

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**Caracterización mediante secuenciación de genoma completo de *Salmonella enterica*  
serovares Enteritidis y Typhimurium recuperados en Panamá del 2021 al 2025**

**TRABAJO DE GRADUACIÓN PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE  
LICENCIATURA EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**PRESENTADO POR:**

**PITANO VILLEGAS, SHERLY MARÍA C.I.P. 9-749-608**

**ASESORA:**

**DRA. LISSETH SAMUDIO**

**ASESOR CLÍNICO:**

**DR. ALEXANDER MARTÍNEZ**

**CIUDAD DE DAVID, PROVINCIA DE CHIRIQUÍ, REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**2025**

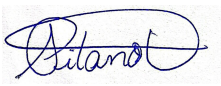


## **AUTORIZACIÓN PARA LA INCORPORACIÓN DE TRABAJO AL REPOSITORIO JÄ DIMIKE DE LA UNACHI.**

---

Yo, Sherly María Pitano Villegas, con cédula de identidad personal/ pasaporte 9-749-608, autorizo que mi trabajo (tesis, trabajo de grado, monografía, artículo, video, conferencia, libro, imagen, fotografía, audio, presentación u otro), titulado “Caracterización mediante secuenciación de genoma completo de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium recuperados en Panamá del 2021 al 2025”, sea incorporado al Repositorio JÄ DIMIKE de la Universidad Autónoma de Chiriquí, para fines educativos y no lucrativos, por lo que eximo de cualquier tipo de responsabilidad a la UNACHI y al REPOSITORIO JÄ DIMIKE con respecto a violaciones al Derecho de autor y propiedad intelectual, entre otras, y declaro que soy titular de los derechos de la obra arriba descrita, por lo cual asumo personalmente cualquier responsabilidad emanada de la publicación de la misma.

Firmo para constancia, hoy 12 de febrero de 2026.

Firma: 

Nombre: Sherly María Pitano Villegas

Cédula/Pasaporte: 9-749-608

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo a los dos pilares de mi vida: mi madre, Sofía Villegas Quiel, por ser mi fuente de inspiración y superación; y mi abuela Herminia Quiel, que con mucho amor llamo mamá Emy, por criarme como a una hija y enseñarme el valor de los estudios. Este logro les pertenece más a ustedes que a mí.

*Por y para ustedes,*

*Sherly.*

## AGRADECIMIENTOS

A Dios, por ser mi fuente de fortaleza, perseverancia y resiliencia en cada reto superado durante mi formación académica.

Agradezco profundamente al Dr. Alexander Martínez por confiar en mí y brindarme esta gran oportunidad. Gracias por su participación activa, su disposición para solucionar problemas y su consideración para permitirme realizar la mayor parte del proyecto en la provincia de Chiriquí con la Mgtr. Yeinithy Samudio, del Laboratorio de Vigilancia Genómica en David-Chiriquí, a quien también agradezco su cordialidad y apoyo clave, especialmente durante el proceso de Secuenciación de Genoma Completo.

Mi gratitud se extiende al personal del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud, de manera especial al personal de la Sección de Genómica y Proteómica. A la Mgtr. Alma Ortiz, por su constante seguimiento hasta consolidar mi investigación. Asimismo, agradezco a quienes colaboraron desinteresadamente en este proceso: a la Sra. María Molina, por su cariño y disposición infinita para buscar soluciones; y a la Sra. Migdalys Ortega, por el cuidado excepcional de mis muestras y por enseñarme la técnica necesaria para su traslado desde Panamá hasta David.

Al Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública, en particular a la Sección de Microbiología Clínica, por el aval para el uso de las cepas de *Salmonella* y el espacio para realizar la extracción de ADN. De manera especial, a la Mgtr. Katia Ríos, por recibirme con amabilidad y compartir sus conocimientos.

Agradezco al Dr. Orlando Cáceres, cuyo apoyo fue esencial para alcanzar la culminación de mis estudios de la Licenciatura en Tecnología Médica en la Universidad Autónoma de Chiriquí; y a la Dra. Lisseth Samudio por asesorarme durante este trayecto.

Finalmente, mis más sinceras muestras de agradecimiento a mi familia, amigos, compañeros y profesores. Cada pequeño detalle y gesto de apoyo fue un grano de arena que para mí lo significó todo.

*Las palabras “muchas gracias” se quedan cortas,*

*Sherly.*

## ÍNDICE GENERAL

|                                                                     |                  |
|---------------------------------------------------------------------|------------------|
| <b><i>CAPÍTULO I MARCO INTRODUCTORIO.....</i></b>                   | <b><i>1</i></b>  |
| <b>1.1. Aspectos generales del problema.....</b>                    | <b>2</b>         |
| <b>1.1. Objetivos.....</b>                                          | <b>4</b>         |
| <b>1.1.1. Objetivo general.....</b>                                 | <b>4</b>         |
| <b>1.1.2. Objetivos específicos.....</b>                            | <b>5</b>         |
| <b>1.2. Alcance del trabajo.....</b>                                | <b>5</b>         |
| <b>1.3. Limitaciones .....</b>                                      | <b>7</b>         |
| <b>1.4. Justificación.....</b>                                      | <b>8</b>         |
| <b><i>CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO.....</i></b>                        | <b><i>11</i></b> |
| <b>2.1. Antecedentes.....</b>                                       | <b>12</b>        |
| <b>2.2. Rasgos generales de la bacteria <i>Salmonella</i> .....</b> | <b>15</b>        |
| <b>2.2.1. Taxonomía de la bacteria <i>Salmonella</i> .....</b>      | <b>15</b>        |
| <b>2.2.2. Nomenclatura de la bacteria <i>Salmonella</i> .....</b>   | <b>17</b>        |
| <b>2.3. Importancia clínica.....</b>                                | <b>18</b>        |
| <b>2.4. Importancia epidemiológica .....</b>                        | <b>22</b>        |
| <b>2.4.1. A nivel mundial.....</b>                                  | <b>22</b>        |
| <b>2.4.2. Situación en Panamá .....</b>                             | <b>26</b>        |
| <b>2.5. Mecanismos de patogenicidad .....</b>                       | <b>30</b>        |
| <b>2.5.1. Islas de patogenicidad .....</b>                          | <b>30</b>        |

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.5.2. Factores de virulencia .....                                | 33        |
| 2.6. Resistencia antimicrobiana .....                              | 37        |
| 2.7. Métodos tradicionales de caracterización .....                | 38        |
| 2.7.1. Método de cultivo microbiológico de <i>Salmonella</i> ..... | 38        |
| 2.7.2. Confirmación serológica .....                               | 42        |
| 2.7.3. Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE).....          | 44        |
| 2.7.4. Tipificación de Secuencias de Multi-Locus (MLST) .....      | 45        |
| 2.8. Secuenciación de genoma completo (WGS) .....                  | 47        |
| 2.8.1. Información general .....                                   | 47        |
| 2.8.2. Ventajas frente a técnicas tradicionales .....              | 47        |
| 2.8.3. Aplicación en epidemiología y salud pública .....           | 49        |
| 2.9. Bioinformática aplicada a <i>Salmonella</i> .....             | 50        |
| 2.9.1. Plataformas .....                                           | 50        |
| 2.9.2. Bases de datos.....                                         | 51        |
| <b>CAPÍTULO III MARCO METODOLÓGICO .....</b>                       | <b>54</b> |
| 3.1. Tipo y diseño general del estudio .....                       | 55        |
| 3.2. Población y muestra .....                                     | 56        |
| 3.2.1. Criterios de inclusión.....                                 | 58        |
| 3.2.2. Criterios de exclusión .....                                | 58        |
| 3.3. Variables del estudio .....                                   | 59        |
| 3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....         | 62        |
| 3.4.1. Plataformas para análisis de datos bioinformáticos.....     | 62        |

|                                                                                                   |           |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>3.5. Procedimiento de extracción de ADN.....</b>                                               | <b>63</b> |
| <b>3.5.1. Materiales .....</b>                                                                    | <b>63</b> |
| <b>3.5.2. Contenido del QIAamp DNA Mini kit.....</b>                                              | <b>64</b> |
| <b>3.5.3. Procedimiento para muestras de <i>Salmonella</i> almacenadas en leche .....</b>         | <b>64</b> |
| <b>3.5.4. Procedimiento para muestras de <i>Salmonella</i> en platos de agar .....</b>            | <b>66</b> |
| <b>3.6. Cuantificación de ADN .....</b>                                                           | <b>67</b> |
| <b>3.6.1. Materiales .....</b>                                                                    | <b>67</b> |
| <b>3.6.2. Contenido del Qubit dsDNA High Sensivity Assay kit .....</b>                            | <b>68</b> |
| <b>3.6.3. Procedimiento para ADN extraído de <i>Salmonella enterica</i> .....</b>                 | <b>68</b> |
| <b>3.7. Procedimiento de secuenciación de genoma completo (Nextera XT DNA kit)..</b>              | <b>70</b> |
| <b>3.7.1. Materiales .....</b>                                                                    | <b>70</b> |
| <b>3.7.2. Contenido del Nextera XT DNA kit.....</b>                                               | <b>71</b> |
| <b>3.7.3. Preparación de librería Nextera XT DNA .....</b>                                        | <b>72</b> |
| <b>3.8. Plan de análisis estadístico .....</b>                                                    | <b>75</b> |
| <b>3.9. Consideraciones éticas.....</b>                                                           | <b>76</b> |
| <b><i>CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS .....</i></b>                              | <b>78</b> |
| <b><i>RESULTADOS .....</i></b>                                                                    | <b>79</b> |
| <b>4.1. Muestras de <i>Salmonella enterica</i> recuperadas en Panamá del 2021 al 2025.....</b>    | <b>79</b> |
| <b>4.2. Distribución demográfica de las cepas seleccionadas de <i>Salmonella enterica</i>....</b> | <b>81</b> |
| <b>4.3. Laboratorios referidos al Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública</b>          |           |

|                                                 |                                                                                      |     |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 4.4.                                            | Tipos de muestras de aislamiento de cepas de <i>Salmonella enterica</i> .....        | 87  |
| 4.5.                                            | Serotipificación de las cepas aisladas de <i>Salmonella enterica</i> .....           | 90  |
| 4.6.                                            | Detección de factores de virulencia de las cepas de <i>Salmonella enterica</i> ..... | 96  |
| 4.6.1.                                          | Detección de islas de patogenicidad (SPI) .....                                      | 96  |
| 4.6.2.                                          | Detección de plásmidos .....                                                         | 97  |
| 4.7.                                            | Resistencia antimicrobiana .....                                                     | 98  |
| <i>DISCUSIÓN</i> .....                          |                                                                                      | 101 |
| <i>CAPÍTULO V CONSIDERACIONES FINALES</i> ..... |                                                                                      | 116 |
| 5.1.                                            | Conclusiones .....                                                                   | 117 |
| 5.2.                                            | Recomendaciones .....                                                                | 118 |
| <i>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</i> .....         |                                                                                      | 120 |
| <i>ANEXOS</i> .....                             |                                                                                      | 138 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabla 1.</b> Nomenclatura correcta de los principales serovares de Salmonella que afectan humanos.....                                               | 18  |
| <b>Tabla 2.</b> Incidencia de casos de Salmonella a nivel global.....                                                                                   | 24  |
| <b>Tabla 3.</b> Casos reportados en Panamá de Salmonelosis (años 2017-2023).....                                                                        | 27  |
| <b>Tabla 4.</b> Islas de patogenicidad y sus funciones más esenciales .....                                                                             | 32  |
| <b>Tabla 5.</b> Comparación de resultados de la prueba IMViC para las enterobacterias más comunes .....                                                 | 42  |
| <b>Tabla 6.</b> Características principales de algunas plataformas .....                                                                                | 52  |
| <b>Tabla 7.</b> Diferentes herramientas para predicción de serovar de Salmonella spp. in silico .....                                                   | 53  |
| <b>Tabla 8.</b> Fases del estudio .....                                                                                                                 | 55  |
| <b>Tabla 9.</b> Definición conceptual y operacional de las variables .....                                                                              | 59  |
| <b>Tabla 10.</b> Selección de cepas de Salmonella por año del biobanco del LCRSP/ICGES .....                                                            | 79  |
| <b>Tabla 11.</b> Selección de cepas de Salmonella enterica según provincia de procedencia .....                                                         | 81  |
| <b>Tabla 12.</b> Distribución según el tipo de instalación de procedencia y la cantidad de cepas remitidas .....                                        | 83  |
| <b>Tabla 13.</b> Cepas seleccionadas por año según tipo de muestra de aislamiento .....                                                                 | 88  |
| <b>Tabla 14.</b> Cepas de Salmonella enterica utilizadas según el serotipo proporcionado por LCRSP/ICGES .....                                          | 90  |
| <b>Tabla 15.</b> Comparación entre los serovares de Salmonella enterica mediante método tradicional y método de secuenciación de nueva generación ..... | 94  |
| <b>Tabla 16.</b> Resistencia antimicrobiana proporcionada por el LCRSP .....                                                                            | 98  |
| <b>Tabla 17.</b> Genes de resistencia antimicrobiana identificados por la plataforma EnteroBase .....                                                   | 100 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                     |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Daniel E. Salmon, primer Doctor en Medicina Veterinaria y patólogo del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA). ..... | 13 |
| <b>Figura 2.</b> Microbiólogo Fritz Kauffmann desde su escritorio .....                                                                             | 14 |
| <b>Figura 3.</b> Ejemplos de medios de contaminación de Salmonella que afectan humanos .....                                                        | 21 |
| <b>Figura 4.</b> Evolución en el tiempo de la presencia de islas de patogenicidad de Salmonella....                                                 | 31 |
| <b>Figura 5.</b> Factores de virulencia de la Salmonella spp. ....                                                                                  | 37 |
| <b>Figura 6.</b> Resultados de la prueba IMViC .....                                                                                                | 41 |
| <b>Figura 7.</b> Diferencias entre una electroforesis convencional y una de campo pulsado .....                                                     | 45 |
| <b>Figura 8.</b> Distribución anual de las cepas de Salmonella enterica .....                                                                       | 80 |
| <b>Figura 9.</b> Mapa de distribución geográfica de las cepas seleccionadas.....                                                                    | 82 |
| <b>Figura 10.</b> Clasificación de la procedencia por tipo de instalación de las cepas seleccionadas .....                                          | 84 |
| <b>Figura 11.</b> Porcentaje de cepas seleccionadas según tipo de instalación .....                                                                 | 85 |
| <b>Figura 12.</b> Cepas de Salmonella seleccionadas según instalación remitente .....                                                               | 86 |
| <b>Figura 13.</b> Cepas de Salmonella según el tipo de muestra de aislamiento .....                                                                 | 87 |
| <b>Figura 14.</b> Cepas de Salmonella según tipo de muestra de aislamiento y año .....                                                              | 89 |
| <b>Figura 15.</b> Porcentaje de cepas de Salmonella enterica según el serotipo proporcionado por el LCRSP/ICGES .....                               | 91 |
| <b>Figura 16.</b> Distribución anual de las cepas utilizadas según el serotipo reportado por el LCRSP/ICGES .....                                   | 92 |
| <b>Figura 17.</b> Serovares de Salmonella enterica identificados por la plataforma EnteroBase.....                                                  | 93 |

|                                                                                                                                            |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 18.</b> Distribución anual de los serovares identificados por la plataforma EnteroBase en las cepas de Salmonella enterica ..... | 95  |
| <b>Figura 19.</b> Islas de patogenicidad detectadas en las cepas de Salmonella enterica por la plataforma CGE.....                         | 96  |
| <b>Figura 20.</b> Plásmidos detectados en cepas de Salmonella enterica por la plataforma CGE.....                                          | 97  |
| <b>Figura 21.</b> Clasificación de perfil de resistencia antimicrobiano .....                                                              | 99  |
| <b>Figura 22.</b> Edificio LCRSP/ICGES en la Ciudad de Panamá .....                                                                        | 139 |
| <b>Figura 23.</b> Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES en David-Chiriquí .....                                                     | 139 |
| <b>Figura 24.</b> Selección de cepas almacenadas en leche de Salmonella enterica .....                                                     | 140 |
| <b>Figura 25.</b> Cultivo de Salmonella enterica en agar SS .....                                                                          | 140 |
| <b>Figura 26.</b> Embalaje para transporte de muestras e insumos.....                                                                      | 141 |
| <b>Figura 27.</b> Recuperación de cepas de Salmonella enterica en agar SS .....                                                            | 141 |
| <b>Figura 28.</b> Investigadoras en el procesamiento de las muestras .....                                                                 | 142 |
| <b>Figura 29.</b> Secuenciación de genoma completo en el equipo Illumina iSeq 100 .....                                                    | 142 |
| <b>Figura 30.</b> Colocación de librerías en el cartucho de reactivos del equipo iSeq 100 .....                                            | 143 |
| <b>Figura 31.</b> Investigadoras en el procesamiento de las muestras .....                                                                 | 143 |

## RESUMEN

La salmonelosis representa un desafío de salud pública en Panamá y el mundo, especialmente por la vigilancia epidemiológica, la complejidad de identificación y contención de brotes, y la emergencia de linajes con resistencia antimicrobiana. El objetivo principal fue caracterizar genómicamente aislamientos clínicos de *Salmonella enterica*, específicamente los clasificados como serovares Enteritidis y Typhimurium mediante secuenciación de genoma completo.

Se llevó a cabo un estudio descriptivo-analítico de 79 cepas (n=42 Enteritidis y n=35 Typhimurium) seleccionadas del Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública de Panamá, empleando la plataforma EnteroBase para la serotipificación in silico y detección de genes de resistencia, y las herramientas SPIFinder y Plasmid Finder de CGE para la detección de determinantes de virulencia y resistencia como las islas de patogenicidad y plásmidos.

Entre los hallazgos más relevantes se encuentran la reclasificación de la mayoría de las cepas de S. Typhimurium como la variante monofásica 1,4,[5],12:i:- (n=20), el análisis de los métodos de patogenicidad de la bacteria con una presencia casi universal de las islas de patogenicidad SPI-14, SPI-6 y SPI-3, además de los plásmidos de virulencia IncFII(S) e IncFIB(S), lo que correlaciona con la alta incidencia de casos extraintestinales.

Los resultados demuestran que la Secuenciación de Genoma Completo posee una resolución de mayor poder diagnóstico que los métodos tradicionales (serotipificación por antisuero y antibiograma por difusión en plato), revelando nuevos datos que resaltan la necesidad urgente de realizar la transición hacia un nuevo enfoque para la gestión clínica más precisa.

Palabras clave: *Salmonella enterica*; Secuenciación de genoma completo; Resistencia antimicrobiana; Vigilancia epidemiológica; Islas de patogenicidad.

## SUMMARY

Salmonellosis represents a public health challenge in Panama and worldwide, especially due to epidemiological surveillance, the complexity of identifying and containing outbreaks, and the emergence of antimicrobial-resistant lineages. The main objective was to genomically characterize clinical isolates of *Salmonella enterica*, specifically those classified as Enteritidis and Typhimurium serovars, using whole-genome sequencing.

A descriptive-analytical study was conducted on 79 strains (n=42 Enteritidis and n=35 Typhimurium) selected from the Central Reference Laboratory for Public Health in Panama. The EnteroBase platform was used for in silico serotyping and detection of resistance genes, and the CGE SPIFinder and Plasmid Finder tools were used to detect virulence and resistance determinants such as pathogenicity islands and plasmids.

Among the most relevant findings are the reclassification of most *S. Typhimurium* strains as the monophasic variant 1,4,[5],12:i:- (n=20) and the analysis of bacterial pathogenicity methods, which revealed an almost universal presence of the pathogenicity islands SPI-14, SPI-6, and SPI-3, as well as the virulence plasmids IncFII(S) and IncFIB(S). This correlates with the high incidence of extraintestinal cases.

The results demonstrate that Whole Genome Sequencing has greater diagnostic resolution than traditional methods (antiserum serotyping and plate diffusion antibiogram), revealing new data that highlight the urgent need to transition to a new approach for more precise clinical management.

Keywords: *Salmonella enterica*; whole genome sequencing; antimicrobial resistance; epidemiological surveillance; pathogenicity islands.

## **CAPÍTULO I**

### **MARCO INTRODUCTORIO**

### 1.1. Aspectos generales del problema

La salmonelosis representa un problema significativo en la salud pública a nivel mundial, según lo indica el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades. (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2024). La salmonelosis no tifoidea es la cuarta causa principal de enfermedades transmitidas por alimentos a nivel global, que en algunos casos pueden ser graves o mortales. La resistencia de ciertos serovares a los antimicrobianos es un problema creciente, complicando su tratamiento y representando un riesgo para la salud pública a través de la cadena alimentaria, según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Organización Mundial de la Salud, 2018).

La *Salmonella enterica* serovar Enteritidis y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium son los dos serovares más importantes de *Salmonella* no tifoidea transmitida a seres humanos en la mayor parte del mundo (Mkangara, 2023). En Panamá, los mismos serovares también ocupan los primeros lugares en cuanto a aislamientos clínicos recuperados a través de la vigilancia realizada por el Laboratorio de Microbiología Clínica del Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública (LCRSP) del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES).

La variante monofásica de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ocupa los primeros lugares en los programas de vigilancia de *Salmonella* a nivel mundial (Sun, Wan, Du, & Bai, 2020). No obstante, se desconoce si los aislamientos en nuestro país están relacionados con la variante monofásica de Typhimurium que circula globalmente, la cual presenta alta resistencia antimicrobiana. También se desconocen las características genéticas de estos serovares, y esta laguna de conocimiento dificulta la implementación de medidas de control y prevención

efectivas, lo que representa una preocupación relevante para la salud pública y la vigilancia epidemiológica en el país.

En nuestro país, la salmonelosis se convierte en una enfermedad de notificación obligatoria y bajo vigilancia epidemiológica según el Decreto Ejecutivo N.º 1617 de octubre de 2014 (Ministerio de Salud, 2014). Al presentarse un cultivo positivo de *Salmonella* spp. en la instalación de salud, esta debe aislar la cepa y colocarla en un medio de transporte para que pueda ser enviada junto con los datos del paciente (nombre, edad, sexo), muestra de procedencia, nombre de la instalación que envía y provincia. Actualmente, la caracterización de las cepas se realiza solo a nivel central (en el LCRSP en la Ciudad de Panamá) y se basa principalmente en los métodos tradicionales de tipificación con antisueros.

Para la serotipificación tradicional de las cepas de *Salmonella* spp. se utiliza la clasificación de Kauffmann-White-Le Minor, que identifica los antígenos presentes en la superficie bacteriana, como el lipopolisacárido (antígeno somático O), las proteínas flagelares (antígeno H) y las capsulares (antígeno K) (Grimont & Weill, 2007). Debido al costo de los antisueros, el tiempo de procesamiento y el requerimiento de personal altamente entrenado para interpretar los resultados, este método solo es realizado a nivel central, siendo esta su principal limitación.

La introducción del método de secuenciación de nueva generación NGS (que proviene de las siglas en inglés, Next Generation Sequencing) para realizar la secuenciación de genoma completo (WGS por sus siglas en inglés, que significan Whole Genome Sequencing), se debe a que funciona como una herramienta sustancial para la serotipificación de patógenos, rastreo de origen y caracterización, incluyendo virulencia y perfil genético de resistencia antimicrobiana,

ofreciendo ventajas significativas en varios aspectos cruciales para la salud pública y la investigación epidemiológica (Mileto et al, 2025).

Según Mileto et al. (2025), este método ofrece un poder discriminatorio superior, representando una herramienta transformativa cuyo uso está siendo evaluado por muchos estudios, indicando su fiabilidad, rendimiento y aplicabilidad como alternativa a los métodos fenotípicos tradicionales, resaltando el potencial para proporcionar predicción de serovares precisa y de alto rendimiento, agiliza los flujos de trabajo de laboratorio y respalda investigaciones epidemiológicas a gran escala.

La disminución de los costos de este método ha hecho la secuenciación de genoma completo más accesible, convirtiéndola en una opción viable en laboratorios de rutina. Esto permite sugerir que podría realizarse a nivel regional, como en el Laboratorio de Vigilancia Genómica Gorgas ubicado en la provincia de Chiriquí o en la provincia de Veraguas. Integrando técnicas microbiológicas tradicionales con análisis genéticos moleculares como la secuenciación de genoma completo, logrando una comprensión más profunda de las características bacterianas.

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo general**

- Caracterizar los genomas completos de una selección representativa de aislamientos de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium recuperados del cepario del Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública (LCRSP) – Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES) entre el 2021 y 2025.

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Evaluar la diversidad genética intra-serovar observada en las cepas aisladas de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium, seleccionadas para representar la diversidad temporal y fenotípica de la colección disponible.
- Identificar perfiles de resistencia antimicrobiana a nivel genotípico de las cepas seleccionadas de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium, mediante la detección de genes de resistencia a antibióticos y detección de mutaciones presentes en sus genomas.
- Identificar y analizar la presencia de genes de virulencia relevantes en los genomas de las cepas seleccionadas de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium.
- Integrar la información genómica con los datos epidemiológicos disponibles para obtener una visión más completa de la epidemiología molecular de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium en el país.

### **1.2. Alcance del trabajo**

Con este trabajo, se esperan obtener diversos beneficios, entre los cuales podemos mencionar:

- Por la alta prevalencia de estos serovares a nivel global, la caracterización de estos aislados contribuirá significativamente a mejorar en el país la respuesta epidemiológica a un problema de salud pública.
- Se compararán los hallazgos obtenidos sobre patrones de resistencia antimicrobiana y sus posibles fuentes con datos obtenidos en otros países a través de las plataformas bioinformáticas utilizadas, lo que proporcionará un contexto más amplio que nos ayude a visualizar mejor la situación en Panamá.

- Identificar la presencia de genes de virulencia específicos en los aislamientos podría proporcionar información sobre la patogenicidad y el potencial que poseen estos serovares para causar enfermedades graves, a las cuales no se tiene acceso previo a este estudio.
- Establecer un método estandarizado de secuenciación de segunda generación para *Salmonella* spp. en el Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES, ubicado en la provincia de Chiriquí, con el objetivo de ser implementado en los otros centros de vigilancia genómica del país.
- Implementar tecnología de vanguardia en la provincia de Chiriquí.
- Capacitar y formar futuros profesionales en el desarrollo de esta metodología, de manera que pueda ser implementada en diferentes establecimientos de salud a nivel nacional.

#### Impacto esperado:

- Desarrollo de herramientas de diagnóstico y prevención: La información genómica obtenida puede ser utilizada para desarrollar nuevas y más efectivas herramientas de diagnóstico, así como estrategias de prevención y control de las infecciones por *Salmonella*.
- Descentralización tecnológica: Esta tecnología estaría disponible en el laboratorio de Vigilancia Genómica de la provincia de Chiriquí, facilitando así el acceso de esta provincia y de otros centros regionales del ICGES, para mejorar la cobertura y equidad en servicios especializados.

### 1.3. Limitaciones

Para la realización de este trabajo se presentaron las siguientes limitaciones:

- Centralización de recepción de muestras: Al ser el LCRSP el único en el país encargado de la recepción de cepas de *Salmonella* para su serotipificación y estar ubicado en la Ciudad de Panamá, crea una distancia significativa para trabajar la secuenciación de genoma completo de estas cepas en el Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES en la Ciudad de David-Chiriquí.
- Transporte de muestras e insumos: Como se menciona en el punto anterior, se trabajó en dos instalaciones diferentes, siendo una extensión de la otra; era necesario el transporte del ADN extraído de las cepas y los insumos desde la ciudad de Panamá hasta la ciudad de David-Chiriquí para ser secuenciadas. Tomando en consideración la cadena de frío, el tiempo que toma llegar de una ciudad a otra y el manejo en general para conservar la calidad de la cual dependían los resultados obtenidos del trabajo.
- Equipo secuenciador: Por la capacidad del mismo y el tamaño del genoma de la bacteria *Salmonella*, solo se podían procesar ocho muestras por corrida de secuenciación para poder lograr obtener resultados dentro de los lineamientos de calidad aceptables; esto hacía que el proceso fuera más lento y exigente.
- Plataformas de bases de datos: Al ser plataformas digitales, el uso de una buena conexión de internet y un buen equipo de cómputo es obligatorio. Esto no elimina las limitaciones de demora de carga de datos por mantenimiento o caída inesperada de las páginas web.
- Entrenamiento: Aunque los conocimientos necesarios para manejar las plataformas bioinformáticas que interpretan los datos obtenidos son mínimos, se requiere entrenamiento para poder identificar y resolver problemas durante todo el proceso.

#### 1.4. Justificación

La importancia de llevar a cabo estudios relacionados a la *Salmonella* no tifoidea proviene de observar el comportamiento a nivel mundial de esta bacteria, que cada año causa millones de casos de infecciones debido a las capacidades que ha ido adquiriendo con el paso del tiempo, como la adaptación a diversos ambientes, desarrollo de resistencia antimicrobiana con nuevas mutaciones de genes de resistencia y su habilidad de infectar una gran variedad de hospedadores, ya sea humanos, animales, alimentos o medio ambiente.

Este trabajo se centrará en *Salmonella enterica* serovar Enteritidis y *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, que producen principalmente gastroenteritis. En Panamá, el Ministerio de Salud reporta, a través del Instituto Nacional de Estadísticas y Censo, 319 casos de salmonelosis entre los años 2017 y 2023. Siendo el 2020 el menor número de casos reportados, 20, y el mayor en el 2023, 87.

Desde el punto de vista de salud pública, la gastroenteritis producida por la *Salmonella* no tifoidea representa un gran problema, ya que, estos millones de casos al año se convierten en un gran número de visitas a instalaciones de salud, ya sea para atención primaria, observación de un día o incluso hospitalizaciones prolongadas que generan grandes pérdidas económicas por la utilización de insumos, fármacos, personal de salud y el espacio en la instalación de salud, que podrían ser redirigidos a otros sectores de mayor necesidad.

Es pertinente mencionar el aumento de infecciones invasivas de estos tipos de *Salmonella* no tifoideos, donde estas cepas que producen intoxicación alimentaria salen del tracto digestivo e invaden otros sistemas a través de la sangre, convirtiéndose en una infección sistémica, una

condición médica mucho más seria, donde los más vulnerables son las personas con un sistema inmune comprometido y niños. Esto agrava significativamente el problema, ya que no solo estamos hablando de una gastroenteritis común de la que un paciente puede recuperarse, sino que puede causar la muerte, como ya está pasando en muchos países a nivel mundial.

Desde una perspectiva genómica, la presencia de estas cepas invasivas reconoce la necesidad de investigar la presencia de factores de virulencia específicos, como plásmidos de virulencia o islas de patogenicidad (SPI), que faciliten la diseminación desde el epitelio intestinal hacia el torrente sanguíneo y otros órganos, debido a la capacidad de estos serovares (Enteritidis y Typhimurium) para producir infecciones extraintestinales focalizadas y complicaciones sistémicas graves.

Por esta razón, urge la implementación de herramientas de vigilancia epidemiológica más actualizadas, para poder realizar una caracterización de alta precisión y resolución, ya que las bacterias como la *Salmonella* están en constante evolución y una forma de detectar estos cambios y mutaciones es estudiando específicamente su genoma, que no puede hacerse con las técnicas tradicionales. Actualmente, en nuestro país, solo se implementa la técnica de serotipificación por suero de detección de antígenos somáticos, capsulares y flagelares, proceso que se lleva a cabo exclusivamente en la Sección de Microbiología Clínica del LCRSP ubicado en la Ciudad de Panamá.

