



UNIVERSIDAD DEL AZUAY
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**Resistencia a antibióticos de uso veterinario en
Enterobacterias y *Campylobacter* aisladas de pollos
faenados expendidos en el Mercado “El Arenal” de
Cuenca.**

**Trabajo de graduación previo a la obtención del título de:
INGENIERA EN ALIMENTOS**

Autora:

CARLA STEFANIA DOTA CABRERA

Directora:

MARÍA FERNANDA ROSALES MEDINA

CUENCA, ECUADOR

2017

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios y a mis padres, Rosa y Vicente por darme su apoyo y la oportunidad de estudiar, por inculcarme valores y enseñarme a superarme todos los días, teniendo en ellos el claro ejemplo de que todo se puede conseguir en la vida. A mis hermanos Aldo, Anderson y Matías por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opinión. A mi sobrino Emilio que desde que llegó a este mundo nos ha alegrado los días y en su pequeña cabecita aspira algún día ser un profesional, lo que ha impulsado en mí ser su ejemplo. A todas las personas que en esta etapa universitaria llegaron a mi vida motivándome a cumplir mis metas.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios y a la Virgen que es la luz que guía mi vida, a mis Padres y familiares por su inmenso apoyo, sus consejos y recomendaciones, que me ayudan a ser mejor persona y conseguir mis metas. A mi Directora de tesis María Fernanda Rosales que me dio la oportunidad de realizar con ella mi trabajo de graduación y en este tiempo me ha enseñado todo lo necesario, por lo cual le quedo infinitamente agradecida. A Juan Diego Peñaloza que ha sido mi apoyo en el desarrollo de este trabajo de titulación, por lo que espero que podamos compartir infinitos momentos. Gracias a todos ustedes, los llevo en mi corazón.

ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
ÍNDICE DE CONTENIDO	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO	4
1.1 Los antibióticos y su uso en los animales de consumo humano	4
1.1.1 Tratamiento terapéutico	4
1.1.2 Tratamiento metafiláctico	4
1.1.3 Tratamiento profiláctico	4
1.1.4 Tratamiento para prevenir y estimular el crecimiento	4
1.2 La resistencia a los antibióticos	5
1.2.1 Modificación enzimática del antibiótico	6
1.2.2 Bombas de expulsión	6
1.2.3 Cambios en la permeabilidad de la membrana externa	6
1.2.4 Alteraciones del sitio de acción	6
1.3 Clases de Antibióticos y los mecanismos de resistencia de los microorganismos frente a estos medicamentos	7
1.3.1 Antibióticos Beta-Lactámicos	7
1.3.2 Tetraciclinas	7
1.3.3 Quinolonas	7

1.3.4	Sulfonamidas – Trimetoprim	8
1.3.5	Antibióticos Macrólidos.....	8
1.3.6	Antibióticos Anfenicoles.....	8
1.4	Familia <i>Enterobacteriaceae</i> y su resistencia a antibióticos	9
1.5	<i>Campylobacter spp.</i>	10
CAPITULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS		12
2.1	Localización	12
2.2	Recursos	12
2.2.1	Recursos Institucionales.....	12
2.2.2	Recursos Materiales	12
2.3	Universo de la Muestra.....	12
2.4	Encuesta a los diferentes locales de expendio de productos veterinarios ...	12
2.5	Recolección de las muestras	13
2.6	Metodología.....	13
2.6.1	Determinación de <i>Campylobacter spp.</i>	13
	Técnica Simplate®	13
2.6.2	Identificación de Enterobacterias	14
	Pruebas bioquímicas Microgen® GN A + GN B.	15
2.6.3	Determinación de la Resistencia a antibióticos en bacterias de la Familia <i>Enterobacteriaceae</i> y <i>Campylobacter spp.</i>	16
CAPITULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN		18
3.1	Resultados de la Encuesta	18
3.2	Identificación de Enterobacterias	21
3.2.1	Enterobacterias identificadas en pollos provenientes de los Cantones Paute y Santa Isabel	22
3.2.2	Enterobacterias identificadas en pollos de procedencia de proveedores con marca 1 y marca 2	23
3.3	Enterobacterias resistentes a antibióticos	24
3.3.1	Resistencia de cada Enterobacteria identificada a los 12 antibióticos .	25

3.3.2	Resistencia a antibióticos en las Enterobacterias identificadas en pollos provenientes de los Cantones Paute y santa Isabel	27
3.3.3	Resistencia a antibióticos en las Enterobacterias identificadas en pollos procedentes de los proveedores con marca 1 y marca 2	29
3.4	Presencia de <i>Campylobacter spp.</i>	31
3.4.1	Presencia de <i>Campylobacter spp.</i> , según el lugar de procedencia de la muestra	31
3.5	<i>Campylobacter spp</i> resistente a antibióticos	33
3.5.1	<i>Campylobacter spp.</i> , resistente a antibióticos según el lugar de procedencia de la muestra	34
CONCLUSIONES		42
RECOMENDACIONES		44
BIBLIOGRAFÍA		45
ANEXOS		50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 3. 1: Enterobacterias identificadas mediante pruebas bioquímicas	21
Figura N° 3. 2: Enterobacterias identificadas en pollos provenientes del Cantón Paute.....	22
Figura N° 3. 3: Enterobacterias identificadas en pollos provenientes del Cantón Santa Isabel	23
Figura N° 3. 4: Enterobacterias identificadas en pollos de procedencia del proveedor con marca 1	23
Figura N° 3. 5: Enterobacterias identificadas en pollos de procedencia del proveedor con marca 2	24
Figura N° 3. 6: Resultados de las Pruebas de Resistencia.....	25
Figura N° 3. 7: Resistencia en Enterobacterias aisladas de pollos provenientes del Cantón Santa Isabel.....	27
Figura N° 3. 8: Resistencia a antibióticos en Enterobacterias aisladas de pollos provenientes del Cantón Paute	28
Figura N° 3. 9: Resistencia a antibióticos en Enterobacterias aisladas de pollos procedentes del proveedor con marca 1	29
Figura N° 3. 10: Resistencia a antibióticos en Enterobacterias aisladas de pollos procedentes del proveedor con marca 2	30
Figura N° 3. 11: Presencia de <i>Campylobacter spp.</i> , en pollos frescos	31
Figura N° 3. 12: <i>Campylobacter spp.</i> , según el lugar de procedencia de la muestra	32
Figura N° 3. 13: <i>Campylobacter spp.</i> resistente a antibióticos.....	33
Figura N° 3. 14: Resistencia a antibióticos en <i>Campylobacter spp.</i> aislado de pollos provenientes del Cantón Paute	34
Figura N° 3. 15: Resistencia a antibióticos en <i>Campylobacter spp.</i> aislado de pollos provenientes del Cantón Santa Isabel	35
Figura N° 3. 16: Resistencia a antibióticos en <i>Campylobacter spp.</i> aislado de pollos procedentes del proveedor con marca 1	35
Figura N° 3. 17: Resistencia a antibióticos en <i>Campylobacter spp.</i> aislado de pollos procedentes del proveedor con marca 2	36

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: Recursos Materiales	50
ANEXO 2: Encuesta.....	52
ANEXO 3: Flujograma de identificación de <i>Campylobacter spp.</i>	53
ANEXO 4: Flujograma de la técnica Kirby Bauer para determinar resistencia en <i>Campylobacter spp.</i> y en la familia de Enterobacterias.....	54
ANEXO 5: Dispositivo Simplate® <i>Campylobacter spp.</i>	55
ANEXO 6: Resultados Obtenidos de <i>Campylobacter spp.</i> mediante la técnica Simplate® y tinción de Gram	57
ANEXO 7: Siembra en medios VRB, Verde Brillante para posterior aislamiento de colonias en a medio PCA	59
ANEXO 8: Pruebas bioquímicas de Enterobacterias	61
ANEXO 9: Protocolo Microgen® GN A + GN B para interpretación visual de los datos	62
ANEXO 10: Software de identificación por computadora de Microgen® GN A + GN B	63
ANEXO 11:	65
ANEXO 12: Tablas de las normas NCCLS de resistencia bacteriana 2016	66
ANEXO 13: Pruebas Bioquímicas Micro (GN A + GN B)	68
ANEXO 14: Pruebas de Resistencia en Enterobacterias.....	73
ANEXO 15: Pruebas Simplate® <i>Campylobacter spp.</i>	77
ANEXO 16: Resistencia <i>Campylobacter spp.</i>	81

**RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE USO VETERINARIO EN
ENTEROBACTERIAS Y *CAMPYLOBACTER* AISLADAS DE POLLOS
FAENADOS EXPENDIDOS EN EL MERCADO "EL ARENAL" DE
CUENCA.**

RESUMEN

El uso inadecuado de antibióticos en animales de consumo es uno de los determinantes que contribuye a la aparición de resistencia bacteriana en el ser humano. En el presente trabajo se busca determinar la susceptibilidad a antibióticos en bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* y *Campylobacter spp.* Se analizaron 72 muestras, mediante pruebas bioquímicas MICRO GEN ID se identificaron a once especies de bacterias que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, siendo las bacterias de mayor prevalencia: *Klebsiella oxytoca*, *Burkholderia pseudomallei*, *Escherichia coli*. Aplicando la prueba de resistencia a antibióticos a las Enterobacterias indentificadas se determinó que más del 75% de estas bacterias presentó resistencia a los 12 antibióticos probados. Para la identificación de *Campylobacter spp* se aplicó el método colorimétrico Simplate, analizando 72 muestras, de las cuales 27 dieron positivas representando el 37,5% del total de las muestras, y fueron resistentes a los 12 antibióticos probados en más del 67% de *Campylobacter spp.*, aislado.

Palabras Claves: Susceptibilidad, *Enterobacteriaceae*, *Campylobacter spp.*, método Simplate, MICRO GEN ID.



María Fernanda Rosales Medina

Directora del trabajo titulación



Diana Catalina Chalco Quezada

Coordinadora de la Escuela



Carla Stefania Dota Cabrera

Autora

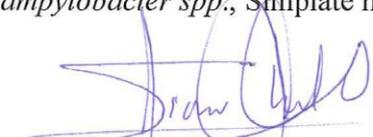
**RESISTANCE TO VETERINARY-USE ANTIBIOTICS IN *ENTEROBACTERIA*
AND *CAMPYLOBACTER* ISOLATED FROM SLAUGHTERED CHICKENS
SOLD AT THE ARENAL MARKET IN CUENCA**

ABSTRACT

Inadequate use of antibiotics in food animals is one of the determinants that contributes to the emergence of bacterial resistance in humans. This work aimed to determine susceptibility to antibiotics in bacteria of the *Enterobacteriaceae* and *Campylobacter spp.* family. Seventy-two samples were analyzed through MICRO GEN ID biochemical tests. Eleven bacterial species belonging to the *Enterobacteriaceae* family were identified, being *Klebsiella oxytoca*, *Burkholderia pseudomallei*, *Escherichia coli*, the most prevalent bacteria. After applying the antibiotic resistance test to the identified *Enterobacteriaceae*, it was possible to determine that more than 75% of these bacteria showed resistance to the 12 antibiotics tested. The Simplate colorimetric method was applied for the identification of *Campylobacter spp.* Seventy two samples were analyzed, of which 27 were positive, representing 37.5% of the total samples. They were resistant to the 12 antibiotics tested in more than 67% of *Campylobacter spp.* isolated.

Keywords: Susceptibility, *Enterobacteriaceae*, *Campylobacter spp.*, Simplate method, MICRO GEN ID.


María Fernanda Rosales Medina
Thesis Director


Diana Catalina Chalco Quezada
School Coordinator


Carla Stefania Dota Cabrera
Author


UNIVERSIDAD DEL
AZUAY
Dpto. Idiomas


Translated by
Lic Lourdes Crespo

Carla Stefania Dota Cabrera

Trabajo de Titulación

Ing. María Fernanda Rosales Medina. Mgt

Noviembre, 2017.

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento de los antibióticos en el siglo XX supuso una revolución en la medicina, contribuyendo de forma significativa a la solución de múltiples enfermedades y aumentando la esperanza de vida de la población.

Sin embargo, desde hace algunos años, se ha determinado que las bacterias han desarrollado mecanismos de resistencia frente a los antibióticos a causa del inadecuado uso de los mismos por parte del hombre. Según Gonzáles, Cordero y San Millán (2010) la resistencia adquirida es la capacidad de ciertas bacterias de "resistir" y sobrevivir después de haber estado expuestas a un antibiótico específico que normalmente debió eliminarlas.

En las granjas el uso de los antimicrobianos comenzó con el fin de prevenir enfermedades bacterianas a los animales, pero posteriormente se descubrió que no solo tenía efectos terapéuticos, profilácticos y metafilácticos, sino que también actuaban como promotores de crecimiento más conocidos como los APC, cuyo fin es aumentar la tasa de crecimiento y rendimiento productivo en los animales, lo que produjo que aumente el consumo de los antibióticos (INFOSAN, 2008).

La Organización Mundial de la Salud (WHO, 2001) revela que en América y Europa, más del 50% del tonelaje de toda la producción de antimicrobianos se usa en animales de consumo humano, incluidas las aves. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2004) el uso de fármacos en la producción animal es una práctica no regularizada que carece de control y supervisión, como consecuencia favorece el uso inadecuado de medicamentos causando el desarrollo de

cepas resistentes a los antibióticos, tanto de bacterias patógenas como no patógenas. Existiendo así el riesgo de que estos microorganismos resistentes en animales se puedan transferir al ser humano; ya sea por contacto directo con el animal o por el consumo de alimentos y agua contaminados con estas bacterias. También el incorrecto manejo de los residuos animales aporta a la contaminación y propagación de estos microorganismos al ambiente.

Actualmente, la producción animal se ha elevado de manera incontenible. Según la Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (2014) el consumo de pollo en los hogares Ecuatorianos ha crecido cinco veces más en los últimos 23 años. Mientras en 1990 cada persona consumía 7 Kg al año, en el 2013 este indicador subió a 35 Kg al año. Aunque este hecho favorece a la economía del Ecuador, es realmente el motivo de preocupación debido a la falta de control por parte de las autoridades para que los negocios de expendio de productos veterinarios cumplan con las normas en la venta de medicamentos para el tratamiento de enfermedades que puedan presentar los animales de consumo humano; ya que si el medicamento que se administra es inadecuado y no está en la dosis correcta, contribuye a dar origen a la aparición de resistencia bacteriana.

Según Pérez, Alcántara, Hurtado y Cota (2014) las enfermedades transmitidas por los alimentos causan la muerte a más de 3 millones de personas por año en todo el mundo, y se ha demostrado que los principales microorganismos causantes de estas infecciones han adquirido resistencia a antibióticos. Por lo que esta investigación servirá de base para promover a realizar otros estudios en otras partes del Ecuador sobre resistencia bacteriana y se tomen las medidas de control necesarias, ya que científicos afirman que si no se realizan las acciones correctivas para disminuir el consumo global de antibióticos podríamos enfrentar problemas graves en la que infecciones simples podrían ser mortales, a causa de que los antibióticos ya no servirían para tratar enfermedades bacterianas porque no causaría ningún efecto en los microorganismos resistentes.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la susceptibilidad a los antibióticos de uso veterinario en Enterobacterias y *Campylobacter spp.*, aisladas de pollos faenados que se expenden en el Mercado "El Arenal" de la ciudad de Cuenca.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar una encuesta en los diferentes locales de expendio de productos veterinarios, sobre los antibióticos comúnmente aplicados a los pollos.
- Aislar e identificar las Enterobacterias mediante pruebas bioquímicas Microgen® GN A + GN B.
- Aislar e identificar *Campylobacter spp.*, mediante la técnica Simplate® y por la tinción de Gram.
- Determinar la susceptibilidad de las bacterias patógenas identificadas a los antibióticos comúnmente utilizados.
- Comparar los resultados entre los diferentes proveedores, de donde se adquirirán las muestras de pollos para los diferentes análisis

CAPITULO 1:

MARCO TEÓRICO

1.1 Los antibióticos y su uso en los animales de consumo humano

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por diferentes especies de microorganismos que suprimen el crecimiento de otros microorganismos y pueden, eventualmente, destruirlos. Es indispensable en el tratamiento de enfermedades infecciosas de origen bacteriano tanto en la medicina humana como animal.

En los animales destinados para el consumo humano se puede emplear los antimicrobianos para los siguientes fines:

1.1.1 Tratamiento terapéutico

Se emplean en animales que están enfermos, por lo cual se debe hacer un análisis microbiológico para determinar el microorganismo y suministrar el tratamiento adecuado. (Anadón, 2007, p. 15)

1.1.2 Tratamiento metafiláctico

Cuando un número elevado de animales de un mismo grupo presenta los mismos síntomas, todo el lote de animales estén enfermos o no son tratado para evitar un brote de la enfermedad (Errecalde, 2004, p. 31).

1.1.3 Tratamiento profiláctico

Se lleva a cabo en todos los animales de un mismo grupo, medicándolos a través del alimento o del agua, con el fin de prevenir enfermedades (Falcón, y otros, 2010, p. 79).

1.1.4 Tratamiento para prevenir y estimular el crecimiento

A finales de los años 40, se descubrió el método de prevenir y estimular el crecimiento en los animales, cuando se observó que las aves alimentadas con productos de la fermentación de *Streptomyces aureofaciens* mejoraban su desarrollo, identificando el factor de crecimiento en dichos extractos como residuos de clortetraciclina, posteriormente se confirmó esta propiedad en múltiples antibióticos (Vélez, 2013, p. 25). Expertos indican que el mecanismo por el cual los antibióticos favorecen a estimular el crecimiento en los animales se debe a que actúan modificando cuantitativa

y cualitativamente la flora microbiana intestinal, provocando una disminución de los microorganismos causantes de enfermedades subclínicas. Todo ello conduce a una mejora en la productividad y reduce la mortalidad de los animales (Torres & Zarazaga, 2002, p. 109).

1.2 La resistencia a los antibióticos

La resistencia a los antibióticos es un fenómeno que se da tanto en humanos como en animales, el cual ha surgido como respuesta a cambios en diferentes factores ambientales, pero la causa más relevante ha sido la práctica constante de suministrar los antimicrobianos tanto en el hombre como en los animales de forma inadecuada.

En la actualidad este problema va en aumento y está teniendo serias repercusiones sanitarias, sociales y económicas (Gonzales, Cordero, & San Millán, 2010, p. 1). Aunque, en 1998 la Organización Mundial de la Salud, identificó la resistencia antimicrobiana como un problema de salud pública que requiere intervención inmediata y se indujo a los Estados miembros a implementar sistemas de vigilancia sostenibles para detectar agentes patógenos resistentes a los antimicrobianos, hasta el momento no se ha podido controlar la diseminación de bacterias resistentes (WHO, 2001).

Se cree que una de las causas que influyen directamente en la aparición de microorganismos resistentes es el uso de agentes antimicrobianos en animales de producción para el consumo humano. Por otra parte, se debe tener en cuenta que algunos agentes antimicrobianos que se utilizan en el tratamiento de los animales son similares a los utilizados en medicina humana, produciendo una resistencia cruzada es decir que las bacterias resistentes de los animales, también sean resistentes a antimicrobianos de uso humano. (Martinez, 2012, p. 12)

La transferencia de bacterias al ser humano puede ocurrir por contacto directo con los animales o indirectamente, a través de alimentos o agua.

A lo largo de los años se ha podido clasificar dos tipos de resistencia: la primera llamada resistencia natural o intrínseca, la cual es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. La segunda se denomina resistencia adquirida la cual es de importancia clínica, debido a que las bacterias presentan mecanismos que impiden

que el antibiótico que supuestamente debería actuar en ellos no lo haga llevando a un fracaso terapéutico y limitando las posibilidades de tratamiento de la infección.

En lo que respecta a la resistencia adquirida, presenta varios mecanismos los cuales se podría clasificar de la siguiente manera:

1.2.1 Modificación enzimática del antibiótico

Los microorganismos presentan enzimas capaces de provocar modificaciones en la estructura del antibiótico, haciendo que este pierda su funcionalidad. Las enzimas de más relevancia son las β -Lactamasas ya que son capaces de hidrolizar el anillo β -Lactámico que poseen los antibióticos de esta familia (Tafur, Torres, & Villegas, 2008, p. 218).

1.2.2 Bombas de expulsión

Este tipo de resistencia puede llegar a suprimir la sensibilidad a un amplio rango de antimicrobianos. Debido a que las bacterias especialmente las Gram negativas mediante un sistema de flujo expulsa el antibiótico del espacio periplásmico hacia el medio externo, de esta manera se evita que el fármaco llegue al sitio de acción (Cabrera, Gómez, & Zúñiga, 2007, p. 156).

1.2.3 Cambios en la permeabilidad de la membrana externa

En este mecanismo de resistencia se produce un cambio de la membrana, alterando su permeabilidad a causa de las porinas que son proteínas que forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa, las mismas trabajan como filtros, teniendo la capacidad de regular el acceso de los antibióticos al interior de la bacteria (Tafur, Torres, & Villegas, 2008, p. 223).

1.2.4 Alteraciones del sitio de acción

Algunos antibióticos ejercen su acción contra las bacterias uniéndose a una proteína esencial para la supervivencia de estas, sin embargo las bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une a la bacteria para interrumpir una función vital de esta, se da principalmente en las bacterias Gram positivas (Martinez, 2012, p. 18).

