptibles hacia al ácido nalidíxico, ya que pueden dar un paso hacia la resistencia. Este mecanismo de resistencia a quinolonas es debido a la alteración en la permeabilidad en el sitio de acción del antibiótico, mutaciones, etc.

El uso del ácido nalidíxico como predictor de la disminución de susceptibilidad a fluoroquinolonas, puede ser usado en la evaluación del tratamiento a seguir con fluoroquinolonas, ya que se ha observado que si hay resistencia al ácido nalidíxico puede haber un fallo en el tratamiento con fluoroquinolonas. Este descenso a la susceptibilidad a fluoroquinolonas se debe en gran parte al uso de estas en animales destinados al consumo humano, estos datos hacen suponer que el uso continuo, inadecuado e indiscriminado pueden tener una repercusión preocupante en el incremento de la incidencia de cepas resistentes a quinolonas.

Debido a esto, es necesario evaluar y establecer datos de susceptibilidad para fluoroquinolonas.

En la detección de otros mecanismos de resistencia se observó que únicamente dos cepas de *Salmonella* spp provenientes del Hospital Roosevelt presentaron el mecanismo de resistencia β -lactamasa de espectro ampliado. La determinación de este mecanismo es importante en la administración de β -lactámicos, ya que se recomienda evitar el uso de cefalosporinas de primera generación.

IX. CONCLUSIONES

1. Las cepas de *Salmonella* spp, provenientes de los Hospitales Roosevelt y Privado presentaron un alto porcentaje de β -lactamasas de espectro extendido mientras que las que provenían de la comunidad no presentaron este mecanismo de resistencia.
2. Las cepas de *Salmonella* spp, provenientes del Hospital Nacional de Quiché fueron las que presentaron un perfil bajo de resistencia antimicrobiana y no presentaron ningún mecanismo de resistencia, determinados en el estudio.
3. Cloranfenicol y gentamicina presentan un alto porcentaje de resistencia con la presencia de β -lactamasa de espectro extendido, es decir una relación de coresistencia hacia antibióticos no β -lactámicos.
4. Las cepas de *Salmonella* spp, que presentaron halos de inhibición disminuidos a ciprofloxacina, presentaron resistencia al ácido nalidíxico, por lo que se debe monitorear el uso a ciprofloxacina, debido a que puede haber un fallo terapéutico al hacer uso de este.

X. RECOMENDACIONES

1. Continuar con el sistema de vigilancia epidemiológica de la resistencia a agentes antimicrobianos para obtener la información necesaria de diferentes agentes patógenos y evaluar la tendencia de este fenómeno y los problemas de salud que conllevan para tomar las medidas necesarias a nivel nacional.
2. Estandarizar los métodos para la determinación de mecanismos de resistencia antimicrobiana en los laboratorios de la red hospitalaria del país, garantizando así la calidad de las pruebas diagnósticas.
3. Continuar con el monitoreo del patrón de resistencia presentado por *Salmonella* spp y otras enterobacterias, permanentemente a nivel nacional.
4. Promover a nivel de hospitales nacionales el buen uso de antibióticos elaborando políticas escritas sobre el uso apropiado de antimicrobianos basado en datos de la vigilancia de la resistencia local.

X. REFERENCIA

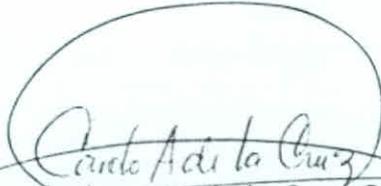
1. Yadon Z, Schmunis G. Sensibilidad de *Salmonella*, *Shigella* y *Vibrio cholerae* a los antimicrobianos en la Américas. 1940 -1997. OPS/OMS Resistencia Antimicrobiana en las Américas: Magnitud del problema y su Contención. 2000. 800p. (p. 24-38).
2. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Boletín Epidemiológico Nacional. Guatemala. 2003. 53p. (p. 31-32).
3. Sader HS, Jones RN. Resistencia a los antimicrobianos de los agentes patógenos causantes de infecciones nosocomiales y comunitarias en América Latina: Reseña general de las estadísticas de 1997. OPS/OMS. 2000. 123p. (p. 54-73).
4. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Estrategia Mundial de la OMS para contener la resistencia a los Antimicrobianos. Administración de Antimicrobianos a los animales destinados al consumo humano. 2002. 99p. (p. 37-39).
5. Calva E. *Salmonella typhi* y la Fiebre tifoidea: de la biología molecular a la salud pública. Instituto de biotecnología, UNAM. México 2002. 63p. (34-40).
6. Reed GH. Foodborne lones part 2: Salmonellosis. D. Fd. Envi. Sanit. 1993; 13:1 706-710.
7. Murray PR. *et al.* Manual of clinical Microbiology. 7ª ed. USA: American Society for Microbiology. 1999;28:467-474.
8. Krugman S. *et al.* Enfermedades Infecciosas. 7ª ed. México: Interamericana, S.A. 1984. 991p. (p. 318).
9. Adams MR, Moss MO. Microbiología de los Alimentos. España: Acribia, S.A 1995. 464p. (p. 241-255).
10. Arévalo HF. Determinación de *Salmonella spp* y *Shigella spp.* en carnes y vegetales crudos empleados como materia prima en las cafeterías de la