La realización de este proyecto en el Laboratorio de Vigilancia Genómica ubicado en la provincia de Chiriquí permitirá implementar la secuenciación de genoma completo por Secuenciación de Nueva Generación (NGS), acercando esta tecnología a las provincias más

apartadas de la ciudad capital, las cuales carecen de la identificación de *Salmonella* por la técnica de serotipificación.

La secuenciación de genoma completo mediante secuenciación de nueva generación es una metodología que funciona para evaluar el genoma de cada cepa, facilitando la comparación de datos globales en tiempo real, rastrear el origen de las cepas hasta su fuente, la aparición de nuevas mutaciones, entre otros beneficios. Esto se logra con la ayuda de las plataformas bioinformáticas que conectan los reportes de nuestro país con los de otros países a nivel mundial, lo que funciona también para preparación en caso de aumento de brotes en otros países y disminuir la propagación en el nuestro.

Se espera una replicación de la utilización de este nuevo método de caracterización en centros de vigilancia genómica de otras provincias para lograr una ampliación en la información epidemiológica, una mejor prevención y contención de brotes para disminuir la carga de personas infectadas en el sistema de salud, y así descentralizar esta tecnología para mejorar la cobertura y equidad en servicios especializados, facilitando el acceso para todo el país.

Este proyecto busca emplear el poder de esta revolucionaria tecnología, aprovechando todo el conjunto de información obtenida para dar respuesta a los vacíos de conocimientos, generar nuevas políticas públicas en el manejo de alimentos y protección de la salud pública, mejorar la comprensión, vigilancia y control epidemiológico, y convertirla en la herramienta de elección para tipificación, lo que permitirá en un futuro una respuesta más rápida y efectiva a los brotes.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEÓRICO**

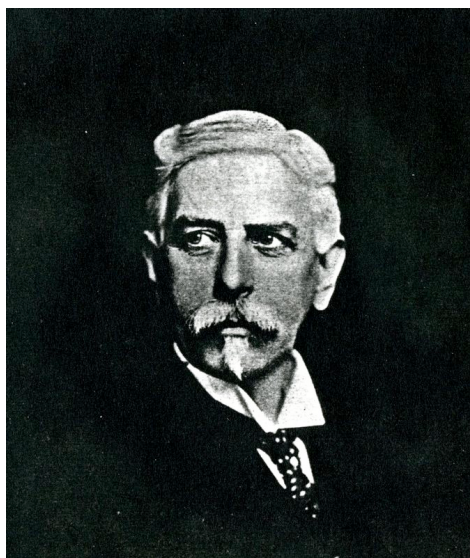
## 2.1. Antecedentes

Científicos e historiadores dedicados a estudiar brotes de enfermedades en el pasado han llegado a la conclusión de que la *Salmonella* fue probablemente la causante de muchos brotes catastróficos en las edades tempranas, específicamente las infecciones tifoideas. En uno de los ejemplos mencionados, se cree que esta pudo ser la plaga que eliminó a un tercio de la población de Atenas en los años 430 a.C. (Huang, Naushad, & Ogunremi, 2023). En otros estudios se documenta la recolección de ADN de una forma letal de *Salmonella* procedente de Europa, encontrado en entierros de México, vinculados a la epidemia de los años 1540 que mató al 80 % de la población nativa del país, siendo esta de las primeras evidencias genéticas de un patógeno que causó un declive significativo en la población nativa luego de la colonización europea, según el investigador de ADN antiguo del Museo de Historia Natural de Dinamarca, Hannes Schroeder (Callaway, 2017).

Según Huang et al. (2023), en 1879, el patólogo Karl Joseph Eberth, de la Universidad de Zurich, describe la presencia de un bacilo en los ganglios linfáticos abdominales y el bazo de un paciente que murió de tifoidea, lo que hace conocida a la bacteria como el *Bacillus* de Eberth, por el descubrimiento previo de George Gaffky del *Bacillus* como causante de la fiebre tifoidea humana. En 1886, Daniel E. Salmon, un patólogo veterinario del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, y su compañero de trabajo Theobald Smith publicaron un artículo describiendo el aislamiento de un bacilo móvil y Gram-negativo, de los intestinos de puercos que fueron afectados por la enfermedad conocida como cólera porcina. Este organismo fue nombrado *Bacillus choleraesuis*; no fue hasta 1900 que el nombre genérico de *Salmonella* fue

propuesto en honor a los múltiples logros de Salmon. El organismo que descubrió es ahora conocido como *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis (Crump & Wain, Salmonella, 2017).

**Figura 1.** *Daniel E. Salmon, primer Doctor en Medicina Veterinaria y patólogo del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA).*



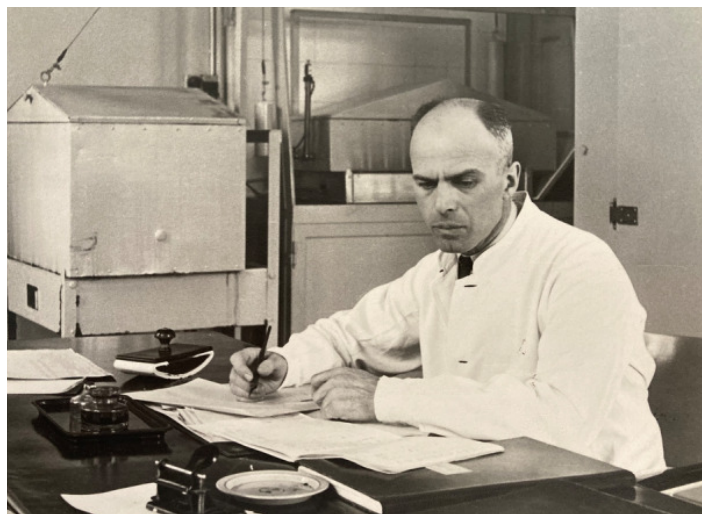
Nota: Extraído del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, s. f.

En 1924, Philip Bruce White et al. propusieron el primer esquema antigénico para *Salmonella* debido a la importancia de la diferenciación de cepas por sus diferentes manifestaciones de enfermedad. Como desde 1923 el médico Fritz Kauffmann comenzó a trabajar con la bacteria *Salmonella*, fue este el responsable de desarrollar y sistematizar el “esquema Kauffmann-White”, donde se podían identificar los serotipos y diferenciar los serogrupos, que son múltiples serovares que comparten las mismas características antigénicas; este esquema fue publicado en 1930 (Jønsson, Ingholt, & Krogfelt, 2024).

En 1934 fue adoptado el uso del esquema, que contenía 44 “especies”; en ese momento esa era la teoría que defendía Kauffmann. Unos años después, en 1938, se convierte en el director del Centro de Referencia e Investigación sobre *Salmonella* dentro del Instituto Pasteur en colaboración con la Organización Mundial de la Salud (OMS). 27 años después (1965), Kauffmann se retira y en su lugar Léon Le Minor toma el puesto, continuando con la actualización del esquema antigénico, ahora llamado Kauffmann-White-Le Minor, con más de 2650 serovares, según Jønsson et al. (2024).

El desarrollo definitivo de la taxonomía de la bacteria ocurrió a inicios de los 1970 cuando Crosa et al. demostraron por hibridación ADN-ADN que las “especies” (I, II, III, IV y VI) que Kauffmann defendía estaban relacionadas a un nivel de una sola especie, con la única excepción de la previamente conocida como V, que pertenecía a una especie distinta (Ryan, O’Dwyer, & Adley, 2017).

**Figura 2.** *Microbiólogo Fritz Kauffmann desde su escritorio*



Nota: Tomado de Jønsson, Ingholt, & Krogfelt, 2024.

## **2.2. Rasgos generales de la bacteria *Salmonella***

La *Salmonella* es una bacteria en forma de bacilo, Gram-negativa, y posee una pared celular, membrana celular, citoplasma, ribosoma, plásmidos y región nucleoide. Tiene un diámetro de alrededor de 0.7 a 1.5  $\mu\text{m}$ , un largo de 2 a 5  $\mu\text{m}$  y un flagelo que le permite motilidad. Es un quimiorganotrofo (lo que significa que obtiene energía de la oxidación de los compuestos orgánicos reducidos), y es un anaerobio facultativo. La *Salmonella* puede sobrevivir por varias semanas fuera de un hospedador vivo en un ambiente seco, varios meses en agua y muchas veces no es destruida por temperaturas muy bajas; la bacteria solo será destruida en temperaturas arriba de 75 °C, según Huang et al. (2023).

De forma resumida, podemos decir que las características de la *Salmonella* son las siguientes:

- Forma de bacilos
- Gram-negativas
- Metabolismo facultativo (crecen en ausencia o presencia de oxígeno)
- Móviles
- Crecen en medios estándar de laboratorio (como agar nutritivo)
- No fermentan lactosa (en algunos ambientes, ha adquirido este gen)

### **2.2.1. Taxonomía de la bacteria *Salmonella***

La *Salmonella* pertenece al Reino *Monera* o *Eubacteria*, filo *Proteobacteria*, clase *Gamma-Proteobacteria*, orden *Enterobacteriales*, familia *Enterobacteriaceae* y el género *Salmonella*. La clasificación de especies y subespecies de este género ha sido confusa y controversial, ya que tiene dos sistemas ampliamente usados; sin embargo, un sistema tiene una gran aceptación,

pero no cumple con las reglas del Código Bacteriológico; el otro no es tan usado como el anterior, pero sí cumple con el código. Con orden de resolver estas discrepancias, la Comisión Judicial del Comité Internacional de Sistemática de Procariotas emitió una Opinión donde mencionaba la amplia aceptación de la división del género *Salmonella* en dos especies. Para simplificar esto, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) ha acordado la división de *Salmonella* en dos especies, que serían *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*, según Huang et al. (2023).

La novena edición de las Fórmulas Antigénicas de los serovares de *Salmonella* según Grimont & Weill, (2007), la *Salmonella enterica* está subdividida en seis subespecies (subsp.): *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (I), *Salmonella enterica* subsp. *salamae* (II), *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* (IIIa), *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* (IIIb), *Salmonella enterica* subsp. *houtenae* (IV) y *Salmonella enterica* subsp. *indica* (VI). La subespecie III fue dividida en IIIa y IIIb por su relación genómica y reacciones bioquímicas, donde la subespecie IIIa (*S. enterica* subsp. *arizonae*) incluye los serotipos monofásicos de “Arizona”, mientras que la subespecie IIIb (*S. enterica* subsp. *diarizonae*) contiene los serotipos difásicos. Estas especies y subespecies se clasifican en múltiples serotipos basados en el esquema White-Kauffmann-Le Minor, actualizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en colaboración con el Centro para la referencia e investigación sobre *Salmonella* en el Instituto Pasteur de Francia.

El esquema de White-Kauffmann-Le Minor (WKL) proporciona la caracterización de las cepas bacterianas basado en estructuras de superficie, el antígeno de lipopolisacárido O y el antígeno flagelar H, reconociendo 46 antígenos O mayores, además de varios antígenos O secundarios que son encontrados en serogrupos específicos. Los antígenos H son proteínas que son parte del

flagelo bacteriano, han sido caracterizados como epítomos únicos o múltiples; los antígenos H multiepítomos son llamados complejos de antígeno H. Desde que los mismos tipos antigénicos pueden aparecer en diferentes linajes taxonómicos, se incluye comúnmente la identificación de subespecies en la designación de serotipos. Más de 2,600 combinaciones específicas de antígenos O y H, cada una un serotipo (serovar) diferente, fueron descritas en la novena edición del esquema, que fue publicado en el 2007 y actualizado 2 veces desde entonces (Deng et al., 2025).

### **2.2.2. Nomenclatura de la bacteria *Salmonella***

La nomenclatura del género *Salmonella* es muy compleja, pero necesaria para la correcta comunicación entre científicos, los reportes de resultados y la publicación de artículos. Esta nomenclatura ha evolucionado desde el concepto inicial propuesto por Kauffmann, donde cada serotipo era considerado una especie separada, que, si fuera utilizada hoy en día, existirían 2,600 especies de *Salmonella*.

La forma de la nomenclatura aceptada por el CDC según Brenner et al. consiste en:

- El género *Salmonella*, escrito en cursiva.
- La especie *enterica* o *bongori*, escrita en cursiva.
- La subespecie debe preceder la palabra subespecie o la abreviatura subsp. en fuente normal, y el nombre de la subespecie debe estar escrito en cursiva.
- El serovar también debe estar precedido por la palabra serovar o la abreviatura ser., y el nombre del serovar escrito con fuente normal, pero la primera letra en mayúscula.

- Ejemplo: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* ser. Typhimurium. Debido a la longitud de la nomenclatura, se encontrarán estudios donde se acorta a *Salmonella* Typhimurium.

Es decir que:

**Tabla 1.** *Nomenclatura correcta de los principales serovares de Salmonella que afectan humanos*

| Género            | Especie         | Subespecie      | Serovar     |
|-------------------|-----------------|-----------------|-------------|
| <i>Salmonella</i> | <i>enterica</i> | <i>enterica</i> | Enteritidis |
| <i>Salmonella</i> | <i>enterica</i> | <i>enterica</i> | Typhimurium |

Nota: Elaboración propia a partir de los datos de Lorenzo et al. 2018.

De las dos especies del género *Salmonella*, la especie *S. enterica* es la que comúnmente afecta a humanos, mientras que en la *S. bongori* son muy raras las infecciones en humanos. Entre los cinco serovares más comúnmente aislados, tenemos que los dos principales son *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis y *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium. (Gal-Mor, Boyle, & Grassl, 2014)

### 2.3. Importancia clínica

*Salmonella enterica* subsp. *enterica* contiene más de 2,600 serovares; existen cuatro con mayor relevancia médica para humanos, que se pueden dividir o clasificar en dos grupos, los tifoideos y los no tifoideos. Los serovares Enteritidis y Typhimurium pertenecen a los no tifoideos y tienen un amplio rango de hospedadores, causando gastroenteritis, mientras que los tifoideos

serían Typhi y Paratyphi A, que son restringidos a humanos y causan fiebre entérica (Saleh et al., 2019).

Esta clasificación entre tifoideos y no tifoideos se debe a su habilidad de desarrollar patologías específicas en humanos. Los serovares tifoideos son una subcategoría de serovares conocidos como especialistas (adaptados), capaces de infectar y colonizar solo un rango muy estrecho de huéspedes, incluyendo los serovares Typhi, Sendai y Paratyphi A, B y C, que están altamente adaptados para humanos, presentando solo primates superiores y humanos como reservorios. Algunos de los serovares no tifoideos demuestran una predilección de huésped, incluyendo humanos, utilizando como reservorio el tracto intestinal de un amplio rango de animales domésticos y salvajes. Estos no tifoideos pueden causar infecciones invasivas en humanos similares a esas producidas por las formas tifoideas (Ferrari et al., 2019).

Estudios indican que, de los serovares de la *Salmonella enterica*, es el serovar Dublin el que causa infecciones más severas que pueden hasta ser mortales y aún no se conocen los factores de virulencia que le han otorgado este potencial invasivo. Sin embargo, este serovar está cercanamente relacionado filogenéticamente con *Salmonella* Enteritidis; se cree que comparten un ancestro común (Campioni et al., 2021).

La creciente magnitud de enfermedades invasivas por serovares no tifoideos solo se ha vuelto claramente evidente en las últimas décadas, lo que puede reflejar un cambio en la epidemiología o la aparición paralela de reportes más precisos durante este periodo. Los serovares de *Salmonella enterica* más comúnmente asociados con infecciones invasivas no tifoideas son Typhimurium y Enteritidis (Balasubramanian et al., 2018).

La salmonelosis no tifoidea se propaga a través de la ingestión de agua o alimentos contaminados, generalmente de forma esporádica, pero otras veces por brotes transmitidos por alimentos que suelen estar asociados con prácticas sanitarias o preparación de alimentos inadecuadas. La *Salmonella* entra al organismo por la vía oral-fecal penetra el epitelio del intestino delgado después de la ingestión, ingresa al tejido linfático y se disemina por vía linfática o hematológica. Entre los factores de riesgo están la falta de acceso a agua potable, saneamiento deficiente, inundaciones, plantas fertilizadas con residuos, ambientes urbanos e incluso se ha reportado transmisión sexual. (Bansal & Weisenberg, 2026),

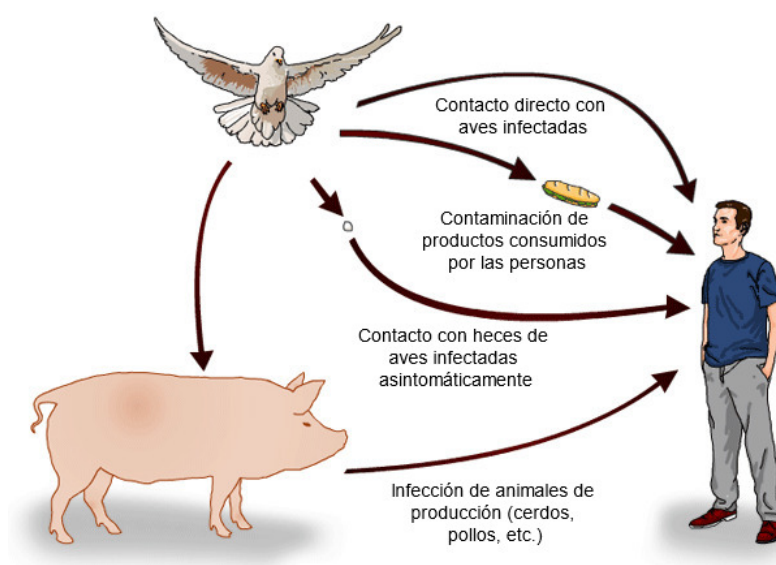
Según Bansal & Weisenberg (2026), las características clínicas que produce la salmonelosis no tifoidea son las siguientes:

- Síntomas comienzan 12-36 horas después de la ingestión de la bacteria, puede ocurrir incluso 6-72 después
- Pocos organismos ingeridos causan enfermedad
- Síntomas típicos: diarrea, dolor abdominal, fiebre, náusea y ocasionalmente vómitos
- Puede ser peligroso en infantes, adultos, pacientes inmunocomprometidos o debilitados, debido a la deshidratación o diseminación de la bacteria.
- Raramente, el colon megatóxico puede complicar la infección
- Individuos con aclorhidria o hipoclorhidria están en mayor riesgo
- Algunos pacientes desarrollan artritis reactiva que dura meses o incluso lleva a artritis crónica.

El aumento de estos casos a nivel mundial sugiere que los programas de control dirigidos a la reducción de la contaminación de la cadena de alimentación no han tenido éxito en gran medida.

Esto tiene como consecuencia un incremento en la frecuencia y persistencia de la bacteria en los tractos intestinales de los animales de abasto, y esta situación crea portadores crónicos o no sintomáticos que continúan diseminando el organismo a través de las heces. Estos portadores sirven de reservorios para futuras contaminaciones de leche, carne, huevos y productos cultivados en suelos contaminados (Jajere, 2019). La *Salmonella enterica* serovar Enteritidis tiene como hospedero a los humanos, aves de corral y roedores salvajes, mientras que el serovar Typhimurium tiene como hospederos un rango más amplio, humanos, ganado, cerdos, caballos, ovejas, aves de corral y roedores salvajes (Chen et al., 2013).

**Figura 3.** Ejemplos de medios de contaminación de *Salmonella* que afectan humanos



Nota: Extraído de Mainar, 2013.

Según Deng et al. (2025), en Estados Unidos, la vigilancia de *Salmonella* se ha basado en serotipos, también llamados serovares, un esquema de tipificación establecido en 1934. Más de 90 años de literatura y 50 años de datos de vigilancia en este país han contribuido a una

comprensión bien establecida y centrada en la epidemiología, biología y evolución de los serotipos de *Salmonella*. Como ejemplo, algunos serotipos específicos están asociados con enfermedades específicas, asociación con hospedador y distribución y/u origen geográfico.

## **2.4. Importancia epidemiológica**

### **2.4.1. A nivel mundial**

A nivel mundial la salmonelosis es la tercera causa de muerte entre las enfermedades transmitidas por alimentos; entender la epidemiología global de los serovares de la bacteria es clave para el control y monitoreo. Desde un punto de vista de salud pública. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, (2018), la *Salmonella* spp. está entre los 31 agentes diarreicos o invasivos (virus, bacterias, protozoos, helmintos y químicos) que muestran la más alta capacidad de enfermedades intestinales o sistémicas en humanos. Este patógeno lidera la segunda causa de enfermedades transmitidas por alimentos en la Unión Europea y los Estados Unidos.

La prevalencia en diferentes matrices alimentarias varía de acuerdo a países y regiones, influenciados ambos por la cultura y las prácticas de producción, así como por la ubicación geográfica y el poder económico. Además, los animales de producción son a menudo portadores asintomáticos, y después de entrar en el matadero, la *Salmonella* puede ser transferida durante el proceso industrial. En este contexto, es claro que controlar las infecciones causadas por esta bacteria es una preocupación global y el monitoreo de las posibles rutas de contaminación para humanos es esencial, según Ferrari et al. (2019).

*Salmonella* es un patógeno que se transmite a través de la comida y del agua, con un amplio rango de hospedador, causando infecciones en humanos y en animales domésticos, salvajes y de producción. Esto ha resultado en una carga mundial significativa, tanto económica como de salud; estos costos económicos se estiman que son más de 17.1 billones de dólares. Esta bacteria ha tenido un aumento en su resistencia antimicrobiana, lo que ha dado lugar a que sea incluida en la lista de patógenos de alta prioridad de la Organización Mundial de la Salud y también parte del enfoque integral One Health (Una sola salud) (Sia, Pearson, Howden, Williamson, & Ingle, 2025).

Especies de *Salmonella* no tifoidea son una seria preocupación para la salud mundial, causando la mayoría de los casos de gastroenteritis, alrededor de 93.8 millones de incidencias y al menos 155,000 muertes por año. La región más afectada es África Subsahariana, donde estos serotipos invasivos tienen una tasa de mortalidad del 85.9 % y, específicamente en esta región, la tasa de mortalidad aumenta en un 20 % en niños menores de 5 años. (Ao et al., 2015)

En Asia, estos serotipos son comparativamente raros, pero en Pakistán se ha reportado una tasa de incidencia del 7.2 por cada 100,000 personas al año. Los dos serovares más comunes son *Salmonella* Typhimurium y *Salmonella* Enteritidis, presentando la mayoría de cantidad de casos a nivel mundial. *Salmonella* Typhimurium es predominante en África y en los Estados Unidos, en contraste con *Salmonella* Enteritidis, que es más prevalente en Europa y Asia (Kumar, Kumar, Jangid, Dutta, & Shidiki, 2025).

Balasubramanian et al. (2018) argumentan que, adicionalmente, ciertos serovares son una de las mayores causas de infecciones del torrente sanguíneo en regiones geográficas específicas,

siendo una amenaza particular para los infectados por VIH o malaria. Las enfermedades invasivas causadas por estos serovares no son típicamente asociadas con diarrea, pero son acompañadas por características clínicas comparables con otras enfermedades febriles no específicas, como la fiebre tifoidea, e incluyen síntomas de fiebre, hepatoesplenomegalia y síndromes respiratorios; si se dejan sin tratar, son fatales a menudo.

En Europa se reportaron 91,857 casos, 16,556 hospitalizaciones y 117 muertes anuales (2018), según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) y el Centro Europeo para el Control de Enfermedades (Valenzuela, 2025).

**Tabla 2.** *Incidencia de casos de Salmonella a nivel global*

| <b>Región</b>               | <b>Incidencia</b>                      | <b>Serotipos<br/>comunes</b>                           | <b>Resistencia<br/>antimicrobiana<br/>(%)</b>                 | <b>Tasa de<br/>mortalidad<br/>(%)</b> | <b>Tasa de<br/>hospitalización<br/>(%)</b> |
|-----------------------------|----------------------------------------|--------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|
| <b>África</b>               | 535,000                                | <i>S.</i>                                              | 30 – 50 %                                                     | 15 – 25 %                             | Elevado debido                             |
| <b>Sub-<br/>sahariana</b>   | casos<br>(2017)                        | Typhimurium<br>(ST313), <i>S.</i><br>Enteritidis       | multiresistente,<br>incluyendo<br>cefalosporinas              |                                       | a la enfermedad<br>invasiva                |
| <b>Sudeste<br/>asiático</b> | Varía, ~7<br>por 100,000<br>(Pakistán) | <i>S.</i><br>Typhimurium<br>, <i>S.</i><br>Enteritidis | Resistencia<br>moderada<br>(especialmente<br>fluoroquinolona) | < 1%                                  | Moderado                                   |
| <b>Filipinas</b>            | Prevalencia<br>moderada                | <i>S.</i> Enteritidis<br>(60.9 %), <i>S.</i>           | Ampicilina<br>(23.2%),                                        | Se estima<br>un 5-10 %                | Probablemente<br>alto,                     |

|                       |                                |                                                     |                                                    |                                      |                                         |
|-----------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|
|                       |                                | Typhimurium<br>(13 %)                               | ciprofloxacina<br>(8.7%)                           | basado en<br>los datos<br>regionales | particularmente<br>en niños<br>pequeños |
| <b>Estados Unidos</b> | Se estima<br>16 por<br>100,000 | <i>S. Enteritidis</i> ,<br><i>S.</i><br>Typhimurium | Incremento de<br>resistencia a<br>fluoroquinolonas | < 0.1%                               | Bajo                                    |
| <b>Europa</b>         | Se estima<br>14 por<br>100,000 | <i>S. Enteritidis</i> ,<br><i>S. Infantis</i>       | Aumento de<br>multi-<br>drogoresistencia           | Muy bajo                             | Bajo                                    |

Nota: Extraído de Kumar, Kumar, Jangid, Dutta, & Shidiki, 2025.

En América, podemos presentar los casos divididos en dos regiones, América del Norte (Estados Unidos y Canadá) y América Latina y el Caribe. En Estados Unidos, según el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC), hay 1.35 millones de infecciones, alrededor de 26,500 personas hospitalizadas y al menos una mortalidad de 420 personas, todos estos casos anuales (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 2024). Mientras que en Canadá es la cuarta causa, con alrededor de 87,500 infecciones, pero en hospitalizaciones se lleva el segundo lugar con unos 925 casos, y la tercera causa de mortalidad con unos 17 casos (Canadá, 2016).

En América Latina, podemos hablar sobre las estadísticas de enfermedades por transmisión de alimentos de algunos países, entre ellos Chile, que durante los años 2011-2021, *Salmonella* spp. fue el agente patógeno que más casos tuvo, con 4858 pacientes diagnosticados (Agencia Chilena

para la Inocuidad y Calidad Alimentaria, 2023). Si nos vamos al otro extremo, México presenta alrededor de 70,000 casos cada año (Contreras et al., 2019).

Nuestro país tiene, por un lado, a Colombia, que presenta un estimado de 200,000 - 400,000 casos y una tasa de morbilidad de 21.01 casos por 100,000 individuos; estas estimaciones son de casos anuales (Jaramillo, Flórez, & Ocampo, 2025). Por el otro lado, tenemos a Costa Rica, donde se presentan al menos 283 casos por 100,000 habitantes (Ministerio de Salud de Costa Rica, 2017).

#### **2.4.2. Situación en Panamá**

Según la información de la sección de estadísticas de vigilancia del Departamento de Epidemiología en el Ministerio de Salud (MINSA), proporcionada al Instituto Nacional de Estadística y Censo (INEC) en Panamá, los casos reportados de enfermedades hidroalimentarias, desde el 2017 al 2023, se han registrado 319 casos de salmonelosis en todo el país. Suponemos que este número podría no ser el total real de casos en cada uno de estos años, ya que, por ejemplo, nuestro país hermano Costa Rica, con quien podemos ser comparados en población, geografía, socioeconomía, entre otros aspectos, presenta un estudio del 2017, en donde solamente en un año fueron reportados y confirmados 161 casos según el Ministerio de Costa Rica, que representa casi la mitad del número de casos que nuestro país ha reportado en seis años.

**Tabla 3.** *Casos reportados en Panamá de Salmonelosis (años 2017-2023)*

| Provincia                  | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 | 2021 | 2022 | 2023 | Total |
|----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| <b>Bocas del Toro</b>      | 1    | 1    | -    | -    | -    | -    | -    | 2     |
| <b>Coclé</b>               | 2    | 3    | 6    | -    | -    | 1    | 1    | 13    |
| <b>Colón</b>               | -    | 2    | 2    | 3    | 2    | -    | 3    | 12    |
| <b>Chiriquí</b>            | 9    | 14   | 4    | 1    | 2    | 1    | 2    | 33    |
| <b>Darién</b>              | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 1    | 1     |
| <b>Herrera</b>             | 2    | -    | 1    | 1    | 1    | 2    | 4    | 11    |
| <b>Los Santos</b>          | 1    | -    | -    | -    | -    | -    | 3    | 4     |
| <b>Panamá</b>              | 38   | 28   | 23   | 15   | 37   | 23   | 57   | 221   |
| <b>Panamá Oeste</b>        | -    | 1    | 2    | -    | -    | -    | 12   | 15    |
| <b>Veraguas</b>            | 1    | -    | 1    | -    | 1    | -    | -    | 3     |
| <b>Comarca Guna Yala</b>   | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 1    | 1     |
| <b>Comarca Ngäbe Buglé</b> | -    | -    | -    | -    | -    | -    | 3    | 3     |
| <b>Total</b>               | 54   | 49   | 39   | 20   | 43   | 27   | 87   | 319   |

Nota: La Tabla 3 fue creada uniendo dos tablas proporcionadas por MINSA-INEC

(Ministerio de Salud, s.f.)

En Panamá, las cepas de *Salmonella* provienen de las muestras tomadas de pacientes a las que previamente se les realizó un cultivo en caldo o agar y confirmadas por un equipo como VITEK, y son enviadas al Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública desde los principales hospitales del país. Para poder cumplir con el Decreto Ejecutivo N.º 1617 del 21 de octubre de 2014, existe una red de cooperación entre laboratorios conformada por el siguiente listado:

1. Hospital Raúl Dávila Mena (HRRDM) - Bocas del Toro
2. Hospital Aquilino Tejera (HAT) - Coclé
3. Hospital Regional Rafael Estévez (HRRE) - Coclé
4. Hospital José Domingo de Obaldía (HMIJDO) - Chiriquí
5. Hospital Regional Rafael Hernández (HRRH) - Chiriquí
6. Hospital Dionisio Arrocha - Chiriquí
7. Policlínica Gustavo A. Ross - Chiriquí
8. Policlínica Pablo Espinosa Batista - Chiriquí
9. Hospital Chiriquí (HC) - Chiriquí
10. Hospital Gustavo Nelson Collado - Herrera
11. Hospital Cecilio Castellero - Herrera
12. Hospital Joaquín Pablo Franco Salas – Los Santos
13. Regional de Los Santos - Los Santos
14. Hospital Santo Tomás - Panamá
15. Centro Hospitalario Dr. Arnulfo Arias Madrid (CHMDRAAM) - Panamá
16. Hospital Pediátrico de alta complejidad (CIDELAS) - Panamá
17. Hospital Oncológico (ION) - Panamá
18. Hospital del Niño - Dr. José Renán Esquivel (HNDJRE) - Panamá
19. Hospital Irma De Lourdes Tzanetatos (HILDT) - Panamá
20. Hospital San Miguel Arcángel - Panamá
21. Hospital Regional de Chepo - Panamá
22. Policlínica J.J. Vallarino - Panamá
23. Policlínica Generoso Guardia - Panamá
24. Policlínica Presidente Remón - Panamá

25. Policlínica María Valdés - Panamá
26. Policlínica Carlos N. Brin - Panamá
27. Hospital Pacífica Salud (HPS) - Panamá
28. Hospital Nacional (HN) - Panamá
29. Hospital Centro Médico Paitilla (HCMP) - Panamá
30. Hospital San Fernando (HSF) - Panamá
31. Hospital Santa Fe (HSF) - Panamá
32. Hospital Luis Chicho Fábrega (HLCF) - Veraguas
33. Hospital Ezequiel Abadía - Veraguas
34. Policlínica Horacio Díaz Gómez - Veraguas
35. Hospital Nicolás Solano (HRNAS) – Panamá Oeste
36. Policlínica Santiago Barraza - Panamá Oeste
37. Policlínica Blas Gómez Chetro - Panamá Oeste

Según el personal de la Sección de Microbiología Clínica del LCRSP, la vigilancia epidemiológica de *Salmonella* en Panamá ha disminuido significativamente desde la pandemia, ya que debido a las medidas de contención implementadas en ese entonces para disminuir la propagación del virus COVID-19, se suspendieron todas las visitas a la red de laboratorios que refieren muestras, desde entonces, retomar la logística y re-fortalecer la red ha sido una misión complicada debido a los recortes de presupuestos. Por este motivo, ya no se reciben tantas muestras como en el periodo prepandemia; tampoco la misma cantidad de instalaciones de salud hacen sus envíos.