1.3 Clases de Antibióticos y los mecanismos de resistencia de los microorganismos frente a estos medicamentos

1.3.1 Antibióticos Beta-Lactámicos

Según Malgor (2000) las bacterias con el fin de evitar la acción de los antibióticos Beta- Lactámicos, son capaces de sintetizar una enzima llamada Beta-Lactamasa, que actúa hidrolizando las moléculas del antibiótico. Para combatir este fenómeno se efectúa modificaciones en la molécula básica de la penicilina, con el fin de obtener compuestos más estables a la hidrólisis producida por las Beta-Lactamasas.

Dentro de este grupo se encuentra el ácido clavulánico y el sulfabactan que se emplean en combinación con la amoxicilina y ampicilina para potenciar su acción.

La capacidad de producir betalactamasas ha sido muy evaluada, esta acción varía mucho de una bacteria a otra destacando las producidas por *Staphylococcus aureus*, *Clostridium spp.* y todas los Gram negativas.

1.3.2 Tetraciclinas

Conjunto de antibióticos obtenidos de especies de *Streptomyces spp.*, estos antibióticos actúan accediendo al interior celular por un doble mecanismo de difusión pasiva y transporte activo, una vez que se encuentran ahí se une a una subunidad del ribosoma bloqueando la fijación del aminoacil- tRNA que es un ARN de transferencia unido a un aminoácido. De esta forma actúa como bacteriostático al impedir la adición de nuevos aminoácidos a la cadena peptídica (Ochoa, 2006, p. 1).

El mecanismo de resistencia se basa en un proceso por el que la bacteria impide la penetración del antibiótico desde el exterior. La resistencia es cruzada para todas las tetraciclinas y se transmite por plásmidos (Ochoa, 2006, p. 2).

1.3.3 Quinolonas

Son un grupo de antimicrobianos sintéticos cuya función es intervenir en la síntesis de ADN de la bacteria, causando que el ADN pierda su forma enrollada y como consecuencia aumente el volumen, produciendo la muerte del microorganismo. Las quinolonas de primera generación tiene un espectro reducido ya que solo se utilizan en infecciones de las vías urinarias, por el contrario las fluoroquinolonas se utilizan también en infecciones respiratorias, de la piel y problemas gastrointestinales. Se ha

utilizado ampliamente para el tratamiento de infecciones intra y extra-hospitalarias, en la agricultura y procesamiento de alimentos lo que hace que el incremento de resistencia a este grupo de antibióticos vaya cada vez en aumento. La resistencia a quinolonas puede producirse mediante tres mecanismos: a través de mutaciones cromosómicas en genes codificados, al reducir las concentraciones intracitoplasmáticas de manera activa o pasiva y por genes codificadores de bombas de flujo (Álvarez, Garza, & Vázquez, 2015, p. 501).

1.3.4 Sulfonamidas – Trimetoprim

Fueron introducidas al mercado en 1935, son bacteriostáticas e interfieren con la síntesis del ácido fólico, actuando como inhibidores competitivos del ácido p-aminobenzoico en los microorganismos susceptibles. Su espectro de acción es variado abarcando la mayoría de bacterias Gram positivas y muchos Gram negativas, pero su uso se ha limitado debido al desarrollo de resistencia (Cué & Morejón, 1999, p. 157).

1.3.5 Antibióticos Macrólidos

Constituye un grupo muy numeroso con estructura y propiedades muy similares, presentándose entre ellos resistencia cruzada. Son administrados por vía oral y actúan impidiendo la síntesis de proteínas en la bacteria a nivel cromosómico. La resistencia se produce por diferentes mecanismos, en los bacilos Gram negativos se presenta resistencia en ciertas ocasiones debido a la incapacidad del medicamento de penetrar en los sitios receptores. Lo que no sucede con las bacterias Gram positivas ya que la resistencia se produce por mutación y otras veces es mediada por plásmidos (Gudián, Barreto, Rodríguez, Opino, & Lim, 2008, p. 73).

1.3.6 Antibióticos Anfénicoles

A este grupo pertenecen el Cloranfenicol, Florfenicol y Tianfenicol, estructuralmente derivados del ácido dicloroacético, obtenidos inicialmente de cultivos de *Streptomyces venezuelae*, aunque actualmente es un fármaco obtenido por síntesis química. Estos medicamentos son utilizados como última opción para el tratamiento de infecciones graves tanto en humanos como en animales. En muchos lugares en el mundo estos antimicrobianos son prohibidos en la crianza de animales ya que puede dar lugar a una anemia plasmática a más de adquirir múltiples resistencias. Su espectro de acción va frente a una gran variedad de microorganismos Gram positivos y negativos, inhibiendo la síntesis proteica bacteriana al unirse a nivel de las subunidades de los ribosomas. La resistencia frente a estos antibióticos va medida por plásmidos o bien por un

mecanismo de reducción de la permeabilidad bacteriana al antibiótico (Bregante & San Andrés, 2004, p. 2).

1.4 Familia *Enterobacteriaceae* y su resistencia a antibióticos

Las Enterobacterias son bacterias Gram negativas en las que se incluye más de 30 géneros y más de 100 especies que adopta la morfología de cocos o bacilos, su estudio es importante porque estos microorganismos tienen la capacidad de adquirir resistencia a los antibióticos.

Poseen una membrana interna (citoplasmática), una cubierta de péptidoglicano que los rodea y una compleja membrana externa donde se encuentran las porinas, que son canales para la penetración de antibióticos y nutrientes. Se caracterizan por ser aerobios no formadores de esporas, pero pueden desarrollarse en anaerobiosis es decir son anaerobios facultativos (Puerta & Mateos, 2010, p. 3425).

Esta familia de bacterias se caracteriza por ser capaces de reducir los nitratos a nitritos, producen catalasa y son oxidasa-negativos a excepción de *Plesiomonas*. Pueden ser móviles, dependiendo de la presencia o no de flagelos peritricos o inmóviles (Puerta & Mateos, 2010, p. 3426).

Según, Galí (2010) “Las *Enterobacterias* son las responsables de una tercera parte de los aislamientos en las bacteriemias, de dos tercios de los aislamientos en gastroenteritis, y de tres cuartas partes de los aislamientos en infecciones del tracto urinario”.

La mayoría de las Enterobacterias poseen plásmidos, que son unidades de ADN extra cromosómico que se auto replican y que transportan su propia estructura de replicación, aunque la multiresistencia antibiótica de estos microorganismos es con frecuencia mediada por plásmidos, ciertas especies de *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp*, *Serratia spp* poseen un gen cromosómico que codifica una β -Lactamasa de amplio espectro (Galí, 2010, p. 6).

Normalmente estas bacterias colonizan la mucosa de los seres vivos, suelen ubicarse en el tracto gastrointestinal y urinario, por lo que la mayoría de cuadros clínicos

presentados suelen darse a partir de estas localizaciones. Estudios médicos indican que el 35% de las septicemias son producidas por esta familia de bacterias (Puerta & Mateos, 2010, p. 3427).

1.5 *Campylobacter spp.*

Campylobacter spp. es un bacilo Gram negativo curvo, con forma característica de “sacacorchos”, mide de 0,2-0,9 μm de ancho por 0,5 μm de longitud, su motilidad está dada por un flagelo polar presente en uno o ambos extremos. La mayoría de las especies son microaerófilas y termotolerantes (crecen a 42°C), siendo *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* las especies que causa infecciones en el hombre. (Instituto de Salud Pública de Chile, 2014)

Estas bacterias habitan en el intestino de animales de sangre caliente como aves de corral, vacunos, porcinos, ovinos y avestruces. Por lo general la vía de transmisión es al ingerir carnes contaminadas en especial las carnes de aves ya que las cavidades internas de las aves permanecen positivas para *Campylobacter spp.*, aún después de que han sido limpiados, empacados y congelados. (Moreno, 2015, p. 1)

Según la Organización mundial de la salud (WHO, 2016) *Campylobacter spp.*, es una de las cuatro principales causas de enfermedad diarreica y está considerada una de las bacterias que produce frecuentemente cuadros clínicos de gastroenteritis, problema que se da tanto en países desarrollados como en vías de desarrollo, y conjuntamente con *Salmonella spp.*, se consideran las bacterias que presentan mayor número de casos de infecciones en todo el mundo.

La infección causada por *Campylobacter spp.*, casi siempre es autolimitada se caracteriza por fiebre, dolor abdominal, diarrea, cuyos síntomas se pueden confundir por infecciones producidas por otras bacterias, lo que dificulta el diagnóstico. Su periodo de incubación va de 2 a 5 días, incluso han existido casos que han llegado a los 10 días. Las infecciones extraintestinales por esta bacteria pueden llegar a una meningitis, osteomielitis y sepsis neonatal (Instituto de salud Pública de Chile, 2014).

Aunque *Campylobacter spp.* es una bacteria termosensible, el riesgo sin embargo se vincula como un importante factor de contaminación cruzada, ya que no todas las

personas en sus hogares o en establecimientos de comida toman las debidas precauciones para el manejo de aves crudas. (Hartnett et al., 2009, p 15). Razón por la cual son frecuentes los casos de enfermedades producidos por esta bacteria y en muchas ocasiones la bacteria llega a ser resistente a los antibióticos complicando y encareciendo el tratamiento de la enfermedad. Este es un problema emergente, dado que en los últimos años se ha observado un incremento en la resistencia a antibióticos principalmente a las fluroquinolonas y macrólidos. Esto es de gran importancia dado que estos fármacos son utilizados como primera elección para el tratamiento de campilobacteriosis. (Pulgar, 2016, p. 4)

CAPITULO 2:

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Localización

Para llevar a cabo el presente trabajo de investigación, se procedió a tomar las muestras de pollos que se expenden en el mercado “El Arenal”, el mismo que se encuentra ubicado al Oeste de la Ciudad de Cuenca, en la Avenida de las Américas entre las calles Eduardo Arias y Roberto Crespo.

2.2 Recursos

2.2.1 Recursos Institucionales

Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencia y tecnología de la Universidad del Azuay.

2.2.2 Recursos Materiales

Los recursos empleados para la toma de muestras y procesamiento de las mismas en el laboratorio se detallan en el **Anexo 1**.

2.3 Universo de la Muestra

Se recogió un total de 72 muestras de pollos frescos (pollos enteros faenados), adquiridos de cuatro proveedores, se compraron 3 pollos por cada proveedor dando un total de 12 pollos, esto se realizó al inicio y fin de mes, dando un total de 24 pollos por mes; esto se realizó por un periodo de tres meses.

2.4 Encuesta a los diferentes locales de expendio de productos veterinarios

Se realizó una encuesta en los diferentes locales de expendio de productos veterinarios ubicados a los alrededores del mercado el arenal con la finalidad de conocer los medicamentos que se expenden para tratar enfermedades en los pollos.

Se elaboró un formato de encuesta que se detalla en el **Anexo 2**.

2.5 Recolección de las muestras

Se adquirieron los pollos enteros y se colocaron en fundas ziploc para ser transportados inmediatamente al laboratorio de microbiología de la Universidad del Azuay y realizar los análisis microbiológico establecidos en los objetivos del trabajo de titulación.

2.6 Metodología

2.6.1 Determinación de *Campylobacter spp.*

- a) Añadir 400 ml de agua de peptona al 1% en la funda ziploc que contiene un pollo con su respectiva menudencia, para realizar el enjuague.
- b) Tomar 100ml del enjuague en un recipiente estéril y proceder según el flujograma establecido en lo que respecta a la identificación de *Campylobacter spp.* mediante el método Simplate®. (**Anexo 3**)
- c) Del mismo enjuague realizar la siembra en placas bi-petri de agar base sangre al 5 % con suplemento de skirrow, mediante la técnica de estría cruzada e incubar por 48 horas a 42⁰C en una atmósfera microaerofílica.
- d) Con dichas colonias realizar la tinción de Gram para verificar la morfología de las bacterias. Con el método Simplate® *Campylobacter spp.* y la tinción de Gram se busca asegurar la veracidad de los resultados.
- e) Una vez confirmada la presencia de *Campylobacter spp.*, proceder con estas colonias a realizar la técnica de Kirby Bauer, según el flujograma establecido en el **Anexo 4**.

Técnica Simplate®

Fundamento de la técnica Simplate®: Es un sistema de reactivos basado en reacciones de óxido- reducción y de enzimas múltiples para detectar, cuantificar y analizar los microorganismos como *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli*, “la multiplicación de las bacterias altera el potencial redox del medio lo que conlleva a un cambio de color a partir de una reducción bioquímica, donde la resazurina se transforma en resorufina (rojo) o en dihidroresorufina (incolore)” (Smith & Townsend, 1999). Los resultados se obtienen interpretando solamente un cambio de colores y fluorescencia.

Procedimiento:

Para realizar el análisis mediante la técnica Simplate® se realizó los siguientes pasos:

- a) Reconstituir el medio en polvo, adicionando 9 ml de agua destilada estéril y homogenizar hasta disolución completa.
- b) Adicionar 1 ml de muestra (enjuague del pollo) al medio previamente reconstituido, continuamente añadir 40µl de aditivo de skirrow y 40 µl de aditivo hemina, homogenizando después de cada adición.
- c) Retirar la tapa del dispositivo Simplate® para adicionar la mezcla medio-muestra y tapar inmediatamente.
- d) Cuidadosamente distribuir la mezcla medio-muestra en todos los pocillos, retirando el exceso en la cavidad esponja, ubicada en la parte lateral del dispositivo.
- e) Incubar cada dispositivo Simplate® durante 48 horas a 42⁰C en ambiente microaerofílico.
- f) Realizar la lectura de los dispositivos Simplate® positivos como se detalla en el **Anexo 5**.

En el **Anexo 6** se muestran algunas imágenes de los resultados obtenidos por la técnica Simplate® y por la tinción de Gram.

2.6.2 Identificación de Enterobacterias

- a) Del mismo enjuague realizado anteriormente con agua de peptona al 1% tomar 100ml del enjuague en un recipiente estéril y sembrar en las placas de agar verde brillante y agar VRB, mediante la técnica de estría cruzada e incubar a 37⁰C por 24 horas.
- b) Pasado el tiempo predispuesto observar las placas en busca de colonias sospechosas, con dichas colonias proceder a sembrar en agar PCA para aislarlas para las pruebas bioquímicas Microgen® GN A + GN B e incubar a 37⁰C por 24 horas. (**Anexo 7**)
- c) Proceder según el flujograma establecido en lo que respecta a pruebas bioquímicas de Enterobacterias.(**Anexo 8**)

- d) Una vez identificadas las bacterias pertenecientes a la familia de *Enterobacteriaceae* mediante las pruebas bioquímicas, proceder a realizar la técnica de Kirby Bauer.

Pruebas bioquímicas Microgen® GN A + GN B.

El Sistema Microgénico GNA-ID es empleado para la identificación de Enterobacterias actualmente reconocidas y un amplio rango de bacilos gram negativos que den positivos a la oxidasa, microorganismos que se encuentran comúnmente en alimentos o muestras de origen médico. Esta identificación se logra mediante la combinación de los sistemas de identificación Microgen® GN A + GN B.

Este sistema comprende 24 sustratos, combinando 12 sustratos de los paneles de Microgen® GN A y 12 sustratos de Microgen® GN B, que permiten una identificación rápida y clara. Además, este sistema está soportado por el software de identificación por computadora (MID60), que posee una base de datos completa y actualizada, donde se introducen los resultados y el sistema automáticamente dará el nombre de la bacteria y el porcentaje en que reconoce dicha bacteria. Motivo por el cual la bacteria a analizarse debe estar cuidadosamente aislada para que el porcentaje de reconocimiento que dicta el sistema sea lo más cercano al 100%.

Procedimiento:

- a) Preparar una solución salina de NaCl al 1% en tubos de ensayo y autoclavar a 120⁰C por 15 minutos
- b) Seleccionar cuatro o cinco colonias bien aisladas con un hisopo para realizar la prueba de oxidasa.
- c) Se inocula con un hisopo 4 a 5 colonias bien aisladas en los tubos de ensayo que contienen la solución salina de NaCl 0,1 % y homogenizar la mezcla.
- d) Usando la pipeta automática previamente colocar de 3 a 4 gotas (50 µl) de la suspensión bacteriana en cada pocillo del Microgen® GNA y Microgen® GNB, hasta llenar los 24 sustratos e incubar a 35⁰C por 24 horas, excepto si la prueba de oxidasa da positivo el tiempo de incubación se prolonga por 48 horas.
- e) Realizar la interpretación visual de los 24 sustratos del Microgen® GN A + GN B y comparar con el protocolo de Microgen® (**Anexo 9**) que irá dando

un número de acuerdo al color que presente, los mismos que servirán para introducir al software de identificación por computadora, para conocer finalmente el nombre de la bacteria (**Anexo 10**).

2.6.3 Determinación de la Resistencia a antibióticos en bacterias de la Familia *Enterobacteriaceae* y *Campylobacter spp.*

El método de Kirby Bauer llamado también método de difusión por disco, es una técnica cualitativa basada en la presencia o ausencia de una zona de inhibición de crecimiento bacteriano que se mide en milímetros. Se interpreta como sensible (S), intermedio (I) o resistente (R) y está diseñado para cada bacteria o familia de bacterias.

Este método implica la colocación de un disco de papel cargado de una concentración conocida de un antibiótico sobre la superficie del agar en el que los microorganismos han sido sembrados, inmediatamente se incuba y se determina la sensibilidad de los microorganismos según el tamaño del halo de inhibición.

Para obtener resultados fiables, las técnicas utilizadas, los medios y los procedimientos empleados deben estar normalizados. Hoy en día, el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) es responsable de la actualización y modificación del procedimiento original de Kirby Bauer a través de un proceso de consenso global. Esto asegura la uniformidad de la técnica y la reproducibilidad de los resultados. (Cavaliere et al., 2006, p. 39)

Procedimiento:

- a) Se prepara previamente el agar Mueller Hinton de acuerdo a las especificaciones del fabricante y la solución salina de ClNa al 0,1% en tubos de ensayo.
- b) Inmediatamente preparar el estándar 0,5 de McFarlane que contiene (9,95ml H₂SO₄ y 0,05 ml Cl₂Ba), que es el patrón de referencia para ajustar la turbidez de las muestras de las bacterias
- c) Según indica la técnica proceder a seleccionar los discos de antibióticos para Enterobacterias y *Campylobacter spp.*, según indica la NCCLS. (**Anexo 11**)

- d) Se selecciona cuatro o cinco colonias bien aisladas con un hisopo y se inoculan en los tubos de ensayo que contienen la solución salina de ClNa al 0,1 % ajustando el inóculo de acuerdo al estándar de McFarlane 0,5. Inmediatamente sumergir un hisopo estéril en la suspensión y presionar firmemente en la pared interna del tubo por encima del nivel del líquido para eliminar el exceso de inóculo.
- e) Rápidamente sembrar en las placas previamente preparadas con el agar Mueller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo y se deja secar la placa a temperatura ambiente por 3 a 5 minutos para quitar el exceso de humedad.
- f) Posteriormente colocar los discos de antibióticos anteriormente seleccionados, con la ayuda de una pinza estéril, presionando suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo sobre la superficie del agar. Siguiendo las normas que indica la NCCLS, donde explica que no deben colocarse más de 12 discos en una placa de 150 mm, ni más de 6 discos en una placa de 100mm de diámetro interno.
- g) Se incuba las placas en posición invertida a 35⁰C dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos, el tiempo de incubación será de acuerdo a las normas (NCCLS), donde se especifica para cada bacteria o familia de bacterias. En el caso de *Campylobacter spp* incubar durante 48 horas a 42⁰C en ambiente microaerofílico y para la familia de Enterobacterias incubar a 35⁰C por 15-18 horas.
- g) Finalmente examinar cada placa y medir los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco y comparar los resultados con las tablas de las normas NCCLS para determinar si las bacterias presentan sensibilidad o resistencia. **(Anexo 12)**

CAPITULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 72 muestras de enjuagues de pollos enteros tomados al azar y adquiridos en el mercado “El Arenal”, con el fin de determinar la presencia de bacterias pertenecientes a la familia de Enterobacterias y *Campylobacter spp.* resistentes a antibióticos.

3.1 Resultados de la Encuesta

Se visitó 10 locales de expendio de productos veterinarios, porque era la cantidad de locales que se encuentran alrededor del mercado “El Arenal”. La finalidad de la encuesta es conocer los antibióticos que se venden para tratar enfermedades de origen bacteriano en los pollos de engorde, para lo cual se formuló cinco preguntas de las que se obtuvo las siguientes respuestas.

1. Al formular la primera pregunta, ¿Para la venta de sus medicamentos exige usted que su cliente presente receta médica?

Los diez locales respondieron que no era necesario presentar receta médica para la venta de sus medicamentos. Lo que concuerda con la resolución N⁰ 0072 de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad (AGROCALIDAD) que indica en el Artículo N⁰6 que para el expendio de productos veterinarios no es necesario que el cliente presente receta médica a excepción si se trata de productos como: psicotrópicos, estupefacientes, anestésicos generales y locales, tranquilizantes, eutanásicos, anabólicos, relajantes musculares. También indica que un local comercial veterinario y agropecuario debe contar con la presencia continua de un profesional médico veterinario.

2. Con respecto a la segunda pregunta, ¿Con qué frecuencia sus clientes presentan receta médica prescrita por un Médico Veterinario?,

En todos los locales visitados indicaron que rara vez un cliente presenta receta médica, porque no era necesario, indican que las consultas para la compra de los medicamentos lo hacen al momento de la compra o a veces contratan al médico veterinario del negocio para llevarlo a la granja y evaluar los pollos de engorde para medicarlos.