- ciudad Universitaria. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 55p.
11. Berrang ME, Frank JF, *et al.* Eggshell characteristic and penetration by *Salmonella* through the productive life of a broiler breeder flock. *P. Sci.* 1998; 77:9 1446-50.
 12. Koneman EW, *et al.* Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. 5^a ed. USA: Lippincott. 1997. 496p. (p. 109-112).
 13. Gutiérrez L. *et al.* Serotipos de *Salmonella* identificados en los servicios de salud de México. *Salud Pública México* 2000;42:490-495.
 14. Características Generales de *Salmonella*. 2003. (en línea). Consultado 8 de mayo 2003. Disponible en <<http://www.geocities.com/moralab/caract.html>>
 15. Mead PS, Dietz L., *et al.* Food-related illness and death in the United States. *Rev. Emerg. Infect. Dis.* 1999;5:607-625.
 16. Threlfall EJ, Frost JA, Ward LR, Rowe B. Epidemic in cattle in humans of *salmonella typhimurium* DT104 with chromosomally integrated multiple drug resistance. *Rev. Anti. Chemother.* 1994;34:577.
 17. Threlfall EJ. Epidemic *Salmonella typhimurium* DT 104- a truly international multiresistant clone. *Rev. Emerg. Infect. Dis.* 2000;46:7-10.
 18. Koopmans W, *et al.* Gastroenteritis in general practices in the Netherlands. *Rev Emerg Infect. Dis.* 2000;7:82-91.
 19. Van Duijkeren EW. *et al.* Serotypes, phagetypes and antibiotic susceptibilities of *Salmonella* strains isolated from horses in the Netherlands from 1993 to 2000. *Rev. Vet Microbiol.* 2002; 86:203-212.
 20. Mehta A, Rodrigues C, Joshi VR. Multiresistant *Salmonella* organism in India. *JAMA.* 1992.267:1614.
 21. Poppe, C. *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* in humans and animals. Epidemiology, pathogenesis, and control. *Rev. Vet Microbiol.* 1999;9:3-18.

22. Indar L, Baccus G. *et al.* Salmonellosis in Trinidad: Evidence for transovarian transmission of *Salmonella* in farm eggs. *W. Ind. Med. J.* 1998;47(2):50-3.
23. Therlfall EJ, Ward LR, Rowe, B. Resistance to ciprofloxacin in non-typhoidal *Salmonellas* from humans in England and Wales the current situation. *Rev. Clin. Microbiol. Infect.* 1999;5:130-4.
24. López, NE. Determinación de *Salmonella* en carne de Res expendida en la Ciudad Capital de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 62p.
25. Swamy SC. *et al.* Virulence determinants *invA* and *spvC* in *Salmonella* isolated from poultry products, wastewater and human sources. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996;63:3768-3737.
26. Scotland MS. Toxins. *J. Appl Microbiol.* 1998;65:109-129.
27. Oracz G. *et al.* Rapid Diagnosis of Acute *Salmonella* Gastrointestinal Infection. *Clin. Infec. Dis.* 2003;36:112-115.
28. Rodrigues, MA. *et al.* *Salmonella typhi* in the past Decade: Learning to live with Resistance. *Clin. Infec. Dis.* 2002;34:126.
29. Gil-Setas A. *et al.* Salmonelosis no Tifoidea en un área de Salud de Navarra, España. *Rev. Esp. S. P.* 2002;76(1):17-23.
30. Zinsser, *et al.* Microbiología Zinsser. 17^a ed. Argentina. Médica Panamericana. 1995. 1009p. (695-702).
31. Dusch H, Altwegg M. Evaluation of five new plating media for isolation of *Salmonella* species. *Rev. J. Clin. Microb.* 1995;33:222-224.
32. McWhorter-Murlin, A.C. *et al.* Identification and Serotyping of *Salmonella* an Update of the Kauffmann-White scheme. *Clin. Microb.* 1994;35:802-804.
33. Popoff MY. *et al.* Antigenic Formulas of the *Salmonella* serovars. *Clin. Microb.* 1997;148:811-814.