## **2.5. Mecanismos de patogenicidad**

Algunos serovares de *Salmonella* están restringidos a un hospedador específico, mientras que otros serovares tienen un amplio espectro de hospedador. Para que la *Salmonella* pueda colonizar a sus hospedadores a través de la invasión, unión y evadiendo los mecanismos de defensa intestinales del hospedador (como el ácido gástrico), se ha demostrado el rol crucial de los marcadores y determinantes de virulencia, y estos factores incluyen flagelo, cápsula, plásmidos, sistemas de adhesión, sistemas codificados de secreción tipo 3 en las islas de patogenicidad de *Salmonella* (SPI) (Jajere, 2019).

### **2.5.1. Islas de patogenicidad**

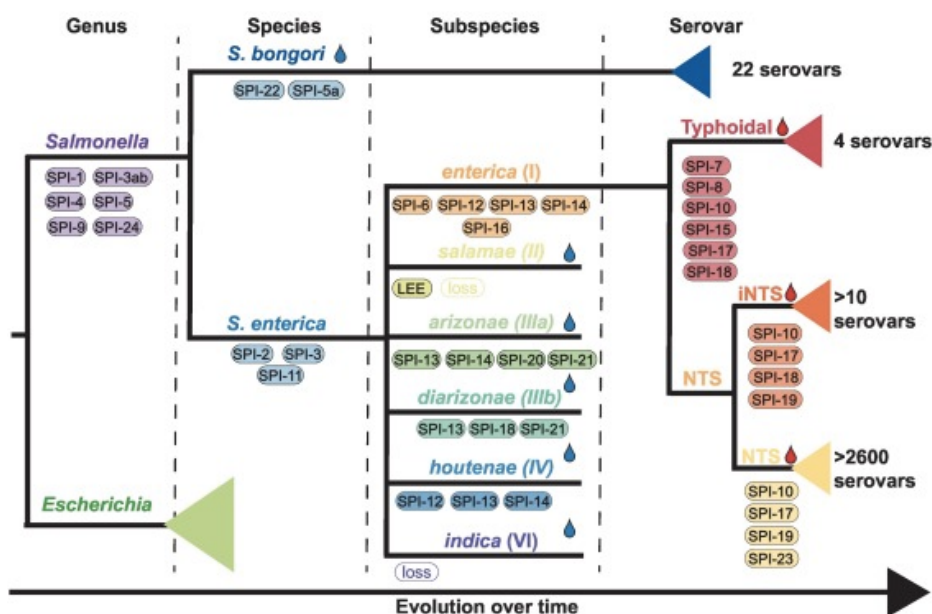
Las islas de patogenicidad son regiones genómicas que contienen grupos de genes que codifican factores de virulencia esenciales para la infección y la supervivencia dentro de las células huésped. Se utilizan las siglas SPI, que provienen del inglés *Salmonella* pathogenicity islands (Islas de patogenicidad de *Salmonella*); este término es exclusivo para esta bacteria como lo señalan Hallstrom & McCormick, 2015.

Las islas de patogenicidad son adquiridas a través de transferencia horizontal de genes; se integran y mantienen en gran medida en el cromosoma bacteriano. Hasta la fecha, 24 SPI han sido identificados, con evidencia que apoya su papel en la mediación de las interacciones huésped-patógeno en modelos de infección. Con el avance genómico de la microbiología, la vigilancia, identificación y caracterización de patógenos, es esencial comprender y reconocer las SPI, reconociendo que esta comprensión seguirá evolucionando, según Sia et al. (2025).

En las últimas décadas, los esfuerzos por explorar y caracterizar las SPI han cambiado, utilizando la ventaja de los nuevos métodos y tecnologías que emergen. Cuando inició su descubrimiento, no se había comprendido su diversidad, que tiene muchas implicaciones en cuanto al impacto en la biología celular hospedadora y la potencial evasión inmune mediada por estas islas genómicas. La habilidad de las cepas para causar enfermedad invasiva y sobrevivir en el hospedador es explicada a través de las islas de patogenicidad.

Algunas islas genómicas están agrupadas en la misma SPI, pero tienen diferencias en el contenido genético, donde estas variaciones pueden mostrar diferentes roles en la infección y adaptación de diferentes hospedadores. La diversidad y diferencias genéticas en función de determinantes de virulencia serán importantes para futuras consideraciones de detección y caracterización de SPI. (Lou, Zhang, Piao, & Wang, 2019)

**Figura 4.** Evolución en el tiempo de la presencia de islas de patogenicidad de *Salmonella*



Nota: Tomado de Sia, Pearson, Howden, Williamson, & Ingle, 2025.

**Tabla 4.** *Islas de patogenicidad y sus funciones más esenciales*

| <b>SPI</b>         | <b>Función</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SPI-1/SPI-2</b> | Estas islas de patogenicidad son las encargadas de codificar los factores de virulencia llamados sistemas de secreción tipo III, factor que se divide en 1 (T3SS-1) y 2 (T3SS-2), donde el primero promueve la invasión a las células epiteliales intestinales y la inflamación intestinal, mientras que el segundo la sobrevivencia y la replicación intracelular mediante vesículas llamadas vacuolas contenedoras de <i>Salmonella</i> . |
| <b>SPI-3</b>       | Codifica un gen requerido para el crecimiento dependiente de magnesio ( $Mg^{2+}$ ), que es esencial para la sobrevivencia dentro del macrófago.                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>SPI-4</b>       | Contiene un agrupamiento de genes que codifican al sistema de secreción tipo I, mediando la adhesión de la bacteria a las células epiteliales.                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| <b>SPI-5</b>       | Esta isla de patogenicidad no codifica en sí a un sistema de secreción, pero sí codifica proteínas que son secretadas a través de estos sistemas (T3SS 1 y 2); estas proteínas son requeridas para la patogénesis.                                                                                                                                                                                                                          |
| <b>SPI-6</b>       | Codifica un sistema de secreción tipo IV, un agrupamiento de genes fimbriales e invasinas.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>SPI-9</b>       | Lleva genes para el sistema de secreción tipo I y una gran toxina putativa similar a las toxinas RTX (repetición en toxina).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>SPI-13</b>      | Contribuye a la virulencia de la <i>Salmonella</i> , codifica proteínas putativas envueltas en el metabolismo bacteriano cuyas funciones se mantienen no caracterizadas.                                                                                                                                                                                                                                                                    |

---

|                    |                                                                                                                                                        |
|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SPI-14</b>      | Codifica una familia putativa de reguladores transcripcionales, proteínas citoplásmicas putativas de función desconocida y contribuye a la virulencia. |
| <b>CS54_island</b> | Es también conocida como SPI-24, codifica la colonización intestinal y determinantes de persistencia.                                                  |

---

Nota: Elaboración propia a partir de los datos de las siguientes fuentes (Hallstrom & McCormick, 2015), (Bhunia, 2018), (Elder, Paul, Burin, Guard, & Shah, 2018), (Jiang et al., 2017), (Chacón et al., 2023).

### 2.5.2. Factores de virulencia

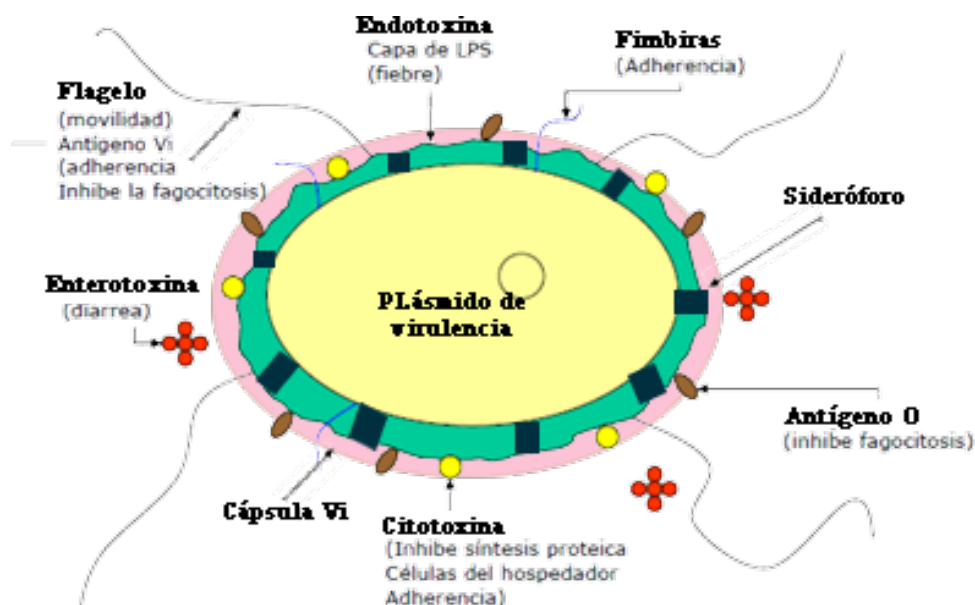
- Plásmidos: Estudios recientes han reportado que la mayoría de las cepas de serovares de *Salmonella* poseen plásmidos de virulencia serovar-específico, que se caracterizan por un bajo número de copias (usualmente una o dos copias por célula). Hay un locus de virulencia del plásmido de *Salmonella* en cada uno de esos plásmidos, que se ha reportado por su importancia en la multiplicación en el sistema reticuloendotelial, incluyendo células del hígado y el bazo. Otros plásmidos probablemente han contribuido o conferido algunas de las resistencias observadas; también podrían ser responsables de nuevas virulencias (Jajere, 2019). Entre los diferentes plásmidos y sus funciones tenemos:
  - IncFII(S): Plásmido de virulencia fundamental que permite a la *Salmonella* sobrevivir y replicarse dentro de los macrófagos del hospedador, facilitando así la diseminación sistémica de la infección (Rychlik, Gregorova, & Juricova, 2006).

- IncFIB(S): Actúa generalmente como un replicón accesorio dentro de los plásmidos compuestos de virulencia de *Salmonella*, proporcionando estabilidad y permitiendo que el plásmido se mantenga en la célula bacteriana incluso bajo condiciones de estrés ambiental o competencia metabólica (Chu et al., 2008).
- Col (pHAD28): Plásmido pequeño y no conjugativo cuya función principal es conferir resistencia antimicrobiana (Chacón et al., 2023).
- Col (BS512): Plásmido pequeño que actúa principalmente como un reservorio de genes de resistencia, facilitando la coexistencia de múltiples mecanismos de defensa en la bacteria y pudiendo ser movilizado por otros plásmidos mayores para su transferencia horizontal (McMillan et al., 2021).
- IncII-I(Alpha): Comúnmente referido en la literatura como parte del grupo de incompatibilidad IncII, su función principal es actuar como vehículo de transferencia de genes (Carattoli, Villa, Fortini, & García-Fernández, 2021).
- IncXI: Es parte de la familia IncX, funciona principalmente como conector genético para la diseminación de diversos genes de resistencia a antibióticos y factores de adaptación; se destaca por su alta eficiencia de transferencia por conjugación incluso a bajas temperaturas (Zalewska et al., 2024).
- IncFII(p96A): Funciona como un elemento genético móvil especializado en la multirresistencia a fármacos (Shen et al., 2008).
- IncFIA(HII): Frecuentemente asociado a los grandes plásmidos del grupo de incompatibilidad IncHI1, funciona como un replicón accesorio que asegura la estabilidad y el mantenimiento de megaplásmidos de multirresistencia bajo diversas condiciones ambientales, permitiendo a la bacteria resistir a una amplia gama de antibióticos y metales pesados (Phan, 2009.)

- IncHIIA: A menudo identificado como parte de los complejos IncHI2, funciona como un replicón de soporte en grandes megaplásmidos de resistencia múltiple, permitiendo la herencia estable de genes que protegen a la bacteria contra antibióticos de último recurso y metales pesados (Chen et al., 2016).
  - IncHIIB(R27): Funciona como un elemento genético termosensible que media la multirresistencia a antibióticos y la adaptación metabólica, caracterizándose por transferirse eficientemente a temperaturas ambientales bajas, pero inhibiendo su propia temperatura a la temperatura corporal del hospedador (Sherburne et al., 2000).
- 
- Fimbrias: El término proviene del latín fimbria (fibras en español); se usa para indicar presencia de aparato filamentosos no flagelar; son apéndices extracelulares que tienen una longitud de 0.5-10  $\mu$ L y un ancho de 2-8 nm. Entre sus funciones están adhesión, interacción con macrófagos, formación de biofilm, persistencia intestinal y agregación bacteriana. Algunas fimbrias son específicas en ciertos serovares y pueden tener roles específicos que no son requeridos por otros serovares. También son utilizadas para identificación de la bacteria *Salmonella*, de otras, para diferenciar serovares, y para el desarrollo de nuevas terapias farmacéuticas (Rehman et al., 2019).
  - Flagelo: Es un filamento largo helicoidal unido a motores rotantes que están incorporados dentro de la membrana externa y la pared celular, lo que permite que la bacteria se mueva a través de la barrera epitelial luego de la digestión. Se caracteriza por ser un inductor de una fuerte inflamación debido a la activación del sistema inmune para responder a la infección. La otra característica principal del flagelo es su potencial quimiotáctico, que es lo que induce esa activación del sistema inmune como respuesta a la infección (Dos Santos, Ferrari, & Conte, 2018).

- Proteína HlyE: Es producto del gen HlyE. Su importancia proviene de su probable rol clave en la patogénesis de salmonelosis sistémica, y recientemente está siendo usado para subserotipificación (Jajere, 2019).
- Sistema de secreción tipo III (T3SS): Es un aparato molecular responsable de la habilidad que tiene la bacteria de inyectar proteínas efectoras en el citosol de la célula hospedadora y modular sus células, señalizando cascadas para su beneficio. Cuando las proteínas efectoras entran en la célula, alteran las funciones de estructura del citoesqueleto, transporte de membrana, transducción de señal y expresión de citoquinas; estos cambios permiten la invasión y permanencia de la bacteria en la célula infectada. *Salmonella enterica* presenta dos tipos de T3SS, el T3SS-1 y el T3SS-2, que son codificados por las SPI-1 y SPI-2 respectivamente; están ubicados en clusters de ADN diferentes. Cada uno funciona en diferentes momentos de la infección; el primero (T3SS-1) está activo al momento del contacto de la bacteria con la membrana celular del hospedador e inyecta las proteínas efectoras en el citoplasma, mientras que el segundo (T3SS-2) está activo dentro del fagosoma y transloca efectores al espacio celular (Dos Santos, Ferrari, & Conte, 2018).

**Figura 5.** Factores de virulencia de la *Salmonella* spp.



Nota: Extraído de Consultoría de Calidad y Seguridad Alimentaria, 2020.

## 2.6. Resistencia antimicrobiana

La resistencia antimicrobiana en *Salmonella* no tifoidea ha ido en aumento y se está convirtiendo rápidamente en una amenaza a la salud pública. Se han propuesto varias teorías para explicar esta problemática; la principal es el uso indiscriminado de antibióticos. Otra puede ser que el paciente no termine el tratamiento de antibióticos y estos se acumulen en las aguas residuales; también el aumento del uso de antibióticos en los animales de producción o consumo (Arya et al., 2017).

La preocupación se debe a que, al elevar el uso de antibióticos en los animales de producción o consumo, se elevará también la prevalencia de genes de resistencia antimicrobiana en bacterias no patogénicas encontradas en estos animales y los productos que de ellos se obtienen. Después, estos genes se pueden transferir a las bacterias patógenas humanas.

Según Arya et al. (2017), existen múltiples estudios que prueban la alta incidencia de *Salmonella* resistente en instalaciones de animales de producción y mataderos, como también se ha documentado esta transmisión de genes de resistencia entre los animales y humanos. Por esto urge el desarrollo de una mejor comprensión y cuidado en el uso de antibióticos, para prevenir la transmisión de estos patógenos resistentes.

## **2.7. Métodos tradicionales de caracterización**

### **2.7.1. Método de cultivo microbiológico de *Salmonella***

Este procedimiento está estandarizado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA en inglés), para un amplio rango de muestras, tanto de alimentos para humanos como para animales (FDA - Administración de Alimentos y Drogas, 2024).

#### **2.7.1.1. Fases del cultivo microbiológico**

- Preenriquecimiento: La bacteria puede estar en pocas cantidades o estar dañada; por lo tanto, se hace necesario este primer paso para permitir su recuperación antes de enfrentar algún medio selectivo. Se utiliza agua peptonada tamponada.
- Enriquecimiento selectivo: Así como puede haber pocas cantidades de *Salmonella*, también puede haber presencia de otras bacterias de la flora intestinal. Para esto se transfieren alícuotas a caldos de inhibición.
  - Caldo Rappaport-Vassiliadis (RV)
  - Caldo tetracionato (TT).

- Siembra en medio sólido: Existen diferentes tipos de medios sólidos; los utilizados serán de tipo diferencial y selectivo. La *Salmonella* tiene una característica de presentación de un color negro, debido a la producción de sulfuro de hidrógeno o ácido sulfhídrico (H<sub>2</sub>S).
  - Agar XLD (Xilosa-Lisina-Desoxicolato): Es el estándar de oro para el crecimiento de *Salmonella*. En la morfología típica de crecimiento se observan colonias de color rosado que pueden o no presentar el centro negro. Algunos cultivos incluso adquieren una parte central negra brillante o presentan el color negro en su totalidad. De forma atípica, puede producir colonias de color amarillo con o sin centros negros.
  - Hektoen (HE): Las colonias típicas crecen con un color azul-verdoso, que al igual que en el agar XLD, pueden presentar o no un centro negro, como también pueden parecer completamente negras. De forma atípica, puede producir colonias de color amarillo con o sin centros negros.
  - *Salmonella-Shigella* (SS): Este agar es muy utilizado, donde las colonias crecen incoloras, que al igual que en agar XLD y HE, pueden presentar o no un centro negro, e incluso parecer completamente negras.

#### **2.7.1.2. Pruebas bioquímicas para confirmación**

- Medio TSI (proviene del término en inglés Triple Sugar Iron, en español agar hierro-triple azúcar): Los resultados obtenidos son una reacción alcalina/ácida, es decir, la parte superior del medio roja y parte inferior amarilla, producción de H<sub>2</sub>S positiva presentando un color negro, y gas positivo observándose un espacio en el fondo.

- Medio LIA (del término en inglés Lysine Iron Agar, en español agar hierro-lisina): Dan como resultado una reacción alcalina/alcalina; se observa un color púrpura en todo el medio, que indica la descarboxilación de lisina.
- Pruebas negativas: Algunas pruebas bioquímicas comunes que se pueden realizar son la ureasa y oxidasa; ambas dan resultado negativo.
- Perfil IMViC: El término proviene de Indol (I), Metilo rojo (M), Voges-Proskauer (V con una i, Vi, para facilitar la pronunciación) y Citrato (C). Es un grupo de cuatro pruebas bioquímicas fundamentales en microbiología para la identificación y diferenciación de miembros de la familia *Enterobacteriaceae*. Para *Salmonella*, el perfil típico es - + - + (negativo, positivo, negativo, positivo).
  - Prueba de indol (I): Se utiliza para evaluar la capacidad de la bacteria de producir la enzima triptofanasa; se inocula en caldo de triptona o medio SIM (acrónimo que proviene del sulfuro, indol y motilidad) añadiendo unas gotas de reactivo de Kovac. El resultado obtenido es negativo, es decir, permanece de color amarillo, en lugar de cambiar de color a rosado (–, negativo).
  - Prueba de rojo de metilo (M): Se utiliza para determinar si la bacteria realiza una fermentación ácido-mixta, produciendo grandes cantidades de ácidos que bajan el pH del medio drásticamente; se realiza inoculando caldo MR-VP (Rojo de metilo – Voges-Proskauer) y añadiendo el indicador de pH rojo de metilo. Se obtiene como resultado un color rojo intenso en el medio, que indica que la bacteria en efecto produjo suficientes ácidos para bajar el indicador de pH (+, positivo).
  - Prueba de Voges-Proskauer (Vi): Indica la fermentación butanodiólica en enterobacterias, es decir, una vía de producción de compuestos neutros en lugar

de ácidos fuertes; se utiliza caldo MR-VP añadiendo los reactivos de Barritt (alfa-naftol e hidróxido de potasio). Como resultado, no hay un cambio de color en el medio amarillo/marrón que indica que está negativo, a diferencia de un cambio de color a rojo/rosado si fuese positivo (-, negativo).

- Prueba de citrato de Simmons (C): Esta prueba se utiliza para determinar si la bacteria tiene la capacidad de utilizar el citrato de sodio como única fuente de carbono y sales de amonio como única fuente de nitrógeno para su metabolismo. Se siembra la bacteria en un agar de citrato de Simmons que contiene azul de bromotimol como indicador, dando como resultado un cambio de color de verde a un azul intenso, indicando que la prueba está positiva y que la bacteria consume el citrato y libera productos alcalinos que elevan el pH (+, positivo).

**Figura 6.** Resultados de la prueba IMViC



Nota: Tomado de Dahal, 2024.

**Tabla 5.** Comparación de resultados de la prueba IMViC para las enterobacterias más comunes

| Microorganismo               | Indol | Rojo metilo | Voges-Proskauer | Citrato | Perfil  |
|------------------------------|-------|-------------|-----------------|---------|---------|
|                              | (I)   | (M)         | (Vi)            | (C)     |         |
| <i>Salmonella spp.</i>       | -     | +           | -               | +       | - + - + |
| <i>Escherichia coli</i>      | +     | +           | -               | -       | + + - - |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | -     | -           | +               | +       | - - + + |

Nota: Extraído de Dahal, 2024.

### 2.7.2. Confirmación serológica

La confirmación serológica se realiza con pruebas de aglutinación en láminas, utilizando antisueros polivalentes que detectan los antígenos. Antes de llevar a cabo estas pruebas, se debe comprobar que las cepas no produzcan autoaglutinación. Este procedimiento se realiza mezclando una gota de suspensión bacteriana con una gota de agua o de solución salina, que debe agitarse hacia delante y hacia atrás por un minuto. De observarse aglutinación, indica que la cepa produce autoaglutinación, mientras que, si no se produce ningún tipo de aglutinación, se puede proceder con la serotipificación.

Estos sueros vienen en presentaciones polivalentes y monovalentes; se inicia con los polivalentes que, de producir aglutinación, se continúa con los monovalentes para definir un antígeno más específico (Bio-Rad, s. f.). Los resultados de estos antígenos producen una serie de combinaciones que crean fórmulas antigénicas que indican el serovar de la *Salmonella*; dichas fórmulas están detalladas de manera estándar por la Organización Mundial de la Salud

en conjunto con el Centro de Referencia e Investigación en Salmonella del Instituto Pasteur (Grimont & Weill, 2007).

Los antígenos son los siguientes:

- Antígeno O (somático): Se realiza una suspensión bacteriana en solución salina; de esta suspensión se coloca una gota más una gota del antisuero, se mezclan y se agitan haciendo una inclinación hacia delante y hacia atrás por un minuto. Con un fondo oscuro y en buena iluminación, se observa la reacción de aglutinación que sería un resultado positivo.
- Antígeno Vi (capsular): El procedimiento se realiza de la misma forma que con el antígeno O; los resultados también consisten en una reacción de aglutinación. Cuando este antígeno da una reacción de aglutinación, se debe calentar a 100 °C por 30 minutos antes de repetir el antisuero O, ya que el antígeno Vi puede enmascarar el antígeno O; por lo tanto, se debe destruir la cápsula a altas temperaturas y repetir la prueba del antisuero O.
- Antígeno H (flagelar): El procedimiento difiere significativamente de los antígenos O y Vi; se utilizan caldos de cultivos formalinizados, utilizando una mezcla de 0.5 mL de muestra con 0.5 mL de antisuero. Se debe incubar en baño maría de 48–50 °C, y se debe observar en intervalos de 15 minutos y leer los resultados finales en una hora. Los resultados también son por aglutinación; la presencia de esta reacción representa un resultado positivo (FDA - Administración de Alimentos y Drogas, 2024).

La principal desventaja de la tipificación de *Salmonella* es que se realiza con el esquema White-Kauffmann-Le Minor; este proceso es muy laborioso y costoso, desde la creación de los

antisueros (Ashton et al., 2016) hasta la realización del método que requiere una persona altamente entrenada para que pueda interpretar los resultados. Esto hace que el método no sea reproducible ni adoptado por todos los laboratorios (Diep et al., 2019).

### **2.7.3. Electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE)**

Las siglas PFGE provienen del término en inglés Pulse-Field Gel Electrophoresis, que significa Electroforesis en Gel de Campo Pulsado. Aunque esta técnica fue descrita en 1984, no fue hasta los 1990 que fue consolidada para *Salmonella*, y aún es un método muy usado para la identificación y seguimiento de este patógeno. Es una técnica que posee un poder discriminatorio, bajo costo y alta reproducibilidad, pero no provee más información genética que la secuenciación de genoma completo (WGS). Actualmente, es el estándar de oro para estudiar *Salmonella* spp., ya que, debido a su gran uso, se pudo desarrollar la base de datos de la red anteriormente mencionada, PulseNet, que cuenta con más de 350,000 patrones y más de 500 serotipos (Ferrari, Panzenhagen, & Conte-Junior, 2017).

Esta técnica utiliza enzimas de restricción que van reconociendo algunos sitios del ADN cromosómico, cortándolo al azar y generando fragmentos que no pueden ser separados con la electroforesis convencional, que, con la orientación periódicamente modificada de la electroforesis de campo pulsado, permite que los fragmentos sean efectivamente separados en diferentes tamaños. Un ADN control, con un peso molecular estándar para normalización, es usado como huella para permitir la comparación con la base de datos con otras bacterias patógenas. La capacidad discriminatoria depende del número y distribución de sitios de

restricción a través del ADN, incluyendo plásmidos, transposones e integrones, que definen el número y tamaño de las bandas en cada perfil, como lo señala Ferrari et al. (2017).

Según Ferrari et al. (2017), entre las desventajas podemos mencionar que, aunque esta técnica es ampliamente utilizada, los perfiles de evaluación aún son subjetivos y una combinación de enzimas más eficientes requiere una mejor normalización. Otra desventaja es el tiempo que consume; a menudo se toma tres días para ser terminado el proceso, y también su capacidad discriminatoria para una sola ocurrencia genética, como integración, polimorfismos de un solo nucleótido, recombinación o eventos de eliminación, puede resultar en diferencias en las huellas de ADN. PFGE es incapaz de diferenciar cepas estrechamente relacionadas y se requieren otros métodos de subtipificación.

**Figura 7.** *Diferencias entre una electroforesis convencional y una de campo pulsado*



Nota: Extraído de Biomodel, s. f.

#### 2.7.4. Tipificación de Secuencias de Multi-Locus (MLST)

Las siglas MLST provienen del idioma inglés Multi-Locus Sequence Typing, que traducido al español significa Tipificación de Secuencias de Multi-locus. Este método examina secuencias

de múltiples genes fundamentales para las funciones celulares que participan en el metabolismo primario del organismo y están presentes en todas las bacterias de una especie. Como mencionan Zhou et.al. (2019) MLST detecta variantes alélicas de los genes; para *Salmonella* son siete genes esenciales:

1. aroC (corismato sintasa)
2. dnaN (subunidad beta de la ADN polimerasa III)
3. hemD (cosintasa de uroporfirinógeno III)
4. hisD (histidinol deshidrogenasa)
5. purE (fosforribosilaminoimidazol carboxilasa)
6. sucA (alfa cetoglutarato deshidrogenasa)
7. thrA (aspartoquinasa+homoserina deshidrogenasa)

La principal ventaja de MLST es que no solo subtipifica la bacteria, sino que también provee numerosas secuencias que pueden ser analizadas de diferentes formas para estudiar la estructura y la evolución de patógenos bacterianos; estas secuencias están disponibles en bases de datos globales. Esta técnica es altamente reproducible y tiene una nomenclatura internacionalmente estandarizada, lo que genera resultados inequívocos; incluso utilizando solo cuatro de los genes esenciales, este método distingue algunas cepas mejor que PFGE (electroforesis en gel de campo pulsado). (Maiden et al., 2013)

La principal desventaja es que es muy costosa, extremadamente laboriosa y lleva mucho tiempo, además de que no es lo suficientemente discriminatoria para rastrear la fuente, lo que hace que esta técnica no sea tan apropiada para usar en investigaciones de rutina de brotes y vigilancia del patógeno, según Ferrari et al. (2017).

## **2.8. Secuenciación de genoma completo (WGS)**

### **2.8.1. Información general**

La secuenciación es el proceso bioquímico mediante el cual se determina el orden exacto de los nucleótidos (adenina, guanina, citosina y timina) que conforman una molécula de ADN. Cuando este proceso se escala a nivel de Secuenciación de Genoma Completo (WGS, por sus siglas en inglés), se analiza la totalidad del material genético de un organismo en un solo proceso. A diferencia de métodos tradicionales que solo estudian fragmentos específicos, la WGS permite identificar variaciones en cualquier parte del genoma, incluyendo regiones codificantes y no codificantes, proporcionando un mapa genético exhaustivo y detallado de la muestra analizada (Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano, 2019).

En el ámbito de la salud pública y microbiología clínica, esta tecnología ha revolucionado la vigilancia epidemiológica de patógenos. El uso de la Secuenciación de Nueva Generación permite que la WGS identifique con precisión brotes infecciosos, determine perfiles de resistencia a los antimicrobianos y rastree la evolución de microorganismos en tiempo real. Para profesionales en laboratorio, esto significa pasar de métodos de tipificación lentos a una caracterización molecular de alta resolución, lo que facilita intervenciones sanitarias más rápidas y dirigidas (CDC, 2024).

### **2.8.2. Ventajas frente a técnicas tradicionales**

Tradicionalmente, la tipificación de *Salmonella* se ha basado en métodos fenotípicos y moleculares como la serotipificación, la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE, que proviene del término en inglés Pulsed-field Gel Electrophoresis) y la tipificación multilocus de

secuencias (MLST, que proviene del término en inglés Multilocus Sequence Typing). Si bien estas técnicas han sido fundamentales para la vigilancia y la investigación de brotes, presentan limitaciones inherentes. La serotipificación, aunque útil para la clasificación inicial, carece de la resolución necesaria para diferenciar cepas dentro de un mismo serotipo (Pearce et al., 2018).