3. Según la tercera pregunta formulada, ¿Qué tipos de enfermedades presentan comúnmente los pollos?

Haciendo un resumen de lo que contestaron en los 10 locales, las enfermedades bacterianas son: infecciones gastroentéricas, neumonías, pericarditis, peritonitis, infección de saco vitelino, onfalitis, salmonelosis, tifoidea aviar, enteritis, cólera aviar, pasteurelisis, síndrome ocular derecho, enfermedad respiratoria crónica, arizonosis aviar, salpingitis, enterocolitis, celulitis, septicemia neonatal, cloacitis, panofalmitis, artritis, osteomielitis, bursitis sternalis.

4. A la cuarta pregunta formulada, ¿Qué síntomas o enfermedades son las comúnmente consultadas en su negocio sobre los pollos de crianza destinados al consumo?

Respondieron que enfermedades relacionadas con problemas digestivos causadas principalmente por *Escherichia coli* o *Salmonella spp.* son las que se consultan diariamente en su negocio aunque dos locales indicaron que las enfermedades respiratorias son las más comunes.

5. Finalmente en los 10 locales dieron respuestas parecidas al formular la siguiente pregunta, ¿Podría mencionar los antibióticos más utilizados o vendidos en su local, para tratar las enfermedades de origen bacteriano en los pollos?

En los locales que se visitaron nombraron algunos medicamentos, de los cuales hemos escogido los más utilizados para enfermedades producidas por Enterobacterias, siendo los siguientes:

- Maydox-C: medicamento que viene en polvo, su forma de administración es oral, está compuesto por colistina, antibiótico que se utiliza para tratar

enfermedades producidas por *Escherichia coli* como pericarditis, peritonitis, septicemias, enfermedades respiratorias crónicas.

- Viracol: medicamento en gotero, que se puede administrar de forma oral en el agua de bebida de las aves, su principio activo es la colistina y la amoxicilina, antibióticos que en combinación sirven para tratar enfermedades producidas por Enterobacterias como *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, aunque también se usa en el tratamiento de enfermedades producidas por *Campylobacter spp.*
- Sulfavit: medicamento que viene en polvo, su forma de administración es oral, está compuesto por sulfadimetoxina, se usa en el tratamiento de cólera aviar y otras enfermedades producidas por bacterias Gram Negativas.
- Eritrovet: medicamento que viene en polvo para suministrar con el agua de bebida de las aves, está compuesto por eritromicina, que es un antibiótico del grupo de los macrólidos, con efecto bacteriostático, bloqueando la síntesis proteica de la bacteria. Empleado para tratar enfermedades producidas por bacterias Gram negativas, en especial para el tratamiento de enteritis producida por *Campylobacter jejuni*.
- Abicxasin: medicamento en gotero, que se puede administrar de forma oral en el agua de bebida de las aves, está compuesto por norfloxacin que se emplea en el tratamiento de infecciones paratíficas, bursitis, enfermedades respiratorias crónicas, onfalitis que son producidas por bacterias Gram negativas.
- Enroxil: medicamento en gotero, que se puede administrar de forma oral en el agua de bebida de las aves, su principio activo es la enrofloxacin, antibiótico que sirve para el tratamiento de enfermedades producidas por *E. coli*, *Salmonella spp.*, *Klebsiella spp.*, *Haemophilus spp.*, *Pasteurella ssp.*
- Maíz Antibiótico: medicamento en tabletas, que se debe administrar de 2 a 4 tabletas x kg de peso, cada ocho horas durante 3 días seguidos como mínimo. El tratamiento debe hacerse ave por ave, colocando la tableta en el pico y empujándola hasta que el animal ingiera, su principio activo es la ampicilina trihidrato, antibiótico que se utiliza en el tratamiento de peritonitis producida por *Escherichia coli* y otras enfermedades causadas por *Proteus spp.* y *Klebsiella spp.*

- Garacil: solución inyectable que contiene una combinación antibiótica bactericida de amplio espectro, compuesta por gentamicina y ácido nalidíxico con acción sinérgica, que presenta una excelente distribución a los tejidos respiratorios, digestivos y urinarios. Funciona como auxiliar en el tratamiento de enfermedades bacterianas en aves como coriza infecciosa, cólera aviar, tifoidea aviar, salmonelosis, psitacosis, onfalitis e infección del saco vitelino.
- Nitrofurazone: medicamento en gotero, su principio activo es la nitrofurantoína que es un nitrofurano antibacteriano que se utiliza específicamente para el tratamiento de las infecciones urinarias producidas por gérmenes gram-negativos como *Scherichia coli*, *Citrobacter*, *Salmonella* en el caso de *Enterobacter spp* y *Klebsiella spp* requieren dosis mas altas y algunas cepas pueden ser resistentes.

3.2 Identificación de Enterobacterias

Se analizaron 72 muestras mediante pruebas bioquímicas MICRO GEN ID, identificando las siguientes bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae*.

Los datos para el desarrollo de la figura se observan **Anexo 13**.

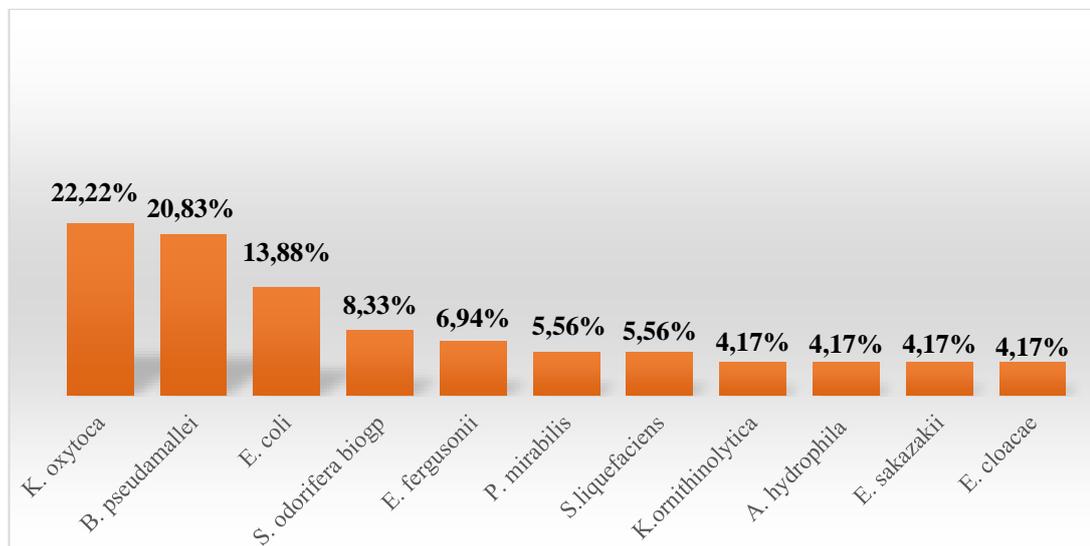


Figura N° 3. 1 Enterobacterias identificadas mediante pruebas bioquímicas

Procesando las 72 muestras mediante las pruebas bioquímicas MICRO GEN ID, se identificaron 11 bacterias, entre ellas *K. oxytoca* representando el 22,22% del universo total de la muestra, le sigue *B. pseudomallei* con un 20,83% y *E.coli* con 13,88% que son las bacterias más frecuentes en casi todas las muestras tomadas de los pollos de diferentes lugares de procedencia.

3.2.1 Enterobacterias identificadas en pollos provenientes de los Cantones Paute y Santa Isabel

En cada local donde se obtuvieron las muestras, se consultó la procedencia de los pollos, para realizar las comparaciones entre los resultados obtenidos.

En la figura N° 3.2 y 3.3, se observa los resultados de los análisis microbiológicos de las muestras de los pollos provenientes de Cantones de la Provincia del Azuay como son Paute y Santa Isabel, analizando 18 pollos por cada lugar de origen que provienen los pollos.

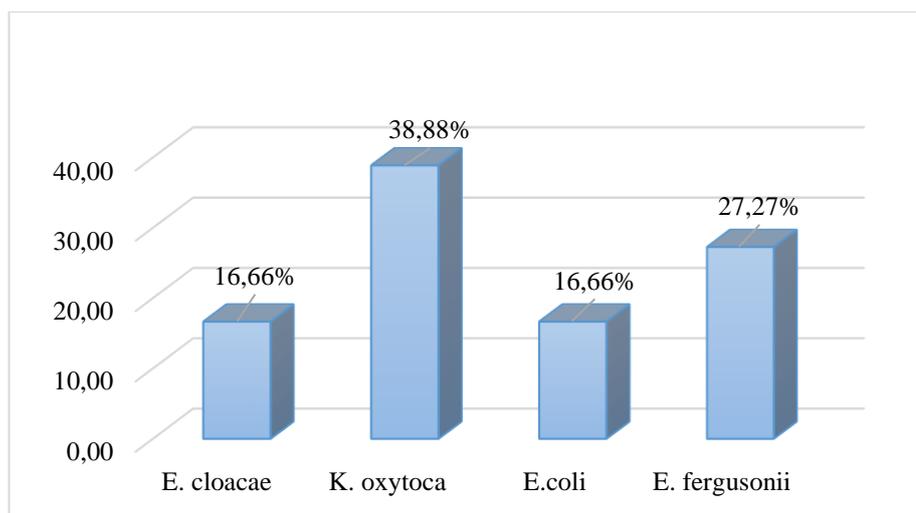


Figura N° 3. 2 Enterobacterias identificadas en pollos provinientes del Cantón Paute

En la figura 3.2 se observa que *Klebsiella oxytoca* es la bacteria con mayor incidencia en los pollos provenientes del Cantón Paute con un 38, 8%, continuado de *Escherichia fergusonii* con un 27,27% y por último *Enterobacter cloacae* y *Escherichia coli* que presentan porcentajes iguales del 16,66%.

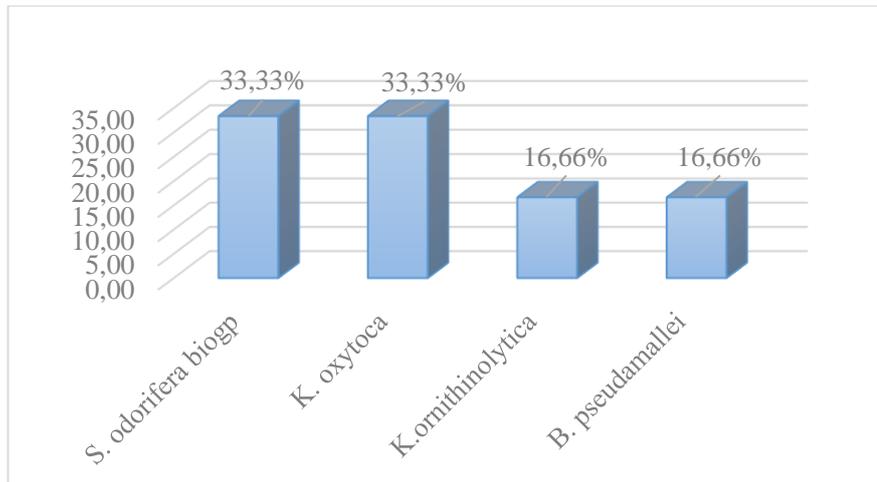


Figura N° 3. 3 Enterobacterias identificadas en pollos provenientes del Cantón Santa Isabel

En la figura N° 3.3 se observa que *Klebsiella oxytoca* y *Serratia odorifera* son las bacterias más frecuentes determinando un 33, 33% cada una, continuado de *Burkholderia pseudomallei* y *Klebsiella ornithinolytica* que presentan porcentajes iguales, con un 16,66% del total de las muestras analizadas procedentes de este proveedor.

3.2.2 Enterobacterias identificadas en pollos de procedencia de proveedores con marca 1 y marca 2

En las figuras N° 3.4 y 3.5, se muestra los resultados de los análisis mediante pruebas bioquímicas de las muestras de pollos procedentes de proveedores con marca 1 y marca 2, los mismos que se venden empacados y etiquetados y son marcas muy consumidas en el mercado, adquiriendo 18 pollos por cada proveedor.

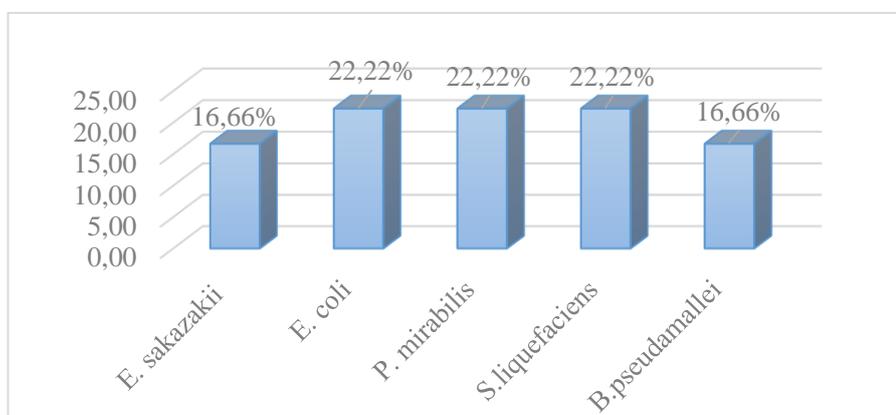


Figura N° 3. 4 Enterobacterias identificadas en pollos de procedencia del proveedor con marca 1

En la figura N° 3.5 se observa que del 100% de muestras analizadas de pollos procedentes de este proveedor, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, y *Serratia liquefaciens* son las bacterias que presentan un valor igual, con un 22,22% cada una. De la misma forma *Burkholderia pseudomallei* y *Enterobacter sakazakii* presentan porcentajes iguales, con un valor del 16,66%.

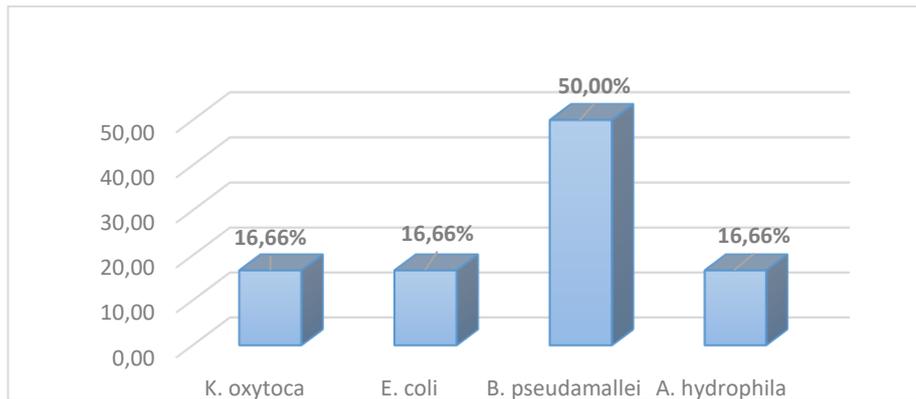


Figura N° 3. 5 Enterobacterias identificadas en pollos de procedencia del proveedor con marca 2

En la figura N° 3. 5 se observa que *B. pseudomallei* es la bacteria con mayor incidencia reflejada en los resultados con un 50, 00% y *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* y *Aeromona hidrophyla* presentan porcentajes iguales del 16,66% cada bacteria.

3.3 Enterobacterias resistentes a antibióticos

En la Figura N° 3.6 se observa tres tipos de valoraciones en base a las pruebas de resistencia a antibióticos (Kirby Bauer) aplicadas a las Enterobacterias aisladas. Para el desarrollo de las pruebas se utilizaron 12 antibióticos anteriormente seleccionados en base a las encuestas y las normas NCCLS. Los datos para el desarrollo de la figura se observan en el **Anexo 14**.

Estas valoraciones son: resistente (R), susceptibilidad intermedia (I) o sensible (S)

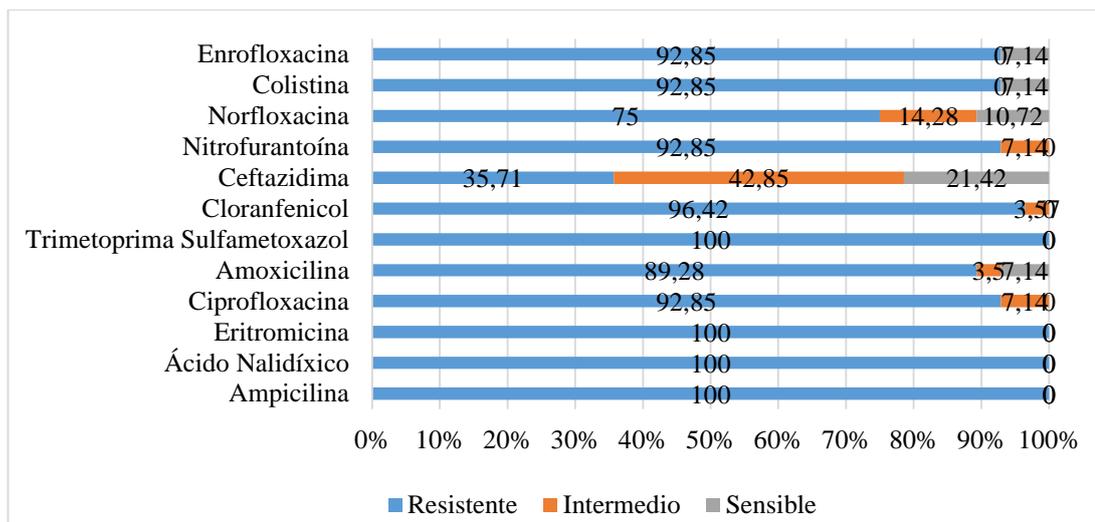


Figura N° 3. 6 Resultados de las Pruebas de Resistencia

En el gráfico se observa que el 100% de bacterias aisladas presentaron resistencia a eritromicina, ácido nalidíxico, ampicilina y trimetoprim sulfametoxazol. También, entre el 89 - 96% de bacterias aisladas presentó resistencia a cloranfenicol, ciprofloxacina, colistina, enrofloxacina, amoxicilina y nitrofurantoína, siendo el 75% de las bacterias aisladas resistentes a norfloxacina.

Puntualmente en el caso del antibiótico ceftazidima del 100% de bacterias aisladas el 21,42% presenta sensibilidad, el 42,85% presenta resistencia intermedia y el 35,71% es resistente a este antimicrobiano.

3.3.1 Resistencia de cada Enterobacteria identificada a los 12 antibióticos

Se realizó las pruebas de resistencia para cada una de las 11 bacterias identificadas pertenecientes a la Familia Enterobactereaceae, los antibióticos utilizados para las pruebas fueron 12: ampicilina, ácido nalidíxico, eritromicina, ciprofloxacina, amoxicilina, trimetoprima sulfametoxazol, cloranfenicol, ceftazidima, nitrofurantoína, norfloxacina, colistina y enrofloxacina.

Los resultados se expresaron en: resistente (R), susceptibilidad intermedia (I), susceptible (S).

- ***Klebsiella oxytoca***: El 100% de estas bacterias aisladas resulta resistente (R) a 11 antibióticos, excepto a ceftazidima ya que el 71.42 % presenta susceptibilidad intermedia (I).
- ***Burkholderia pseudomallei***: El 100% de las bacterias aisladas resulta resistente (R) a 9 antibióticos, excepto el 20% presenta susceptibilidad intermedia (I) a ceftazidima, el 25% a Nitrofurantoína y el 40% a Norfloxacin. El 60% de estas bacterias aisladas es susceptible (S) a ceftazidima y Norfloxacin.
- ***Escherichia coli***: El 100% de estas bacterias aisladas resulta resistente (R) a 9 antibióticos, excepto el 75% presenta susceptibilidad intermedia (I) a ceftazidima y el 25% a Nitrofurantoína. El 25% de bacterias aisladas es susceptible (S) a Amoxicilina.
- ***Serratia odorifera***: El 100% de estas bacterias aisladas resulta resistente (R) a 11 antibióticos, excepto a ceftazidima ya que el 100 % presenta susceptibilidad intermedia (I).
- ***Escherichia fergusonii***: El 100% de estas bacterias aisladas presenta resistencia (R) a los 12 antibióticos mencionados.
- ***Serratia liquefaciens***: El 100% de estas bacterias aisladas presenta resistencia (R) a los 12 antibióticos mencionados.
- ***Proteus mirabilis***: El 100% de estas bacterias aisladas resultó resistente (R) a 9 antibióticos, excepto a cloranfenicol ya que el 50% presenta susceptibilidad intermedia (I) y el 100 % presenta susceptibilidad (S) a ceftazidima y enrofloxacin.

- ***Klebsiella ornithinolytica***: El 100% de estas bacterias aisladas resulta resistente (R) a 10 antibióticos, excepto a amoxicilina ya que el 100% presenta susceptibilidad intermedia (I) y el 100 % presenta susceptibilidad (S) a colistina.
- ***Aeromona hydrophila***: El 100% de estas bacterias aisladas resulta resistente (R) a 10 antibióticos, excepto a ceftazidima y norfloxacin ya que el 100% presenta susceptibilidad intermedia (I).

- ***Enterobacter sakazakii***: El 100% de estas bacterias aisladas resulta resistente (R) a 11 antibióticos, excepto a ciprofloxacina ya que el 100% presenta susceptibilidad intermedia (I) a este antibiótico.
- ***Enterobacter cloacae***: El 100% de las bacterias aisladas resulta resistente (R) a 10 antibióticos, excepto a ciprofloxacina y norfloxacina ya que el 100% de las bacterias aisladas presenta susceptibilidad intermedia (I) a estos antibióticos.