34. Aranda-Michel J, Gianella RA. Acute diarrhea: a practical review. *Rev. J. Med.* 1999;106:670-676.
35. Baldassamo RN. *et al.* Diarrhea. *Rev. Clin. Ped. Gast.* 1998;170:9-18.
36. Nelson SJ, Granoff D. *Salmonella* gastroenteritis in the first three months of life: a Review of management and complications. *Rev. Clin. Ped.* 1982; 21:709-712.
37. Lin HS. *et al.* In vivo Acquisition of Ceftriaxone Resistance in *Salmonella enterica* serotype *anatum*. *Rev. Antimic. Agen. Chemother.* 2003;47(2):563-567.
38. Witte W. Medical consequences of antibiotic use in agriculture. *Rev. Sc.* 1998; 279:996-997.
39. Cohen ML, Tauxe RV. Drug-Resistant *Salmonella* in the United States: an epidemiologic perspective. *Rev. Sc.* 1984;225:833-835.
40. Threlfall EJ. *et al.* Spread of resistance from food animals to man –the UK experience. *Sup. Vet. Scand.* 2000;157:3741-3745.
41. Angulo FJ. *et al.* Origins and consequences of antimicrobial-resistant nontyphoidal *Salmonella*: implications for the use of fluoroquinolones in food animals. *Rev. Microb. D. Resist.* 2000;6:77-83.
42. MacDonald KL. *et al.* Changes in antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from humans in the United States. *JAMA.* 1987;258:1496-1497.
43. Riley LW. *et al.* Importance of host factors in human salmonellosis caused by multiresistant strains of *Salmonella*. *Rev. J. Infec. Dis.* 1994;149:878-883.
44. Dabney P. *et al.* National antimicrobial Monitoring System : antimicrobial resistance in human isolate of *Salmonella* and *Escherichia coli* O157. *Rev. Antimic. Ag. Chemother.* 1997;136:144.
45. Cohen J. *et al.* Extra intestinal Manifestations of *Salmonella* infections. *J. Med.* 1987;66:349-388.

46. Lee LA. *et al.* Increase in Antimicrobial-resistant *Salmonella* infections in the United States 1989-1990. *J. Infect. Dis.* 1991;170:128-134.
47. Tauxe RV. Emerging Foodborne diseases: an evolving public health challenge. *Emer. Infec. Dis.* 1997;3:425- 434.
48. Mortem H. *et al.* Excess Mortality associated with antimicrobial Drug-Resistant *Salmonella typhimurium*. *Rev. Emer. Infec. Dis.* 2002;8(5):490-515.
49. Moller F, Molbak K, Threlfall E. Is it Time to change fluoroquinolone Breakpoints for *Salmonella spp.*? *Antimic. Ag. Chemother.* 2003;47(2):827-829.
50. Andrew JL. *et al.* Multiply Resistant *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* DT12 and DT120: a Case of MR DT 104 in Disguise? *Rev. Emerg. Infect. Dis.* 2002;8:434-443.
51. Livermore D.M. B-Lactamases in Laboratory and clinical Resistance. *Rev. Clin. Microb.* 1995;8(4):557-584.
52. Jacoby G, Archer G. New Mechanisms of Bacterial Resistance to antimicrobial Agent. *Rev. N. Engl. J. Med.* 1991;324:601.
53. Yoshida H. *et al.* Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyr A* gene of *Escherichia coli*. *Rev. Antimicrob. Ag. Chemother.* 1990;34:1271.
54. Manual y Tablas NCCLS 2003. OPS/OMS. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, Guatemala. 2003.



Carola Amparo de la Cruz Gómez
Autora



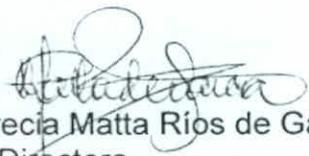
Lic. Jorge Raúl Matheu
Asesor



Licda. María Eugenia Paredes
Revisora



Lic. Osberth Morales
Revisor



M.Sc. Vivian Lucrecia Matta Ríos de García
Directora



P.H.D. Oscar Manuel Cobar Pinto
Decano