Los avances en las metodologías de secuenciación de genoma completo (WGS) permiten la realización a un bajo costo, que lo convierte en una alternativa viable a los métodos de tipificación tradicionales para vigilancia de salud pública y detección de brotes. Un paso importante es llevar las cepas bacterianas a resoluciones de un solo nucleótido necesarias para identificar casos asociados a una fuente de infección común, agrupando aislados en clones taxonómicos superiores (Ashton et al., 2016).

La secuenciación de genoma completo tiene un alto poder discriminatorio sobre los métodos tradicionales que ha sido demostrado en estudios. Con esta nueva tecnología, se puede evitar una clasificación errónea por la alta variabilidad de ciertos serovares, así como un aumento en la detección de genes de resistencia. En general, los futuros análisis estarán enfocados en las variaciones genéticas, con un gran impacto en la salud pública (Elnekave et al., 2020).

Por otra parte, Panamá pertenece a la red Pulse Net América Latina y Caribe (PNLAC), que tiene como objetivo fortalecer la vigilancia de infecciones transmitidas por alimentos, estandarizar métodos de serotipificación y cooperación internacional ante brotes regionales. Esta red ha optado por reemplazar la técnica de PFGE por la secuenciación del genoma completo mediante NGS, siendo esta la nueva herramienta de elección para la tipificación bacteriana (Organización Panamericana de la Salud, s. f.).

### 2.8.3. Aplicación en epidemiología y salud pública

A diferencia de las metodologías convencionales, permite:

- La WGS proporciona una imagen exhaustiva del genoma de cada cepa, permitiendo la identificación de diferencias genéticas a nivel de un solo nucleótido (SNPs) y la detección in silico de factores de virulencia y genes de resistencia a antimicrobianos, lo que ha revolucionado la epidemiología molecular.
- Vigilancia epidemiológica mejorada y detección de brotes temprano: Al generar datos genómicos estandarizados y compartibles, la WGS facilita la construcción de bases de datos globales que permiten comparaciones en tiempo real entre aislados de diferentes orígenes geográficos y temporales. Esto acelera la detección de brotes emergentes, la identificación de cepas de alta preocupación y el monitoreo de la evolución y diseminación de *Salmonella* a nivel local, nacional e internacional.
- Investigación de rutas de transmisión y patógenos alimentarios: La capacidad de la WGS para rastrear el origen de las cepas hasta su fuente permite una mejor comprensión de las rutas de transmisión de la bacteria a lo largo de la cadena alimentaria, desde la producción primaria hasta el consumo. Esta información es invaluable para la implementación de medidas de control y prevención más efectivas en la industria alimentaria y la agricultura (Gomes et al., 2025).
- Estandarización y comparabilidad global: La estandarización de los protocolos de WGS y las herramientas bioinformáticas asociadas está permitiendo una comparabilidad de datos sin precedentes entre laboratorios a nivel global, fortaleciendo las redes de vigilancia como la Red PulseNet Internacional (Organización Panamericana de la Salud, s. f.).

## **2.9. Bioinformática aplicada a *Salmonella***

### **2.9.1. Plataformas**

Existen una variedad de plataformas en línea y softwares para la colección, análisis y visualización de datos de secuenciación, ya que los métodos para analizar y caracterizar patógenos que se están desarrollando requieren algo de conocimiento en bioinformática para usarlos; por lo tanto, estas herramientas facilitan la interpretación de los datos producidos por estos métodos para los investigadores.

Generalmente, estas plataformas comienzan su análisis con datos brutos de secuenciación o ensamblados, utilizando diferentes enfoques para la organización de los metadatos y varios pasos de análisis. La mayor distinción presente en estas plataformas es el uso de SNP o el enfoque de llamada de alelos para calcular filogenias por clustering (agrupamiento) jerárquico, pero también pueden ser diferenciadas por ser basadas en la web o ejecutadas en instancias locales.

Las plataformas basadas en la web usualmente son gratuitas y no requieren una computadora de gran poder por parte del usuario, pero a menudo se demanda depositar los datos analizados en repositorios públicos, que, aunque puede causar algo de molestia en cuanto a la privacidad y compartir públicamente los datos, esto es necesario para mantener las bases de datos actualizadas y poder detectar enlaces potenciales entre aislados y diferentes fuentes (Uelze et al., 2020).

Aunque cada plataforma tiene sus propias herramientas para el análisis de WGS, algunas de las plataformas más usadas globalmente incluyen las siguientes:

- Detección de AMR
- Tipificación de patógenos
- Detección de genes de virulencia
- Serotipificación
- Filogenómica

### **2.9.2. Bases de datos**

Las bases de datos comparten un inicio, que, luego de comparar los resultados de los métodos tradicionales como PFGE con la secuenciación de genoma completo, esta última ofrecía un mejor trace geográfico de brotes y mayor información genética. Muchos países congelan los aislados por ciertos periodos de tiempo, lo que permitía tener la idea de secuenciarlos y recolectar datos (Allard et al., 2016). Esto da paso a colaboraciones internacionales entre diferentes países con el objetivo de obtener más información genética que da como resultado una base de datos genómica de alta resolución.

**Tabla 6.** *Características principales de algunas plataformas*

| <b>Plataforma</b>     | <b>Aproche de tipificación</b> | <b>Instancia</b>     | <b>Tipo</b> |
|-----------------------|--------------------------------|----------------------|-------------|
| <b>BIGSdb</b>         | wg/cgMLST                      | Central y local      | Académica   |
| <b>Bionumerics</b>    | wg/cgMLST y SNP                | Central y local      | Comercial   |
| <b>CGE</b>            | cgMLST y SNP                   | Central (en la nube) | Académica   |
| <b>COMPARE</b>        | cgMLST y SNP                   | Central (en la nube) | Académica   |
| <b>EnteroBase</b>     | wg/cgMLST y SNP                | Central (en la nube) | Académica   |
| <b>INNUENDO</b>       | wg/cgMLST                      | Local                | Académica   |
| <b>IRIDA</b>          | wg/cgMLST y SNP                | Local                | Académica   |
| <b>NCBI Pathogens</b> | wg/cgMLST y SNP                | Central (en la nube) | Académica   |
| <b>PathogenWatch</b>  | cgMLST                         | Central (en la nube) | Académica   |
| <b>PATRIC</b>         | SNP                            | Central (en la nube) | Académica   |
| <b>SeqSphere+</b>     | wg/cgMLST                      | Local                | Comercial   |

Nota: Extraído de Uelze et al., 2020.

**Tabla 7.** *Diferentes herramientas para predicción de serovar de Salmonella spp. in silico*

| Herramienta                  | Método                                                                                                                                                                               | Fuente                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>SeqSero</b>               | Mapeo de datos brutos a la base de datos de alelos de antígenos O y H.                                                                                                               | Página web:<br><a href="http://denglab.info/SeqSero">http://denglab.info/SeqSero</a>                                                                                                                                   |
| <b>SeqSero2</b>              | Similar a SeqSero, adicionalmente realiza una predicción rápida de serotipo basado en k-meros únicos de determinantes de serotipo.                                                   | Página web:<br><a href="https://github.com/denglab/SeqSero2">https://github.com/denglab/SeqSero2</a>                                                                                                                   |
| <b>Salmonella TypeFinder</b> | Además de ejecutar SeqSero, determina los siete genes de MLST e infiere el serovar según la base de datos de Enterobase.                                                             | Página web:<br><a href="https://cge.cbs.dtu.dk/services/SalmonellaTypeFinder/">https://cge.cbs.dtu.dk/services/SalmonellaTypeFinder/</a>                                                                               |
| <b>SISTR</b>                 | Mapeo de la base de datos de alelos de antígenos O y H contra ensamblados de genoma; además, determina cgMLST e infiere el serovar a partir del resultado de agrupamiento de cgMLST. | Página web:<br><a href="https://github.com/phac-nml/SISTR_cmd">https://github.com/phac-nml/SISTR_cmd</a><br>Página web:<br><a href="https://lfz.corefacility.ca/sistr-app/">https://lfz.corefacility.ca/sistr-app/</a> |
| <b>MOST</b>                  | Determina los 7 genes de MLST y reporta el respectivo número de serovar que coincide con la base de datos PHE/Achtmann.                                                              | Página web:<br><a href="https://github.com/phe-bioinformatics/MOST">https://github.com/phe-bioinformatics/MOST</a>                                                                                                     |

Nota: Extraído de Uelze et al., 2020.

**CAPÍTULO III**  
**MARCO METODOLÓGICO**

### 3.1. Tipo y diseño general del estudio

Para llevar a cabo este estudio y cumplir con los objetivos planteados, se utilizó un enfoque observacional, ya que no se realizó ninguna intervención experimental sobre las cepas bacterianas; únicamente se extrajo el ADN, se secuenció y se analizaron los datos genómicos obtenidos. El análisis fue de tipo descriptivo, debido a que los objetivos se centraron en la caracterización genómica de las cepas, identificando y describiendo perfiles de virulencia, resistencia antimicrobiana y otros marcadores genéticos de interés. En cuanto al diseño, el estudio tuvo una dimensión temporal retrospectiva, dado que se trabajó con cepas previamente aisladas entre los años 2021 y 2015, las cuales se encontraban almacenadas en el biobanco del LCRSP.

**Tabla 8.** *Fases del estudio*

|                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Selección y recuperación de cepas</b>   | Identificación de las cepas de <i>Salmonella</i> pertinentes del biobanco del LCRSP destinadas para el estudio y su posterior reactivación con el fin de evaluar su viabilidad y pureza.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Preparación de muestras y librerías</b> | Procesamiento de las muestras para su secuenciación y preparación de las librerías genómicas. La primera parte de esta fase se realizó en la Sección de Microbiología del LCRSP (ICGES, sede central), donde a la mitad de las muestras se le extrajo el ADN directamente del medio de leche de almacenamiento descongelado, mientras que a la otra mitad se le realizó un cultivo de ese medio de almacenamiento, a un agar SS ( <i>Salmonella-Shigella</i> ) previo a la extracción de ADN. La segunda parte de esta fase se realiza en el |

---

|                                                |                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                | Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES (Sede David, Chiriquí), donde se procede con la preparación de librerías con el ADN de las cepas previamente extraídas en la ciudad de Panamá.                                                    |
| <b>Secuenciación y análisis bioinformático</b> | La secuenciación mediante NGS se llevó a cabo en el Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES (sede David, Chiriquí). El posterior análisis bioinformático se realiza utilizando plataformas para la interpretación de los datos genómicos. |

---

Fuente: Elaboración propia.

### 3.2. Población y muestra

Se seleccionaron 80 aislamientos de *Salmonella* (entre 40-45 de Enteritidis y 35-40 de Typhimurium) del cepario del Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública (LCRSP) / Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), buscando la máxima representatividad de la diversidad existente entre 2021 y 2025.

El tamaño de la muestra, conformado por 80 aislamientos, se definió de acuerdo con la factibilidad técnica del proyecto, tomando en cuenta la capacidad disponible para la secuenciación y el análisis bioinformático. Para la selección se utilizó un muestreo no probabilístico de tipo dirigido o intencional, con el objetivo de abarcar la mayor diversidad posible dentro del biobanco de cepas del LCRSP, el cual contaba con 131 aislamientos de *Salmonella enterica* serovar Enteritidis y 72 de serovar Typhimurium correspondientes al periodo 2021-2025.

La selección se basó en criterios temporales (distribución anual), fenotípicos (perfiles de resistencia antimicrobiana) y epidemiológicos (diversidad geográfica, instalación de salud, tipo de muestra, edad, sexo). Es importante destacar que estas cepas ya están aisladas y almacenadas; no se tomaron nuevas muestras directamente de pacientes.

Se seleccionaron los 80 aislamientos de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium priorizando los siguientes criterios:

- Representación temporal: Inclusión de aislamientos de cada año (2021, 2022, 2023, 2024 y 2025) para ambos serovares, distribuidos proporcionalmente a su abundancia anual en la base de datos.
- Representación fenotípica: Priorización de aislamientos con perfiles de resistencia antimicrobiana específicos (ej., multirresistentes, resistentes a antibióticos de importancia crítica) y un número de aislamientos representativos de cepas sin resistencia para comparación.
- Representación epidemiológica: Consideración de la diversidad geográfica (provincias e instalaciones de salud).

Para la caracterización de estas cepas, se empleó la Secuenciación de Nueva Generación (NGS, abreviatura que proviene del inglés Next Generation Sequencing). Esta metodología determina el orden de los nucleótidos en una molécula de ADN, lo que permitió realizar la secuenciación del genoma completo (WGS, abreviatura que proviene del inglés Whole Genome Sequencing) de forma rápida y eficiente, analizando simultáneamente millones de fragmentos de ADN para obtener información genética detallada de cada cepa.

Inicialmente, se seleccionó un total de 80 aislamientos para su análisis genómico. No obstante, tras el proceso de secuenciación, una muestra fue excluida debido a que no cumplió con los umbrales mínimos de control de calidad (QC) exigidos por la plataforma EnteroBase, presentando parámetros de ensamblaje subóptimos. En consecuencia, el tamaño de muestra final para el análisis bioinformático y la discusión de resultados se consolidó en n=79 aislamientos.

### **3.2.1. Criterios de inclusión**

- Aislamientos de *Salmonella* realizados por el personal técnico del LCRSP/ICGES, caracterizados como *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium a través de la técnica de serotipificación somática y flagelar.
- Aislamientos de *Salmonella* ser. Enteritidis y *S.* ser. Typhimurium con información sobre el tipo de muestra, de dónde fue recuperado (fuente de aislamiento), instalación de salud, provincia y fecha en la que fue detectada.
- Aislados de *S.* enteritidis y *S.* typhimurium con información sobre su sensibilidad a fármacos, a través del método Kirby-Bauer (difusión en difusión).

### **3.2.2. Criterios de exclusión**

- Aislamientos de *Salmonella* que no pertenezcan a *S.* Enteritidis y *S.* Typhimurium, caracterizados a través de la técnica de serotipificación por el personal técnico del LCRSP/ICGES.
- Aislados de *S.* Enteritidis y *S.* Typhimurium, sin datos sobre el tipo de muestra, de dónde fue recuperado, provincia, año, edad, sexo o información sobre su sensibilidad.

### 3.3. Variables del estudio

**Tabla 9.** *Definición conceptual y operacional de las variables*

| Tipo                | Variable                   | Definición                                                                                                                                                            | Definición                                                                                                                                                            | Medición | Valor   |
|---------------------|----------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|---------|
|                     |                            | conceptual                                                                                                                                                            | operacional                                                                                                                                                           |          |         |
| Variables genómicas | Diversidad genética        | Variantes genéticas e identificación de linajes genéticos                                                                                                             | Se evaluará mediante análisis filogenéticos y asignación a linajes específicos.                                                                                       | Nominal  | Serovar |
|                     | Resistencia antimicrobiana | Identificación de genes o grupos de genes (clusters) de resistencia antimicrobiana y detección de mutaciones puntuales en esos genes que confieren dicha resistencia. | Presencia de genes de resistencia a antibióticos o mutaciones puntuales que confieren resistencia, detectados en el genoma completo con herramientas bioinformáticas. | Nominal  | Gen     |

|                           |                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                         |         |           |
|---------------------------|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|-----------|
| Variables epidemiológicas | Virulencia            | Presencia de genes de virulencia (identificación de genes conocidos codificantes de factores de virulencia) y variabilidad en genes de virulencia (análisis de la presencia/ausencia o la variabilidad de secuencias en genes de virulencia entre diferentes linajes o aislamientos). | Secuencias genéticas que codifican factores asociados con la capacidad de <i>Salmonella</i> para causar enfermedad. Se identificarán mediante búsqueda de bases de datos de virulencia. | Nominal | Gen       |
|                           | Fuente de aislamiento | Clasificación basada en el origen de las muestras                                                                                                                                                                                                                                     | Tipo de muestra (como heces, sangre, orina)                                                                                                                                             | Nominal | Muestra   |
|                           | Ubicación geográfica  | Región geográfica del aislamiento.                                                                                                                                                                                                                                                    | Provincia en la cual se aisló la muestra.                                                                                                                                               | Nominal | Provincia |
|                           |                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                         |         |           |

|                                                                     |                                                      |                                                                                                  |         |                      |
|---------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|----------------------|
| Instalación de salud                                                | Instalación de salud donde se aisló la muestra.      | Hospital público o privado que envió la cepa.                                                    | Nominal | Instalación          |
| Fecha de aislamiento:                                               | Año y mes de obtención de la muestra.                | Señalar el año entre 2021-2025 en el que se obtuvo la muestra.                                   | Nominal | Año                  |
| Resultados de serotipificación tradicional:                         | Confirmación del serovar por métodos convencionales. | Serotipificación proporcionada por el LCRSP, con la técnica de antisuero (esquema WKL).          | Nominal | Serovar              |
| Resultados de pruebas de sensibilidad a antibióticos (antibiograma) | Datos fenotípicos de resistencia a antibióticos.     | Información proporcionada sobre antibiograma realizado por difusión en plato por el LCRSP/ICGES. | Ordinal | Nivel de resistencia |

Nota: Elaboración propia.

### **3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

La recolección de datos se realizó a través del software Microsoft Excel, utilizando las hojas de cálculo para administrar todos los datos compartidos por el LCRSP/ICGES, y para organizar y agregar todos los datos que se iban obteniendo.

#### **3.4.1. Plataformas para análisis de datos bioinformáticos**

La selección de las plataformas para la interpretación de los datos obtenidos mediante secuenciación de nueva generación de *Salmonella* spp. se centralizó en estandarización internacional, robustez, de fácil acceso en línea y amigable al uso con poca experiencia en plataformas bioinformáticas.

- EnteroBase: La palabra “entero” no es una coincidencia, sino que fue diseñada específicamente para enterobacterias como la bacteria de estudio *Salmonella* spp. Posee estandarización internacional y una robustez debido a que funcionan diferentes herramientas en conjunto dentro de la misma, como el ensamble automático del genoma, clasificación precisa mediante esquemas de cgMLST y detección de genes de resistencia. Es fundamental para la vigilancia epidemiológica y facilita la comparación global de linajes.
- Center for Genomic Epidemiology (Centro de epidemiología genómica): A modo de complemento para la detección de métodos de patogenicidad como plásmidos y SPI. Cuenta con estandarización internacional, pero no es tan amigable como EnteroBase, ya que no proporciona toda la información integrada, sino que funciona por herramientas divididas, donde cada una posee su propia base de datos.
  - SeqSero: Herramienta para la serotipificación.

- SPIFinder: Herramienta para detección de islas de patogenicidad.
- PlasmidFinder: Herramienta para la detección de plásmidos.

### **3.5. Procedimiento de extracción de ADN**

Para la extracción de ADN se utilizó en kit QIAamp DNA mini (QIAGEN, 2010) siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### **3.5.1. Materiales**

- Bata de laboratorio desechable
- Guantes
- Cepa de *Salmonella*
- Platos de agar SS
- Azas estériles
- Alcohol al 70 %
- Bolsas rojas para desechos biológicos
- Gradillas
- Marcadores para rotular
- Papel toalla
- Micropipetas de diferentes volúmenes (10, 100 y 1000 µL)
- Puntas estériles para micropipetas
- QIAamp DNA Mini kit
- Etanol (96 – 100 %)
- Mezclador de vórtice (vórtex)

- Centrifugadora
- Termociclador
- Tubos de 1.5 mL

### **3.5.2. Contenido del QIAamp DNA Mini kit**

- Columna QIAamp Mini
- Tubo colector de 2 mL
- Buffer AL
- Buffer ATL
- Buffer AW1
- Buffer AW2
- Buffer AE
- Proteasa QIAGEN
- Solvente para proteasa
- Proteinasa K

### **3.5.3. Procedimiento para muestras de *Salmonella* almacenadas en leche**

1. Pipetear 20  $\mu$ L de proteasa QIAGEN (proteínasa K) en el fondo del tubo de 1.5 mL
2. Añadir 200  $\mu$ L de muestra al tubo
3. Añadir 200  $\mu$ L de Buffer AL a la muestra y mezclar mediante vórtex pulsado por 15 segundos
4. Incubar a 56 °C por 10 minutos

5. Centrifugar brevemente el tubo de 1.5 mL para remover gotas en la parte interior de la tapa
6. Añadir 200 µL de etanol a la muestra y mezclar nuevamente mediante vórtex pulsado por 15 segundos. Después de mezclar, centrifugar brevemente el tubo para remover las gotas del interior de la tapa.
7. Cuidadosamente, transferir la mezcla del paso anterior a una columna QIAamp Mini (con su tubo colector de 2 mL) sin tocar el anillo filtrador. Cerrar la tapa y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto. Colocar la columna QIAamp Mini en un nuevo tubo colector de 2 mL y descartar el tubo que contiene el filtrado.
8. Cuidadosamente abrir la columna QIAamp Mini y añadir 500 µL de Buffer AW1 sin tocar el anillo filtrador. Cerrar la tapa y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto. Colocar la columna QIAamp Mini en un nuevo tubo colector de 2 mL y descartar el tubo colector con el filtrado.
9. Cuidadosamente, abrir la tapa de la columna QIAamp Mini y añadir 500 µL de Buffer AW2 sin tocar el anillo filtrador. Cerrar la tapa y centrifugar a 14000 rpm por 3 minutos.
10. Se recomienda repetir la última parte del paso anterior. Colocar un nuevo tubo colector de 2 mL y centrifugar a 14000 rpm por 3 minutos.
11. Colocar la columna QIAamp Mini en un tubo nuevo de 1.5 mL y descartar el tubo colector con el filtrado. Cuidadosamente, abrir la columna QIAamp Mini y añadir 100 µL de Buffer AE o agua destilada. Incubar a temperatura ambiente (15 – 25 °C) por 1 minuto y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto.

#### 3.5.4. Procedimiento para muestras de *Salmonella* en platos de agar

1. Remover colonias de bacteria del plato de cultivo con una aza de inoculación y suspender en 180  $\mu$ L de Buffer ATL mediante agitación vigorosa.
2. Añadir 20  $\mu$ L de proteinasa K, mezclar mediante vórtex e incubar a 56 °C hasta que la muestra esté totalmente lisada. Hacer vórtex ocasionalmente durante la incubación para dispersar la muestra, o colocarlo en un baño de agua agitado o sobre una plataforma oscilante (termociclador oscilante).
3. Brevemente, centrifugar el tubo de 1.5 mL para remover las gotas de la parte interior de la tapa.
4. Añadir 200  $\mu$ L de Buffer AL a la muestra, mezclar mediante vórtex pulsado por 15 segundos e incubar a 70 °C por 10 minutos. Centrifugar brevemente el tubo para remover las gotas de la parte interior de la tapa.
5. Añadir 200  $\mu$ L de etanol a la muestra y mezclar mediante vórtex pulsado por 15 segundos. Después de mezclar, centrifugar brevemente el tubo para remover las gotas de la parte interior de la tapa.
6. Cuidadosamente, transferir la mezcla del paso anterior a la columna QIAamp Mini (con un tubo colector de 2 mL) sin tocar el anillo filtrador. Cerrar la tapa y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto. Colocar la columna QIAamp Mini en un nuevo tubo colector y descartar el que contiene el filtrado.
7. Cuidadosamente, abrir la tapa de la columna QIAamp Mini y añadir 500  $\mu$ L de Buffer AW1 sin tocar el anillo filtrador. Cerrar la tapa y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto. Colocar la columna QIAamp Mini en un nuevo tubo colector y descartar el tubo que contiene el filtrado.

8. Cuidadosamente, abrir la columna QIAamp Mini y añadir 500  $\mu$ L de Buffer AW2 sin tocar el anillo filtrador. Cerrar la tapa y centrifugar a 14000 rpm por 3 minutos.
9. Se recomienda colocar nuevamente la columna en un nuevo tubo colector y volver a centrifugar a 14000 rpm por 3 minutos.
10. Colocar la columna QIAamp Mini en un tubo de 1.5 mL y descartar el tubo colector con el filtrado. Cuidadosamente, abrir la tapa de la columna y añadir 100  $\mu$ L de Buffer AE o agua destilada. Incubar a temperatura ambiente por 1 minuto y centrifugar a 8000 rpm por 1 minuto.

Para la extracción de ADN se utilizaron cepas que provienen de todo el país, enviadas en medios de transporte al LCRSP, que luego son almacenadas en leche y congeladas para su preservación. La mitad de los ADN utilizados para la secuenciación genómica de este proyecto fueron extraídos directamente de los medios de leche descongelados, mientras que a la otra mitad se le realizaron cultivos en agar *Salmonella-Shigella* (SS); de allí se toman colonias puras para realizar la extracción de ADN y luego su secuenciación.

### **3.6. Cuantificación de ADN**

La cuantificación de ADN, se realizó de acuerdo a los lineamientos del fabricante (ThermoFisher, 2022).

#### **3.6.1. Materiales**

- Bata de laboratorio desechable
- Guantes

- ADN previamente extraído de cepas de *Salmonella enterica*
- Marcador para rotular
- Micropipetas de diferentes volúmenes (5 y 200 o 1000 µL)
- Puntas para las micropipetas
- Gradillas
- Fluorómetro Qubit
- Qubit dsDNA High Sensivity Assay kit
- Tubos para utilizar en el equipo Qubit
- Tubo para realizar dilución (dependiendo de la cantidad de muestra, puede ser de 5, 15 o 50 mL)
- Tubos de 1.5 mL

### **3.6.2. Contenido del Qubit dsDNA High Sensivity Assay kit**

- Reactivo Qubit dsDNA HS
- Buffer Qubit dsDNA HS
- Estándar #1
- Estándar #2

### **3.6.3. Procedimiento para ADN extraído de *Salmonella enterica***

1. Introducir el número de tubos Qubit para estándares (1 y 2) y cantidad de muestras en el equipo para realizar el cálculo del volumen de reactivo y de buffer a utilizar para diluir el reactivo 1:200.

2. Etiquetar o rotular las tapas de los tubos. Observación: No hacerlo al costado del tubo, ya que esto puede interferir en la lectura de la muestra. Mantener el orden correcto, en especial los estándares 1 y 2, ya que deben ser introducidos en el orden correcto para obtener los resultados de cuantificación de ADN existente.
3. Preparar la solución de trabajo Qubit mediante dilución del reactivo, con los cálculos de volumen obtenidos en el paso 1, y mezclar vigorosamente. Observación: Utilizar un nuevo tubo limpio cada vez que se prepara esta solución de trabajo.
4. Añadir a los tubos de estándares 190  $\mu\text{L}$  de la solución de trabajo y 198  $\mu\text{L}$  a los tubos de las muestras a cuantificar. Observación: El volumen final para todos los tubos debe ser 200  $\mu\text{L}$ .
5. Añadir 10  $\mu\text{L}$  de cada estándar Qubit (1 y 2) en su tubo debidamente rotulado.
6. Añadir 2  $\mu\text{L}$  de cada muestra en su tubo debidamente rotulado.
7. Mezclar vigorosamente mediante vortex pulsado de 3 a 5 minutos. Observación: No crear burbujas.
8. Incubar todos los tubos a temperatura ambiente por 2 minutos para leer las muestras.
9. Luego de encender el fluorómetro Qubit, en la pantalla principal seleccionar “dsDNA”, luego seleccionar “dsDNA High Sensitivity” como el tipo de ensayo a utilizar y luego “Read standards” para proceder con las lecturas.
10. Insertar el tubo que contiene el estándar 1 en la cámara de muestra, cerrar la tapa de la cámara y luego seleccionar “Read standards”. Cuando la lectura fue completada, remover el estándar 1.
11. Repetir el último paso, con el estándar 2.
12. Leer las muestras.
13. En la pantalla del ensayo, seleccionar el volumen utilizado de muestra, 2  $\mu\text{L}$ .

14. Insertar los tubos de muestras, debidamente rotulados. En orden, introducir el tubo, cerrar la tapa de la cámara y, cuando la lectura se ha completado, remover el tubo.
15. Repetir el paso anterior con cada muestra, hasta que todas hayan sido leídas.
16. Llevar las muestras a 1 ng de ADN, realizando un cálculo de dilución, utilizando agua tipo I (ultrapura).

### **3.7. Procedimiento de secuenciación de genoma completo (Nextera XT DNA kit)**

Siguiendo las instrucciones del fabricante, se realizó la preparación de librerías para la secuenciación de genoma completo (Illumina, 2016).

#### **3.7.1. Materiales**

- Bata de laboratorio desechable
- Guantes
- Marcador para rotular
- Micropipetas de 10, 100 y 200  $\mu$ L
- Micropipetas multicanal de 10 y 200  $\mu$ L
- Puntas para micropipetas
- Gradillas
- Tubos de 1.5 mL
- Tubos LoBind de 1.5 mL
- Platos de 96 pocillos
- Tapas de tira de 8 pocillos
- Adhesivo sellante para platos de 96 pocillos

- Nextera XT DNA kit
- Perlas de purificación Illumina
- Etanol al 80 %
- Soporte magnético para platos
- Termociclador
- Fluorómetro Qubit
- Secuenciador iSeq 100
- Cartucho de reactivos para iSeq 100
- Celdas para introducir en el cartucho de reactivos

### **3.7.2. Contenido del Nextera XT DNA kit**

- ATM (proviene de la abreviación del inglés Amplicon Tagment Mix, que se puede traducir como Mezcla de etiquetas de amplicones)
- TD (proviene de la abreviación del inglés Tagment DNA Buffer, que se puede traducir como Tampón de ADN de etiquetado)
- NPM (proviene de la abreviación del inglés Nextera PCR Master Mix, que se puede traducir como Mezcla maestra de PCR Nextera)
- RSB (proviene de la abreviación del inglés Resuspension Buffer, que se puede traducir como Tampón de resuspensión)
- LNA1 (proviene de la abreviación del inglés Library Normalization Additives 1, que se puede traducir como Aditivos de normalización de bibliotecas 1)
- LNW1 (proviene de la abreviación del inglés Library Normalization Wash 1, que se puede traducir como Lavado de normalización de biblioteca 1)

- HT1 (proviene de la abreviación del inglés Hybridization Buffer, que se puede traducir como Tampón de hibridación)
- NT (proviene de la abreviación en inglés Neutralize Tagment Buffer, que se puede traducir como Tampón de neutralizar el etiquetado)
- LNB1 (proviene de la abreviación en inglés de Library Normalization Beads 1, que se puede traducir como Perlas de normalización de bibliotecas 1)
- LNS1 (proviene de la abreviatura en inglés Library Normalization Storage Buffer 1, que se puede traducir como Tampón de almacenamiento de normalización de biblioteca 1)

### **3.7.3. Preparación de librería Nextera XT DNA**

#### **3.7.3.1. Tagmentación genómica de ADN**

1. Desde el inicio de esta parte del proceso, es necesario seguir de manera continua hasta que se indique que es seguro hacer una pausa.
2. Añadir los siguientes volúmenes a un nuevo plato: 10 µL de reactivo TD a cada pocillo de muestra y 5 µL de muestra de ADN a 1 ng, cada una en su respectivo pocillo.
3. Mezclar con la micropipeta.
4. Añadir 5 µL de reactivo ATM.
5. Mezclar con la micropipeta.
6. Centrifugar a 280 g a 20 °C por 1 minuto.
7. Colocar en el termociclador y correr el programa de tagmentación (55 °C por 5 minutos).  
Inmediatamente, proceder con el siguiente paso.
8. Añadir 5 µL del reactivo NT
9. Mezclar con la micropipeta

10. Centrifugar a 280 g a 20 °C por 1 minuto
11. Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos

### **3.7.3.2. Amplificación de librerías**

1. Añadir 10 µL de los índices adaptadores de acuerdo al kit
2. Añadir 15 µL de reactivo NPM
3. Mezclar con la micropipeta
4. Centrifugar a 280 g a 20 °C por 1 minuto
5. Colocar en el termociclador y correr el programa NXT PCR (¿temperatura? por 30 minutos)
6. En este punto es seguro hacer una pausa. Observación: Si se detiene, sellar el plato y almacenarlo de 2 a 8 °C hasta por 2 días. Alternativamente, dejar en el termociclador.