3.3.2 Resistencia a antibióticos en las Enterobacterias identificadas en pollos provenientes de los Cantones Paute y santa Isabel

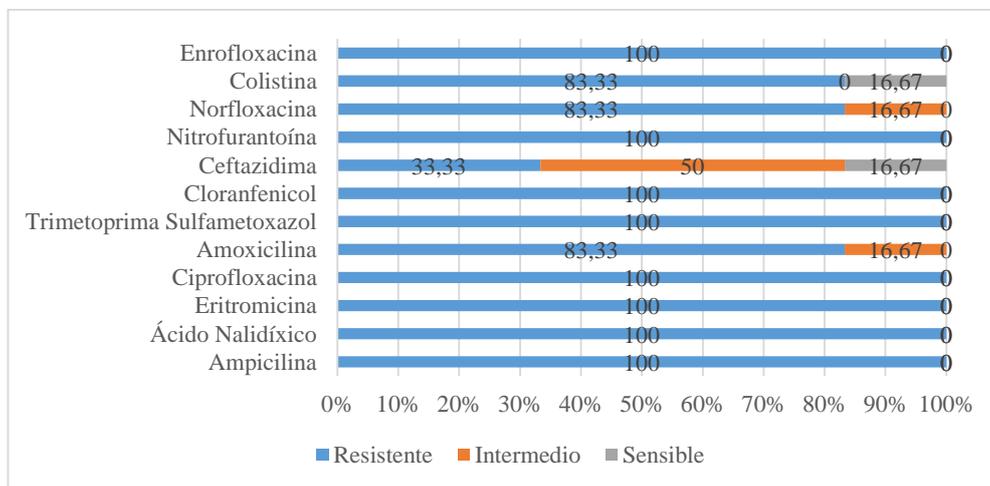


Figura N° 3. 7 Resistencia en Enterobacterias aisladas de pollos provenientes del Cantón Santa Isabel

En la gráfica N° 3. 7 se puede observar que el 100% de Enterobacterias aisladas de los pollos procedentes del Cantón Santa Isabel presenta resistencia (R) a ampicilina, ácido nalidíxico, eritromicina, ciprofloxacina, trimetoprim sulfametoxazol y cloranfenicol, y el 83,33% de las bacterias presenta resistencia (R) a amoxicilina, colistina y norfloxacina. Habiendo una sensibilidad (S) a colistina en el 16,67% de las bacterias. Puntualmente en el caso del antibiótico ceftazidima del 100% de bacterias aisladas el 16,67% presenta sensibilidad, el 50% presenta resistencia intermedia y el 33,33% es resistente a este antimicrobiano

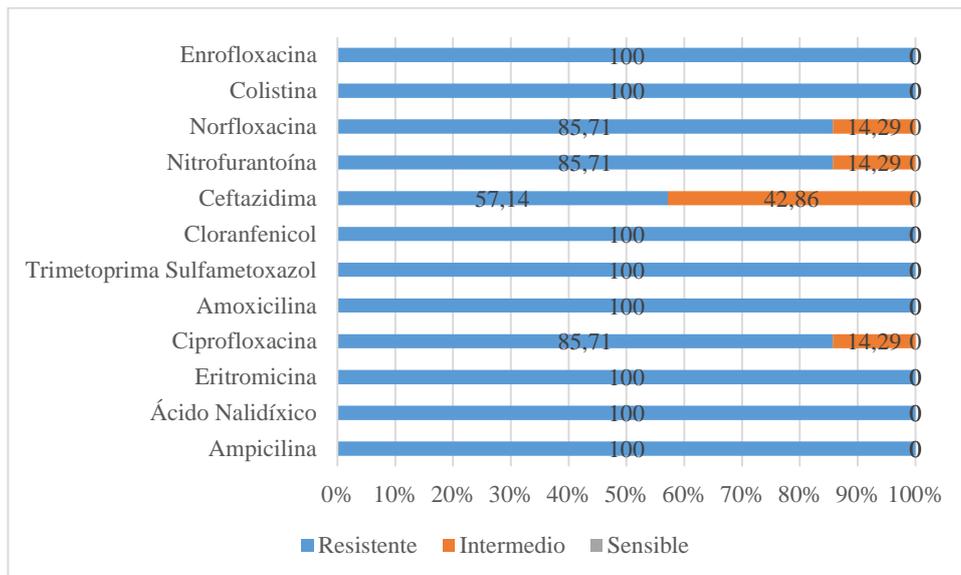


Figura N° 3. 8 Resistencia a antibióticos en Enterobacterias aisladas de pollos provenientes del Cantón Paute

En la figura N° 3.8 se observa que el 100% de Enterobacterias aisladas de los pollos procedentes del Cantón Paute presentan resistencia (R) a ampicilina, ácido nalidíxico, eritromicina, amoxicilina, trimetoprim sulfametoxazol, cloranfenicol, colistina y enrofloxacina. También el 85,71% de las bacterias presenta resistencia (R) a norfloxacina, nitrofurantoína y ciprofloxacina. Existiendo una sensibilidad intermedia (I) en el 42,86% de las bacterias aisladas a ceftazidima y en un porcentaje más bajo del 14,29% presenta sensibilidad intermedia (I) a norfloxacina, ciprofloxacina y nitrofurantoína.

3.3.3 Resistencia a antibióticos en las Enterobacterias identificadas en pollos procedentes de los proveedores con marca 1 y marca 2

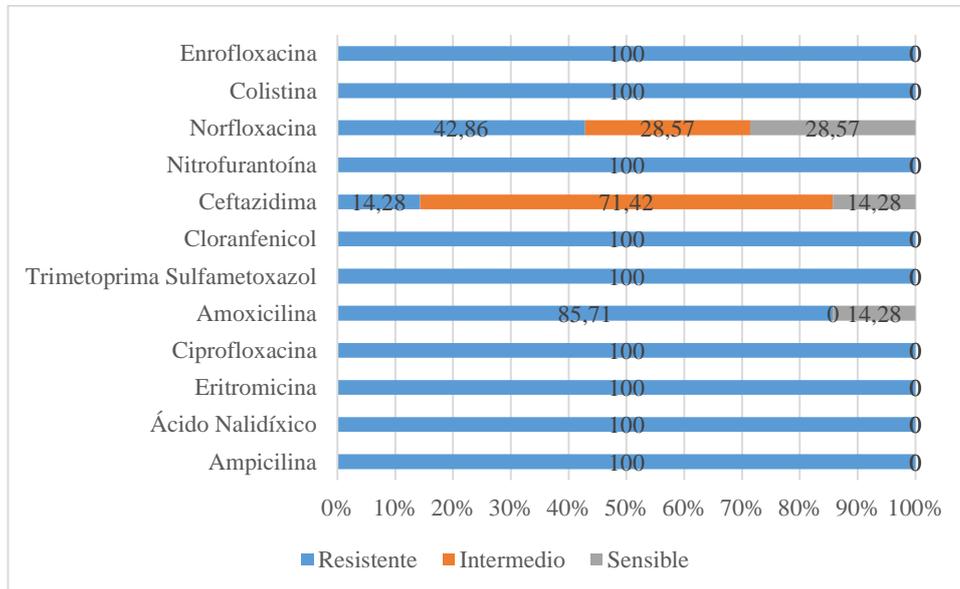


Figura N° 3. 9 Resistencia a antibióticos en Enterobacterias aisladas de pollos procedentes del proveedor con marca 1

En la figura N° 3. 9 se observa que el 100% de bacterias aisladas de este proveedor presentaron resistencia a ampicilina, ácido nalidíxico, eritromicina, ciprofloxacina, trimetoprim sulfametoxazol, cloranfenicol, nitrofurantóina, colistina y enrofloxacina. Habiendo una sensibilidad intermedia (I) considerable a ceftazidima en el 71,42% de bacterias aisladas y una sensibilidad (S) en el 28,57% a norfloxacina.

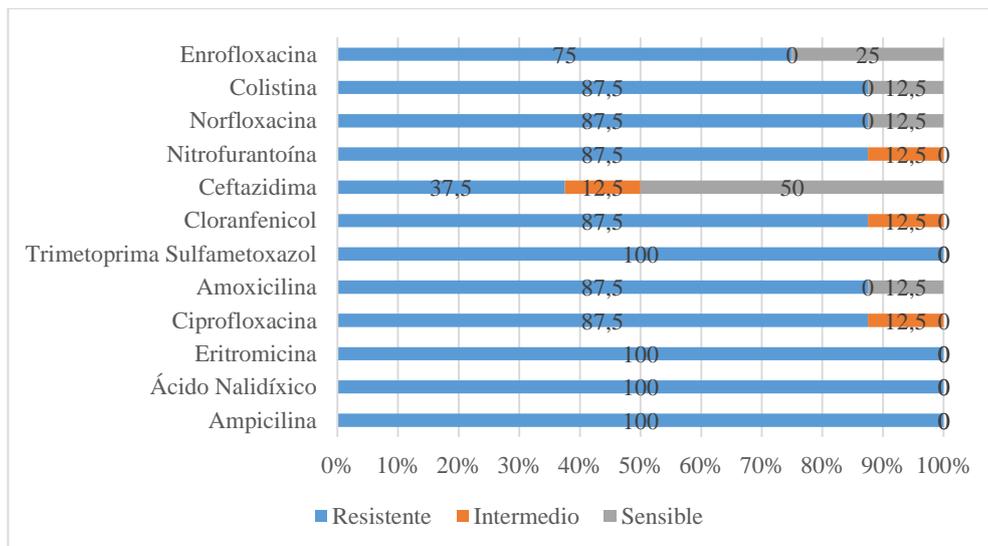


Figura N° 3. 10 Resistencia a antibióticos en Enterobacterias aisladas de pollos procedentes del proveedor con marca 2

En la figura N° 3. 10 se observa que el 100% de bacterias aisladas presenta resistencia a ampicilina, ácido nalidíxico, eritromicina y trimetoprima sulfametoxazol, y el 87,5% presenta resistencia a amoxicilina, ciprofloxacina, cloranfenicol, nitrofurantoína, norfloxacina y colistina. Existiendo una sensibilidad (S) considerable a ceftazidima en el 50% de bacterias aisladas. En el caso de la enrofloxacina el 25% presenta sensibilidad (S).

También, se puede observar que existe una sensibilidad intermedia (I) y sensibilidad (S) en el 12,5% de bacterias a algunos antibióticos que se puede observar en la figura.

3.4 Presencia de *Campylobacter spp.*

De las 72 muestras analizadas en lo que concierne a la presencia de *Campylobacter spp.*, determinado por la técnica Simplate®, dio como resultado 27 muestras positivas lo que representa el 37,5 % del universo total de la muestra y 45 muestras negativas lo que representa 62,5%. Los datos para el desarrollo de la figura se observan **Anexo15**.

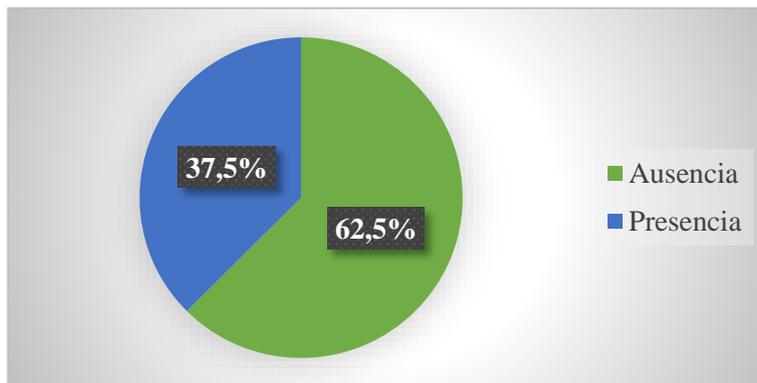


Figura N° 3. 11 Presencia de *Campylobacter spp.*, en pollos frescos

3.4.1 Presencia de *Campylobacter spp.*, según el lugar de procedencia de la muestra

En los lugares donde se adquirieron las muestras se realizó una consulta previa, con el objetivo de conocer el lugar de origen de la muestra. En la Figura N° 3.12, se observa los resultados del análisis de los pollos que provienen de dos Cantones de la Provincia del Azuay llamados Paute y Santa Isabel y de pollos que proceden de dos proveedores con marca 1 y marca 2, los mismos que vienen empacados y etiquetados.

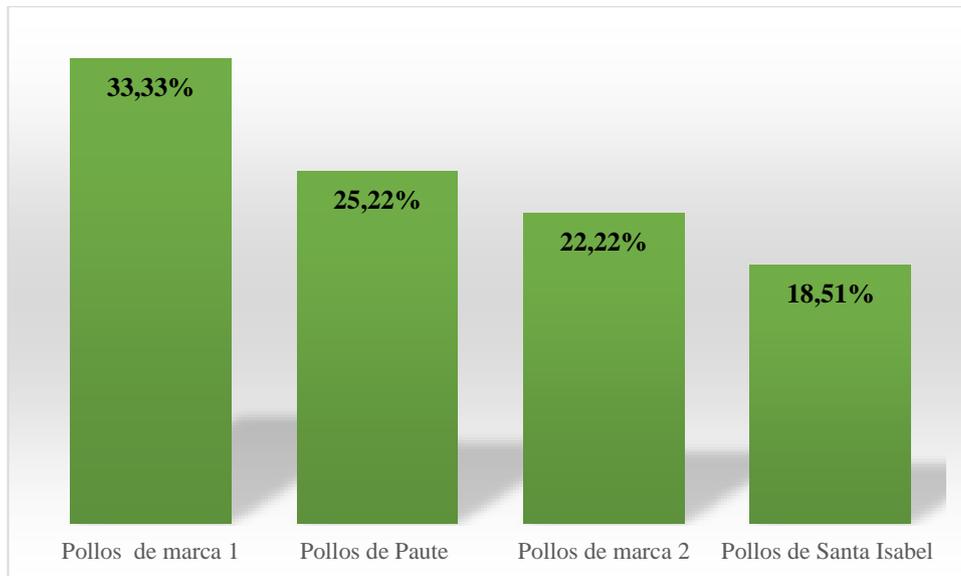


Figura N° 3. 12 *Campylobacter spp.*, según el lugar de procedencia de la muestra

Para obtener los resultados de la figura N° 3. 12 se analizaron 18 muestras tomadas de los pollos por cada lugar de procedencia. Por lo tanto las 18 muestras de los pollos representan el 100% del universo total de la muestra para cada proveedor.

En el caso de las muestras tomadas de los pollos del proveedor con marca 1, del 100% de estas muestras el 33,33% dio positivo a *Campylobacter spp.*, seguido de pollos que provienen del Cantón Paute y de proveedores con marca 2 que presentan un 25,22% y 22,22% de *Campylobacter spp.*, respectivamente, y por último los pollos que provienen del Cantón Santa Isabel el 18,51% es positivo a *Campylobacter spp.*

3.5 *Campylobacter spp* resistente a antibióticos

En la Figura N° 3.14 se observa tres tipos de valoraciones en base a las pruebas de resistencia a antibióticos (Kirby Bauer) aplicadas a *Campylobacter spp*. Para el desarrollo de las pruebas se utilizaron 12 antibióticos anteriormente seleccionados en base a las encuestas y las normas NCCLS.

Estas valoraciones son: resistente (R), susceptibilidad intermedia (I) o sensible (S) probadas a 12 antibióticos en *Campylobacter spp*.

Los datos para el desarrollo de la figura se observan **Anexo 16**.

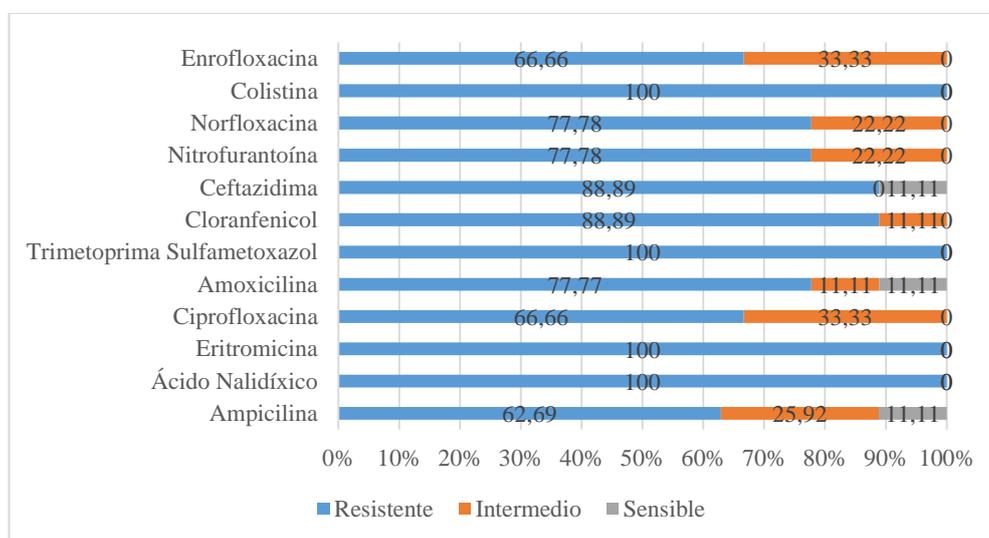


Figura N° 3. 13 *Campylobacter spp*. resistente a antibióticos

En la figura se observa que el 100% de *Campylobacter spp.*, aislado presenta resistencia (R) a eritromicina, ácido nalidíxico, trimetoprima sulfametoxazol y colistina, y del 62,69 – 88,89% de esta bacteria presenta resistencia (R) a enrofloxacina, norfloxacina, nitrofurantoína, ceftazidima, cloranfenicol, amoxicilina, ciprofloxacina y ampicilina como se muestra en la figura. Existiendo una sensibilidad intermedia (I) en el 22,22 – 33,33% de *Campylobacter spp.* a ciprofloxacina, nitrofurantoína, norfloxacina, enrofloxacina y ampicilina. También el 11,11% presenta sensibilidad (S) a ceftazidima, amoxicilina y ampicilina.

3.5.1 *Campylobacter spp.*, resistente a antibióticos según el lugar de procedencia de la muestra

En la Figura N° 3.14 y 3.15 se observa los resultados de resistencia a antibióticos en *Campylobacter spp.*, aislado e identificado anteriormente mediante pruebas simplate de pollos provenientes de Cantones de la Provincia del Azuay como son Paute y Santa Isabel.

De la misma forma en la Figura N°3.18 y 3.19, se presenta los resultados de las pruebas de resistencia realizadas en *Campylobacter spp.*, aislado de pollos procedentes de proveedores con marca 1 y marca 2, estos pollos se venden empacados y etiquetados.

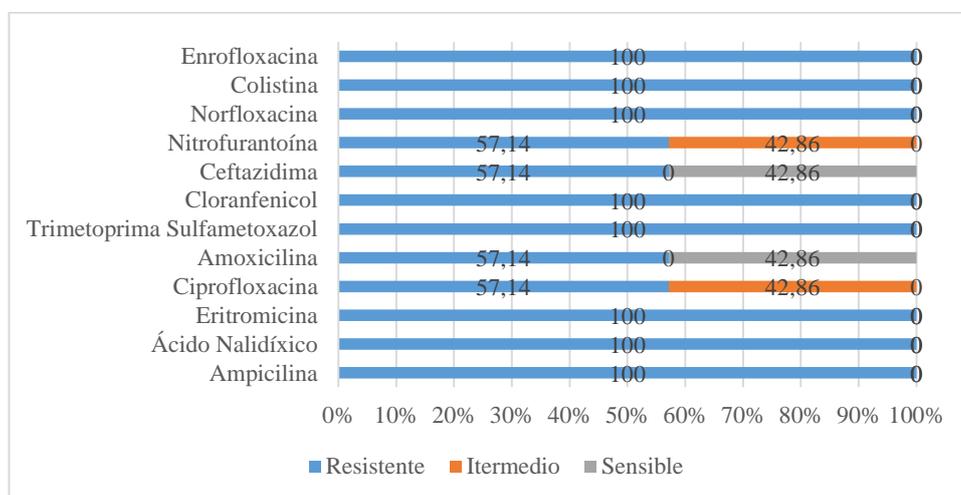


Figura N° 3. 14 Resistencia a antibióticos en *Campylobacter spp.* aislado de pollos provenientes del Cantón Paute

En la figura N° 3. 14 se observa que el 100% de *Campylobacter spp.*, aislado de los pollos provenientes del Cantón Paute, presenta resistencia a eritromicina, ampicilina, trimetoprima sulfametoxazol, cloranfenicol, colistina, norfloxacina, ácido nalidíxico y enrofloxacina. Existiendo una sensibilidad intermedia (I) en el 42,86% a ciprofloxacina y nitrofurantoína, y una sensibilidad (S) en el 42, 86% de *Campylobacter spp.* a ceftazidima y amoxicilina.