### **3.7.3.3. Limpieza de las librerías**

1. Al comenzar esta parte del procedimiento, se debe trabajar de manera continua hasta que sea indicado un punto de parada seguro
2. Centrifugar el plato a 280 g a 20 °C por 1 minuto
3. Transferir 50 µL del sobrenadante a nuevos pocillos
4. Añadir 30 µL de perlas de purificación y mezclar con la micropipeta
5. Agitar a 1800 rpm por 2 minutos
6. Incubar a temperatura ambiente por 5 minutos
7. Colocar el plato en el soporte magnético hasta que el líquido esté claro
8. Remover y descartar el sobrenadante, cuidando de no remover el botón de ADN que se ha formado
9. Lavar dos veces con 200 µL de etanol al 80 %

10. Usando una pipeta de 10  $\mu\text{L}$ , remover y descartar todo el etanol residual.
11. Secar los botones formados en el plato colocado en el soporte magnético, por 15 minutos
12. Remover el soporte magnético
13. Añadir 52.5  $\mu\text{L}$  del reactivo RSB y mezclar con la micropipeta
14. Sellar el plato y luego agitar a 1800 rpm por 2 minutos
15. Incubar a temperatura ambiente por 2 minutos
16. Colocar en el soporte magnético hasta que el líquido esté claro
17. Transferir a un nuevo pocillo 50  $\mu\text{L}$  del sobrenadante
18. Hasta este punto, es seguro realizar una parada. Observación: En caso de parar, sellar el plato con adhesivo y guardar de -25 a -15  $^{\circ}\text{C}$  hasta por 7 días.

#### **3.7.3.4. Dilución de las bibliotecas a la concentración inicial**

1. Esta parte del procedimiento debe realizarse de manera continua hasta ingresar las muestras al equipo
2. Repetir el procedimiento de cuantificación de ADN. Con este valor se calcula la molaridad de la librería
3. Usando el valor de molaridad, calcular los volúmenes de reactivo RSB y de librería necesarios para diluir las librerías a la concentración inicial para el sistema (1 nM) (Illumina, 2022).

#### **3.7.3.5. Preparación de corrida de secuenciación**

1. En este punto, ya se debió haber descongelado el cartucho de reactivos para el equipo iSeq 100.
2. Abrir el empaque del cartucho de reactivo por el lado indicado, evitar tocar la parte donde se añade la muestra.

3. Agitar hacia arriba y hacia abajo cinco veces.
4. Utilizando una superficie nivelada fija, golpear tres veces para que las gotitas de reactivo bajen.
5. El cartucho tiene un lugar sellado, que debe romperse con una puntilla estéril.
6. Añadir 20  $\mu\text{L}$  de la librería.
7. Colocar la celda dentro del cartucho de reactivos.
8. Con el secuenciador ya programado con las muestras a correr, se inserta el cartucho de reactivos según lo indica el equipo.

### **3.8. Plan de análisis estadístico**

Para el análisis de datos se utilizaron herramientas avanzadas de bioinformática. El proceso se centró en obtener información comprensible y útil:

- Preparación de datos genéticos: Las secuencias de ADN de cada bacteria fueron limpiadas y ensambladas digitalmente para reconstruir genomas completos, asegurando la calidad de la información.
- Evaluación de diversidad y relaciones entre cepas: Se analizaron las diferencias genéticas para construir “árboles genealógicos” que mostrarán cómo las cepas están relacionadas, han evolucionado y se han diseminado en Panamá. Esto nos permitió identificar los linajes de *Salmonella* más prevalentes.
- Identificación de resistencia a antibióticos y factores de virulencia: En cada genoma, se buscaron los genes y las mutaciones que confieren resistencia a los antibióticos, así como los genes que determinan la capacidad de la bacteria para causar enfermedad (virulencia).

- Integración de datos genéticos y epidemiológicos: Se combinó la información genética con los datos epidemiológicos asociados a cada cepa (provincia, instalación de salud, año, edad y sexo). Esta integración permitió correlacionar sus características genéticas con las variables epidemiológicas y obtener una visión completa de la epidemiología molecular de estos serovares de *Salmonella* en Panamá.

### **3.9. Consideraciones éticas**

El estudio se diseñó siguiendo los principios éticos de la Declaración de Helsinki y con la certificación en Buenas Prácticas Clínicas (GCP) por la NIDA Clinical Trials Network, asegurando la integridad en el manejo de datos, la confidencialidad de la información y el cumplimiento de los estándares internacionales de calidad en investigación científica.

Las cepas de *Salmonella* spp. utilizadas provienen del biobanco del LCRSP. El estudio no requiere ningún tipo de contacto con el paciente ni la obtención de nuevas muestras biológicas, ya que ese procedimiento fue realizado por la instalación de salud que refirió su cepa. Para garantizar la confidencialidad, la base de datos proporcionada fue curada y se anonimizó los registros, eliminando datos sensibles como nombre y cédula, compartiéndose bajo un sistema de codificación.

Al utilizar una plataforma gratuita como EnteroBase, este tipo de herramienta funciona de esta manera con el fin de lograr un intercambio de datos a nivel mundial; por lo tanto, exige una publicación y libre acceso a los resultados obtenidos en la misma. Al momento de ir analizando

cada corrida de secuenciación de cada cepa, esta plataforma permite colocar el tiempo en el cual los resultados serán liberados.

Para el manejo tanto de las cepas de *Salmonella* como de las muestras obtenidas de las mismas, se cumplió con todas las normas de bioseguridad para su manipulación adecuada y un correcto desecho de todas, siguiendo los protocolos nacionales para el descarte de residuos biológicos.

## **CAPÍTULO IV**

### **RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## RESULTADOS

### 4.1. Muestras de *Salmonella enterica* recuperadas en Panamá del 2021 al 2025

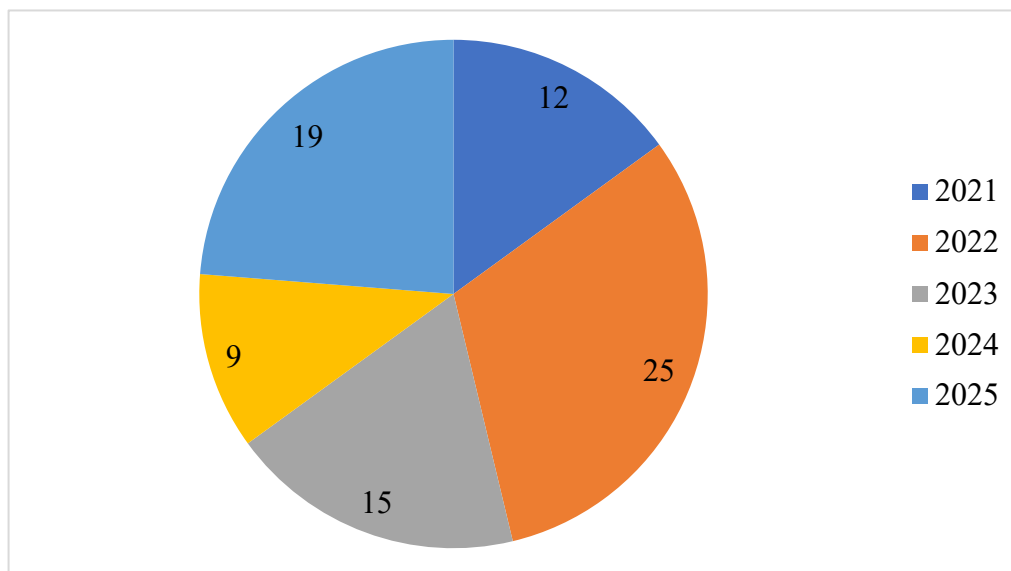
**Tabla 10.** Selección de cepas de *Salmonella* por año del biobanco del LCRSP/ICGES

| Total | 2021 | 2022 | 2023 | 2024 | 2025 |
|-------|------|------|------|------|------|
| 79    | 12   | 25   | 15   | 9    | 18   |

Nota: LCRSP: Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública. ICGES: Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud.

Se presenta en la Tabla 10 la cantidad total de cepas seleccionadas del biobanco para realizar este trabajo investigativo y la división de las mismas por cada año incluido en el estudio (del 2021 al 2025).

**Figura 8.** *Distribución anual de las cepas de Salmonella enterica*



Podemos observar en la Figura 8 la representación gráfica de la distribución de la totalidad de cepas seleccionadas de *Salmonella enterica* por cada año incluido en el estudio, desde el 2021 al 2025.

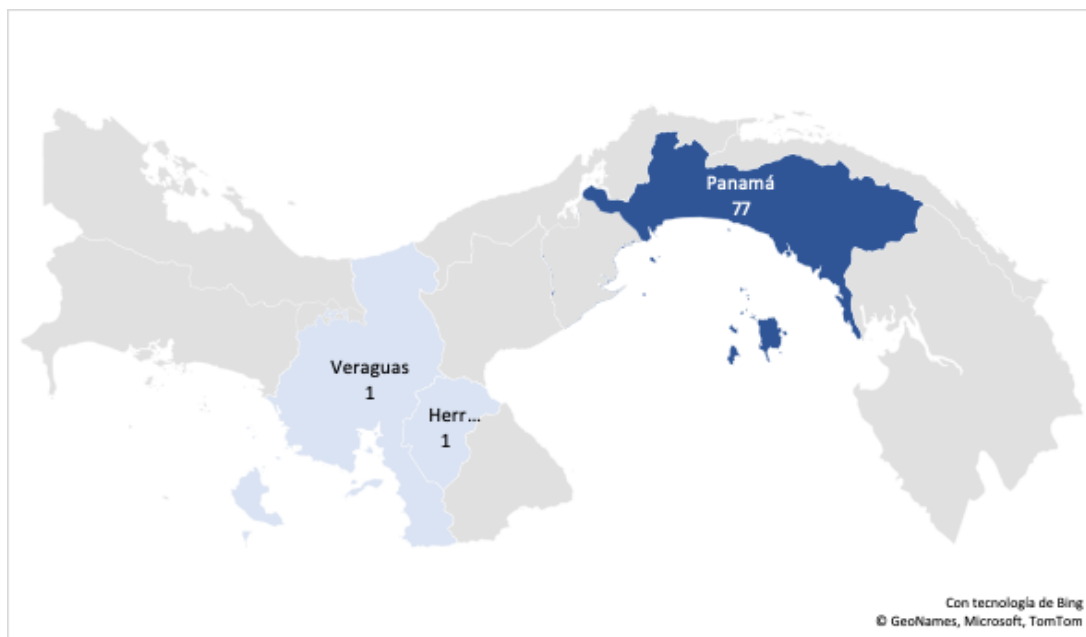
#### 4.2. Distribución demográfica de las cepas seleccionadas de *Salmonella enterica*

**Tabla 11.** Selección de cepas de *Salmonella enterica* según provincia de procedencia

| Provincia | Cantidad de cepas |
|-----------|-------------------|
| Herrera   | 1                 |
| Panamá    | 77                |
| Veraguas  | 1                 |

Se observa en la Tabla 11 la repartición por provincia de procedencia de la totalidad de las cepas de *Salmonella enterica* seleccionadas, indicando la cantidad de cepas en cada una de ellas.

**Figura 9.** *Mapa de distribución geográfica de las cepas seleccionadas*



Se señala el origen biogeográfico de las cepas seleccionadas de *Salmonella enterica* en la Figura 9, plasmado en un mapa por división provincial de Panamá, incluyendo la cantidad de cepas procedentes en cada provincia.

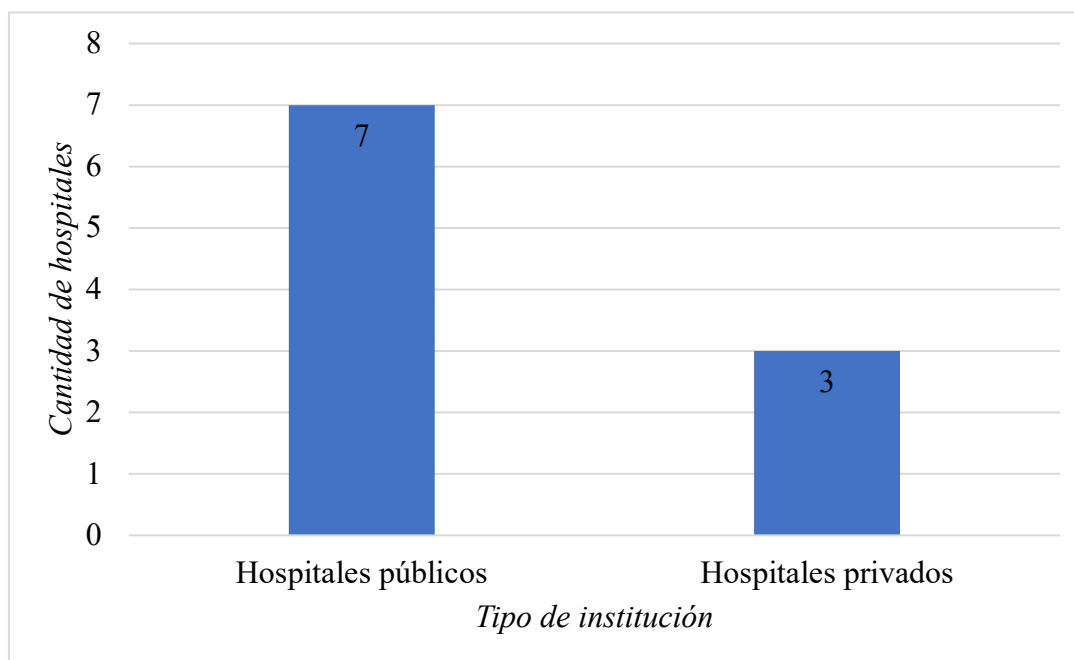
#### 4.3. Laboratorios referidos al Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública

**Tabla 12.** *Distribución según el tipo de instalación de procedencia y la cantidad de cepas remitidas*

| Tipo de instalación | Cantidad de instalaciones | Cantidad de cepas |
|---------------------|---------------------------|-------------------|
| Hospital público    | 7                         | 48                |
| Hospital privado    | 3                         | 31                |
| Total               | 10                        | 79                |

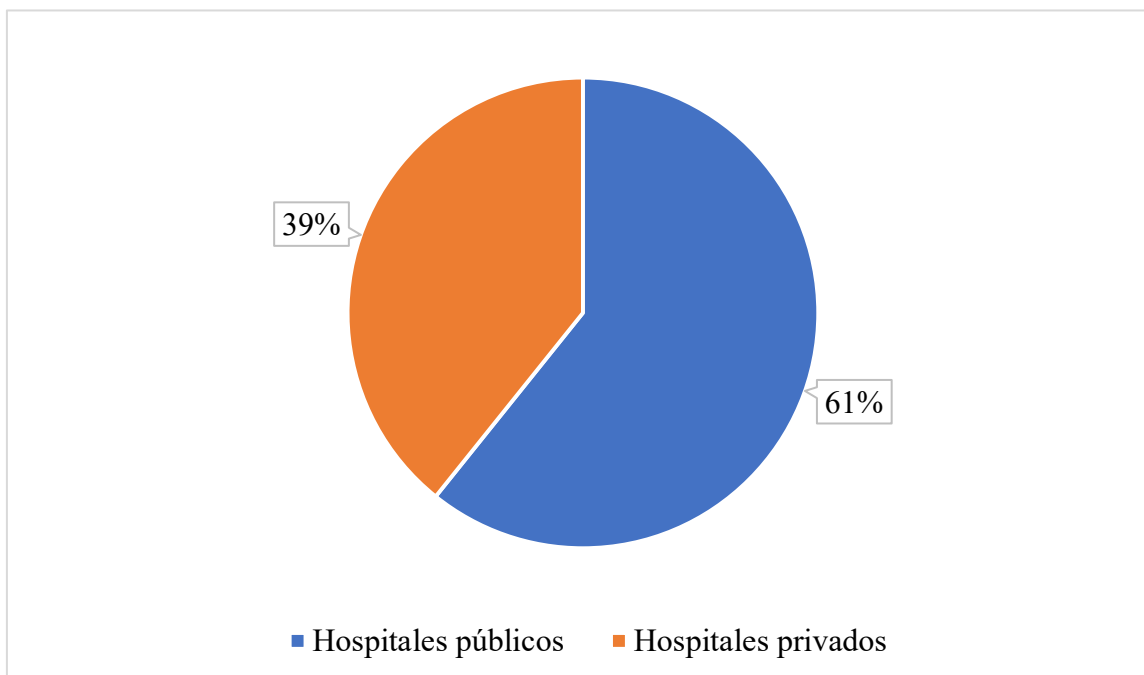
La Tabla 12 muestra la distribución entre instalaciones públicas y privadas, indicando tanto el número de instituciones por tipo como la cantidad de cepas seleccionadas que cada una remitió al Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública y que son utilizadas para desarrollar este estudio.

**Figura 10.** *Clasificación de la procedencia por tipo de instalación de las cepas seleccionadas*



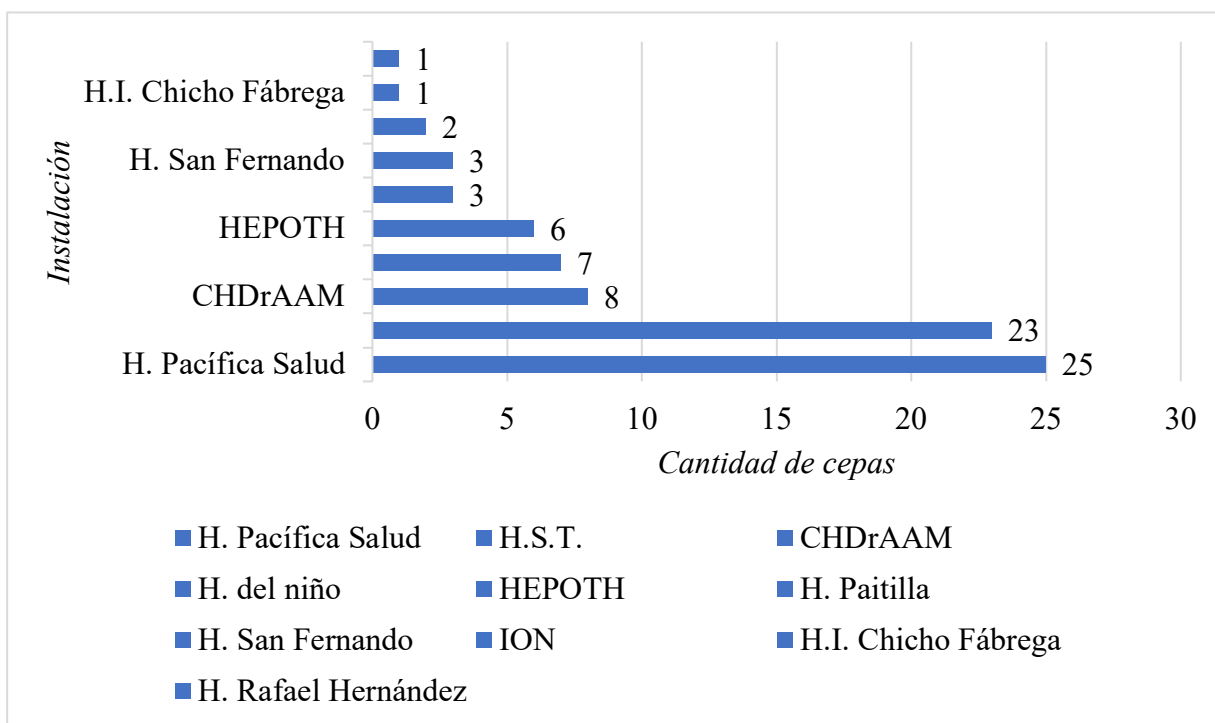
Se presenta en la Figura 10 la distribución de las instalaciones que remitieron cepas al Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública (LCRSP) del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), indicando su clasificación como públicas o privadas.

**Figura 11.** *Porcentaje de cepas seleccionadas según tipo de instalación*



Utilizando la información de la Tabla 12, se crea el gráfico de la Figura 11 para indicar el porcentaje de cepas de *Salmonella enterica* utilizadas en el estudio investigativo según la clasificación de tipo de instalación pública o privada que envió la cepa al LCRSP/ICGES.

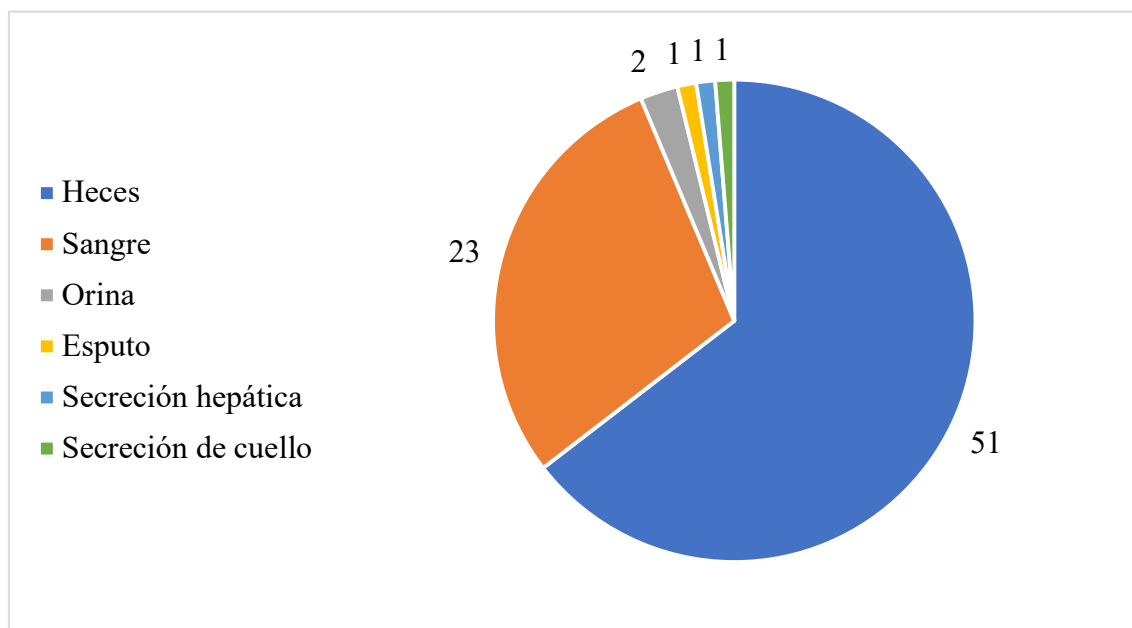
**Figura 12.** Cepas de *Salmonella* seleccionadas según instalación remitente



Se muestra en la Figura 12 la cantidad de cepas de *Salmonella* utilizadas según la instalación (hospital) de procedencia, de menor a mayor cantidad.

#### 4.4. Tipos de muestras de aislamiento de cepas de *Salmonella enterica*

**Figura 13.** *Cepas de Salmonella según el tipo de muestra de aislamiento*



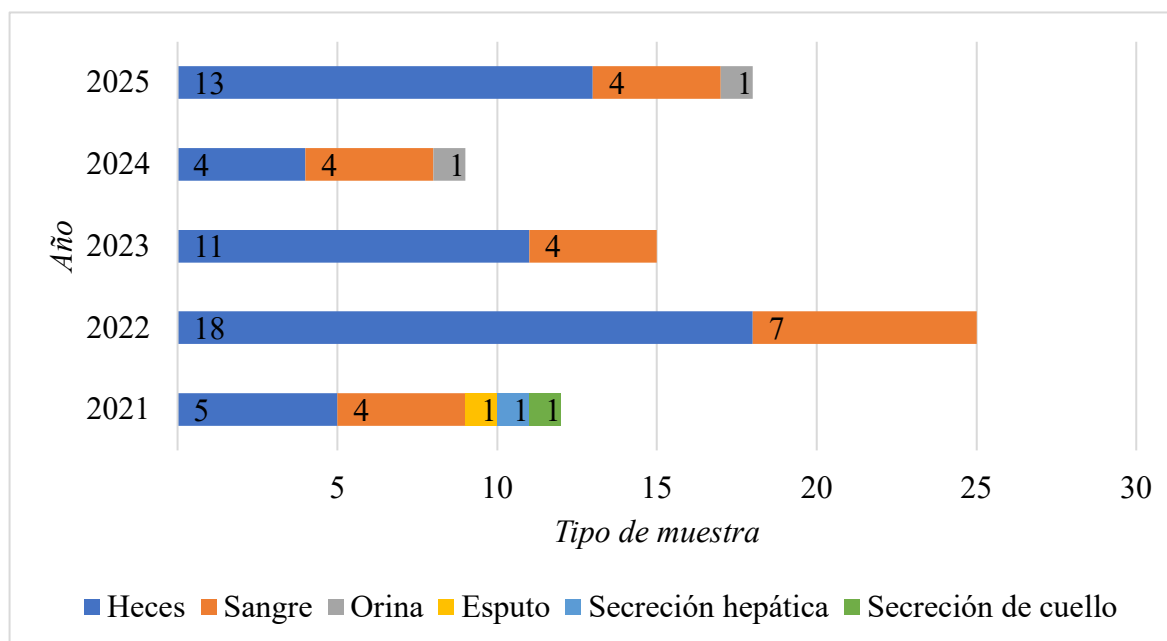
Se presenta en la Figura 13 la distribución de la totalidad de las cepas utilizadas en el proyecto, divididas según el tipo de muestra humana de la cual la instalación remitente obtuvo el aislamiento.

**Tabla 13.** *Cepas seleccionadas por año según tipo de muestra de aislamiento*

| <b>Tipo de muestra</b>     | <b>2021</b> | <b>2022</b> | <b>2023</b> | <b>2024</b> | <b>2025</b> | <b>Total</b> |
|----------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| <b>Heces</b>               | 5           | 18          | 11          | 4           | 13          | 51           |
| <b>Sangre</b>              | 4           | 7           | 4           | 4           | 4           | 23           |
| <b>Orina</b>               | -           | -           | -           | 1           | 1           | 2            |
| <b>Espuito</b>             | 1           | -           | -           | -           | -           | 1            |
| <b>Secreción de cuello</b> | 1           | -           | -           | -           | -           | 1            |
| <b>Secreción hepática</b>  | 12          | -           | -           | -           | -           | 1            |

Se divide en la Tabla 13 el total de cepas utilizadas según el año de recepción, junto al tipo de fuente de aislamiento obtenida por la instalación remitente.

**Figura 14.** Cepas de *Salmonella* según tipo de muestra de aislamiento y año



Se muestra en la Figura 14 la distribución de las cepas seleccionadas de *Salmonella enterica* según el tipo de muestra de obtención del aislamiento, junto al año de recepción al cepario para su conservación.

#### 4.5. Serotipificación de las cepas aisladas de *Salmonella enterica*

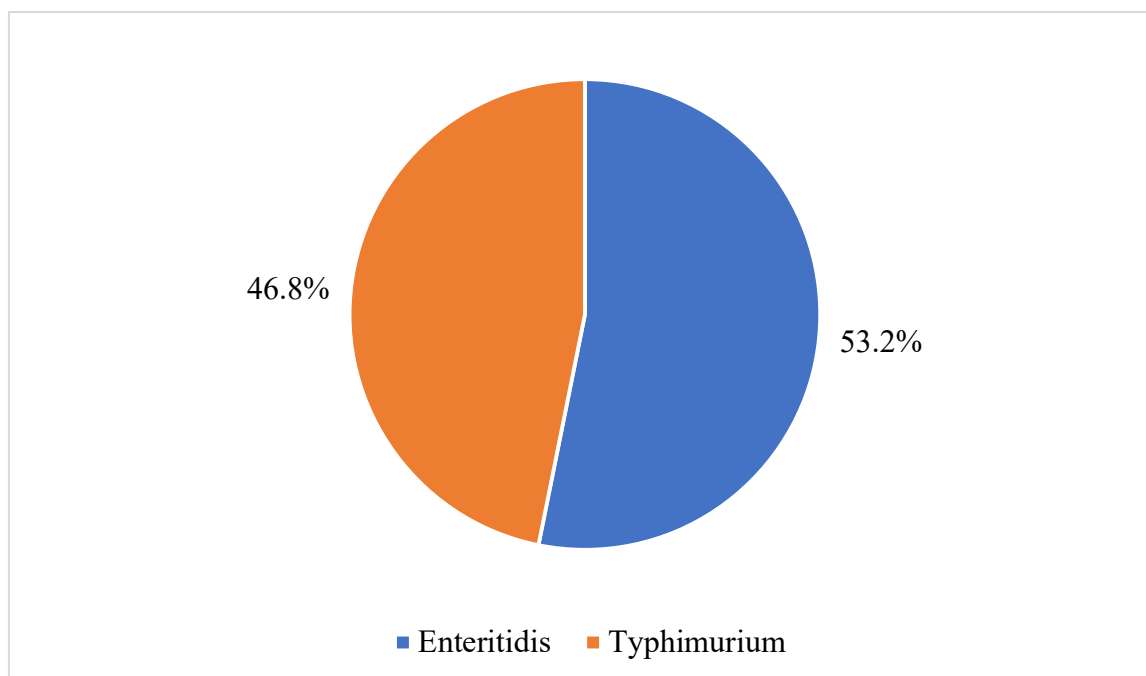
**Tabla 14.** *Cepas de Salmonella enterica utilizadas según el serotipo proporcionado por LCRSP/ICGES*

| Serovar     | Cantidad de cepas |
|-------------|-------------------|
| Enteritidis | 42                |
| Typhimurium | 37                |

Nota: LCRSP: Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública. ICGES: Instituto Conmemorativo de Estudios de la Salud.

Se observa en la Tabla 14 la división de las cepas de *Salmonella enterica* por serotipo de interés investigativo en este estudio, Enteritidis y Typhimurium, proporcionado por la base de datos de la Sección de Microbiología del LCRSP/ICGES.