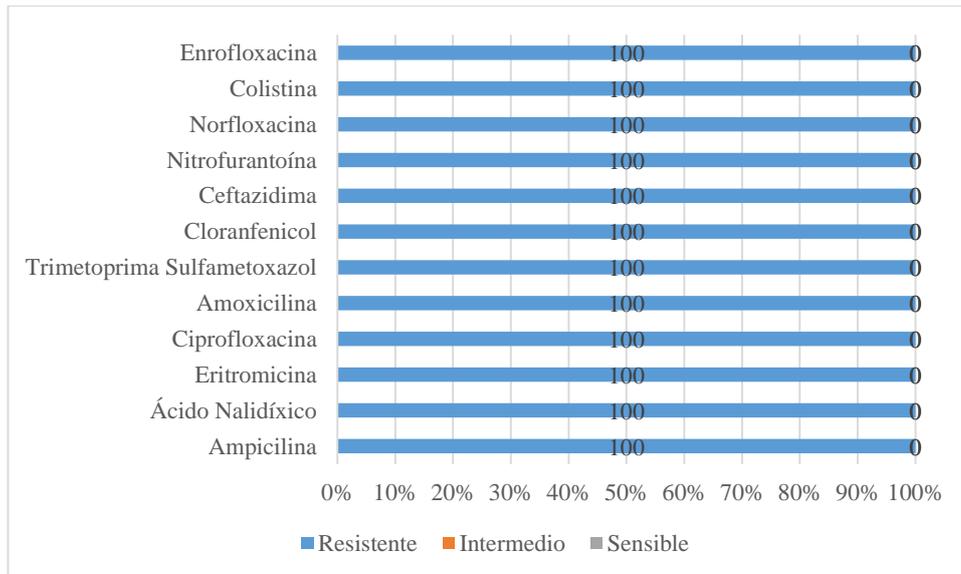


Figura N° 3. 15 Resistencia a antibióticos en *Campylobacter spp.* aislado de pollos provenientes del Cantón Santa Isabel

En la figura N° 3. 15 se observa que el 100% de *Campylobacter spp.* aislado de los pollos provenientes del Cantón Santa Isabel, presenta resistencia a los 12 antibióticos probados.

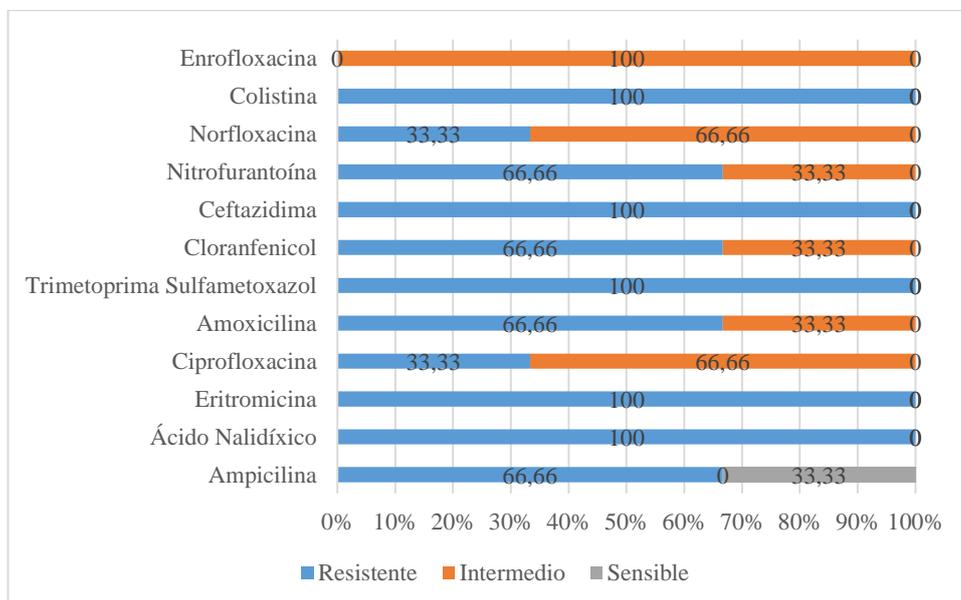


Figura N° 3. 16 Resistencia a antibióticos en *Campylobacter spp.* aislado de pollos procedentes del proveedor con marca 1

En la figura N° 3. 16 se observa que el 100% de *Campylobacter spp.* aislado de los pollos procedentes del proveedor con marca 1, presenta resistencia a eritromicina, ácido nalidíxico, colistina, trimetoprima sulfametoxazol y ceftazidima. El 66,66%

presenta sensibilidad intermedia (I) a norfloxacin y ciprofloxacina, y el 33,33% de *Campylobacter spp* también presenta sensibilidad intermedia (I) a cloranfenicol, amoxicilina y nitrofurantoína. En el caso de la enrofloxacin el 100% de *Campylobacter spp.* presenta sensibilidad intermedia (I). Solo existe sensibilidad (S) en el 33,33% de *Campylobacter spp.* a la ampicilina.

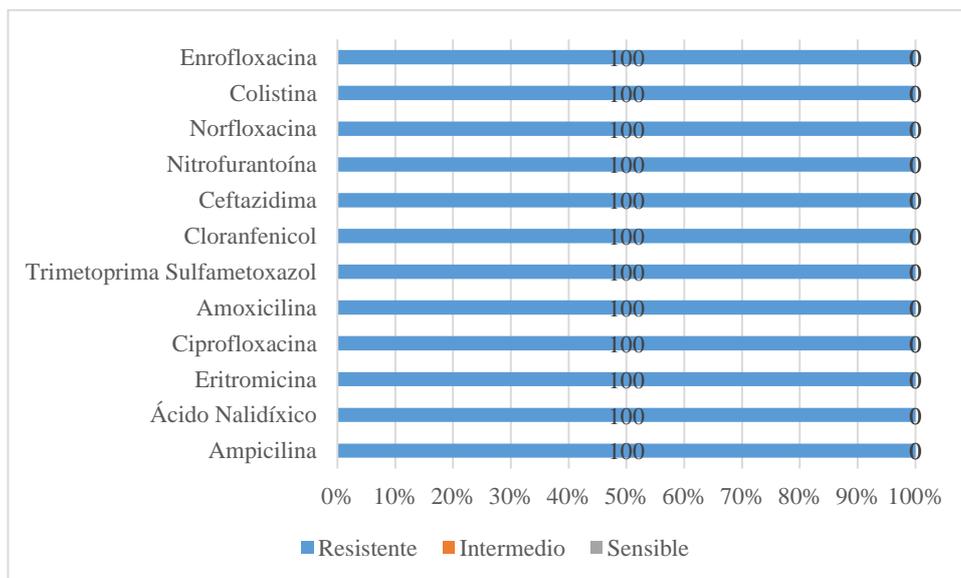


Figura N° 3. 17 Resistencia a antibióticos en *Campylobacter spp.* aislado de pollos procedentes del proveedor con marca 2

En la figura N° 3. 17 se observa que el 100% de *Campylobacter spp.* aislado de los pollos procedentes del proveedor con marca 2, presenta resistencia a los 12 antibióticos probados.

DISCUSIÓN

La resistencia bacteriana constituye en la actualidad un problema de salud pública, que está teniendo series repercusiones sanitarias, sociales y económicas, éste problema ha venido aumentando sin control con el tiempo, debido principalmente a que es un problema multicausal donde están involucrados varios sectores los cuales no tienen claridad sobre la magnitud del problema. (Martinez, 2012, p. 86)

Si bien se ha intensificado el control para el uso de antibióticos en países como: Estados Unidos, Europa y Asia Oriental, la información es limitada en Países de continuo desarrollo en América latina. Motivo por el cual se deben realizar continuamente investigaciones sobre resistencia bacteriana a antibióticos, para tener una idea de los riesgos a los que estamos expuestos y tomar medidas correctivas para evitar enfermedades por consumo de alimentos.

El uso de antibióticos en la producción de aves de corral es un factor de riesgo que favorece a la aparición de bacterias Gram negativas resistentes (Errecalde, 2004). La encuesta realizada no aportó información suficiente, ya que en los locales de venta de productos veterinarios no dan la información necesaria sobre los tratamientos con antibióticos que venden para los pollos de engorde, pero a breves rasgos mencionaron nombres comerciales de medicamentos, como: eritrovit, maydox, abicxasin, sulfavit, floran, enroxil, nitrofurazone, viracol, maíz antibiótico y garacil. Estos medicamentos tiene en su composición uno o dos antibióticos, entre ellos: enrofloxacin, colistina, eritromicina, ampicilina, amoxicilina, ácido nalidíxico, florfenicol, nitrofurantoína, sulfadimetoxina y ceftazidima.

Se analizaron 72 muestras tomadas de pollos que se expenden en el mercado “El Arenal”, los mismos que provienen de los Cantones Paute y Santa Isabel y otros pollos que proceden de proveedores con marca 1 y marca 2, estos últimos se venden empacados y etiquetados. Mediante pruebas bioquímicas MICRO GEN ID, se identificaron a once especies de bacterias que pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae*, las cuales son: *Klebsiella oxytoca* que está presente en el 22,22% del universo total de la muestra, *Burkholderia pseudomallei* (20,83%), *Escherichia coli* (13,88%), *Serratia odorifera* (8,33%), *Escherichia fergusonii* (6,64%), *Proteus mirabilis* (5,56%), *Serratia Liquefaciens* (5,56%), *Klebsiella ornithinolytica* (4,17%), *Aeromonas hydrophila* (4,17%), *Enterobacter sakazakii* (4,17%), *Enterobacter*

cloacae (4,17%). Siendo *K. oxytoca* la bacteria identificada en más del 30% en las muestras de los pollos provenientes de los Cantones Paute y Santa Isabel y *B. pseudomallei*, *P. mirabilis* y *E. coli* que son las bacterias identificadas en más del 20% de las muestras tomadas de los pollos procedentes de los proveedores con marca 1 y marca 2

Tomando en cuenta que la Organización Mundial de la Salud el 27 de febrero del 2017 divulgó su primera lista de “patógenos prioritarios” resistentes a los antibióticos, en las que mencionan doce familias de bacterias más peligrosas para la salud. La lista se divide en tres categorías, según la prioridad sea: crítica, alta o media. En la categoría crítica figuran las familias de bacterias llamadas: *Moraxellaceae*, *Pseudomonadaceae* y *Enterobacteriaceae* dentro de las cuales nombran especies como: *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ornithinolytica*, *E. coli*, *Serratia odorífera*, *Serratia liquefaciens* y *Proteus mirabilis*, que pueden provocar infecciones graves y a menudo letales. Refiriéndonos con esta publicación, las bacterias identificadas en nuestro trabajo se encuentran dentro de la categoría crítica.

Sin dejar de mencionar que dentro de las bacterias identificadas en los pollos procedentes del proveedor con marca 1, está *E. sakazakii*, que es considerado una bacteria de peligro para la salud pública. Aunque esta bacteria no es muy frecuente, sin embargo su tasa de mortalidad es elevada del 40-80% y puede incluir graves secuelas neurológicas como retraso en el desarrollo neuronal. (Castro, Gómez, & Vargas, 2010)

Sobre el comportamiento en general de las Enterobacterias en las pruebas de resistencia a antibióticos, el 100% de las bacterias es resistente (R) a eritromicina, trimetoprima sulfametoxazol, ampicilina y ácido Nalidíxico, y del 89- 96% presenta resistencia a enrofloxacina, colistina, nitrofurantoina, cloranfenicol, amoxicilina y ciprofloxacina, siendo el 75% de las bacterias aisladas resistentes a norfloxacina. Solo en el caso del antibiótico ceftazidima del 100% de las Enterobacterias aisladas el 35,71% es resistente (R), el 21,42% presenta sensibilidad (S), el 42,85% presenta resistencia intermedia (I).

De las once especies de Enterobacterias analizadas todas presentan resistencia mínimo a 9 antibióticos. Siendo las bacterias más resistentes, *Escherichia fergusonii* y *Serratia liquefaciens*, las mismas que presentan resistencia en el 100% de cepas

aisladas a los 12 antibióticos probados, por otro lado el 100% de *Klebsiella ornithinolytica* presenta sensibilidad (S) a colistina y es la única bacteria sensible a este antimicrobiano. También del 20 – 100% de cepas aisladas de *Klebsiella oxytoca*, *Burkholderia pseudomallei*, *Escherichia coli*, *Serratia odorifera*, *Proteus mirabilis* y *Aeromona hydrophila* presentan sensibilidad intermedia (I) o sensibilidad (S) a ceftazidima, enfatizando que es el único antibiótico de los 12 a los que estas bacterias reaccionaron favorablemente al menos con una sensibilidad intermedia. En el caso de *Enterobacter sakazakii* al único antibiótico al que presenta sensibilidad intermedia (I) es a ciprofloxacina. Según, Galí (2010) “Las *Enterobacterias* son las responsables de una tercera parte de los aislamientos en las bacteriemias, de dos tercios de los aislamientos en gastroenteritis, y de tres cuartas partes de los aislamientos en infecciones del tracto urinario.”

Estos resultados coinciden con investigaciones realizadas en los últimos años, donde indican que un porcentaje cada vez mayor de las bacterias pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* especialmente *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.*, han desarrollado resistencia incluso a las cefalosporinas de tercera generación (ceftazidima) debido al desarrollo de enzimas β -Lactamasas. Por otro lado, el desarrollo de resistencia a quinolonas (ciprofloxacina, enrofloxacina, norfloxacina) es cada vez más preocupante y está relacionado con el consumo indiscriminado de estos antibióticos (Galí, 2010, pág. 6).

En el caso de *Enterobacter sakazakii*, estudios demuestran que es susceptible a antibióticos como ampicilina, gentamicina y cloranfenicol, sin embargo, últimamente se ha visto que algunas de estas cepas han desarrollado resistencia contra estos antimicrobianos, por lo que se propuso usar cefalosporinas de tercera generación para el tratamiento de enfermedades producidas por esta bacteria (Luján, Treviño, & Aguilar, 2014, p. 28). Pero en nuestra investigación *Enterobacter sakazakii* presenta únicamente sensibilidad intermedia (I) a ciprofloxacina, y resulta resistente a todos los antibióticos nombrados anteriormente, incluso a cefatazidima que es una cefalosporina de tercera generación, dejando en evidencia que estamos tratando con bacterias resistentes que podrían llegar a causar enfermedades graves al consumidor.

En cuanto a los resultados de nuestra investigación con respecto a *Escherichia coli* concuerdan con investigaciones realizadas en pacientes de un Hospital de Barbastro,

donde se encontraron resistencias a nitrofurantoina y cefalosporinas de tercera generación, manifestando que la resistencia a amoxicilina ha ido aumentando cada vez. Además, los máximos niveles de resistencia son a sulfametoxazol, ciprofloxacina y ampicilina (Betrán, Costés, & López, 2015, p. 263).

De las 72 muestras analizadas en lo que concierne a la presencia de *Campylobacter spp.* determinado por la técnica Simplate®, dio como resultado 27 muestras positivas lo que representa el 37,5 % del universo total de la muestra, si comparamos estos resultados con las normas de la Unión Europea (UE) en las que manifiestan que en las aves (pollos de engorde, pavos, patos) se acepta un valor máximo de *Campylobacter spp.*: durante el sacrificio en el matadero debe estar entre 18-83%, en la manipulación y preparación es de 26-53% y del 22-60% en su comercialización. (Elika, 2006), lo que indica que el 37,5% de *Campylobacter spp.* en los pollos analizados estaría dentro del rango permitido durante la comercialización.

Si se compara los datos obtenidos de este estudio con el realizado en España para *Campylobacter spp.*, en aves de corral, se observa que la prevalencia en dicho país disminuye a medida que las aves pasan del matadero 46%, a la manipulación 38% y comercialización en un 25% (Elika, 2006); indicándonos que existe una notable diferencia del 12.5% de presencia de *Campylobacter spp.* en nuestra investigación ya que el porcentaje que se obtuvo fue de 37,5% durante el proceso de comercialización, lo cual puede deberse al proceso de faenado que tiene cada país, el tipo de transporte de los pollos al mercado o la falta de condiciones para el expendio de los pollos (venta al aire libre sin refrigeración).

En la Universidad del Azuay se llevó a cabo un estudio sobre la presencia de *Campylobacter spp.* en pollos frescos, dando positivo en un 44% (Moreno, 2015), concordando con nuestra investigación lo que indica que se deben realizar estudios de resistencia bacteriana a antibióticos, a fin de orientar la implementación de medidas preventivas oportunas y necesarias para evitar brotes o epidemias, así como para determinar una prevalencia real de estos microorganismo en nuestro medio.

En cuanto a la sensibilidad de *Campylobacter spp.* a antibióticos, el 100% de esta bacteria presenta resistencia a eritromicina, ácido nalidíxico, colistina y trimetoprima sulfametoxazol, del 62,69 – 88,89% de esta bacteria presenta resistencia (R) a enofloxacina, norfloxacina, nitrofurantoina, ceftazidima, cloranfenicol, amoxicilina,

ciprofloxacina y ampicilina. Existiendo una sensibilidad intermedia (I) en el 22,22 – 33,33% de *Campylobacter spp.* a ciprofloxacina, nitrofurantoína, norfloxacina, enrofloxacin y ampicilina. También el 11,11% presenta sensibilidad (S) a ceftazidima, amoxicilina y ampicilina.

Estos resultados concuerdan con una investigación realizada en Chile ya que probaron con dos de los antibióticos con los que se realizó las pruebas de resistencia, se desarrollaron los análisis en *Campylobacter jejuni* aislados de humanos, bovinos y carne de aves, donde los resultados indican que en carnes de pollo el 58,2% de cepas de *Campylobacter jejuni* presentó resistencia a la ciprofloxacina y eritromicina; en bovinos el 18,2% de cepas aisladas de *Campylobacter jejuni* presentó resistencia a la ciprofloxacina (Gonzales-Hein, Cordero, García, & Figuero, 2013, p. 136).

En el 2016 se realizó otro estudio de resistencia en *Campylobacter spp.*, en 120 cepas aisladas de carne de bovino y cerdo, analizando frente a los siguientes antibióticos ciprofloxacina, tetraciclina, eritromicina y gentamicina observando que el 10,5% de ellas fueron resistentes a gentamicina, el 57,9% a eritromicina, el 82,6% a ciprofloxacina y el 91,4% lo fue a tetraciclina, mientras que el 87,1% de las cepas fueron clasificadas como multiresistentes (Pulgar, 2016, p. 12). Los resultados de estos análisis concuerdan con los obtenidos en el estudio presente.

CONCLUSIONES

Con los resultados obtenidos en la presente investigación “Resistencia a antibióticos de uso veterinario en Enterobacterias y Campylobacter aisladas de pollos faenados expendidos en el Mercado ‘‘El Arenal’’ de Cuenca”, es posible plantear las siguientes conclusiones con respecto a las 72 muestras analizadas.

Se realizó la encuesta a 10 locales de expendio de productos veterinarios, obteniendo la información a breves rasgos, debido al sigilo por parte de los dueños de los locales, indicaron que en algunas granjas los antibióticos son utilizados en bajas cantidades como promotores del crecimiento, en otras se llevan a cabo tratamientos profilácticos a todos los individuos desde la primera semana de vida, estos tratamientos en masa se realizan frecuentemente debido a la facilidad que presenta la administración de antibióticos en el agua, suministrando el tratamiento innecesario a los pollos que no estaban enfermos, de esta manera aumenta el riesgo de acelerar el fenómeno de resistencia antimicrobiana. Por lo tanto, se supone que el uso de antibióticos en los criaderos de pollos es alto, debido en parte a los protocolos sanitarios que maneja este sistema de producción de animales para el consumo humano, los cuales sugieren el uso de antimicrobianos sin contar con un previo diagnóstico en laboratorio, con el fin de evitar una rápida propagación de la enfermedad que se sospecha en el galpón. Además, las normas Ecuatorianas respaldan su consumo, en la resolución N^o 0072 de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de Calidad (AGROCALIDAD) indica en el Artículo N^o 6 que para el expendio de productos veterinarios no es necesario que el cliente presente receta médica a excepción si se trata de productos como: psicotrópicos, estupefacientes, anestésicos generales y locales, tranquilizantes, eutanásicos, anabólicos y relajantes musculares.

Se aislaron e identificaron once especies de Enterobacterias, algunas de ellas se encuentran dentro la lista de superbacterias de alto riesgo según el comunicado que lanzó la OMS en Marzo del 2017, las mismas que pueden producir infecciones graves y a menudo letales. De las cuales *Klebsiella oxytoca*, *Burkholderia pseudomallei* y *Escherichia coli* son las que presentaron mayor prevalencia, teniendo en cuenta que *Klebsiella oxytoca* es la bacteria identificada en más del 30% en las muestras de los pollos provenientes de los Cantones Paute y Santa Isabel y *B. pseudomallei*, *P. mirabilis* y *E. coli* que son las bacterias identificadas en más del 20% de las muestras

tomadas de los pollos procedentes de los proveedores con marca 1 y marca 2, en pollos procedentes del proveedor con marca 1, se encontró *E. sakazakii* que es una bacteria de alto riesgo para los bebés, niños, ancianos y personas inmunodeprimidas.

En cuanto a las pruebas de resistencia antimicrobiana, de las once especies de Enterobacterias analizadas, más del 75% de cepas aisladas de estas bacterias resultaron resistente mínimo a 9 de los 12 antibióticos probados. Determinando que la ceftazidima es el único antibiótico que obtuvo una respuesta favorable, ya que 6 de las 11 bacterias presentaron sensibilidad intermedia y en base al porcentaje de resistencia frente a este antibiótico las Enterobacterias aisladas de los pollos provenientes del Cantón Paute resultaron más resistentes. Datos que alertan a tomar acciones necesarias por parte de las autoridades competentes para frenar o disminuir este problema. Aunque, estas bacterias son termolábiles y pueden ser destruidas con la cocción, no se puede descartar que se presenten casos de intoxicación alimentaria a causa de una contaminación cruzada por una mala preparación tanto en la industria como en el hogar.

En lo que concierne a la presencia de *Campylobacter spp.* determinado por la técnica Simplate®, dio como resultado 27 muestras positivas lo que representa el 37,5 % del universo total de la muestra. Siendo los pollos procedentes del proveedor con marca 1, los que presentaron mayor prevalencia de *Campylobacter spp.* Estos resultados, indican que se debe tener precaución, en la manipulación de carnes crudas, ya que esta bacteria se encuentra por naturaleza en el intestino de animales como aves de corral y ganado. Además, la Organización Mundial de la Salud (WHO, 2016) en su última actualización, indica que la campilobacteriosis padecen 1 de cada 10 personas y son causa de la muerte de 33 millones de personas por año.

El 100 % de *Campylobacter spp.* aislado presentó resistencia a eritromicina, ácido nalidíxico, colistina y trimetroprima sulfametoxazol, y solo el 11,11% presenta sensibilidad (S) a ceftazidima, amoxicilina y ampicilina. Los pollos procedentes del Cantón Santa Isabel y de los proveedores con marca 1, fueron resistentes a todos los antibióticos probados. Lo cual representa a un problema grave para la salud ya que 6 de los antibióticos (Ampicilina, Eritromicina, Ciprofloxacina, Amoxicilina, Cloranfenicol y Ácido Nalidíxico) utilizados en las pruebas son los que más se recetan para tratar enfermedades por *Campylobacter spp.* (Pulgar, 2016, p. 1).

RECOMENDACIONES

El uso de antibióticos en los animales de consumo humano debe ser controlado por un médico veterinario, ya que a dosis inadecuadas o intervalos demasiado largos o cortos de administración de estos medicamentos produce resistencia en las bacterias, llevando a un fracaso terapéutico y gasto de dinero.

Administrar los antimicrobianos solo si el médico indica que es necesario, para ellos es indispensable realizar los exámenes de laboratorio para administrar el medicamento correcto.

Al momento de manipular alimentos de origen animal que estén crudos, tener en cuenta las prácticas de higiene para la manipulación de alimentos y sus utensilios, con el fin de evitar contaminaciones cruzadas que pueden terminar en fuertes infecciones que muchas de las veces pueden llevar a la muerte.

Lavarse las manos antes y después de manipular alimentos, y mantener las superficies limpias y desinfectadas para evitar contaminaciones cruzadas.

La mayoría de médicos veterinarios son conscientes de las grandes cantidades de antibióticos que se utilizan en estas explotaciones, sin embargo la decisión de su uso no depende exclusivamente de ellos en la mayoría de las ocasiones, sino de los dueños de las granjas, motivo por el cual es importante llevar a cabo capacitaciones no solo a los veterinarios sino también a los dueños de las granjas donde se les enseñe sobre el uso adecuado de antibióticos en los animales, para prevenir la transmisión de agentes patógenos resistentes que afectan la sanidad de las granjas.

Es importante hacer una actualización a algunos profesionales del área de la salud humana y animal, donde se concienticen sobre la importancia del uso adecuado de antimicrobianos, para que de esta manera antes de seleccionar un fármaco para tratamiento se realice un diagnóstico correcto, identificando el germen responsable con ayuda de pruebas de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, D., Garza, G., & Vázquez, R. (2015). Quinolonas. Perspectivas actuales y mecanismos de resistencia. *Scielo*, 499-504. Obtenido de <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v32n5/art02.pdf>
- Anadón, A. (2007). <http://racve.es>. Obtenido de Antibióticos de uso veterinario y su relación con la seguridad alimentaria: <http://racve.es/files/2013/03/2007-02-10-Discurso-ingreso-D.-Arturo-Ramón-Anadón-Navarro.pdf>
- Betrán, A., Costés, A., & López, C. (2015). Evaluación de la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* en infecciones urinarias adquiridas. *Esq Quimioter (Sociedad española de Quimioterapia)*, 263-266. Obtenido de <http://www.seq.es/seq/0214-3429/28/5/betran.pdf>
- Boston Public Health, C. (2014). *E. coli (Infectious Disease Bureau)*. <http://www.bphc.org>: Boston Public. Obtenido de <http://www.bphc.org/whatwedo/infectious-diseases/Infectious-Diseases-A-to-Z/Documents/Fact%20Sheet%20Languages/E.coli/Spanish.pdf>
- Bregante, M., & San Andrés, M. (2004). anfenicoles/fenicoles. farmacología y terapéutica. *Bot plus (Consejo oficial de Colegios Oficiales de Farmacéuticos)*, 1-10. Obtenido de <https://botplusweb.portalfarma.com/Documentos/2004/5/20/19252.pdf>
- Cabrera, C., Gómez, R., & Zúñiga, A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 38(2), 149-158.
- Camacho, O., Acedo, L., Moreno, G., Sánchez, R., Castellón, L., & Navarro, M. (2010). 6-Art25 Detección de Salmonella resistente a los antibióticos en víceras de pollo. *BIOtecnia*, 12(1), 3-11.
- Castro, G., Aguilera, G., Giono, S., Hernández, C., Chacón, M., Soler, L., . . . Figueras, M. J. (2002). El género *Aeromonas* ¿Un patógeno importante en México? *medigraphic (Literatura Biomédica)*, 22(4), 206-216. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2002/ei024f.pdf>
- Castro, J., Gómez, C., & Vargas, E. (2010). *Cronobacter sakazakii*. (U. A. Centro de Investigaciones Químicas. Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería, Ed.)
- Cavaliere, S., Harbeck, R., Yvette, M., Ortez, J., Rankin, I., Sautter, R., . . . Spiegel, C. (2006). Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana. (M. Coyle, Ed.) *Organización Panamericana de la Salud , Organización Mundial de la Salud*, 1, 1-242.

- Cué, M., & Morejón, M. (1999). Antibacterianos de acción sistémica. Parte III. Sulfonamidas y tetraciclina. *Scielo*, 156-167. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251999000200008
- Elika. (2006). *Campylobacter Jejuni* en carne de aves, Funfacción vasca para la seguridad alimentaria: <http://www.elika.net/datos/riesgos/Archivo22/Campylobacter%20en%20carne%20ave%202006.pdf>
- Errecalde, J. (2004). *Uso de antimicrobianos en animales de consumo*. Obtenido de FAO: <http://www.fao.org/3/a-y5468s.pdf>
- Falcón, N., Ortega, C., Gorniak, S., Villamil, L., Ríos, C., & Simón, M. (2010). El problema de la resistencia a antibióticos en salud pública. *Una Salud. Revista Sapuvet de Salud Pública*, 1(1), 75-88. Obtenido de <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/us/article/view/235>
- FAO/WHO. (2004). Resistance on *Enterobacter sakazakii* and other microorganism in powdered infant formula. Obtenido de Food and Agriculture Organization-World Health Organization:
- Gaastraa, W., Kuster, J., Van Duijkeren, E., Lipman, L. (2014). *Escherichia fergusonii*. *sciencedirect*, 172, 7-12. Obtenido de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113514002168>
- Galí, Z. (Marzo de 2010). Enterobacterias y antibioticoterapia. Informe de la red de salud de cuba :
- Gamboa, M. d., Mau, S., & Rodríguez, E. (Diciembre de 2011). Caracterización molecular y resistencia antimicrobiana de aislamientos de *Clostridium perfringens* de diferentes orígenes en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 59(4), 1479-1485.
- García, S., Poza, P., Marabé, G., & Prieto, M. (2011). Actualización en el tratamiento de la melioidosis. A propósito de un caso. *elsevier (Revista de Farmacia Hospitalaria)*, 35(6), 344-347. Obtenido de <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-hospitalaria-121-articulo-actualizacion-el-tratamiento-melioidosis-a-S1130634311000602>
- Ginestrea, M., Rincón, G., Romero, S., Harris, B., Castellano, M., Colina, G. (2005). Especies de *Aeromonas* en vegetales frescos que se expenden en un mercado popular de Maracaibo. *redalyc.org (Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal)*, 25(2), 229-235. Obtenido de <http://www.redalyc.org/html/1994/199416579007/>

- González, B., Cordero, R., San Millán, A. (2010). Resistencia a antibióticos en bacterias humanas y animales. Universidad Complutense de Madrid, oficina de transferencia de resultados de investigación. Madrid: Universidad Complutense de Madrid. Obtenido de http://pendientedemigracion.ucm.es/info/otri/cult_cient/infocientifica/descargas/noti_feb_2010_04.pdf
- González-Hein, G., Cordero, H., García, P., Figuero, G. (2013). Análisis molecular de la resistencia a fluoroquinolonas y macrólidos en aislados de *Campylobacter jejuni* de humanos, bovinos y carne de ave. *Revista Chilena de Infectología (Scielo)*, 30(2), 135-139.
- González, G., Mantilla, W., Rada, R. (2009). Neumonía y osteomielitis por *burkholderia pseudomallei*. *Scielo*, 17(1), 146-149.
- Grunbaum, F. (30 de 01 de 2011). Resistencia a aminoglucósidos en *Enterobacteriaceae*. Obtenido de TDR (Tesis Doctorales en Red): <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/42291/fg1de1.pdf?sequence=1>
- Gudián, J., Barreto, J., Rodríguez, M., Opino, P., & Lim, N. (2008). Macrólidos. *bvscuba.sld.cu*, 71-74. Infomed. Red de salud de Cuba. Obtenido de <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a6-aminoglucoSIDOS.pdf>
- Hartnett, E., Fazil, A., Paoli, G., Nauta, M., Bak, B., Rosenquist, H., Anderson, S. (2009). Evaluación de riesgos de *Campylobacter* spp. *World health organization (who.int)*, 1-36. Obtenido de http://www.who.int/foodsafety/publications/micro/MRA11_Sp.pdf
- INFOSAN. (2008). Resistencia a los antimicrobianos transferida por animales productores de alimentos. 2, 1-6.
- Instituto de salud Pública de Chile, I. (2014). Vigilancia de laboratorio de *Campylobacter* spp. *Instituto de salud Pública de Chile*, 1-17. Obtenido de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/Bolet%C3%ADn%20Campylobacter.pdf>
- Lemus, C. (10 de 2004). Determinación de β -lactamasas de espectro ampliado y de espectro extendido. Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2248.pdf
- Luján, G., Treviño, A., Aguilar, C. (2014). *Cronobacter sakazakii*: A Food Borne Emergent Pathogen. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*, 6(12). Obtenido de <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%2012/5.pdf>
- Malgor, V. (2000). *Antibióticos betalactámicos*. España: med.unne. Recuperado el 20 de Mayo de 2017, de

http://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/cap30_betalact.pdf

- Martinez, A. (2012). *bdigital.unal.edu.co*. Obtenido de Univeridad Nacional de Colombia: <http://www.bdigital.unal.edu.co/11429/1/05598590.2012.pdf>
- Moreno, M. (2015). Estudio de la presencia de *Campylobacter spp* en caracasas de pollos frescos , provinientes de los mercados "El Arenal" y " 10 de Agosto" de la ciudad de Cuenca- Ecuador (Tesis de Maestría). Cuenca- Ecuador: Universidad del Azuay.
- Motta, M. (2005). Sensibilidad antibiótica y características clínicas asociadas de las bacterias causantes de ITU en gestantes (Tesis Doctoral en red), Universidad Nacional Mayor de San Marco. Lima- Perú
- Naranjo, V. (2015). Situación Avícola en Azuay y Santo Domingo. Cuenca: Imagen y Comunicación Imagycom. Obtenido de http://www.maizysoya.com/index.php?option=com_content&view=article&id=27:situacion-avicola-en-azuay-y-santo-domingo&catid=16:articulos&Itemid=101
- Ochoa, D. (2006). Tetraciclinas, Cloranfenicol Y Antibióticos polipéptidos. Infomed. Red de Salud de Cuba. Obtenido de http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/a55-tetraciclinas,_cloranfenicol_y_antibioticos_polipeptocos.pdf
- OMS. (Diciembre de 2016). *Campylobacter* . Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>
- OMS. (Septiembre de 2016). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Resistencia a los Antimicrobianos: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
- OMS. (septiembre de 2016). *Resistencia a los Antimicrobinaos*. Obtenido de Organización Mundial de la Salud: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/>
- OMS. (2017). *Las superbacterias más peligrosas para la humanidad*. Organización Mundial de la Salud. Obtenido de <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/es/>
- OMS. (1 2016). *Campylobacter en carnes de pollo y cedo*. Obtenido de: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs255/es/>
- Pérez, E., Alcántara, L., Hurtado, L., Cota, E. (2014). Resistencia a antibióticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humano. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1(1), 75-85. doi:ISSN 2334-2501

- Puerta, A., Mateos, F. (15 de marzo de 2010). *Enterobacterias_Medicine2010*
Enterobacterias. Obtenido de Facultad de Medicina UNAM:
http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf
- Pulgar, D. (2016). Determinación de la sensibilidad antimicrobiana en cepas de *Campylobacter jejuni* y *Campylobacter coli* aislado de bovino y cerdos. Obtenido de repositorio.uchile.cl (Universidad de Chile):
- Rivera, M., Granda, A., Laudelina, F., & Bonachea, H. (2012). Resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella enterica* aisladas en carnes de aves importadas. *Scielo*, 34(2), 120-126.
- Smith, C., & Townsend, D. (1999). A new medium for determining the total plate count in food. *NCBI Journal of Food Protection*, 62 -12. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10606144>
- Tafur, J., Torres, J., & Villegas, M. (2008). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infomed red de salud de Cuba*, 12(3), 217-226.
- Torres, C., & Zarazaga, M. (2002). Antibióticos como promotores del crecimiento en animales. ¿Vamos por el buen camino? *scielo*, 6(2), 109-112.
- Torres, C., & Zarazaga, M. (2005). Repercusiones en el hombre del consumo de antibióticos por animales. *Esp Quimioterapia*, 11, 29-35.
- Treviño, M., Navarro, D., Barbeito, G., Areses, P., García, C., & Regueiro, B. (25 de 2 de 2012). *Proteus mirabilis* productor de AmpC plasmídica en el Área Sanitaria de Santiago de Compostela: prevalencia y caracterización molecular por rep-PCR y MALDI-TOF MS. Obtenido de Sociedad española de Quimioterapia: <http://seq.es/seq/0214-3429/25/2/trevino.pdf>
- Vélez, C. (30 de 01 de 2013). Determinación de antibióticos en cerdos y reses. Obtenido de Corporación Universitaria Lasallista:
http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/889/1/Determinacion_de%20antibioticos_en_cerdos_y_reses.pdf
- WHO. (2001). Global Strategy for Containment of Antimicrobial Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. *World Health Organization*. , 2, 1-99. Obtenido de http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/EGlobal_Strat.pdf

ANEXOS**ANEXO 1****Recursos Materiales**

EQUIPOS
Tuttnauer autoclave- steam sterilizer
Estufa o Incubadora Bacteriológica
Balanza Analítica
Cámara Ultravioleta
Cabina de flujo laminar
Destilador de Agua
Refrigeradora

MATERIALES
Agar VRB
Agar Verde Brillante
Agar PCA(Plate count agar)
Agar base sangre
Agar Cetrimida
Agua de peptona
Pruebas bioquímicas Micro GN A
Pruebas bioquímicas Micro GN B
Set de reactivos para pruebas bioquímicas
Suplemento selectivo para campylobacter Skirrow
Aditivo Hemina
Pruebas Simplate Campylobacter
Agua destilada estéril
Set de reactivos para tinción de Gram
Aceite de inmersión
Sangre estéril desfibrando

MATERIALES VARIOS
Vasos (250ml, 500ml,100ml)
Probeta (500ml)
Cajas bi- petri descartables 90mm * 15mm
Pipetas automáticas (10 - 100µl , 100-100 µl)
Asa bacteriológica
Hisopos
Placas portaobjetos 25,4 * 76,2 mm
Fundas ziploc
Lámpara de alcohol
pipetas serológicas (5,10 ml)
espátulas

ANEXO 2

Formato de encuesta realizada en los diferentes locales de expendio de productos veterinarios

ENCUESTA

1.- ¿Para la venta de sus medicamentos exige usted que su cliente presente receta médica?

SI () NO ()

2.- ¿Con qué frecuencia sus clientes presentan receta médica prescrita por un Médico Veterinario?

Siempre

Rara vez

Nunca

4.- ¿Qué tipos de enfermedades presentan comúnmente los pollos?

.....
.....

3.- ¿Qué síntomas o enfermedades son las más comúnmente consultadas en su negocio sobre los pollos de crianza destinados al consumo humano?

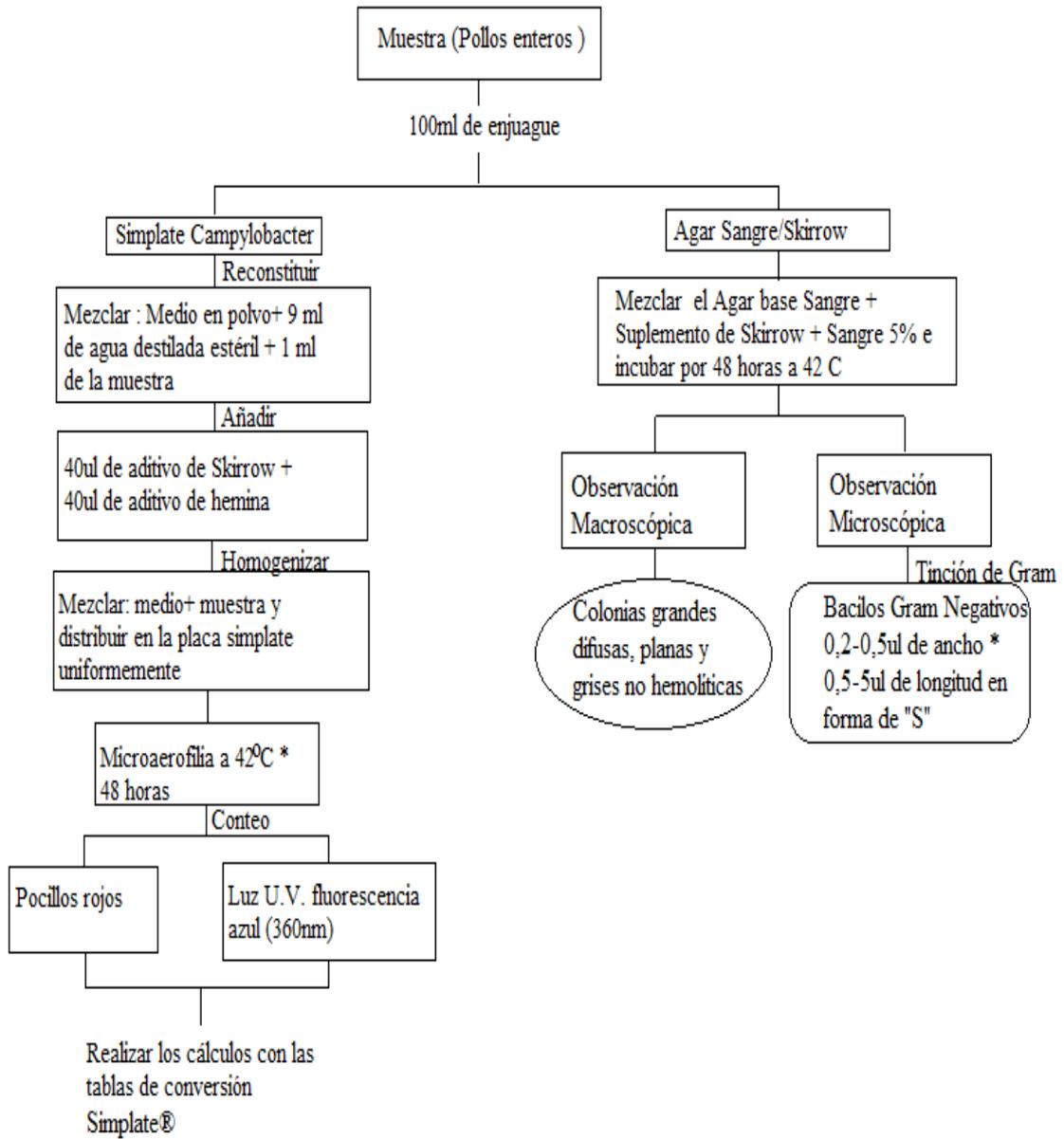
.....
.....

5.- Podría mencionar los antibióticos más utilizados o vendidos en su local, para tratar las enfermedades en los pollos.

.....
.....