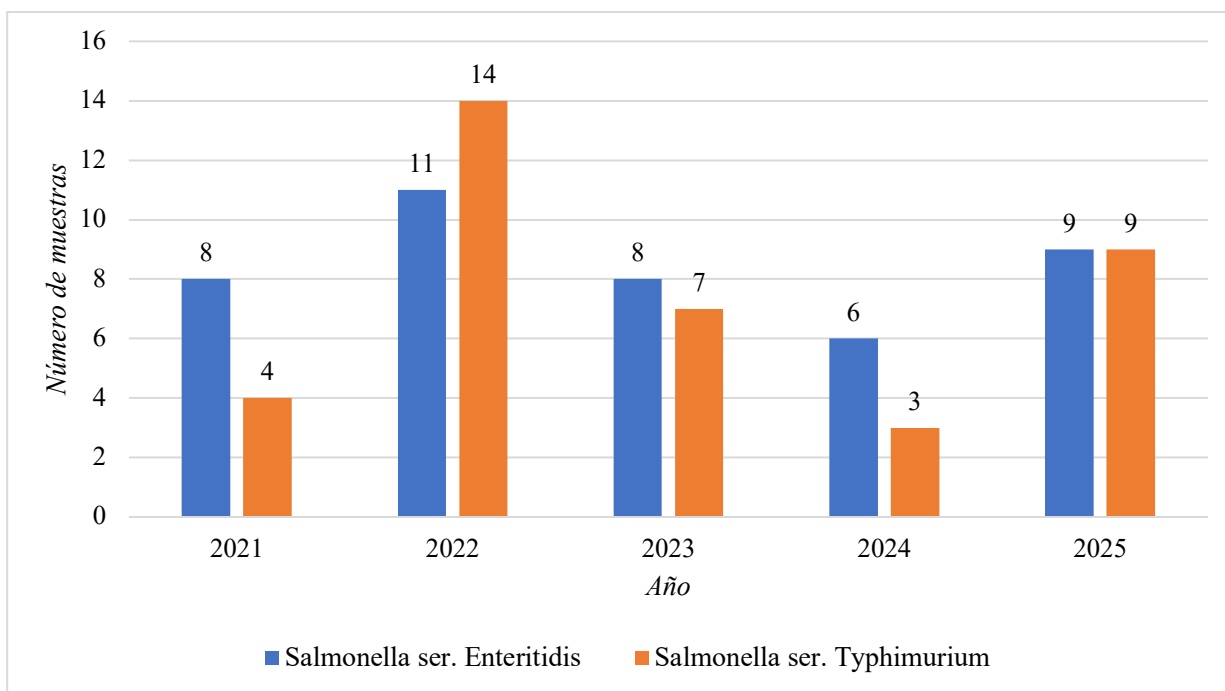
**Figura 15.** Porcentaje de cepas de *Salmonella enterica* según el serotipo proporcionado por el LCRSP/ICGES



Nota: LCRSP: Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública. ICGES: Instituto Conmemorativo de Estudios de la Salud.

Se observa una representación gráfica en la Figura 15, para indicar el porcentaje de los serovares Enteritidis y Typhimurium de las cepas de *Salmonella enterica* utilizadas en este trabajo investigativo.

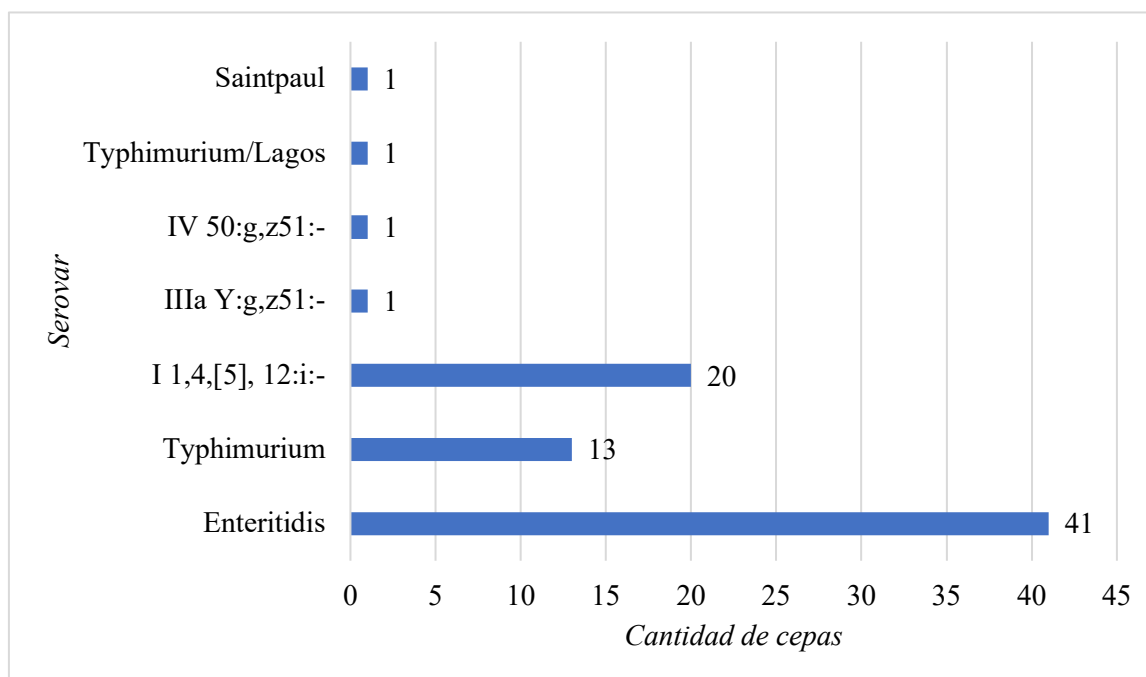
**Figura 16.** *Distribución anual de las cepas utilizadas según el serotipo reportado por el LCRSP/ICGES*



Nota: LCRSP: Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública. ICGES: Instituto Conmemorativo de Estudios de la Salud.

Se observa en la Figura 16 la distribución de las cepas de *Salmonella enterica* según los serotipos Enteritidis y Typhimurium seleccionados de interés en este estudio, señalando el año de aislamiento y conservación, con números extraídos de los datos proporcionados por el LCRSP/ICGES.

**Figura 17.** Serovares de *Salmonella enterica* identificados por la plataforma EnteroBase



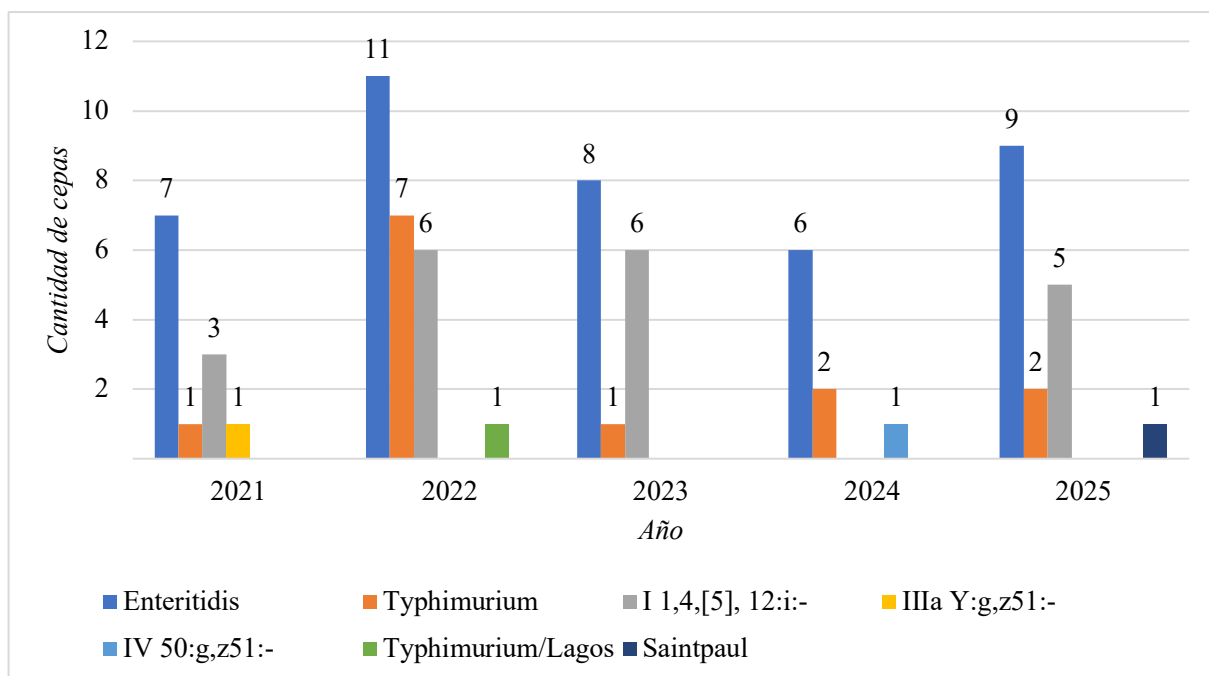
Se realiza la Secuenciación de Genoma Completo mediante el método de Secuenciación de Nueva Generación utilizando el ADN extraído de las cepas seleccionadas de *Salmonella enterica* del biobanco del LCRSP/ICGES, obteniendo, a través de la interpretación de datos en la plataforma bioinformática EnteroBase, la variabilidad de serovares representados gráficamente en la Figura 17.

**Tabla 15.** Comparación entre los serovares de *Salmonella enterica* mediante método tradicional y método de secuenciación de nueva generación

| Serotipo    | (Método tradicional) | Cantidad de cepas | Serovar (NGS)     | Cantidad de cepas |
|-------------|----------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Enteritidis |                      | 42                | Enteritidis       | 41                |
| Typhimurium |                      | 37                | Typhimurium       | 14                |
|             |                      |                   | I 1,4,[5], 12:i:- | 20                |
|             |                      |                   | IIIa Y:g,z51:-    | 1                 |
|             |                      |                   | IV 50:g,z51:-     | 1                 |
|             |                      |                   | Typhimurium/Lagos | 1                 |
|             |                      |                   | Saintpaul         | 1                 |

Se realiza una comparación en la Tabla 15 para observar la variabilidad de serovares entre los serotipos iniciales proporcionados por el LCRSP/ICGES de la tabla 15, determinados mediante el método tradicional de serotipificación por antisueros, contra los serovares obtenidos utilizando el método de secuenciación de nueva generación (NGS, siglas que provienen del término en inglés Next Generation Sequencing) con la interpretación de los datos de la corrida de secuenciación de genoma completo a través de la plataforma bioinformática EnteroBase.

**Figura 18.** Distribución anual de los serovares identificados por la plataforma EnteroBase en las cepas de *Salmonella enterica*

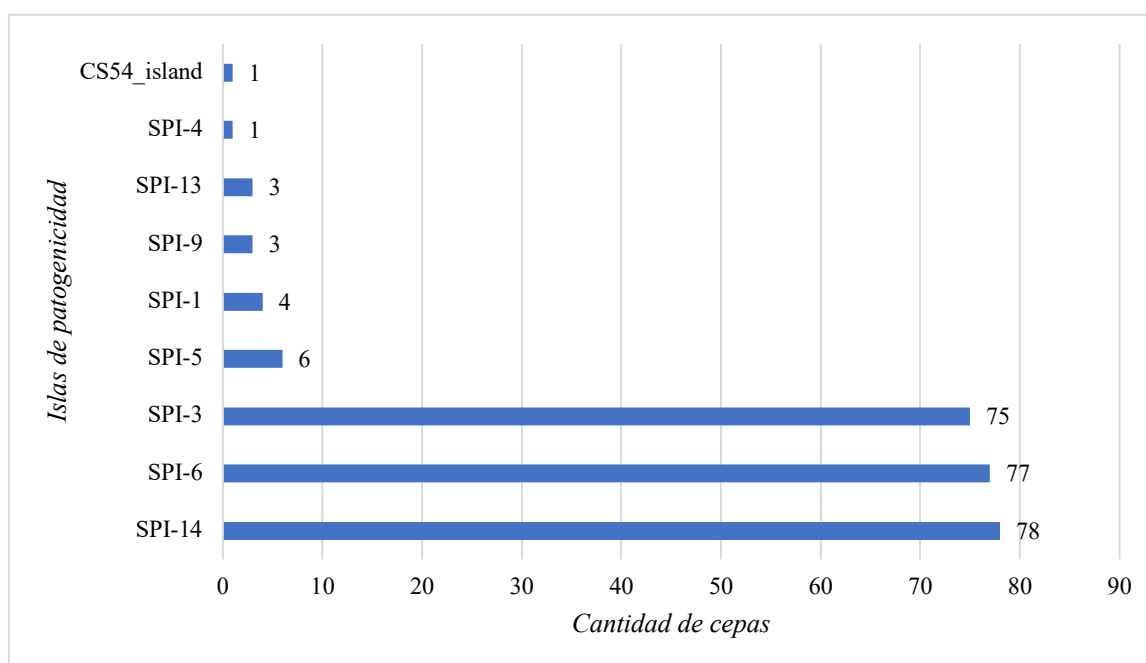


Se ilustra en la Figura 18 una representación gráfica de la distribución entre los años de aislamientos de cepas de interés de este estudio (2021-2025) y la presencia de cada serovar identificado luego de interpretar los datos de la secuenciación de nueva generación mediante la plataforma bioinformática EnteroBase.

## 4.6. Detección de factores de virulencia de las cepas de *Salmonella enterica*

### 4.6.1. Detección de islas de patogenicidad (SPI)

**Figura 19.** *Islas de patogenicidad detectadas en las cepas de Salmonella enterica por la plataforma CGE*

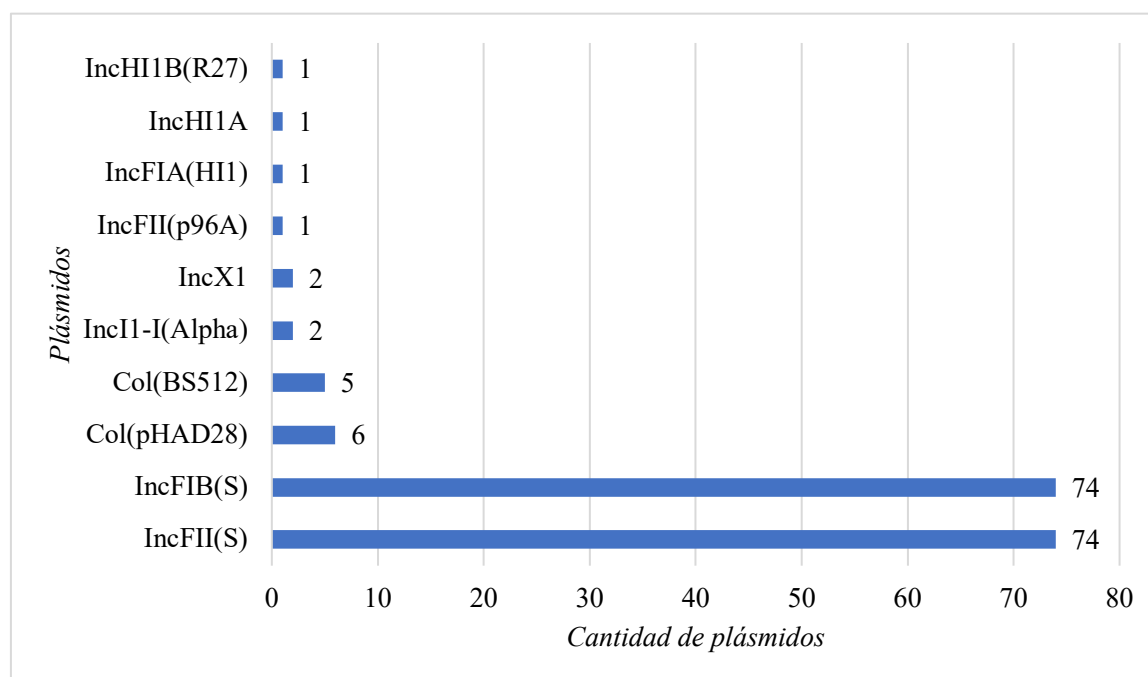


Nota: CGE: Proviene del término en inglés Center for Genomic Epidemiology, que se puede traducir como Centro de Epidemiología Genómica.

Se presenta a través de un gráfico en la Figura 19 el número de islas de patogenicidad detectadas mediante el método de secuenciación de nueva generación de genoma completo en las cepas seleccionadas de *Salmonella enterica*, con la interpretación de los datos analizados en la plataforma bioinformática de base de datos de CGE, específicamente con la herramienta SPIFinder.

#### 4.6.2. Detección de plásmidos

**Figura 20.** *Plásmidos detectados en cepas de Salmonella enterica por la plataforma CGE*



Nota: CGE: Proviene del término en inglés, Center for Genomic Epidemiology, que se puede traducir como Centro de Epidemiología Genómica.

La Figura 20 muestra el número de plásmidos detectados en las cepas de *Salmonella enterica* seleccionadas, mediante secuenciación de genoma completo. La identificación de estos elementos se realizó a partir del análisis bioinformático de los datos de secuenciación utilizando la herramienta PlasmidFinder, disponible en la plataforma del Center for Genomic Epidemiology (CGE).

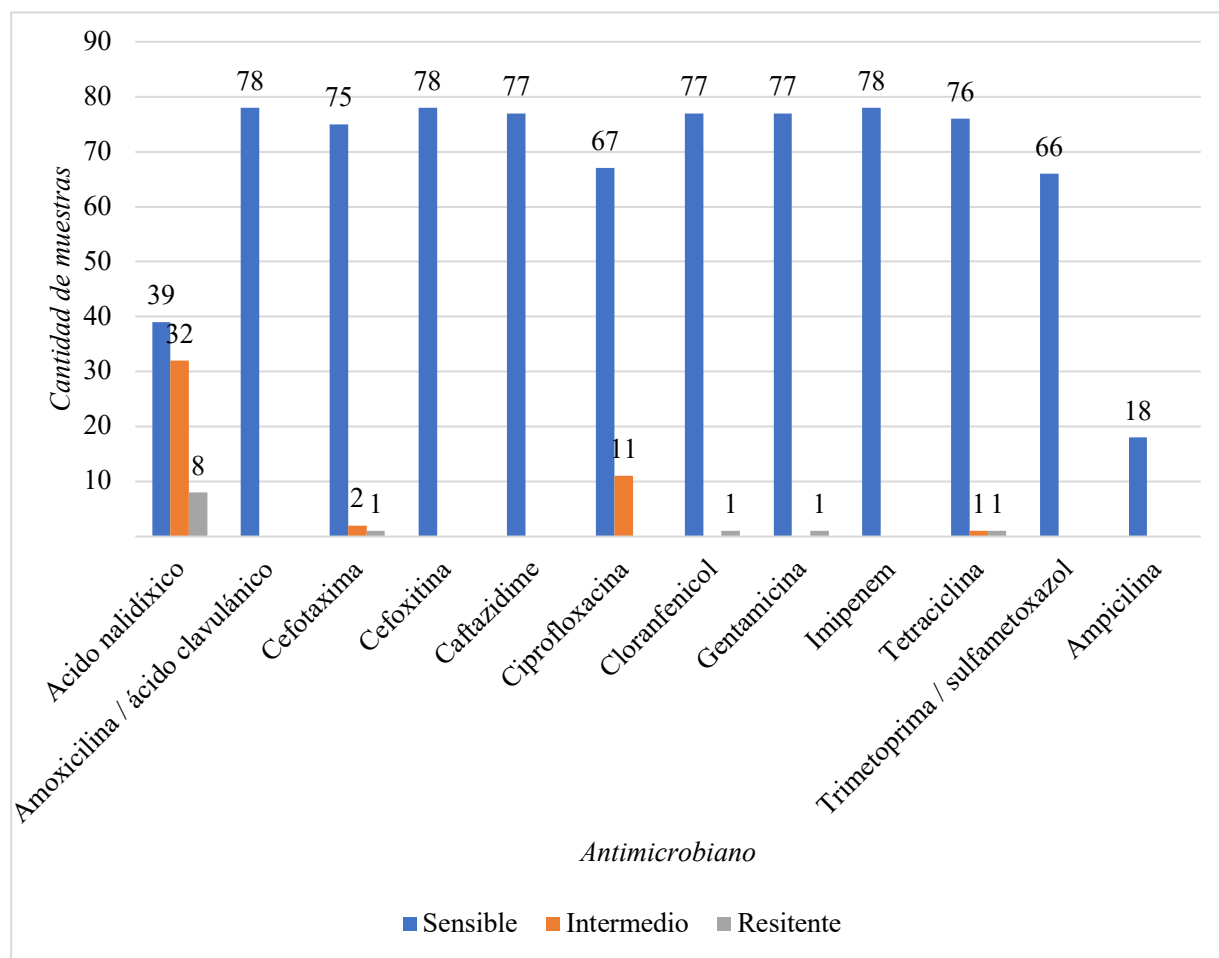
#### 4.7. Resistencia antimicrobiana

**Tabla 16.** *Resistencia antimicrobiana proporcionada por el LCRSP*

| <b>Antimicrobiano</b>                | <b>Sensible</b> | <b>Intermedio</b> | <b>Resistente</b> |
|--------------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|
| <b>Ácido nalidíxico</b>              | 39              | 32                | 8                 |
| <b>Amoxicilina/ácido clavulánico</b> | 78              | 0                 | 0                 |
| <b>Cefotaxima</b>                    | 75              | 2                 | 1                 |
| <b>Cefoxitina</b>                    | 78              | 0                 | 0                 |
| <b>Ceftazidime</b>                   | 77              | 0                 | 0                 |
| <b>Ciprofloxacina</b>                | 67              | 11                | 0                 |
| <b>Cloranfenicol</b>                 | 77              | 0                 | 1                 |
| <b>Gentamicina</b>                   | 77              | 0                 | 1                 |
| <b>Imipenem</b>                      | 78              | 0                 | 0                 |
| <b>Tetraciclina</b>                  | 76              | 1                 | 1                 |
| <b>Trimetoprima / Sulfametoxazol</b> | 66              | 0                 | 0                 |
| <b>Ampicilina</b>                    | 18              | 0                 | 0                 |

Con los datos proporcionados por el LCRSP se elaboró la Tabla 16, en la que se presenta el perfil de resistencia antimicrobiana de las cepas de *Salmonella enterica* incluidas en el estudio, clasificadas como sensibles, intermedias o resistentes.

**Figura 21.** Clasificación de perfil de resistencia antimicrobiano



Se observa una representación gráfica en la Figura 21, del perfil de resistencia antimicrobiana proporcionado por el LCRSP/ICGES, realizado por el método de difusión y clasificado por sensible, intermedio o resistente contra los antimicrobianos evaluados.

**Tabla 17.** *Genes de resistencia antimicrobiana identificados por la plataforma EnteroBase*

| <b>Gen de RAM</b>                       | <b>Cantidad de genes encontrados</b> |
|-----------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>gyrA_D87Y</b>                        | 1                                    |
| <b>aph(6)-Id,aac(3)-IId,aph(3'')-Ib</b> | 1                                    |
| <b>blaCTX-M-14</b>                      | 1                                    |
| <b>blaTEM-1</b>                         | 1                                    |
| <b>floR</b>                             | 1                                    |
| <b>qnrS1</b>                            | 1                                    |
| <b>sul2</b>                             | 1                                    |
| <b>tet(A),tet(B),tet(M)</b>             | 1                                    |
| <b>qnrB19</b>                           | 4                                    |

Se presenta en la Tabla 17 un listado de genes detectados mediante el método de secuenciación de nueva generación, utilizando la base de datos de la plataforma bioinformática EnteroBase.

## DISCUSIÓN

En los datos presentados en la Tabla 10, se observa que para la realización de este trabajo se seleccionaron 79 cepas de *Salmonella enterica* almacenadas en el biobanco del Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública (LCRSP) en el Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES), con una distribución entre los años 2021 a 2025 (Figura 8).

El diseño inicial del estudio contemplaba una distribución equitativa de las cepas aisladas por año, entre 15 y 16 cepas por año, pero al hacer un análisis exhaustivo de la Tabla 10 y la Figura 8 en conjunto, se evidencia una distribución asimétrica durante el quinquenio estudiado. A continuación, se abordarán las posibles causas que puedan explicar estos resultados, año por año.

Al analizar la Tabla 10, en el año 2021 se presentó una selección de 12 cepas de *Salmonella enterica*; aunque este número está cercano al promedio propuesto, la longevidad de las mismas complicó la recuperación de la cepa pura del medio de leche en el que se encontraban almacenadas. Seguido del año 2022, que utilizando la Figura 8 para mejor apreciación, es notorio que posee la mayor cantidad de cepas seleccionadas; probablemente esto se debe a que en ese año específicamente, hubo brotes en diferentes partes del mundo provenientes de diferentes fuentes. En Estados Unidos, *Salmonella* causó la mayor cantidad de brotes en diferentes estados; un total de 50 fueron identificados, representando un 66 % de los brotes en diferentes estados y un 86 % de las enfermedades. Este número de brotes presentó un incremento con respecto al 2021 (CDC, 2025).

En el reporte anual del 2022 del Centro Europeo para el Control y Prevención de Enfermedades (ECDC, por sus siglas en inglés del término European Centre for Disease Prevention and Control), se reportó un aumento del 5.4 % de los casos de salmonelosis comparado con el 2021, tomando en cuenta que es el primer incremento reportado desde la pandemia, donde los casos disminuyeron significativamente; los países con mayor cantidad de casos reportados fueron República Checa y Eslovaquia (Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades, 2024). Igualmente, Inglaterra reportó haber regresado en el 2022 a los números de casos reportados en prepandemia, con un incremento del 61 % de los casos reportados, en comparación con el año anterior, aumentando de 5,033 casos en el 2021 a 8,125 casos en 2022. Londres fue la región con una mayor cantidad de casos, con 1,631 (Agencia de Seguridad Sanitaria del Reino Unido, 2025).

Mientras que en el año 2023 se pudo alcanzar el promedio de cepas seleccionadas, se observa tanto en la Tabla 10 como en la Figura 8 que el año 2024 es el que menos cepas seleccionadas posee entre los años de interés del estudio. Esto se debió a una falla en el almacenamiento dentro del LCRSP, reportado por el Departamento de Microbiología Clínica, que afectó las cepas de ese año y dificultó su recuperación.

El análisis de la procedencia de los aislamientos en la Tabla 11 reveló una marcada concentración geográfica, donde el 97.5 % (n=77) de las cepas fueron recuperadas en instalaciones de la Ciudad de Panamá. Esta predominancia refleja la robustez de la vigilancia epidemiológica en la zona metropolitana (Figura 9), pero también evidencia una limitación en la representatividad de las provincias del interior (2.5 %, n=2). Esta centralización puede atribuirse a la densidad

poblacional y a que los hospitales de la capital funcionan como centros de referencia nacional, recibiendo los casos complejos de todo el territorio panameño.

Otra posible explicación de este comportamiento es la ubicación del LCRSP, que facilita y reduce costos de envío dentro de la misma provincia. A esto se suma el debilitamiento de los laboratorios que refieren sus cepas al LCRSP, situación comentada por el personal de la Sección de Microbiología, quienes indican que, desde la pandemia, la reducción de presupuesto ha limitado las visitas técnicas y, en consecuencia, ha disminuido el envío y la recepción de cepas de *Salmonella enterica* en comparación con el flujo habitual previo a la pandemia.

Estos resultados coinciden con lo reportado por la Organización Panamericana (OPS) en sus informes de vigilancia en países en desarrollo, donde la capacidad de respuesta y envío de muestras suele estar concentrada en los centros urbanos y hospitales de tercer nivel (Organización Panamericana de la Salud, 2024). No obstante, este fenómeno debe interpretarse con cautela, ya que, aunque las cepas fueron aisladas en la capital, es esta ciudad la que actúa como un centro de referencia nacional, lo que podría incluir casos importados de otras provincias.

Según el LCRSP, esta red nacional de laboratorios actualmente está conformada por 37 instalaciones a nivel nacional, tanto públicas como privadas, con la finalidad de recibir las muestras de todas las provincias, en especial aquellas de notificación obligatoria como la *Salmonella*. Colocando esta información en contexto con los resultados descritos en el párrafo anterior, se demuestra la necesidad de la descentralización tecnológica para hacer metodologías como la secuenciación de nueva generación más accesibles al resto del país.

Uno de los aportes que se espera lograr con este estudio, es facilitar la estandarización e implementación de este método en otros centros de vigilancia epidemiológica como en el Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES en la provincia de Chiriquí y en Veraguas, que podría optimizar el envío y procesamiento de muestras provenientes tanto de Chiriquí, Bocas de Toro y Comarcas, y también en provincias centrales como Veraguas, Herrera y Los Santos, mejorando la cobertura y disminuyendo la concentración geográfica de las muestras.

Como se mencionó previamente, hay 37 laboratorios que forman parte de la red nacional que refiere sus muestras al LCRSP. Las 79 cepas de *Salmonella* seleccionadas y procesadas provienen de 10 instalaciones que participan en esta red (Figura 10), en la Tabla 12 según su clasificación pública o privada, mostrando que 48 cepas provenían de 7 hospitales públicos, mientras que 31 cepas de hospitales privados, lo que representa un 61 % y un 39 %, respectivamente, ilustrado en la Figura 11.

En cuanto a la clasificación de las instalaciones, la distribución entre el sector público (n=48) y el privado (n=31) demuestra una integración efectiva de la red nacional de vigilancia. El hecho de que casi el 40 % de los aislamientos provengan de hospitales privados es particularmente relevante en estudios basados en la secuenciación de genoma completo, ya que permite evaluar si los linajes genómicos de *Salmonella enterica* circulantes y sus perfiles de resistencia antimicrobiana se distribuyen de manera transversal entre distintos contextos de atención y niveles socioeconómicos de la población urbana.

La participación del sector privado cobra mayor relevancia en el marco de la vigilancia genómica, ya que, como señalan Struelens et al. (2024), una vigilancia efectiva requiere la

integración de todos los sectores de salud para capturar la verdadera diversidad de linajes circulantes y evitar sesgos en la detección de genes o mutaciones.

Aunque en conjunto predominan los hospitales públicos, en forma más detallada la Figura 12 revela que el Hospital Pacífica Salud (instalación privada) realiza el mayor aporte individual de cepas con 25, muy seguido por el Hospital Santo Tomás (instalación pública) con 23 cepas. Es relevante mencionar que las únicas dos instalaciones fuera de la ciudad capital (Hospital Rafael Hernández y Hospital Regional Luis “Chicho” Fábrega) aportaron una muestra cada una, respaldando las necesidades mencionadas en el punto anterior.

En cuanto a la naturaleza de los especímenes clínicos donde se aislaron las cepas, observada en la Figura 13, el 64.5 % (n=51) de los aislamientos se obtuvieron de muestras de heces, lo cual es consistente con la presentación clásica de la gastroenteritis por *Salmonella*. Sin embargo, es notable que un 29.1 % (n=23) de las cepas fueron recuperadas de hemocultivos. Este hallazgo es clínicamente significativo, ya que identifica una proporción considerable de *Salmonella* No Tifoidea Invasiva (iNTS) circulando en centros hospitalarios de la Ciudad de Panamá. Según el CDC, la muestra estándar de oro para aislar la bacteria son las heces (Asociación de laboratorios de salud pública (E.E.U.U.), 2024); sin embargo, hay un aumento de salmonelosis no tifoidea invasiva, lo que permite el aislamiento de otros tipos de muestra como sangre, orina y otras secreciones.

La predominancia de muestras de heces reafirma a *Salmonella enterica* entre los principales agentes de gastroenteritis transmitida por alimentos y sugiere que la sospecha clínica en la población analizada se centra en patologías de origen gastrointestinal, en línea con las

estadísticas globales de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Sin embargo, el hallazgo de un 29.1 % (n=23) de aislamientos en sangre es un indicador crítico de la carga de iNTS en la población panameña. Según Stanaway (2019), la iNTS representa una de las principales causas de bacteriemia en regiones con sistemas de salud en desarrollo, asociándose a una mayor morbilidad y a la presencia de determinantes genéticos de virulencia que facilitan la invasión sistémica.