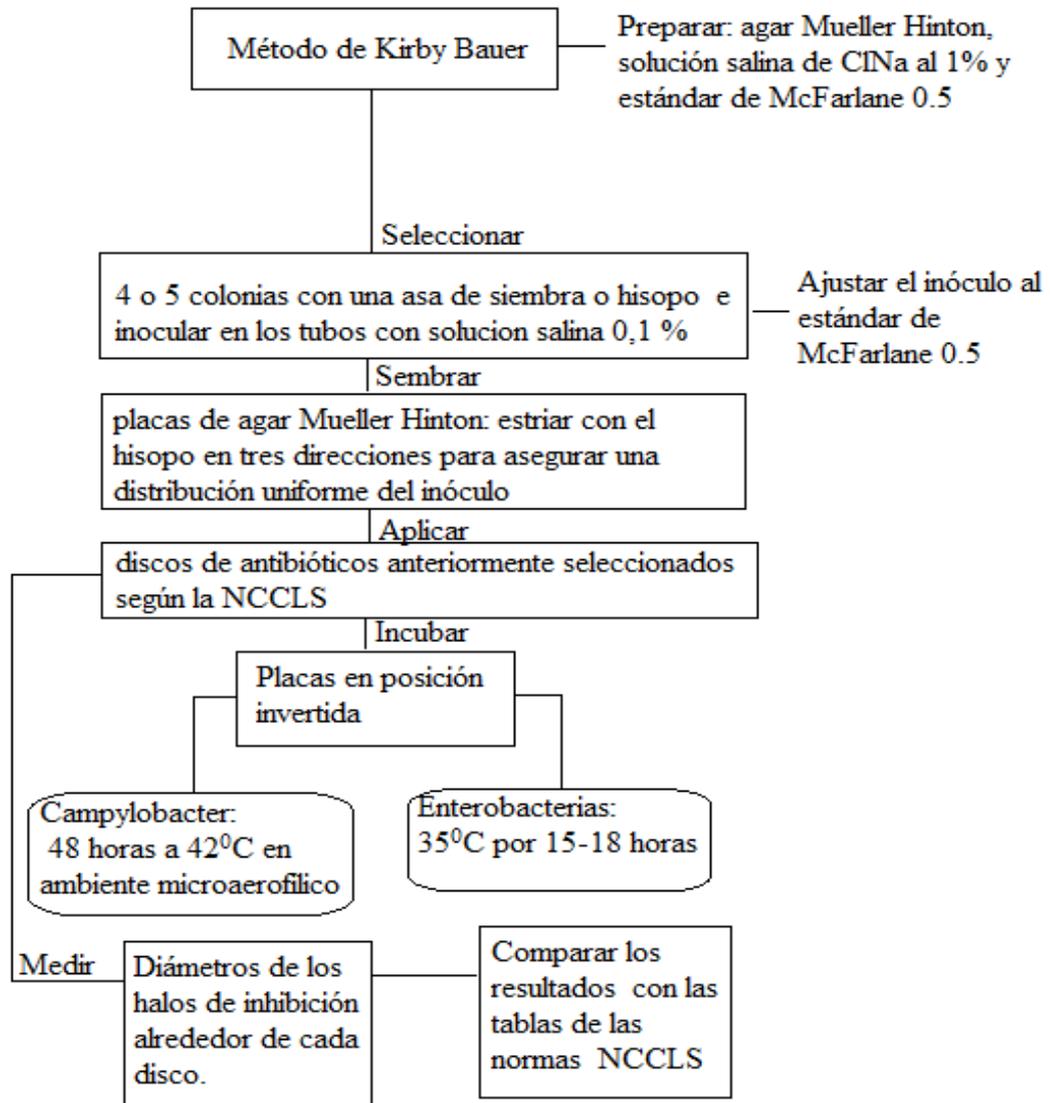
ANEXO 3

Flujograma de identificación de *Campylobacter* spp.



ANEXO 4

Flujograma de la técnica Kirby Bauer para determinar resistencia en *Campylobacter spp.* y en la familia de Enterobacterias



ANEXO 5

Dispositivo Simplate® *Campylobacter* spp.

Para realizar la siembra en el dispositivo Simplate® se debe seguir los siguientes pasos: rehidratar el medio en polvo con 9ml de agua destilada estéril y 1 ml de la muestra, posterior adicionar 40µl de aditivo de hemina y skirrow. Posteriormente verter la mezcla al centro de la placa como se observa en la Tabla y seguir los pasos indicados por Simplate® *Campylobacter*. Biocontrol e incubar por 48 horas.



Figura N^o1: Procedimiento Simplate® *Campylobacter*. Biocontrol 2010

Interpretación de los datos

Pasados las 48 horas de la incubación, se procedió a contar los pocillos que presentaron cambio de color (rojos) teniendo en cuenta que la intensidad de color puede variar y que algunos pocillos puede contener partículas rojas en el fondo o pueden estar rodeadas de un anillo de color rojo se les considera presuntos positivos a la presencia de *Campylobacter* spp.

Una vez realizado el conteo de pocillos rojos, se llevó la placa Simplate® a la cámara U.V (360nm de longitud de onda) para realizar el conteo de los pocillos rojos que presentan fluorescencia azul, tomando en cuenta que pueden haber pocillos que no son de color rojo pero emiten fluorescencia, los cuales no se deben contar ya que no son presuntivos para *Campylobacter* spp.

Determinación de la población de *Campylobacter* spp.

$$= N^0 \text{ de pocillos rojos} - N^0 \text{ de pocillos rojos que emiten fluorescencia}$$

Con la cantidad obtenida al realizar dicha diferencia se procede a comparar con la tabla de conversión Simplate® para determinar el número total de microorganismos por placa.

Figura 2: Tabla de Conversión Simplate® *Campylobacter*

SimPlate®

Normal Counting Range (NCR) Conversion Table

No. of positive wells = population per plate*

1 = 2	29 = 70	57 = 190
2 = 4	30 = 74	58 = 196
3 = 6	31 = 76	59 = 202
4 = 8	32 = 80	60 = 208
5 = 10	33 = 84	61 = 216
6 = 12	34 = 86	62 = 224
7 = 14	35 = 90	63 = 232
8 = 16	36 = 94	64 = 240
9 = 18	37 = 96	65 = 248
10 = 22	38 = 100	66 = 256
11 = 24	39 = 104	67 = 266
12 = 26	40 = 108	68 = 276
13 = 28	41 = 112	69 = 288
14 = 30	42 = 116	70 = 298
15 = 32	43 = 120	71 = 312
16 = 36	44 = 124	72 = 324
17 = 38	45 = 128	73 = 338
18 = 40	46 = 132	74 = 354
19 = 42	47 = 136	75 = 372
20 = 46	48 = 142	76 = 392
21 = 48	49 = 146	77 = 414
22 = 50	50 = 150	78 = 440
23 = 54	51 = 156	79 = 470
24 = 56	52 = 160	80 = 508
25 = 58	53 = 166	81 = 556
26 = 62	54 = 172	82 = 624
27 = 64	55 = 178	83 = 738
28 = 68	56 = 184	84 = >738

If there are no positive wells, and the sponge is positive, population is 1.

If there are no positive wells, and the sponge is negative, population is < 1.

* The population reflects the number of microorganisms per plate. To determine the number of microorganisms per gram (mL) food product, see Reading and Interpretation section in directions for use.

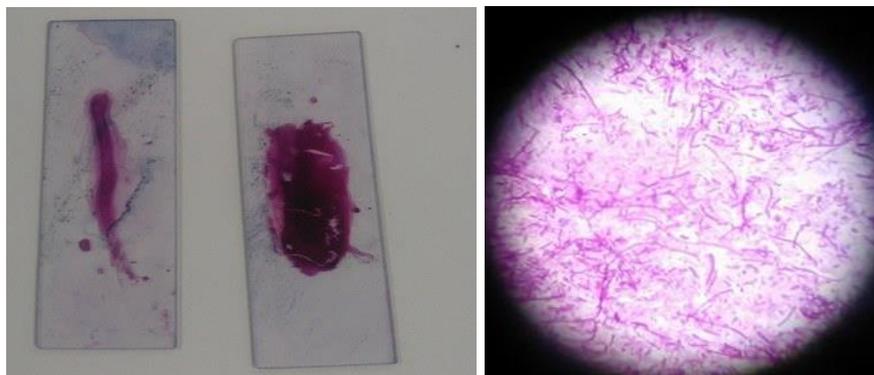
ANEXO 6

Resultados Obtenidos de *Campylobacter* spp. mediante la técnica Simplate® y tinción de Gram

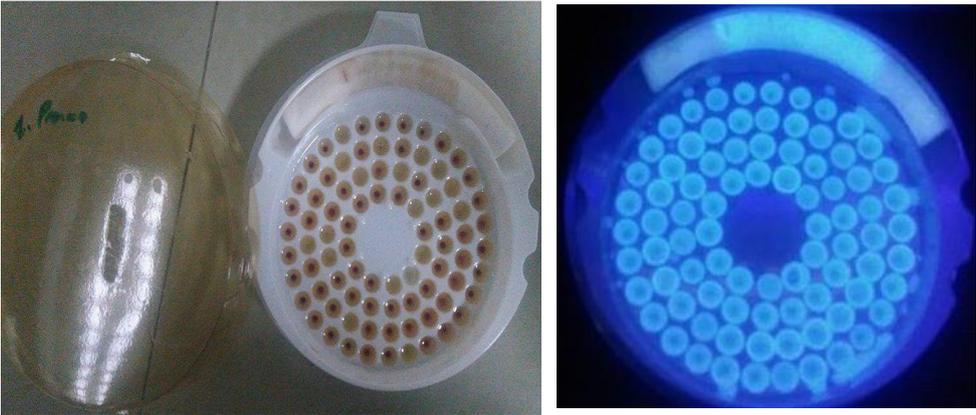
- *Campylobacter* spp. en agar sangre



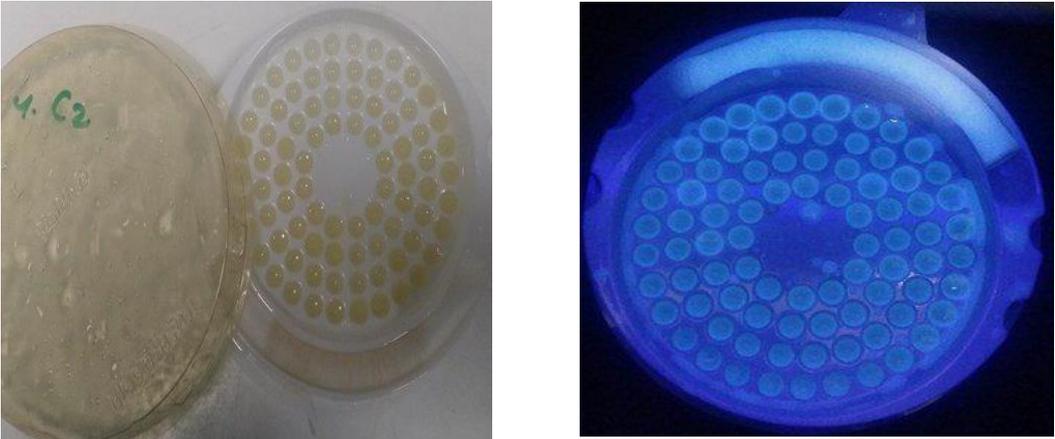
- Tinción de Gram



- **Método Simplate® *Campylobacter* (Muestra Positiva)**



- **Método Simplate® *Campylobacter* (Muestra Negativa)**



ANEXO 7

Siembra en medios VRB, Verde Brillante para posterior aislamiento de colonias en a medio PCA

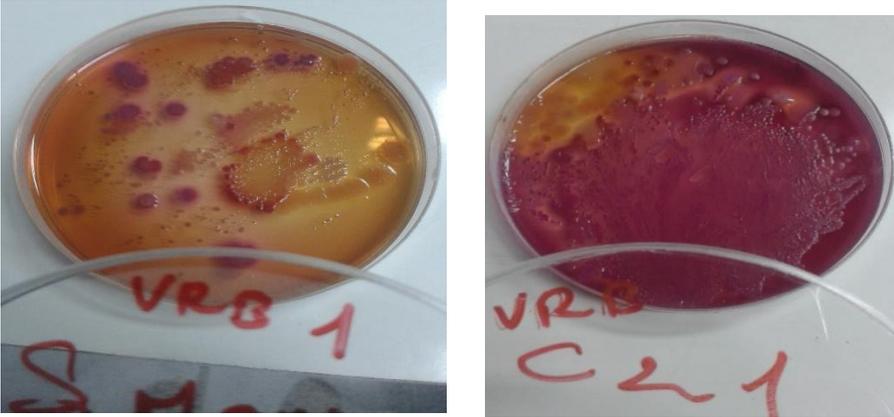
- Pollos Provenientes de proveedores industriales



- Pollos provenientes de proveedores artesanales y su respectivo enjuague en agua de peptona al 1%



- Ejemplos de colonias formadas en medio VRB

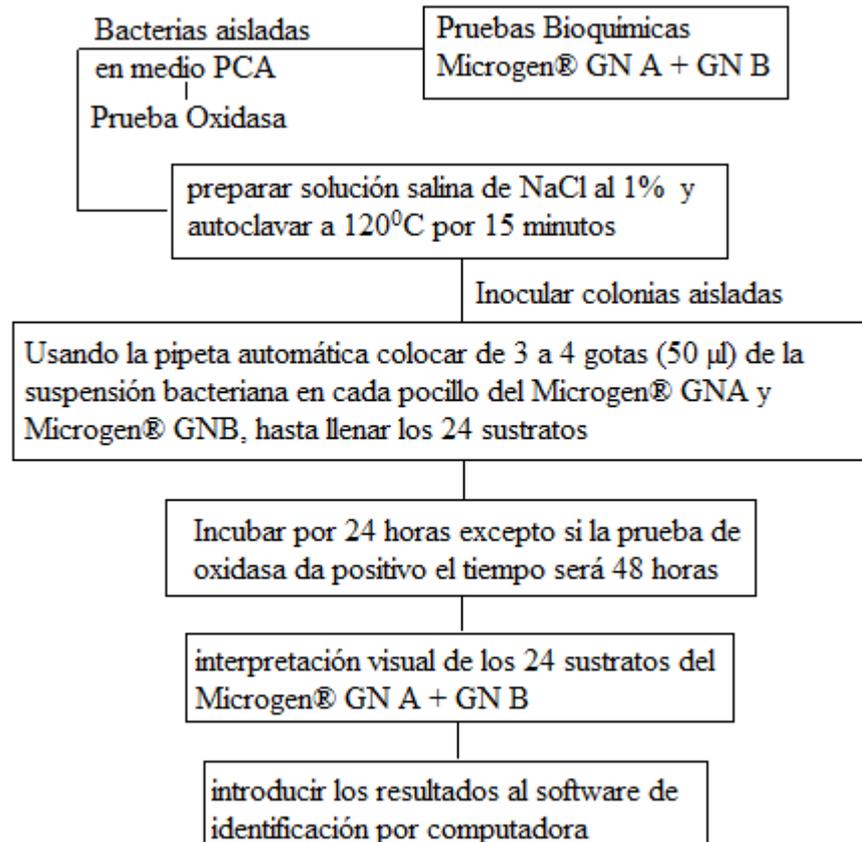


- Ejemplos de colonias formadas en medio Verde Brillante



ANEXO 8

Pruebas bioquímicas de Enterobacterias



ANEXO 9

Protocolo Microgen® GN A + GN B para interpretación visual de los datos

Colour chart/Farbtafel/Tableau 'de couleurs

Microgen™ GN A ID

WELL/NAPFCHEN /GODET	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	7
Reaction	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	O.N.P.G.	Indole	Urease	V.P.	Citrate	T.D.A.	Nitrate
Negative													
Positive													

Microgen™ GN B ID

WELL/NAPFCHEN /GODET	13								Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine 24hrs	Arginine 48hrs
Negative													
Positive													

CAUTION: Keep out of direct sunlight. Due to laminate discolouration and paper ageing, the colours on this chart will change.

These colours are provided as general guide to the range of test colours.

Legend:

- Appropriate reagents to be added prior to reading.
- Overlaid with sterile mineral oil.
- Not overlaid with oil for oxidase positive organism.



Microgen Bioproducts Limited, 1 Admiralty Way, Camberley Surrey GU15 3DT UK



ANEXO 10

Software de identificación por computadora de Microgen® GN A + GN B

- Ejemplo

MICROGEN GN-ID A+B PANEL REPORT FORM

Lab. No. 3341 Specimen Type: CHEESE SANDWICH
 Date: 28th JANUARY 2002

Well Number	GN A wells												GN B wells																	
	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Omithine	H ₂ S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	TDA	Gelatin	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine			
Reaction				++	-		++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	++	-	-	-	-	-			
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6			7			6			0			0			7			6			0					

Profile No: 67600760 Final Identification: E. coli

WF612501/12

File Edit System Help

Specimen Details Date: 25/05/2017 Notes:

Lab Ref:
 Name:
 Specimen Type:
 Source (ward/location):

Results Entry

Test System: Microgen GNA+ B Oxidase Negative

Octal Code: 0000000

Press ENTER to Calculate Identification Lysine Decarboxylase

LYS XYL CIT SOR ADO
 ORN ONP TDA RHA RAF
 H₂S IND GEL SUC SAL
 GLU UR MAL LAC ARG
 MAN VP INO ARA

Identification Analysis

Select ID Choice
 Probability
 Percent Probability
 Likelihood
 Human Isolate
 Tests against
 Test 1
 Test 2
 Test 3
 Additional Tests

Additional Comments

Identification Comments

Additional Comments

Append Results Print... Close

MID24T | Microgen GNA+ B Oxidase Negat | C:\Program Files (x86)\Microgen\ID Version 1.2\mid.mnr

File Edit System Help

Specimen Details

Date: 25/05/2017 Notes:

Lab Ref:

Name:

Specimen Type:

Source (ward/location):

Results Entry

Test System: Microgen GNA+ B Oxidase Negative

Octal Code: 46660367

Press ENTER to Calculate Identification Lysine Decarboxylase

+ LYS - XYL + CIT - SOR - ADO
 - ORN + ONP - TDA + RHA + RAF
 - H2S + IND - GEL + SUC + SAL
 + GLU - UR - MAL + LAC + ARG
 + MAN + VP - INO + ARA

Identification Analysis

E. sakazakii E. coli E. agglomerans complex E. amnigenus biogr 1 K. oxytoca

Select ID Choice

	E. sakazakii	E. coli	E. agglomerans complex	E. amnigenus biogr 1	K. oxytoca
Probability	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000	< 1/100,000,000
Percent Probability	93%	4.11%	2.48%	0.13%	0.08%
Likelihood	< 0.01%	< 0.01%	< 0.01%	< 0.01%	< 0.01%
Human isolate	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1	LYS (0.1%)	VP (0.1%)	LYS (0.1%)	LYS (0.1%)	ORN (99.9%)
Test 2	XYL (99.9%)	CIT (1%)	ARG (0.1%)	XYL (99.9%)	VP (0.1%)
Test 3	ORN (91%)	XYL (95%)	XYL (93%)	IND (0.1%)	ARG (0.1%)
Additional Tests	✓	✓	✓	✓	✓
Alpha Methyl D Gluc	96%	0.1%	7%	55%	95%
Acid from Cellobiose	99.9%	2%	55%	99.9%	99.9%
Yellow Pigment	98%	0.1%	75%	0.1%	0.1%
Acid from Dulcitol	5%	60%	15%	0.1%	0.1%
Acid from Melibiose	99.9%	75%	50%	99.9%	99.9%
Additional Comments	13				29

Identification Comments

Acceptable Identification of Enterobacter sakazakii

The strain is not typical (multiple tests are against), although it is well separated from other suggested identification choices

ADDITIONAL TESTS MAY IMPROVE THE IDENTIFICATION.

Additional Comments

13. Original citation: Int. J. Syst. Bacteriol. (1980) 30 : 569-584

Append Results Print... Close

MID24T Microgen GNA+ B Oxidase Negat C:\Program Files (x86)\Microgen\ID Version 1.2\mid.mgr

ANEXO 11

Según indica la técnica se procedió a seleccionar los discos de antibióticos para Enterobacterias y Campylobacter según indica la NCCLS. (Anexo 12)

Tabla 6. Antibióticos y Diámetros Críticos para Enterobacterias

ANTIMICROBIANO	CONTENIDO DEL DISCO	DIAMETRO EN mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Ampicilina	10 µg	£ 13	14-16	*17
CEFALOSPORINAS				
Cefalotina	30 µg	£ 14	15-17	*18
Cefuroxima axetil (oral)	30 µg	£ 14	15-22	*23
Cefuroxima sodium (parenteral)	30 µg	£ 14	15-17	*18
Cefoxitina	30 µg	£ 14	15-17	*18
Cefotaxima	30 µg	£ 14	15-22	*23
Ceftriaxona	30 µg	£ 13	14-20	*21
Ceftazidima	30 µg	£14	15-17	*18
Cefixima	5 µg	£ 15	16-18	*19
Cefpirome *	30 µg	£ 14	15-17	*18
Cefepime	30 µg	£ 14	15-17	*18
B LACTAMICOY INHIBIDOR DE BETALACTAMASA				
Ampicilina/Sulbactam	10/10 µg	£ 11	12-14	*15
Amoxicilina/Ácido Clavulánico	20/10 µg	£ 13	14-17	*18
Cefoperazona/sulbactam +	75 µg/30 µg	£ 15	16-20	*21
MONOBACTAMS				
Aztreonam	30 µg	£ 15	16-21	*22
CARBAPENEMS				
Imipenem	10 µg	£ 13	14-15	*16
Meropenem	10 µg	£ 13	14-15	*16
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	£ 12	13-14	*15
Amikacina	30 µg	£ 14	15-16	*17
QUINOLONAS				
Acido nalidixico	30 µg	£ 13	14-18	*19
Norfloxacin	10 µg	£ 12	13-16	*17
Ciprofloxacina	5 µg	£ 15	16-20	*21
Ofloxacina	5 µg	£ 12	13-15	*16
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	£ 14	15-18	*19
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	£ 12	13-17	*18
Trimetoprim/sulfametoxazol	1,25/23,75µg	£ 10	11-15	*16

* Diámetros críticos adaptados del CFA - SFM, 2000 - 2001.

+ Adaptado a partir de los diámetros críticos de la Cefoperazona según el NCCLS 2001

ANEXO 12

Tablas de las normas NCCLS de resistencia bacteriana 2016

HALOS DE INHIBICION CLSI: ENERO 2016 M100S 26th ed. VALIDO: HASTA MARZO DEL 2017					
ANTIMICROBIANO	GEN	SIGLA	POTENCIA	RESISTENTE	SUSCEPTIBLE
AMIKACINA		AK	30 meg	≤14 mm	≥17 mm
AMPICILINA		AM	10 meg	≤13 mm (28)* (18)H (16)E (23)Sb	≥17 mm (29)* (22)H (17)E (24)Sb
AMP-SULBACTAM		SAM	10/10 meg	≤11 mm (19)H	≥15 mm (20)H
AMOXICILINA		AX	25 meg	≤13 mm	≥17 mm
AMOX- AC.CLAVULANICO		AMC	20/10 meg	≤13 mm (19)* (19)H	≥18 mm (20)* (20) H
AMOX-SULBACTAM		SO	10/10 meg	≤13 mm (19)* (19)H	≥18 mm (20)* (20) H
ACIDO NALIDIXICO		W	30 meg	≤13 mm (25)Nm	≥19 mm (26)Nm
ACIDO OXOLINICO		O	2 meg	≤10 mm	≥11 mm
ACIDO PIPEMIDICO		PI	20 meg	≤13 mm	≥19 mm
AZITROMICINA		AZI	15 meg	≤13 mm (11)H (19)Nm	≥18 mm (12)St,H (20)Nm
AZTREONAM		AZ	30 meg	≤15 mm (17) Eb (25)H	≥22 mm (21)Eb (26)H
CEFADROXILO	(1)	CPH	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFACLOR	(2)	FAC	30 meg	≤14 mm (16)H	≥18 mm (20)H
CEFALEXINA	(1)	CN	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFALOTINA	(1)	CF	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFAZOLINA	(1)	CEZ	30 meg	≤19 mm (14)Inf.Urinarías:No complicadas	≥23 mm (18)* (16)Inf.Urinarías:No complicadas
CEFAMANDOL	(2)	CMA	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFEPIME *	(4)	CPM	30 meg	≤18 mm SDD (30)N (25)H (21)Sv(23)Sb,(14) Ac	≥25 mm SDD (31)N (26)H (24)Sv,Sb (14)P (18)Ac
CEFTRIAXOMA	(3)	CFM	5 meg	≤15 mm (20)H (30)N	≥19 mm (21)H (31)N
CEFOPER-SULBACTAM	(3)	SFP	30/75 meg	≤15 mm	≥21 mm
CEFOTAXIMA	(3)	CTX	30 meg	≤14 mm (22)Eb (25)Sv,H (30)N (23)Sb (33)Nm	≥23 mm (26)Eb,H (31)N (24)Sb (28)Sv (34)Nm
CEFOXITINA	(2)	CXA	30 meg	≤14 mm (21)*,A,L (23)N (24)**	≥18 mm (22)*,A,L (28)N (25)**
CEFPROZIL	(2)	CPR	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFRADINA	(1)	CD	30 meg	≤14 mm	≥18 mm
CEFTAZIDIMA	(3)	CAZ	30 meg	≤14 mm (17)Eb (25)H (30)N (17)B	≥18 mm (21)Eb,B (26)H (31)N
CEFTRIAXOMA	(3)	CTR	30 meg	≤13 mm (19)Eb(25)H(24)Sv(23)Sb(34)N(33)Nm	≥21 mm (23)Eb (26)H(27)Sv(24)Sb(35)N(34)Nm
CEFUROXIMA iv	(2)	CXM	30 meg	≤14 mm (16)H (25)N	≥18 mm (20)H (31)N
CIPROFLOXACINO		CIP	5 meg	≤15 mm (20)H (27)N (32)Nm (20)St,app	≥21 mm (21)H (41)N (21)E (35)Nm (31)St,app
CLARITROMICINA		CLR	15 meg	≤13 mm (10)H (16)S,Sv,Sb	≥18 mm (13)H (21)S,Sv,Sb
CLINDAMICINA		Da	2 meg	≤14 mm (15)S,S,Sv,Sb	≥21 mm (19)S,S,Sv,Sb
CLORANFENICOL		C	30 meg	≤12 mm (25)H (20)S (17)Sv,Sb (19)Nm	≥18 mm (29)H (21)S,Sv,Sb (26)Nm
CLOXACILINA		CX	1 meg	≤10 mm	≥13 mm
COLISTIN		CL	10 meg	≤10 mm	≥11 mm
DICLOXACILINA		DX	1 meg	≤10 mm	≥13 mm
DOXICICLINA		DXS	30 meg	≤10 mm (9)Ac (12)*,E (24)S	≥14 mm (13)Ac (16)*,E (28)S
ENOXACINO		E	10 meg	≤14 mm (31)N	≥18 mm (36)N
ERITROMICINA		EM	15 meg	≤13 mm (15)S,Sv,Sb	≥23 mm (21)S,Sv,Sb
ERTAPENEM		ETP	10 meg	≤15 mm (18)Eb (18)H	≥19 mm (22)Eb (19)H

ESTREPTOMICINA	S	10 mcg	≤11 mm	≥15 mm
ESTREPTOMICINA 300	SE	300 mcg	≤6 mmE	≥10 mmE
FLUCLOXACILINA	FX	1 mcg	≤10 mm	≥13 mm
FOSFOMICINA	FO	200 mcg	≤12 mm	≥16 mm
FURAZOLIDONA	FZ	100 mcg	≤14 mm	≥17 mm
GENTAMICINA	GE	10 mcg	≤12 mm	≥15 mm
GENTAMICINA 120	G	120 mcg	≤6 mm E	≥10 mmE
IMIPENEM *	IPM	10 mcg	≤13 mm (19)Eb (15)H,P (18)Ac	≥16 mm (23)Eb (16)H (19)P (22)Ac
KANAMICINA	K	30 mcg	≤13 mm	≥18 mm
LEVOFLOXACINO	LVX	5 mcg	≤13 mm (16)H (15)*	≥17 mm(19)*
LINCOMICINA	L	2 mcg	≤16 mm	≥21 mm
LINEZOLID	LZD	30 mcg	≤20 mm E	≥21 mm (23)E
MEROPENEM *	MRP	10 mcg	≤13 mm (19)Eb(19)H (15)B (29)Nm(15)P(14)Ac	≥16 mm (23)Eb (20)H (20)B (30)Nm (19)P (18)Ac
MINOCICLINA	M	30 mcg	≤12 mm (25)Nm (14)B,Sm,* E	≥16 mm (26)Nm (19)B,Sm,* E
MOXIFLOXACINO	MXF	5 mcg	≤20 mm (*) (17)H (14)§	≥24 mm (*) (18)H (18)§
NEOMICINA	N	30 mcg	≤12 mm	≥17 mm
NITROFURANTOINA	NTI	300 mcg	≤14 mm	≥17 mm
NORFLOXACINO	NOR	10 mcg	≤12 mm	≥17 mm
OFLOXACINO	FLX	5 mcg	≤12 mm (24)N (14)* (15)H	≥16 mm (31)N (18)* (16)H
OXACILINA	OX	1 mcg	≤19 mm§ (10)* (17)Sp	≥20 mm§ (13)* (18)Sp
PENICILINA	P	10 UOF	≤19 mm § (28)* (26)N (14)E (23)Sb	≥20 mm§ (29)* (47)N (15)E (24)Sb
PIPERACILINA	PE	100 mcg	≤17 mm (14)P	≥21 mm
PIPERAC/TAZOBACTAM	TZ	100/10 mcg	≤17 mm (20)H (14)P	≥21 mm H,P (18)*
POLIMIXINA B	PB	300 U	≤11 mm	≥12 mm
RIFAMPICINA	R	5 mcg	≤16 mm (19)Nm	≥20 mm (19)§ (25)Nm
ROXITROMICINA	RXT	15 mcg	≤13 mm	≥23 mm
SULFATRIMETOPRIM	SXT	25 mcg	≤10 mm (15)§ (25)Nm	≥16 mm (19)§ (30)Nm
SULFONAMIDA	SF	250 mcg	≤12 mm	≥17 mm
TEICOPLANINA	TEI	30 mcg	≤10 mm	≥14 mm
TETRACICLINA	Te	30 mcg	≤11 mm (24)§ (30)N (25)H (14)*,E,V (18)Sv,Sb	≥15 mm (28)§ (38)N (29)H (19)*,E,V (23)Sv,Sb
TOBRAMICINA	TB	10 mcg	≤12 mm	≥15 mm
TRIMETOPRIM	TMP	5 mcg	≤10 mm	≥16 mm
VANCOMICINA	VA	30 mcg	≤16 mm (14)E	≥17 mm §,E,Sb
GENTAMICINA HLAR	G	120 mcg	≤6 mm	≤10 mm
ESTREPTOMICINA HLAR	ST	300 mcg	≤6 mm	≤10 mm
* Staphylococcus spp.	** Staphy. coagulasa-negativa	E Enterococcus spp.	H Haemophilus spp.	
A Staphylococcus aureus	St Salmonella typhi, extra intestinal spp	Sv Strept. viridans	Sb Strept. Beta hemolitico	
§ Streptococcus pneumoniae	P Ps. Aeruginosa	B B. cepacia	N N. gonorrhoeae	
L S. lugdunensis	Ac Acinetobacter spp.	Nm N. meningitidis	V Vibrio cholerae	
Sm S. maltophilia	Eb Enterobacteriaceae	Sp S. pseudintermedius		
NOTAS: Para Burkholderia cepacia solo se informa CAZ y MRP Para Stenotrophomonas maltophilia solo se informa LVX y SX Cloramfenicol no se informa en cepas del tracto urinario.		En Salmonella spp. y Shigella spp. Las Cefalosporinas de primera y segunda generacion pueden ser activas in vitro, no son efectivas clinicamente, por lo que no deben informarse como S.		
NOTAS: Klebsiella spp. y E. coli que producen beta-lactamasa de espectro expandido (BLEE), pueden ser clinicamente R a Penicilinas, Cefalosporinas o Aztreonam a pesar de ser S in vitro.		En cepas de LCR debe informarse CTX y CTR CFM no es aplicable a Morganella spp. CPR no es aplicable a Providencia spp. por dar S falsa.		
NOTA: Cepas de Staphylococcus aureus Resistente a los macrolidos y cepas de Staphylococcus spp. coagulasa negativas, pueden tener resistencia constitutiva o inducible a la Clindamicina ; o pueden ser resistentes solo a los macrolidos. La resistencia inducida a la Clindamicina se puede detectar usando el Test de Aproximacion de Discos, poniendo el disco de Clindamicina 2 mcg entre 15 a 26 mm del disco de Eritromicina 15 mcg.		Despues de la incubacion, los microorganismos que no muestran "aplanamiento" del halo de la Clindamicina deberian reportarse como "Clindamicina Susceptible", por otra parte, aquellos que presentan "aplanamiento" del halo de la Clindamicina adyacente al disco de Eritromicina (REFERIDA COMO ZONA "D") indica Resistencia Inducible a la Clindamicina. Estas cepas deben informarse como "CLINDAMICINA RESISTENTE".		
PRINCIPALES NOVEDADES 2015 y 2016: CEFAZOLINA: Baja rango diametro Inf.Urinaris. No complicada: E.coli, K. pneumoniae y P.mirabilis. CEFOXITINA: se incorporan Staphylococcus spp. y S. pseudintermedius. CEFEPIME: baja halo R para Streptococcus spp Beta hemolitico (Sb), NUEVO Halo R para Acinetobacter spp.		AZITROMICINA: solo Salmonella typhi de las Enterobacterias. CLARITROMICINA: se incorpora para Streptococcus spp Beta hemolitico(Sb). CLINDAMICINA: se incorpora para Streptococcus spp Beta hemolitico(Sb). ERITROMICINA: se incorpora para Streptococcus spp Beta hemolitico(Sb). SDD: Susceptible dependiente de la Dosis(dosis mayores a las normales)		

ANEXO 13

Pruebas Bioquímicas Micro (GN A + GN B)

Cód. Muestra	N. Muestra	Fecha de Muestreo	Lugar de adquisición de la muestra	Procedencia de la Muestra	Micros Identificado GN A Y GN B	% en que Identifica el programa de Micro(GN A + GN B) por computadora
1	1	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>K. oxytoca</i>	99,65%
1	2	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>K. oxytoca</i>	99,60%
1	3	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>K. oxytoca</i>	99,50%
1	4	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>E. sakazakii</i>	93%
1	5	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>E. sakazakii</i>	92,09%
1	6	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>E. sakazakii</i>	93,05%
1	7	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. clocae</i>	96,80%
1	8	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. clocae</i>	95,90%
1	9	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. clocae</i>	96,01%
1	10	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	97,91%

1	11	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	97,00%
1	12	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	97,91%
2	13	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>E. coli</i>	99,40%
2	14	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>E. coli</i>	99,00%
2	15	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>E. coli</i>	99,80%
2	16	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>E. coli</i>	92,58%
2	17	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>P. mirabilis</i>	98,83%
2	18	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>P. mirabilis</i>	98,00%
2	19	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>K. oxytoca</i>	99,96%
2	20	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>K. oxytoca</i>	99%
2	21	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>K. oxytoca</i>	99,90%
2	22	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>K. oxytoca</i>	99,99%
2	23	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>K. oxytoca</i>	98%
2	24	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>K. oxytoca</i>	98,50%
3	25	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	97,65%

3	26	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	97,10%
3	27	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	97,50%
3	28	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>S. liquefaciens</i>	97,29%
3	29	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>S. liquefaciens</i>	96,80%
3	30	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Marca 2	<i>S. liquefaciens</i>	97,00%
3	31	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E.coli</i>	97,04%
3	32	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E.coli</i>	97,90%
3	33	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E.coli</i>	97,60%
3	34	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>K. ornithinolytica</i>	98,22%
3	35	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>K. ornithinolytica</i>	98%
3	36	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>K. ornithinolytica</i>	97,80%
4	37	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>A. hydrophila</i>	100%
4	38	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>A. hydrophila</i>	99,20%
4	39	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>A. hydrophila</i>	99,70%
4	40	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>B. pseudomallei</i>	99,99%
4	41	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>B. pseudomallei</i>	99,10%
4	42	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>B. pseudomallei</i>	98,70%
4	43	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>K. oxytoca</i>	99,98%
4	44	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. fergusonii</i>	99,91%
4	45	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. fergusonii</i>	98,70%

4	46	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>B. pseudomallei</i>	99,98%
4	47	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>B. pseudomallei</i>	99,98%
4	48	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>B. pseudomallei</i>	99,40%
5	49	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	100%
5	50	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	100%
5	51	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	100%
5	52	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>E.coli</i>	92,50%
5	53	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>E.coli</i>	92,32%
5	54	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>E.coli</i>	92,80%
5	55	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>k. oxytoca</i>	99,82%
5	56	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>k. oxytoca</i>	99,40%
5	57	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>k. oxytoca</i>	99,70%
5	58	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>k. oxytoca</i>	99,33%
5	59	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>k. oxytoca</i>	99,43%
5	60	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>k. oxytoca</i>	99,18%
6	61	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	97,55%
6	62	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	97,55%
6	63	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	97,55%
6	64	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>S. liquefaciens</i>	98,19%
6	65	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>P. mirabilis</i>	98,13%
6	66	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	<i>P. mirabilis</i>	98,13%

6	67	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. fergusonii</i>	99,98%
6	68	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. fergusonii</i>	99,98%
6	69	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	<i>E. fergusonii</i>	99,98%
6	70	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	97,98%
6	71	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	97,98%
6	72	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	97,98%

ANEXO 14

Pruebas de Resistencia en Enterobacterias

			Ampicilin (AM10)	Naldixic Acid (NA30)	Erythromycin (E15)	Ciprofloxacin (CIP5)	Amoxicillin (AX25)	Trimethoprim Sulphamethoxazole (SXT25)	Chloramphenicol (C30)	Ceftazidime (CAZ30)	Nitrofurantion (F300)	Norfloxacin (NOR10)	Colistin (CT10)	Enrofloxacin (ENR5)
N. Muestra	Lugar de Procedencia	Enterobacteria	≤13: Resistente 14-17:Intermedio ≥17: Sensible	≤13: Resistente 14-18:Intermedio ≥19: Sensible	≤13: Resistente 14-22:Intermedio ≥23: Sensible	≤15: Resistente 16-20:Intermedio ≥21: Sensible	≤13: Resistente 14-17:Intermedio ≥17: Sensible	≤10: Resistente 11-15:Intermedio ≥16: Sensible	≤12: Resistente 13-17:Intermedio ≥18: Sensible	≤14: Resistente 15-17:Intermedio ≥18: Sensible	≤14: Resistente 15-16:Intermedio ≥17: Sensible	≤12: Resistente 13-16:Intermedio ≥17: Sensible	≤10: Resistente ≥11: Sensible	≤14: Resistente 15-18:Intermedio ≥19: Sensible
1	Pollos de marca 1	<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
1	Pollos de marca 1	<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
1	Pollos de marac 2	<i>E. sakazakii</i>	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R
1	Pollos de Paute	<i>E. cloacae</i>	R	R	R	I	R	R	R	R	R	I	R	R

1	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
2	Pollos de marca 1	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
2	Pollos de marca 2	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
2	Pollos de marca 2	<i>P. mirabilis</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
2	Pollos de Paute	<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	Pollos de Santa Isabel	<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	Pollos de marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
3	Pollos de marca 2	<i>S. liquefaciens</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	Pollos de Paute	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	R

3	Pollos de Santa Isabel	<i>K. ornithinolytica</i>	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S	R
4	Pollos de marca 1	<i>A. hydrophila</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	I	R	R
4	Pollos marca 2	<i>B. pseudomallei</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	I	S	R	R
4	Pollos de Paute	<i>K. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
4	Pollos de Paute	<i>E. fergusonii</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	Pollos de Santa Isabel	<i>B. pseudomallei</i>	R	R	R	R	R	R	R	S	R	I	R	R
5	Pollos de marca 1	<i>B. pseudomallei</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R	R
5	Pollos de marca 2	<i>E. coli</i>	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R
5	Pollos de Paute	<i>k. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R

5	Pollos de Santa Isabel	<i>k. oxytoca</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
6	Pollos de marca 1	<i>B. pseudamallei</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R
6	Pollos de marca 2	<i>S. liquefaciens</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6	Pollos de marca 2	<i>P. mirabilis</i>	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R	R	S
6	Pollos de Paute	<i>E. fergusonii</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6	Pollos de Santa Isabel	<i>S. odorifera biogp</i>	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R

ANEXO 15

Pruebas Simplate® *Campylobacter* spp.

Cód. Muestra	N. Muestra	Fecha de recolección de la muestra	Lugar de adquisición de la muestra	Procedencia de la Muestra	Cultivo Skirrow/ Tinción de Gram	Pocillos rojos (+)	Pocillos U.V (+)	(Pocillos rojos - Pocillos U.V)	Resultados (N.M.P)/ml
1	1	26/07/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(+)	0	0	0	< 1
1	2	26/07/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
1	3	26/07/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
1	4	26/07/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	65	13	52	160
1	5	26/07/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(+)	62	15	47	136
1	6	26/07/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(+)	66	12	54	172
1	7	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
1	8	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
1	9	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
1	10	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
1	11	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(+)	84	25	59	202
1	12	26/07/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	83	26	57	190
2	13	12/09/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	84	3	81	556

2	14	12/09/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(+)	84	5	79	470
2	15	12/09/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(+)	80	5	75	372
2	16	12/09/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
2	17	12/09/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
2	18	12/09/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
2	19	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	22	7	15	32
2	20	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(+)	19	5	14	30
6	21	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(+)	25	8	17	38
2	22	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(+)	30	10	20	46
2	23	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(+)	33	8	25	58
2	24	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	29	7	22	50
3	25	03/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
3	26	03/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
3	27	03/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
3	28	03/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	84	6	78	440
3	29	03/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	84	6	78	440
3	30	03/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(+)	82	7	75	372
3	31	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(+)	84	43	41	112
3	32	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(+)	84	42	42	116
3	33	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(+)	84	43	41	112
3	34	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
3	35	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1

3	36	03/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
4	37	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(+)	78	24	54	172
4	38	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(+)	75	19	56	184
4	39	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	77	25	52	160
4	40	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
4	41	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
4	42	24/10/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
4	43	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
4	44	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
4	45	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
4	46	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
4	47	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
4	48	24/10/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
5	49	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(+)	3	2	1	2
5	50	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	2	2	0	< 1
5	51	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(+)	4	2	2	4
5	52	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
5	53	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
5	54	09/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
5	55	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
5	56	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
5	57	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1

5	58	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
5	59	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
5	60	09/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
6	61	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
6	62	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
6	63	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 1	(-)	0	0	0	< 1
6	64	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
6	65	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
6	66	30/11/2016	El Arenal	Pollos Marca 2	(-)	0	0	0	< 1
6	67	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(+)	84	25	59	202
6	68	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
6	69	12/09/2016	El Arenal	Pollos de Paute	(-)	0	0	0	< 1
6	70	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(+)	0	0	0	< 1
6	71	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1
6	72	30/11/2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	(-)	0	0	0	< 1

2	23	12/09/ 2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
2	24	12/09/ 2016	El Arenal	Pollos de Santa Isabel	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	28	03/10/ 2016	El Arenal	Pollos de marca 2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	29	03/10/ 2016	El Arenal	Pollos de marca 2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	30	03/10/ 2016	El Arenal	Pollos de marca 2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	31	03/10/ 2016	El Arenal	Pollos de Paute	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	32	03/10/ 2016	El Arenal	Pollos de Paute	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	33	03/10/ 2016	El Arenal	Pollos de Paute	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
4	37	24/10/ 2016	El Arenal	Pollos de marca 1	S	R	R	I	I	R	I	R	R	I	R	I
4	38	24/10/ 2016	El Arenal	Pollos de marca 1	S	R	R	I	I	R	I	R	R	I	R	I