La recuperación de cepas en sitios anatómicos inusuales como secreción hepática, secreción de cuello y esputo (6.4 %) evidencia la plasticidad patogénica de estos serovares. Como sugieren Crump et al. (2015), estas complicaciones extraintestinales son poco frecuentes, pero altamente correlacionadas con cepas que poseen islas de patogenicidad y perfiles de multirresistencia, elementos que la secuenciación de genoma completo permite identificar con una precisión inalcanzable para los métodos fenotípicos.

Estudios sugieren que las infecciones del torrente sanguíneo de las salmonelosis no tifoideas son muy serias, con un 20 % de tasa de mortalidad, aunque se recurra a la hospitalización (Worley, 2023). Al ser el hígado parte del sistema encargado de filtrar la sangre, es común que este sea colonizado, lo que podría explicar el porqué de una secreción hepática entre nuestra lista de muestras de donde se aisló la bacteria, donde se disemina por otros órganos como la vejiga, lo que podría también ser una teoría de por qué hay cepas aisladas de muestras de orina convencionales.

La distribución de los serovares identificados por el LCRSP (esquema Kauffmann-White-Le Minor) observada en la Tabla 14 y la Figura 15 muestra una predominancia del serovar

Enteritidis (53.2%; n=42) sobre el serovar Typhimurium (46.8%; n=37). Esto concuerda con los reportes de la Organización Mundial de la Salud y los datos de vigilancia de la red PulseNet Latinoamérica y el Caribe, que posicionan a este serovar como la mayor causal de brotes de salmonelosis (Organización Mundial de la Salud, 2018).

La metodología empleada por el LCRSP, basada en aglutinación con antisueros siguiendo el esquema de White-Kauffmann-Le Minor (WKL), ha sido históricamente el pilar de vigilancia epidemiológica. Sin embargo, autores como Uelze et al. (2020) señalan que, aunque el esquema es altamente específico, depende de la expresión fenotípica de los antígenos superficiales (O y H), la cual puede verse alterada en cepas rugosas o no aglutinables. En este contexto, el uso de secuenciación de genoma completo en el presente estudio no solo busca validar los resultados del LCRSP, sino superar las limitaciones del método tradicional.

Al examinar la distribución anual de los aislamientos en la Figura 16, reveló una dinámica fluctuante entre 2021 y 2025. Se identificó un pico máximo de incidencia en el año 2022 (n=25); este aumento coincide con la fase de recuperación pospandemia, un fenómeno descrito por la OMS, donde el restablecimiento de las cadenas globales de alimentos facilitó la reemergencia de serovares, y señalado previamente.

La persistencia de *Salmonella* Enteritidis como el serovar dominante en la mayoría de los años analizados sugiere una fuente de contaminación estable en la red de distribución local. De acuerdo con Stanaway (2019), la estabilidad de ciertos serovares en regiones específicas suele estar vinculada a reservorios animales domésticos que actúan como fuentes de infección recurrente.

Llama la atención en la Figura 16 que en este mismo periodo (2022) la *Salmonella* Typhimurium superó por única vez a Enteritidis. Es importante recordar que la *Salmonella* serovar Typhimurium está siendo monitoreada a nivel mundial, debido a la aparición de una variante monofásica mucho más peligrosa, que muy difícilmente puede ser detectada con los métodos tradicionales (esquema WKL).

Desde la perspectiva metodológica, el uso del esquema White-Kaufmann-Le Minor permitió identificar estos cambios de frecuencia; no obstante, la aplicación de la secuenciación de genoma completo en este estudio fue crucial para determinar si se mantiene la continuidad clónica entre estos años o si existe una introducción de nuevos determinantes genéticos de resistencia. Utilizar el método de secuenciación de nueva generación en esas mismas cepas serotipificadas por antisuero en el LCRSP nos permitió obtener los serovares más específicos y poder realizar comparaciones.

Hasta este momento, los resultados discutidos incluían solamente la información proporcionada por la base de datos de la Sección de Microbiología del LCRSP; en adelante, se introducirá los resultados obtenidos mediante la secuenciación de genoma completo con el método de secuenciación de nueva generación en conjunto con la interpretación de datos de las plataformas EnteroBase y CGE.

El perfil genómico de las cepas analizadas está dominado por dos linajes principales que representan el 77.2 % (n=61) de las 79 procesadas. El serovar más frecuente fue *Salmonella* Enteritidis con 41 casos (51.9 %), seguido de una presencia crítica de la variante monofásica del

serovar Typhimurium (I 1,4,[5], 12:i-) con 20 casos (25.3 %), siendo este último un hallazgo clave de este estudio y que ha sido presentado en la Figura 17.

Como indican Diep et al. (2019), la serotipificación in silico mediante herramientas como SISTR (proviene del inglés *Salmonella* In Silico Typing Resource, que se puede traducir como Recurso de tipificación in silico de *Salmonella*) en EnteroBase o SeqSero2 en CGE, ofrecen una resolución superior, permitiendo esta diferenciación de variantes de Typhimurium, que a menudo son difíciles de caracterizar mediante antiseros convencionales y que han mostrado una emergencia global debido a su alta resistencia a los antibióticos y transmisibilidad.

A diferencia de la variante monofásica, la forma clásica de *Salmonella* Typhimurium se identificó en 13 casos (16.5%). De manera complementaria, la secuenciación de genoma completo permitió la detección de otros serovares que demuestran una circulación heterogénea de *Salmonella enterica* en Panamá, con frecuencias menores de casos únicos: Saintpaul y Typhimurium/Lagos, junto a los serovares IIIa Y:g,z51:- y IV 50:g,z51:-, siendo estos dos últimos de especial interés clínico, ya que se desvían de la subespecie entérica (I).

Se observó una alta concordancia inicial en el caso de *Salmonella* Enteritidis; solo una cepa fue reclasificada, quedando 41 de las 42 cepas seleccionadas (Tabla 15). Según Zhou et al. (2019), las discrepancias menores en este grupo suelen deberse a la presencia de otros serovares del serogrupo D que comparten antígenos O idénticos, donde solo el análisis de cgMLST en plataformas como EnteroBase puede discriminar variaciones a nivel de nucleótidos.

La diferencia más crítica se revela en el grupo inicialmente reportado como Typhimurium. De los 37 aislamientos identificados por el LCRSP, la secuenciación de genoma completo detectó que solo 14 (37.8 %) correspondían al serovar clásico, y la mayoría de estas cepas (n=20) fueron identificadas con precisión como la famosa variante monofásica I 1,4,[5], 12:i:-. Este hallazgo es especialmente relevante, ya que ayuda a reducir vacíos de información sobre la circulación de esta variante en el país y aporta datos importantes para fortalecer el control epidemiológico y la protección de la salud pública en Panamá.

Esta reclasificación es esencial, ya que la variante monofásica a menudo carece de la expresión del antígeno flagelar de segunda fase (Fase 2), lo que provoca que los antisueros convencionales la identifiquen erróneamente o la clasifiquen como no tipificable. Diep et al. (2019), señalan que la secuenciación de genoma completo elimina la ambigüedad de las pruebas de aglutinación, permitiendo la identificación de clones multirresistentes que están desplazando a los linajes ancestrales en todo el mundo.

Desde el 2021, se refleja en la Figura 18 una aparición de discrepancias en cuanto a la identificación de serovares, que según la serotipificación por antisueros eran Enteritidis o Typhimurium, y mediante NGS se obtuvieron los serovares Saintpaul, Typhimurium/Lagos, IIIa Y:g,z51:- e IV 50:g,z51:.. No se puede asegurar si la detección por método tradicional pasó desapercibidos los serotipos o si durante el procesamiento de las cepas hubo algún error aleatorio (ejemplo: alguna variación de la temperatura que afectó la calidad de la cepa), un error sistemático (ejemplo: fusión accidental del ADN durante la preparación de las librerías) o errores de redacción (ejemplo: colocar un código de cepa incorrecto).

Entre estas discrepancias, son los serotipos IIIa y IV 50:g,z51:- los de mayor interés para la continuación de investigaciones, debido a la falta de estudios complementarios que puedan indicar si son producto de un error durante la realización del proyecto, o si se tratan de nuevos serotipos no antes descritos. El método tradicional tiene un límite de resolución cuando se enfrenta a subespecies no entéricas (IIIa y IV), y la identificación de estas en Panamá es alarmante, pues suelen asociarse a reservorios de animales exóticos y pueden causar cuadros clínicos severos. Según Uelze et al. (2020), la red PulseNet y el CDC, la serotipificación mediante secuenciación de genoma completo es el “nuevo estándar de oro”, buscando superar esas limitaciones de los Laboratorios Centrales de Referencia que dependen de los antisueros.

Las bases de datos de estas plataformas son cada vez más precisas, debido a que cada corrida de secuenciación que se cargue dentro de ellas se va comparando en tiempo real con todas las demás a nivel mundial. Muchas de estas plataformas bioinformáticas son gratuitas, con la finalidad de que sean accesibles para que los laboratorios puedan compartir sus datos y sean de uso público para el resto de los usuarios.

El perfil de virulencia determinado por secuenciación de genoma completo resalta una alarmante homogeneidad en la capacidad de persistencia de las cepas recuperadas en Panamá en el periodo 2021-2025. Se ilustra en la Figura 19 una prevalencia dominante de las islas SPI-14 (N=78), SPI-6 (n=77) y SPI-3 (n=75). Esta combinación sugiere que las cepas circulantes poseen un alto potencial patogénico tanto para la colonización intestinal como para la diseminación sistémica, según Hallstrom & McCormick (2015). El hecho de que esas tres SPI estén presentes en casi la totalidad de los aislamientos explica genómicamente la alta incidencia encontrada en estos resultados de casos de iNTS.

La presencia de SPI-14 en el 98.7 % de las cepas es un descubrimiento fundamental, por estar implicada en la mediación de la invasión de las células epiteliales y ser esencial para la activación de respuestas que facilitan la supervivencia intracelular. Hu et al. (2024) sostiene que la presencia de esta isla potencia la virulencia sistémica de *Salmonella* facilitando su capacidad para atravesar la barrera intestinal y causar bacteremia. Junto con la SPI-6, guarda una correlación directa con el alto número de cepas procedentes de muestras de sangre (29.1 %) reportadas en este estudio, atribuible a su asociación al sistema de secreción y a la supervivencia en macrófagos.

A través de un estudio sobre la prevalencia de islas de patogenicidad de *Salmonella* (Jayaweera et al., 2021), destacan que las SPI-3 son cruciales para el establecimiento de infecciones crónicas y la persistencia en tejidos extraintestinales, ya que contienen un operón *mgtCB*, vital para la adquisición de magnesio, lo que permite a la bacteria persistir dentro del fagosoma. La detección en 75 cepas de este estudio, indica que la mayoría están equipadas para sobrevivir en ambientes pobres en nutrientes y resistir a la respuesta inmune del hospedador (macrófagos).

Otras islas de patogenicidad clásicas, como SPI-1 y SPI-5, también fueron identificadas, aunque con menor frecuencia (n=4 y n=6, respectivamente), mediante secuenciación de genoma completo. De manera similar, la detección poco frecuente de SPI-4 y de la isla CS54 sugiere la posible ocurrencia de eventos de transferencia génica en linajes específicos de las cepas analizadas, lo que podría contribuir a una mayor plasticidad genómica en los serovares locales.

La caracterización de estas islas de patogenicidad permite suponer que las cepas circulantes en Panamá poseen el arsenal genético necesario para la translocación sistémica, validando así la

necesidad de una vigilancia genómica continua para monitorear la evolución de estos factores de virulencia en el país.

Utilizando la herramienta PlasmidFinder de CGE, se identificó una alta prevalencia de los plásmidos IncFII(S) e IncFIB(S), ambos presentes en 74 de las 79 cepas procesadas, mostrado en la Figura 20, representando un 93.6%. Estos plásmidos portan el operón *spv* (*Salmonella* plasmid virulence), el cual es crítico para la supervivencia de la bacteria dentro de los macrófagos y su posterior diseminación sistémica (Guiney & Fierer, 2011).

Sin estos plásmidos, la capacidad para causar bacteremia se ve significativamente reducida, lo que explica genómicamente la alta frecuencia de casos invasivos en sangre (29.1 %). McMillan et al. (2020), reportan que los plásmidos tipo IncF son los principales vehículos de factores de virulencia en *Salmonella enterica*, permitiendo su adaptación a nichos sistémicos en el hospedador humano.

Por otro lado, la identificación de plásmidos de los grupos IncHI2 e IncI1, aunque en una menor proporción, representa una alerta de salud pública. Según Chen et al. (2026), estos elementos son responsables de la diseminación global de la multirresistencia. Su presencia en la red hospitalaria panameña refleja el riesgo de transferencia horizontal de genes de resistencia entre diferentes serovares, lo que podría comprometer la eficacia de los tratamientos antimicrobianos de primera línea en el futuro cercano.

Según los datos que se muestran en la Tabla 16, los perfiles de susceptibilidad fenotípica proporcionados por el LCRSP indican que la población de *Salmonella enterica* circulante en

Panamá entre 2021 y 2025 conserva, en su mayoría, una respuesta favorable a los antibióticos betalactámicos y carbapenémicos. Sin embargo, se observa una erosión significativa en la eficacia de las quinolonas, evidenciada por un 50.6 % de cepas que no presentan sensibilidad completa al ácido nalidíxico.

El hecho de que 11 cepas ya presenten sensibilidad intermedia a la ciprofloxacina es una señal de alerta, ya que este es el fármaco de elección para tratar infecciones graves por *Salmonella*, según McDermott et al. (2018), la pérdida de sensibilidad a quinolonas es el primer paso hacia el fracaso terapéutico en casos invasivos, lo que obliga a pasar al uso de cefalosporinas de tercera generación o azitromicina.

Este patrón de resistencia es consistente con las tendencias descritas por McDermott, donde el uso prolongado de quinolonas ha generado una presión selectiva que favorece la aparición de cepas con sensibilidad disminuida (McDermontt, Zhao, & Tate, 2018). Por otro lado, la estabilidad observada frente a fármacos de reserva como el imipenem y la cefoxitina sugiere que, aunque existen mecanismos de resistencia en evolución, las opciones terapéuticas para infecciones sistémicas graves aún son viables en el entorno hospitalario nacional con respecto a lo que dice la OMS (Organización Mundial de la Salud, 2023).

El resistoma identificado mediante secuenciación de genoma completo en los aislamientos de *Salmonella enterica* en Panamá demuestra, como se presenta en la Tabla 17, una diversidad genética que supera la caracterización fenotípica convencional. La detección de determinantes de importancia crítica, como el gen blaCTX-M-14 y los genes plamídicos de resistencia a

quinolonas (qnrB19 y qnrS1), evidencia el riesgo de diseminación de resistencias a cefalosporinas y fluoroquinolonas en el entorno hospitalario.

Asimismo, la presencia de mutaciones cromosómicas en *gyrA* (D87Y) junto con una amplia variedad de genes asociados a multirresistencia (*floR*, *sul2*, *tet*) sugiere que las cepas circulantes poseen la plasticidad necesaria para sobrevivir bajo diversas presiones selectivas. Estos hallazgos resaltan la necesidad de integrar la vigilancia genómica para detectar de manera temprana estos determinantes de resistencia que podrían no manifestarse plenamente en las pruebas de susceptibilidad *in vitro* estándar, tal como ha sido señalado por la OMS (Organización Mundial de la Salud, 2023).

La notable discrepancia entre la serotipificación convencional y la resolución de la secuenciación de genoma completo, evidencia una subestimación de la diversidad genómica con la emergencia de la variante monofásica del serovar Typhimurium, sino también un resistoma silencioso presente en los hospitales (detección de *bla*CTX-M-14 y mutaciones en *gyrA*) que advierte sobre un riesgo latente de falla terapéutica en casos de salmonelosis invasivas, sumado con el arsenal de virulencia robusto (SPI-14, SPI-6 y SPI-3) y la plasticidad conferida por plásmidos tipo IncF que se correlaciona directamente con la alta frecuencia de bacteremias observadas.

Este estudio no solo reclasifica la taxonomía de aislamientos locales, sino que proporciona la evidencia científica inicial necesaria para fundamentar políticas de control más precisas y una gestión clínica más eficaz frente a la *Salmonella*, un patógeno que demuestra su capacidad de adaptación y diseminación sistémica superior a la reportada previamente en el país.

## **CAPÍTULO V**

### **CONSIDERACIONES FINALES**

## 5.1. Conclusiones

- Se caracterizaron los genomas completos de 79 cepas de *Salmonella enterica* recuperadas del LCRSP utilizando secuenciación de genoma completo mediante secuenciación de nueva generación, comparando con la base de datos de dicho laboratorio.
- Se evaluó la diversidad intra-serovar, demostrando que la secuenciación de genoma completo proporciona una resolución diagnóstica de serovares superior al método tradicional de White-Kauffmann-Le Minor, permitiendo la identificación de la variante monofásica de *Salmonella enterica* ser. Typhimurium, I 1,4,[5], 12:i:— como un componente mayoritario (25.3 %) de las cepas analizadas, y subespecies inusuales (IIIa y IV).
- Se identificó la presencia de genes determinantes de resistencia de alto impacto clínico (blaCTX-M-14, qnrB19, gyrA\_D87Y) y plásmidos de resistencia móvil (IncHI2 e IncII), que no siempre se traducen en perfiles de resistencia fenotípica inmediata (difusión en plato), actuando como un reservorio genético de resistencia en los hospitales panameños.
- Se analizó la patogenicidad de las cepas mediante la detección de genes de islas de patogenicidad (SPI-14, SPI-6 y SPI-3) y plásmidos de virulencia del grupo IncF, lo que correlaciona con el hallazgo de una alta frecuencia de aislamientos de cepas provenientes de muestras extraintestinales (35.4 %), que se traduce en un alto número de casos de *Salmonella* no tifoidea invasiva.
- Se integró la base de datos proporcionada por el LCRSP/ICGES con los resultados obtenidos en este estudio para dar una visión más completa, evidenciando una alta

plasticidad genómica en los aislamientos nacionales, resaltando la urgencia de establecer un programa de vigilancia genómica continua a lo largo del país, para la detección temprana de brotes y linajes multirresistentes. Los datos interpretados por EnteroBase serán liberados para el uso de la plataforma bioinformática a nivel mundial.

- Se concluye que Panamá debe realizar una transición tecnológica en el sistema de salud, implementando una Red de Vigilancia Genómica Nacional basada en la secuenciación de genoma completo, para garantizar una trazabilidad precisa de brotes y políticas de control eficaces bajo el enfoque de “Una Sola Salud”, ya que los métodos tradicionales tienen un poder discriminante menor para detectar las variantes emergentes y los genes de resistencia identificados en este estudio.

## **5.2. Recomendaciones**

- Implementación de la vigilancia genómica rutinaria: Se recomienda una cooperación entre el MINSA y el ICGES para la transición gradual del esquema de serotipificación tradicional hacia la secuenciación de genoma completo como el nuevo estándar de oro que está siendo implementado en otros países.
- Creación de una base de datos genómica nacional: Establecer un repositorio centralizado de secuencias (como EnteroBase) específico para Panamá, que integre datos clínicos, fuentes de aislamiento, demográficos, ambientales y de alimentos, para tener acceso a una trazabilidad en tiempo real e identificar el origen exacto de las infecciones y poder mitigar brotes.
- Fortalecimiento del programa de optimización de antimicrobianos: Al ser la gastroenteritis la manifestación clínica más común, es urgente reforzar la regulación de

la venta de antibióticos sin receta, como también el uso indiscriminado en la industria agropecuaria. Basándonos en la detección de genes de resistencia y la priorización de su vigilancia.

- Mejorar la cobertura tecnológica en el país: Dado que el 97.5 % de las cepas provenían de la capital, es imperativo llevar a cabo estudios que incluyan activamente al resto de las provincias, en especial aquellas con mayor actividad agropecuaria y con alta producción de animales de abasto. Que puede ser logrado a través de la integración de los centros de vigilancia, como el Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES en Chiriquí y Veraguas.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Agencia Chilena para la Inocuidad y Calidad Alimentaria. (Octubre de 2023). *ETA en Chile*.

Obtenido de ACHIPIA: <https://www.achipia.gob.cl/wp-content/uploads/2024/08/Informe-ETAS-CHILE-2023.pdf>

Agencia de Seguridad Sanitaria del Reino Unido. (26 de Junio de 2025). *Datos de Salmonella no tifoidea de 2013 a 2022*. Obtenido de GOV.UK:

<https://www.gov.uk/government/publications/salmonella-national-laboratory-and-outbreak-data/non-typhoidal-salmonella-data-2013-to-2022>

Allard, M., Strain, E., Melka, D., Bunning, K., Musser, S., Brown, E., & Timme, R. (25 de Julio de 2016). *Valor práctico de la trazabilidad de patógenos alimentarios mediante la creación de una red y una base de datos de secuenciación del genoma completo*.

Obtenido de Revista de Microbiología Clínica:

<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/jcm.00081-16>

Ao, T., Feasey, N., Gordon, M., Keddy, K., Angulo, F., & Crump, J. (21 de Junio de 2015).

*Carga mundial de enfermedad invasiva no tifoidea por Salmonella, 2010(1)*. Obtenido de Librería Nacional de Medicina: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25860298/>

Arya, G., Holtslander, R., Robertson, J., Yoshida, C., Harris, J., J., P., . . . Poppe, C. (27 de Enero de 2017). *Epidemiología, patogénesis, genoserotipificación, resistencia a los antimicrobianos y prevención y control de serovares de Salmonella no tifoidea*.

Obtenido de Springer Nature Link: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40588-017-0057-7>

Ashton, P., Nair, S., Peters, T., Bale, J., Powell, D., Painset, A., . . . Group, S. W. (5 de April de 2016). *Identificación de Salmonella para la vigilancia de la salud pública mediante la secuenciación de genoma completo*. Obtenido de PeerJ:

<https://peerj.com/articles/1752/#>

- Asociación de laboratorios de salud pública (E.E.U.U.). (Mayo de 2024). *Aislamiento e identificación de especies de Salmonella en laboratorios de salud pública*. Obtenido de CDC: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/158302>
- Balasubramanian, R., Im, J., Lee, J., Jeon, H., Mogeni, O., Kim, J., . . . Marks, F. (5 de Septiembre de 2018). *La carga mundial y la epidemiología de las infecciones invasivas por Salmonella no tifoidea*. Obtenido de Taylor & Francis Online: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/21645515.2018.1504717#abstract>
- Bansal, N. & Weisenberg E. (2 de Febrero de 2026). *Colon – colitis infecciosa*. Obtenido de Pathology outlines Online: <https://www.pathologyoutlines.com/topic/colonsalmonella.html>
- Bhunja, A. (22 de Mayo de 2018). *Salmonella enterica*. Obtenido de Springer Nature Link: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4939-7349-1\\_15](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4939-7349-1_15)
- Bio-Rad. (s.f.). *Guía de serotipificación bacteriana para Salmonella*. Obtenido de Bio-Rad: [https://www.bio-rad.com/sites/default/files/2024-04/FSD\\_14-0699.pdf](https://www.bio-rad.com/sites/default/files/2024-04/FSD_14-0699.pdf)
- Biomodel. (s.f.). *Electroforesis de proteínas y de ácidos nucleicos*. Obtenido de Biomodel: <https://biomodel.uah.es/tecnicas/elfo/inicio.htm>
- Brenner, F., Angulo, F., Tauxe, R., & B., S. (1 de Julio de 2000). *Nomenclatura de Salmonella*. Obtenido de Revista de Microbiología Clínica: [https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.38.7.2465-2467.2000?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub++0pubmed](https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.38.7.2465-2467.2000?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed)
- Callaway, E. (23 de Febrero de 2017). *Colapso de la sociedad Azteca vinculado a un brote catastrófico de Salmonella*. Obtenido de Gale Academic Onefile: <https://go.gale.com/ps/i.do?id=GALE%7CA482205019&sid=googleScholar&v=2.1&i>

t=r&linkaccess=abs&issn=00280836&p=AONE&sw=w&userGroupName=anon%7E7  
beda18&aty=open-web-entry

Campioni, F. G., Bergamini, A., Rodrigues, M., Tiba-Casa, M., & Falcão, J. (1 de Junio de 2021). *Comparación de la invasión celular, supervivencia de macrófagos y perfiles de citocinas inflamatorias entre los serovares de Salmonella enterica Enteritidis y Dublin de Brasil*. Obtenido de Revista de Microbiología Aplicada:  
<https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/130/6/2123/6715410?redirectedFrom=fulltext>

Canadá, G. d. (5 de Julio de 2016). *Estimaciones anuales de enfermedades transmitidas por alimentos en Canadá*. Obtenido de Gobierno de Canadá:  
<https://www.canada.ca/en/public-health/services/food-borne-illness-canada/yearly-food-borne-illness-estimates-canada.html>

Carattoli, A., Villa, L., Fortini, D., & García-Fernández, A. (Noviembre de 2021). *Plásmidos IncII contemporáneos implicados en la transmisión y propagación de la resistencia a los antimicrobianos en Enterobacteriaceae*. Obtenido de ScienceDirect:  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147619X18300465?via%3Dihub>

CDC. (31 de Enero de 2025). *Resumen de posibles brotes de enfermedades entéricas (intestinales) multiestatales en 2022*. Obtenido de CDC:  
<https://www.cdc.gov/foodborne-outbreaks/php/data-research/summary-2022.html>

CDC. (8 de Enero de 2024). *Secuenciación de genoma completo*. Obtenido de CDC:  
<https://www.cdc.gov/pulsenet/php/wgs/index.html>

Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades. (Febrero de 2024). *Reporte epidemiológico anual de salmonelosis 2022*. Obtenido de Centro Europeo para la

Prevención y el Control de Enfermedades:

[https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SALM\\_AER\\_2022\\_Report.pdf](https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SALM_AER_2022_Report.pdf)

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (4 de Octubre de 2024). *Infección de Salmonella*. Obtenido de CDC: <https://www.cdc.gov/salmonella/about/index.html>

Chacón, R., Ramírez, M., Rodríguez-Cueva, C., Sánchez, C., Quispe-Rojas, W., Astolfi-Ferreira, C., & Piantino, A. (29 de Marzo de 2023). *Caracterización genómica y perfiles genéticos de cepas de Salmonella gallinarum aisladas de gallinas ponedoras con tifoidea aviar en Colombia*. Obtenido de MDPI: <https://www.mdpi.com/2073-4425/14/4/823>

Chen, H., Wan, Y., Su, L., & Chiu, C.. (3 de Junio de 2013). *Infección por Salmonella no tifoidea: microbiología, características clínicas y terapia antimicrobiana*. Obtenido de ScienceDirect: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1875957213000119>

Chen, W., Fang, T., Zhou, X., Zhang, D., Shi, X., & Shi, C. (30 de Septiembre de 2016). *Los plásmidos IncHI2 son predominantes en aislamientos de Salmonella resistentes a los antibióticos*. Obtenido de Librería Nacional de Medicina: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5043248/>

Chu, C., Feng, Y., Chien, A., Songnian, H., Chu, C., & Chiu, C. (Noviembre de 2008). *Evolución de los genes en la filogenia del plásmido de virulencia de Salmonella revelada a partir de la secuenciación de los plásmidos de virulencia de S. enterica serotipo Dublin y análisis comparativo*. Obtenido de ScienceDirect: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0888754308001729>

Consultoría de Calidad y Seguridad Alimentaria. (27 de Julio de 2020). *Salmonella*. Obtenido de Know Food: <https://knowfood.es/salmonella/>

- Contreras, M., Medrano, J., Ibarra, J., Matínez, J., Chaidez, Q., & Castro, N. (14 de Noviembre de 2019). *Los últimos 50 años de Salmonella en México: Fuentes de aislamiento y factores que influyen en su prevalencia y diversidad*. . Obtenido de SciELO: [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-33802019000200101&script=sci\\_arttext&tlng=es](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-33802019000200101&script=sci_arttext&tlng=es)
- Crump, J., & Wain, J. (2017). Salmonella. *Enciclopedia Internacional de Salud Pública*, 425-433.
- Crump, J., Sjölund-Karlsson, M., Gordon, M., & Parry, C. (15 de Julio de 2015). *Epidemiología, presentación clínica, diagnóstico de laboratorio, resistencia a los antimicrobianos y tratamiento antimicrobiano de las infecciones invasivas por Salmonella*. Obtenido de Revisiones de Microbiología Clínica: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/cmr.00002-15>
- Dahal, P. (4 de Mayo de 2024). *Prueba IMViC: Principio, tabla de resultados, ejemplos, usos*. Obtenido de Notas sobre microbios: <https://microbenotes.com/imvic-tests/#imvic-test-result-chart-of-some-common-bacteria>
- Deng, X., Li, S., Xu, T., Zhou, Z., Moore, M., Timme, R., . . . Fields, P. (24 de Febrero de 2025). *Microbiología aplicada y ambiental*. Obtenido de Serotipos de Salmonella en la era genómica: interpretación simplificada de los serotipos de Salmonella a partir de datos de secuencias de ADN: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aem.02600-24>
- Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. (s.f.). *Daniel E. Salmon*. Obtenido de Biblioteca Nacional de Agricultura: <https://www.nal.usda.gov/exhibits/speccoll/exhibits/show/parasitic-diseases-with-econom/item/8203>

- Dhanashree, B., & Shenoy, S. (16 de Julio de 2024). *Estudio clínico-microbiológico de infecciones por Salmonella no tifoidea en Karnataka, India*. Obtenido de Librería Nacional de Medicina: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11265940/>
- Diep, B., Barretto, C., Portmann, A., Fournier, C., Karczmarek, A., Voets, G., . . . Klijn, A. (10 de Noviembre de 2019). *Serotipificación de Salmonella: comparación del método tradicional con un método basado en microarrays y una plataforma in silico que utiliza datos de secuenciación del genoma completo*. Obtenido de Frontiers: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2019.02554/full>
- Dos Santos, A., Ferrari, R., & Conte, C. (21 de Mayo de 2018). *Factores de virulencia en Salmonella Typhimurium: La sagacidad de una bacteria*. Obtenido de Springer Nature Link
- Elder, J., Paul, N., Burin, R., Guard, J., & Shah, D. (Diciembre de 2018). *Organización genómica y papel de SPI-13 en la aptitud nutricional de Salmonella*. Obtenido de ScienceDirect: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1438422118303400>
- Elnekave, E., Hong, S., Lim, S., Johnson, T., Perez, A., & Alvarez, J. (26 de Agosto de 2020). *Comparación de la serotipificación con la secuenciación del genoma completo para la subtipificación de Salmonella enterica no tifoidea: un análisis a gran escala de 37 serotipos con impacto en la salud pública en los EE. UU.* Obtenido de Sociedad de Microbiología: [https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/mgen/10.1099/mgen.0.000425?\\_\\_cf\\_chl\\_tk=yxOpbleDgbzm1JLlV3AtW2shORkrGMbSf6paxLWN.Dk-1769764883-1.0.1.1-bhZdTgyd7W.DJPDeUS4Aof.P6dpvLjfGI4ClmhH6Sk](https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/mgen/10.1099/mgen.0.000425?__cf_chl_tk=yxOpbleDgbzm1JLlV3AtW2shORkrGMbSf6paxLWN.Dk-1769764883-1.0.1.1-bhZdTgyd7W.DJPDeUS4Aof.P6dpvLjfGI4ClmhH6Sk)

- FDA - Administración de alimentos y drogas. (Mayo de 2024). *Manual analítico bacteriológico. Capítulo 5: Salmonella*. Obtenido de FDA:  
<https://www.fda.gov/media/178914/download?attachment>
- Ferrari, R., Panzenhagen, P., & Conte-Junior, C. (21 de Diciembre de 2017). *Métodos fenotípicos y genotípicos elegibles para el seguimiento del origen de Samonella Typhimurium*. Obtenido de Frontiers:  
<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2017.02587/full>
- Ferrari, R., Rosario, D., Cunha-Neto, A., Mano, S., Figueiredo, E., & Conte-Junior, C. (1 de Julio de 2019). *Epidemiología mundial de los serovares de Salmonella en alimentos de origen animal: un metanálisis*. Obtenido de National Library of Medicine:  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6606869/>
- Gal-Mor, O., Boyle, E., & Grassl, G. (3 de Agosto de 2014). *Misma especie, diferentes enfermedades: cómo y por qué difieren los serovares de Salmonella enterica tifoidea y no tifoidea*. Obtenido de Frontiers:  
<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2014.00391/full>
- Gomes, E., Araújo, D., Nogueira, T., Oliveira, R., Silva, S., Oliveira, L., . . . Castro, J. (27 de Abril de 2025). *Avances en la secuenciación del genoma completo de patógenos transmitidos por alimentos: implicaciones para la vigilancia clínica de enfermedades infecciosas y la salud pública*. Obtenido de Frontiers:  
<https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2025.1593219/full>

- Grimont, P., & Weill, F.-X. (2007). *Fórmulas antigénicas de los serovares de Salmonella*.  
Obtenido de Insitut Pasteur: [https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng\\_0.pdf](https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf)
- Guiney, D., & Fierer, J. (14 de Junio de 2011). *El rol de los genes spv en la patogénesis de Salmonella*. Obtenido de Librería Nacional de Medicina:  
<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3117207/>
- Hallstrom, K., & McCormick, B. (2015). *Capítulo 16 - Islas de patogenicidad: orígenes, estructura y funciones en la patogénesis bacteriana*. Obtenido de ScienceDirect:  
<https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/abs/pii/B9780123971692000160>
- Hu, Z., Ojima, S., Zhu, Z., Yu, X., Sugiyama, M., Haneda, T., . . . Hu, D. (22 de Mayo de 2024). *La isla de patogenicidad 14 de Salmonella es un factor de virulencia crítico responsable de la infección sistémica en pollos causada por Salmonella gallinarum*. Obtenido de Frontiers: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2024.1401392/full>
- Huang, H., Naushad, S., & Ogunremi, D. (14 de Septiembre de 2023). *Salmonella: una breve reseña*. Obtenido de IntechOpen: <https://www.intechopen.com/chapters/88131>
- Illumina. (Enero de 2016). *Nextera DNA Library prep*. Obtenido de Guía de referencia Illumina : [https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry\\_documentation/samplepreps\\_nextera/nextera-dna-library-prep-reference-guide-15027987-01.pdf](https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/samplepreps_nextera/nextera-dna-library-prep-reference-guide-15027987-01.pdf)
- Illumina. (Mayo de 2022). *Preparación de librería Nextera XT DNA* . Obtenido de Illumina: [https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry\\_documentation/samplepreps\\_nextera/nextera-xt/nextera-xt-library-prep-checklist-1000000006566-03.pdf](https://support.illumina.com/content/dam/illumina-support/documents/documentation/chemistry_documentation/samplepreps_nextera/nextera-xt/nextera-xt-library-prep-checklist-1000000006566-03.pdf)

Illumina. (s.f.). *Kit de preparación de librería Nextera XT DNA*. Obtenido de illumina:

[https://support.illumina.com/sequencing/sequencing\\_kits/nextera\\_xt\\_dna\\_kit/contents\\_storage.html](https://support.illumina.com/sequencing/sequencing_kits/nextera_xt_dna_kit/contents_storage.html)

Instituto Nacional de Investigación del Genoma Humano. (27 de Septiembre de 2019).

*Secuenciación del ADN*. Obtenido de NIH: <https://www.genome.gov/es/about-genomics/fact-sheets/Secuenciacion-del-ADN>

Jajere, S. (6 de Abril de 2019). *Una revisión de Salmonella enterica con especial atención a los factores de patogenicidad y virulencia, la especificidad del huésped y la resistencia a los antimicrobianos, incluida la resistencia a múltiples fármacos*. Obtenido de

Biblioteca Nacional de Medicina: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6515828/>

Jaramillo, E., Flórez, L., & Ocampo, I. (3 de Enero de 2025). *Alta prevalencia de Salmonella spp. en embutidos artesanales de cerdo listos para consumir en establecimientos de venta de alimentos en Quindío, Colombia*. Obtenido de MDPI:

<https://www.mdpi.com/2076-0817/14/1/31>

Jayaweera, T., Ruwandeepika, H., Deekshit, V., Vidanarachchi, J., Kodithuwakku, S.,

Karunasagar, I., & Cyril, H. (Mayo de 2021). *Prevalencia de los genes de las islas de patogenicidad de Salmonella (SPI1, SPI2, SPI3 y SPI5) en especies de Salmonella aisladas de carne fresca de pollo de engorde en Sri Lanka*. Obtenido de Revista de Ciencias de la Agricultura: <https://jas.sljol.info/articles/10.4038/jas.v16i2.9339>

Jiang, L., Feng, L., Yang, B., Zhang, W., Wang, P., Jiang, X., & Wang, L. (2 de Junio de 2017). *Vía de transducción de señales mediada por el nuevo regulador LojA para la invasión de Salmonella Typhimurium inducida por baja tensión de oxígeno*. Obtenido de PLOS Pathogens:

<https://journals.plos.org/plospathogens/article?id=10.1371/journal.ppat.1006429>

- Jønsson, R., Ingholt, M., & Krogfelt, K. (22 de Diciembre de 2024). *Fritz Kauffmann: Innovador en clasificación microbiana*. Obtenido de Biblioteca Nacional de Medicina: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11664200/>
- Kumar, G., Kumar, S., Jangid, H., Dutta, J., & Shidiki, A. (3 de Febrero de 2025). *El aumento de la Salmonella no tifoidea: un problema emergente de salud pública mundial*. Obtenido de Frontiers: <https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2025.1524287/full>
- López-Moreno, H. (Marzo de 2012). *Genes involucrados en la patogénesis, persistencia y excreción de Salmonella en modelos animales*. Obtenido de ResearchGate: [https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Modelo-esquemático-de-infección-por-Salmonella-enterica-Tomado-y-modificado\\_fig1\\_234113380](https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Modelo-esquemático-de-infección-por-Salmonella-enterica-Tomado-y-modificado_fig1_234113380)
- Lorenzo, J., Munekata, P., Dominguez, R., Pateiro, M., Saraiva, J., & Franco, D. (2018). *Capítulo 3 - Principales grupos de microorganismos relevantes para la seguridad y estabilidad de los alimentos: aspectos generales y descripción general*. Obtenido de Science Direct: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/pii/B9780128110317000030>
- Lou, L., Zhang, P., Piao, R., & Wang, Y. (30 de Julio de 2019). *Isla de patogenicidad 1 de Salmonella (SPI-1) y su compleja red reguladora*. Obtenido de Frontiers: <https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2019.00270/full>
- Maiden, M., Jansen, M., Bray, J., Earle, S., Ford, S., Jolley, K., & McCarthy, N. (2 de Septiembre de 2013). *MLST revisitado: el enfoque gen por gen para la genómica*

*bacteriana*. Obtenido de Nature Reviews Microbiology:

<https://www.nature.com/articles/nrmicro3093>

Mainar, R. (12 de Junio de 2013). *Salmonella en aves silvestres: ¿un riesgo para el porcino?*

Obtenido de Comunidad Profesional Porcina:

[https://www.3tres3.com/latam/articulos/salmonella-en-aves-silvestres-%C2%BFun-riesgo-para-el-porcino\\_11687/](https://www.3tres3.com/latam/articulos/salmonella-en-aves-silvestres-%C2%BFun-riesgo-para-el-porcino_11687/)

McDermontt, P., Zhao, S., & Tate, H. (19 de July de 2018). *Resistencia antimicrobiana en*

*Salmonella no tifoidea*. Obtenido de Microbiology Spectrum :

[https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.arba-0014-2017?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub++0pubmed](https://journals.asm.org/doi/10.1128/microbiolspec.arba-0014-2017?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed)

McMillan, E., Jackson, C., & Frye, J. (7 de Octubre de 2020). *Plásmidos transferibles de*

*Salmonella enterica* asociados con genes de resistencia a antibióticos. Obtenido de Frontiers:

<https://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.562181/full>

McMillan, E., Nguyen, L., Hiott, L., Sharma, P., Jackson, C., Frye, J., & Chen, C. (23 de

Octubre de 2021). *Comparación genómica de plásmidos conjugativos de Salmonella enterica y Escherichia coli que codifican betalactamasas y son capaces de movilizar la resistencia a la kanamicina Plásmidos tipo Col*. Obtenido de MDPI:

<https://www.mdpi.com/2076-2607/9/11/2205>

Mileto, I., Romano, G., Gaiarsa, S., Grassia, G., Bagnarino, J., Piralla, A., . . . Corbella, M. (26

de Noviembre de 2025). *Secuenciación de genoma completo como alternativa fiable para la serotipificación de Salmonella: un estudio comparativo con el método estándar de oro*. Obtenido de Biblioteca nacional de medicina:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12689982/#:~:text=WGS%20offers%20superior%20discriminatory%20power,et%20al.%2C%202012>).

Ministerio de Salud (MINSA). (22 de Octubre de 2014). *Decreto Ejecutivo N° 1617*. Obtenido de Gaceta Oficial Digital : [https://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/publicacion-general/decreto\\_ejecutivo\\_1617\\_de\\_21\\_oct\\_2014.pdf](https://www.minsa.gob.pa/sites/default/files/publicacion-general/decreto_ejecutivo_1617_de_21_oct_2014.pdf)

Ministerio de Salud (MINSA). (s.f.). *Casos reportados de enfermedades hidroalimentarias en la República, según tipo, provincia y comarca indígena: años 2017 - 2021*. Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Censo:  
<https://www.inec.gob.pa/archivos/P028956252023032715574405.xlsx>

Ministerio de Salud (MINSA). (s.f.). *Casos reportados de enfermedades hidroalimentarias en la República, según tipo, provincia, comarca indígena: años 2019-23*. Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Censo:  
<https://www.inec.gob.pa/archivos/P05795186202512181131485.pdf>

Ministerio de Salud de Costa Rica. (30 de Septiembre de 2017). *Estimación de la carga de diarrea de presunto origen infeccioso, shigelosis y salmonelosis. Costa Rica, CIRCA, 2012*. Obtenido de BINASSS: [https://www.binasss.sa.cr/opac-ms/media/digitales/2023-04-10\\_Estudio%20Carga%20de%20diarreas%20de%20presunto%20origen%20infeccioso.pdf](https://www.binasss.sa.cr/opac-ms/media/digitales/2023-04-10_Estudio%20Carga%20de%20diarreas%20de%20presunto%20origen%20infeccioso.pdf)

Mkangara, M. (11 de Septiembre de 2023). *Prevención y control de infecciones humanas por Salmonella enterica: una implicación en la seguridad alimentaria* . Obtenido de Wiley Online Library : <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2023/8899596>

Mumy, K. (2014). Salmonella. *Enciclopedia de Toxicología*, 211-212.

Nadon, C., Walle, I., Gerner-Smidt, P., Campos, J., Chinen, I., Concepcion-Acevedo, J., . . .

Carleton, H. (8 de Junio de 2017). *PulseNet Internacional: Visión para la implementación de la secuenciación de genoma completo (WGS) para la vigilancia mundial de enfermedades transmitidas por los alimentos*. Obtenido de Biblioteca Nacional de Medicina :

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5479977/#:~:text=The%20PulseNet%20International%20vision%20is,respect%20to%20food%2Dborne%20disease>.

Organización Mundial de la Salud. (20 de Febrero de 2018). *Salmonella (no tifoidea)*.

Obtenido de Organización Mundial de la Salud : [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))

Organización Mundial de la Salud. (21 de Noviembre de 2023). *Resistencia antimicrobiana*.

Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Organización Panamericana de la Salud (OPS). (s.f.). *Red PulseNet América Latina y el*

*Caribe (PNALC)*. Obtenido de OPS: <https://www.paho.org/es/red-pulsenet-america-latina-caribe-pnalc>

Organización Panamericana de la Salud. (2 de Febrero de 2024). *Estrategia y plan de acción*

*sobre la promoción de la salud en el contexto de los Objetivos de Desarrollo Sostenible 2019-2030*. Obtenido de OPS:

<https://www.paho.org/es/documentos/estrategia-plan-accion-sobre-promocion-salud-contexto-objetivos-desarrollo-sostenible>

Organización Panamericana de la Salud. (s.f.). *OPS*. Obtenido de PAHO:

<https://www.paho.org/es/red-pulsenet-america-latina-caribe-pnalc>

Pearce, M., Alikhan, N., Dallman, T., Zhou, Z., Grant, K., & Maiden, M. (2 de Junio de 2018).

*Análisis comparativo de la tipificación de MLST y SNP del genoma central en un brote europeo de Salmonella serovar Enteritidis*. Obtenido de Biblioteca Nacional de Medicina:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5899760/#:~:text=a%20la%20b%C3%BAsq,ueda->

[,An%C3%A1lisis%20comparativo%20de%20la%20tipificaci%C3%B3n%20de%20MLST%20y%20SNP%20del,europeo%20de%20Salmonella%20serovar%20Enteritidis](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5899760/#:~:text=a%20la%20b%C3%BAsq,ueda-,An%C3%A1lisis%20comparativo%20de%20la%20tipificaci%C3%B3n%20de%20MLST%20y%20SNP%20del,europeo%20de%20Salmonella%20serovar%20Enteritidis)

Phan, M.-D. (Diciembre de 2009). *Análisis de plásmidos IncHII en Salmonella enterica serovar Typhi*. Obtenido de Sanger Institute: <https://www.sanger.ac.uk/wp-content/uploads/large-files/285-phan-thesis.pdf>

QIAGEN. (Abril de 2010). *QIAamp DNA mini and blood mini Handbook*. Obtenido de QIAGEN:

<https://mail.google.com/mail/u/0/?tab=rm&ogbl#search/katia+rios/FMfcgzQcqrBbfvvnjVfMBmrMMpjxDw?projector=1&messagePartId=0.1>

Rehman, T., Yin, L., Latif, M., Chen, J., Wang, K., Geng, Y., . . . Ouyang, P. (Diciembre de 2019). *Mecanismo de adhesión de diferentes adhesinas fimbriales de Salmonella*. Obtenido de ScienceDirect:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S088240101930751X>

Ryan, M., O'Dwyer, J., & Adley, C. (30 de Abril de 2017). *Evaluación de la nomenclatura compleja del patógeno de importancia clínica y veterinaria Salmonella*. Obtenido de Wiley Online Library: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1155/2017/3782182>

Rychlik, I., Gregorova, D., & Juricova, H. (Febrero de 2006). *Distribución y función de los plásmidos en Salmonella enterica*. Obtenido de ResearchGate:

[https://www.researchgate.net/publication/7466067\\_Distribution\\_and\\_function\\_of\\_plasmids\\_in\\_Salmonella\\_enterica](https://www.researchgate.net/publication/7466067_Distribution_and_function_of_plasmids_in_Salmonella_enterica)

Saleh, S., Van Puyvelde, S., Staes, A., Timmerman, E., Barbé, B., Jacobs, J., . . .

Deborggraeve, S. (24 de Mayo de 2019). *Los proteomas centrales de Salmonella Typhi, Paratyphi A, Enteritidis y Typhimurium revelan proteínas expresadas de forma diferencial vinculadas a la superficie celular y la patogenicidad*. Obtenido de National Library of Medicine:

[https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6553789/#:~:text=While%20the%20typhoidal%20serovars%20\(Typhi,range%20and%20predominantly%20cause%20gastroenteritis.](https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6553789/#:~:text=While%20the%20typhoidal%20serovars%20(Typhi,range%20and%20predominantly%20cause%20gastroenteritis.)

Shen, P., Jiang, Y., Zhou, Z., Zhang, J., Yu, Y., & Li, L. (23 de Septiembre de 2008).

*Secuencia de nucleótidos completa de pKP96, un plásmido multirresistente de 67 850 pb que codifica qnrA1, aac(6)-Ib-cr y blaCTX-M-24 de Klebsiella pneumoniae.*

Obtenido de Librería Nacional de Medicina:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18812424/>

Sherburne, C., Lawley, T., Gilmour, M., Blattner, F., Burland, V., Grotbeck, E., . . . Taylor, D.

(15 de Mayo de 2000). *La secuencia completa de ADN y el análisis de R27, un gran plásmido IncHI de Salmonella typhi que es sensible a la temperatura para la transferencia*. Obtenido de Librería Nacional de Medicina:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC105367/>

Sia, C., Pearson, J., Howden, B., Williamson, D., & Ingle, D. (Julio de 2025). *Islas de*

*patogenicidad de Salmonella en la era genómica*. Obtenido de Cell Press:

[https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X\(25\)00038-1](https://www.cell.com/trends/microbiology/fulltext/S0966-842X(25)00038-1)

- Stanaway, J. (Diciembre de 2019). *La carga mundial de enfermedad invasiva por salmonella no tifoidea: un análisis sistemático para el Estudio de la Carga Mundial de Enfermedad 2017*. Obtenido de The Lancet:  
[https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(19\)30418-9/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(19)30418-9/fulltext)
- Struelens, M., Ludden, C., Werner, G., Sintchenko, V., Jokelainen, P., & Ip, M. (24 de Abril de 2024). *Vigilancia genómica en tiempo real para un mejor control de las enfermedades infecciosas y la resistencia a los antimicrobianos*. Obtenido de Frontiers:  
<https://www.frontiersin.org/journals/science/articles/10.3389/fsci.2024.1298248/full>
- Sun, H., Wan, Y., Du, P., & Bai, L. (5 de Febrero de 2020). *La epidemiología de la Salmonella Typhimurium monofásica*. Obtenido de Biblioteca nacional de medicina :  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31532231/>
- ThermoFisher Scientific. (8 de Marzo de 2022). *Qubit dsDNA HS Assay Kit*. Obtenido de Guía de usuario invitrogen: [https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/Qubit\\_dsDNA\\_HS\\_Assay\\_UG.pdf](https://documents.thermofisher.com/TFS-Assets/LSG/manuals/Qubit_dsDNA_HS_Assay_UG.pdf)
- Uelze, L., Grütze, J., Borowiak, M., Hammerl, J., Juraschek, K., Deneke, C., . . . Malorny, B. (18 de Febrero de 2020). *Métodos de tipificación basados en datos de secuenciación del genoma completo*. Obtenido de Springer Nature Link:  
<https://link.springer.com/article/10.1186/s42522-020-0010-1>
- Valenzuela, M. (7 de agosto de 2025). *Avances en el control de la Salmonella gracias a prebióticos a base de trigo*. Obtenido de fcfm noticias:  
<https://ingenieria.uchile.cl/noticias/232687/avances-en-el-control-de-salmonella-con-prebioticos-a-base-de-trigo>

Wang, Z., Gu, D., Hong, Y., Hu, Y., Gu, J., Tang, Y., . . . Li, Q. (31 de Octubre de 2023).

*Microevolución de Salmonella 4,[5],12:i:- derivada de Salmonella enterica serovar*

*Typhimurium mediante transposiciones complicadas*. Obtenido de Cell Reports:

[https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(23\)01239-1](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(23)01239-1)

Worley, M. (19 de Septiembre de 2023). *Infecciones del torrente sanguíneo por Salmonella*.

Obtenido de MDPI: <https://www.mdpi.com/2414-6366/8/11/487>

Zalewska, M., Błażejewska, A., Gawor, J., Adamska, D., Goryca, K., Szlag, M., . . .

Popowska, M. (15 de Julio de 2024 ). *Los plásmidos de resistencia IncC e IncXI*

*presentes en cepas de Escherichia coli resistentes a múltiples fármacos aisladas del*

*estiércol de aves de corral en Polonia*. Obtenido de Librería Nacional de Medicina:

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11297818/>

Zhou, Z., Alikhan, N., Mohamed, K., Fan, Y., Atchman, M., & Group, T. A. (6 de Diciembre

de 2019). *Guía del usuario de EnteroBase, con estudios de casos sobre transmisiones*

*de Salmonella, filogenia de Yersinia pestis y diversidad genómica central de*

*Escherichia*. Obtenido de Genome Research:

<https://genome.cshlp.org/content/30/1/138.full>

## **ANEXOS**

**Figura 22.** *Edificio LCRSP/ICGES en la Ciudad de Panamá*



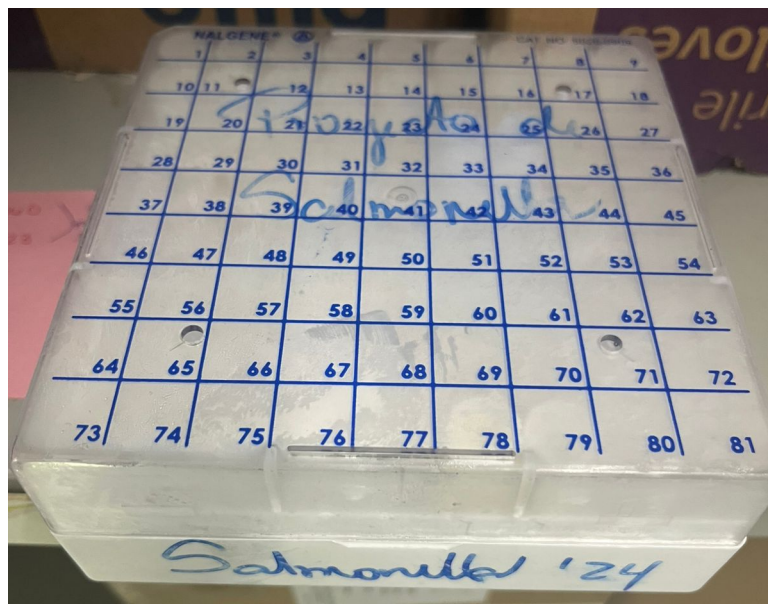
Nota: LCRSP - Laboratorio Central de Referencia en Salud Pública, ICGES - Instituto Conmemorativo de Estudios de la Salud.

**Figura 23.** *Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES en David-Chiriquí*

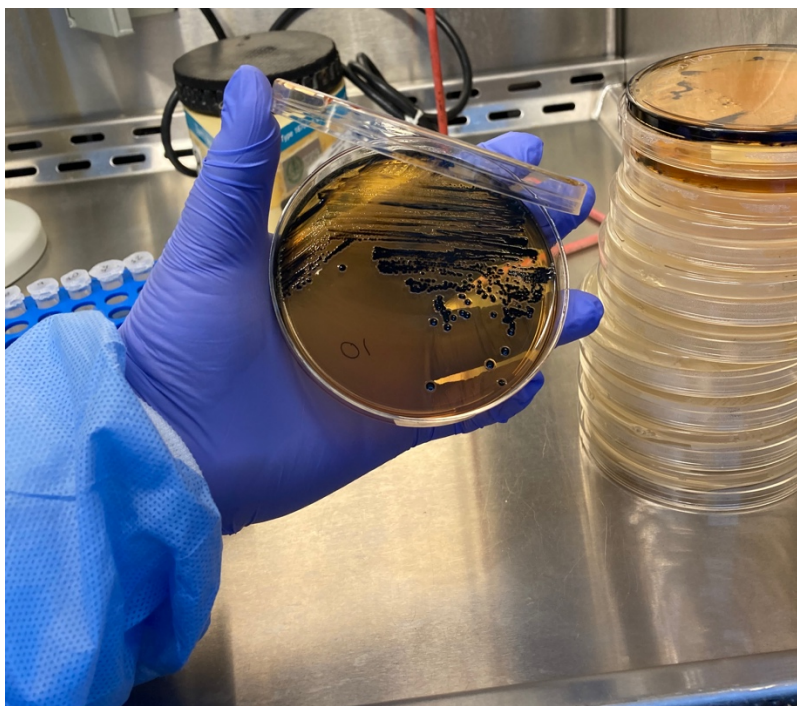


Nota: ICGES - Instituto Conmemorativo de Estudios de la Salud.

**Figura 24.** Selección de cepas almacenadas en leche de *Salmonella enterica*



**Figura 25.** Cultivo de *Salmonella enterica* en agar SS



**Figura 26.** *Embalaje para transporte de muestras e insumos*



**Figura 27.** *Recuperación de cepas de Salmonella enterica en agar SS*

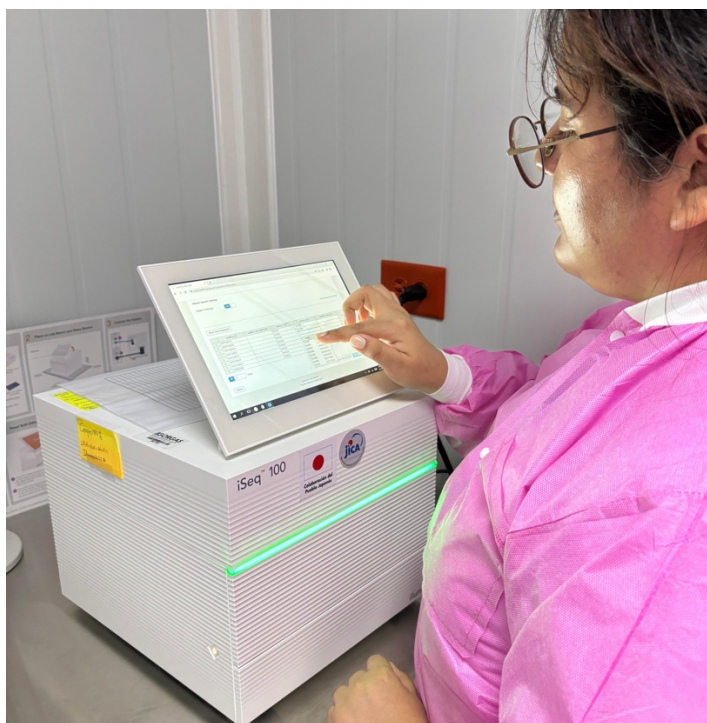


**Figura 28.** *Investigadoras en el procesamiento de las muestras*

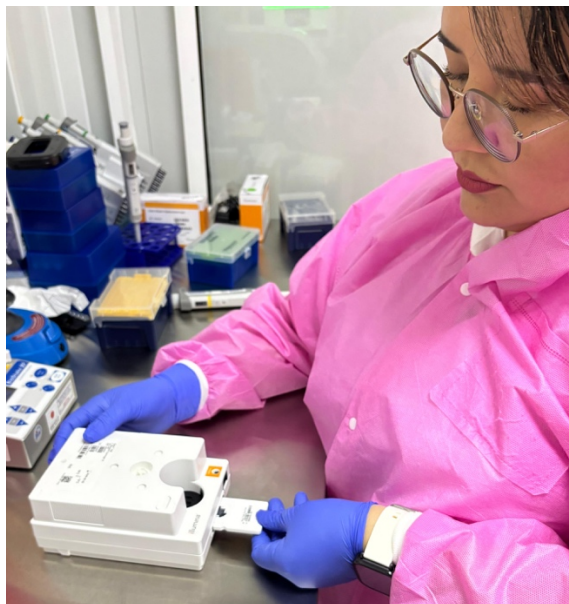


Nota: Mgtr. Katia Ríos de la Sección de Microbiología Clínica del LCRSP/ICGES junta estudiante tesista Sherly Pitano.

**Figura 29.** *Secuenciación de genoma completo en el equipo Illumina iSeq 100*



**Figura 30.** *Colocación de librerías en el cartucho de reactivos del equipo iSeq 100*



**Figura 31.** *Investigadoras en el procesamiento de las muestras*



Nota: Mgtr. Yeinithy Samudio del Laboratorio de Vigilancia Genómica del ICGES en David-Chiriquí junto a la estudiante tesista Sherly Pitano.



Universidad Autónoma de Chiriquí  
Vicerrectoría Académica  
Sistema de Bibliotecas e Información  
Certificado de originalidad



Fecha: 13/2/26

FACULTAD DE MEDICINA.

ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA.

Se certifica que, tras llevar a cabo el proceso de análisis de originalidad y detección de similitudes en el trabajo de investigación titulado “Caracterización mediante secuenciación de genoma completo de Salmonella entérica serovares Enteritidis y Typhimurium recuperados en Panamá del 2021 al 2025” presentado por el/la estudiante PITANO VILLEGAS, SHERLY MARÍA con número de cédula N.º 9-749-608, con la asesoría del profesor DRA. LISSETH SAMUDIO el trabajo cumple con el 100% de originalidad, de acuerdo con el informe emitido por el profesor asesor.

Es importante señalar que el proceso de análisis de plagio se ha realizado utilizando la herramienta Turnitin y siguiendo procedimientos estandarizados para asegurar la precisión de los resultados.

Nota: El uso de la herramienta Turnitin fue aprobada por el Consejo Académico #5 - Sesión extraordinaria - 22 de mayo de 2023 y modificada el 6 de octubre de 2023.

  
Eibar Amaya  
Responsable de  
departamentco



  
Ada Chávez  
Directora del  
SIBIUNACHI

David, 9 de febrero de 2026.

## CERTIFICACIÓN

Yo, **Damaris Itzel Peña Pinto**, con cédula de identidad personal **1-29-745**, Magíster en Lingüística Aplicada con Especialización en Redacción y Corrección de Texto, certifico que he realizado la corrección de estilo del trabajo de grado titulado **“Caracterización mediante secuenciación de genoma completo de *Salmonella enterica* serovares Enteritidis y Typhimurium recuperados en Panamá del 2021 al 2025”**, elaborada por la estudiante **Sherly María Pitano Villegas**, portador de cédula de identidad personal **9-749-608**.

  
M.L. DAMARIS I. PEÑA P.  
1-29-745

REPÚBLICA DE PANAMÁ  
TRIBUNAL ELECTORAL

Damaris Itzel  
Peña Pinto



NOMBRE USUAL:

FECHA DE NACIMIENTO: 10-ABR-1968

LUGAR DE NACIMIENTO: BOCAS DEL TORO, BOCAS DEL TORO

SEXO: F

TIPO DE SANGRE:

1-29-745

EXPEDIDA: 05-ABR-2016 EXPIRA: 05-ABR-2026



*Damaris I Peña*

# UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ

LA FACULTAD DE

Humanidades

EN VIRTUD DE LA POTESTAD QUE LE CONFIEREN LA LEY Y EL ESTATUTO UNIVERSITARIO  
HACE CONSTAR QUE

**Juanavístez Peña Pinto**

HA TERMINADO LOS ESTUDIOS DE MAESTRÍA Y CUMPLIDO CON LOS REQUISITOS  
QUE LE HACEN ACREEDOR AL TÍTULO DE

**Magíster en Lingüística Aplicada con Especialización  
en Redacción y Corrección de Textos**

Y EN CONSECUENCIA, SE LE CONCEDE TAL GRADO CON TODOS LOS DERECHOS, HONORES  
Y PRIVILEGIOS RESPECTIVOS, EN TESTIMONIO DE LO CUAL SE LE EXPIDE ESTE DIPLOMA,  
EN LA REPÚBLICA DE PANAMÁ, A LOS **diecinueve** DÍAS DEL MES DE  
**mayo** DEL AÑO DOS MIL **catorce**.

*M. J. O. J.*

*Montes*

*Profa. L. L. L.*

*Almendra de la Cruz*

Docente - 30281-

Investigadora - 1-22-745

Docente

de Investigación y Proyecto

Facultad