



# **UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO**

## **FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

### **ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**



## **CALIDAD BACTERIOLÓGICA Y RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE PATÓGENOS PROVENIENTES DE LAS VÍSCERAS DE POLLO EXPENDIDAS EN TRES CENTROS DE VENTA DE LA CIUDAD DE PUNO**

### **TESIS**

#### **PRESENTADO POR:**

**Bach. JULIO CESAR MENDOZA AGUILAR**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

**PUNO - PERÚ**

**2021**



## DEDICATORIA

*A mis queridos padres Esperanza Aguilar Alanoca  
y Julio Mendoza Maica por su amor,  
reconocimiento, apoyo y comprensión, por su  
abnegado esfuerzo que hicieron posible que alcance  
mis anhelos y sueños y por su apoyo incondicional  
durante toda la investigación que hicieron posible  
la culminación de este trabajo.*

*A mi hermana, por el apoyo incondicional y  
apoyo en mi familia a pesar de su defecto,  
es una gran persona.*

*A mis familiares mi abuela y tíos, por  
todo el apoyo incondicional que recibí de  
parte de ellos, en los momentos  
importantes de mi vida.*

*Julio César Mendoza Aguilar*



## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano, Facultad de Ciencias Biológicas y docentes que inculcaron en mi formación profesional, por confiar en mí abriéndome las puertas y permitirme adquirir conocimientos y experiencias inolvidables.

Con gratitud al Dr. Juan José Pauro Roque, Director de la tesis, por la confianza y apoyo depositado en mi persona para la realización del presente trabajo, así por la paciencia, dedicación, sugerencias, constante seguimiento y culminación del trabajo de investigación.

A los miembros del jurado: Dra. Roxana del Carmen Medina Rojas, Mg. Ciria Ivonne Trigos Rondon y Mg. Dante Mamani Sairitupac, por haber contribuido en el enriquecimiento y sugerencia al trabajo de tesis.

A mis amigos Zully, Héctor, Lazarte, Jhon, Iban, Joefre, Yaneth, Lidia y Erica de la Universidad, por haber compartido buenas experiencias.

Y para finalizar, también agradezco a todos que fueron mis compañeros durante todos los niveles de la Universidad gracias a su amistad, compañerismo que fueron los pilares para seguir adelante en mi carrera profesional.

*Julio César Mendoza Aguilar*



# ÍNDICE GENERAL

**DEDICATORIA**

**AGRADECIMIENTOS**

**ÍNDICE GENERAL**

**ÍNDICE DE FIGURAS**

**ÍNDICE DE TABLAS**

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

**RESUMEN** ..... 11

**ABSTRACT**..... 12

## **CAPÍTULO I**

### **INTRODUCCIÓN**

**1.1 OBJETIVO GENERAL**..... 15

**1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS** ..... 15

## **CAPÍTULO II**

### **REVISIÓN DE LITERATURA**

**2.1 ANTECEDENTES** ..... 16

**2.2 MARCO TEÓRICO**..... 19

2.2.1 Calidad bacteriológica ..... 19

2.2.2 Bacterias mesófilas aerobias ..... 21

2.2.3 *Escherichia coli* ..... 21

2.2.4 *Salmonella* sp ..... 22

2.2.5 Vísceras ..... 22

2.2.6 Carga bacteriana en vísceras de pollo en la normatividad peruana vigente 25

2.2.7 Resistencia antibacteriana ..... 26

2.2.8 Una Salud o “One Health” ..... 30

2.2.9 Genética bacteriana de la resistencia de antibióticos ..... 31

## **CAPÍTULO III**

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

**3.1 TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO** ..... 34

**3.2 ZONA DE ESTUDIO** ..... 34

**3.3 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA** ..... 35

**3.4 METODOLOGÍA** ..... 35



3.4.1 Determinación de la carga bacteriana de mesófilas aerobias, <i>Escherichia coli</i> y presencia de <i>Salmonella</i> sp en vísceras de pollo .....	35
3.4.2 Determinación de la resistencia a los antibióticos en bacterias aisladas e identificadas de las vísceras de pollo. ....	38

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARGA BACTERIANA DE MESÓFILAS AEROBIAS, <i>Escherichia coli</i> Y PRESENCIA DE <i>Salmonella</i> SP EN VÍSCERAS DE POLLO.....	40
4.2 RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN BACTERIAS AISLADAS E IDENTIFICADAS DE LAS VÍSCERAS DE POLLO.....	53
V. CONCLUSIONES.....	63
VI. RECOMENDACIONES .....	64
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
ANEXOS.....	78

**Fecha de sustentación:** 19 de febrero del 2021.

**Área:** Ciencias Biomédicas.

**Línea:** Diagnóstico y Epidemiología.



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Vísceras de pollo fresco en el mercado (Saetung, 2019). .....	24
<b>Figura 2.</b> Zonas de muestreo de vísceras de pollo. ....	35
<b>Figura 3.</b> Recuento de bacterias aerobias mesófilas en vísceras de pollo (ANMAT, 2020).....	36
<b>Figura 4.</b> Comparación del recuento de bacterias mesófilas aerobias en vísceras de pollo y los límites permisibles según normatividad vigente, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	42
<b>Figura 5.</b> Prueba de Tukey del recuento de bacterias mesófilas aerobias en vísceras de pollo en tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.....	42
<b>Figura 6.</b> Comparación del recuento de <i>E. coli</i> en vísceras de pollo y los límites permisibles según normatividad vigente, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	45
<b>Figura 7.</b> Prueba de Tukey del recuento de <i>E. coli</i> en vísceras de pollo en tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.....	46
<b>Figura 8.</b> Porcentaje de casos positivos de <i>Salmonella</i> sp en vísceras de pollo en tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.....	49
<b>Figura 9.</b> Comparación de halos de inhibición por antibióticos en <i>E. coli</i> según valores referenciales del INS (2002), Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. Línea roja es el límite de resistencia y la línea amarilla el límite de sensible.....	54
<b>Figura 10.</b> Comparación de halos de inhibición por antibióticos en <i>Salmonella</i> sp, según valores referenciales del INS (2002), Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. Línea roja es el límite de resistencia y la línea amarilla el límite de sensible.....	60
<b>Figura 11.</b> Transporte de muestras, separación de vísceras y pesado, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB–UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	78
<b>Figura 12.</b> Enriquecimiento de las muestras y preparación de diluciones para recuentos	



bacterianos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	78
<b>Figura 13.</b> Cultivo y recuento de bacterias mesófilas aerobias en agar APC en vísceras de pollo, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	78
<b>Figura 14.</b> Colonias y recuento de <i>E. coli</i> en agar Endo en vísceras de pollo, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	79
<b>Figura 15.</b> Colonias y pruebas bioquímicas (TSI, LIA, CS e Indol) de <i>E. coli</i> , Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	79
<b>Figura 16.</b> Proceso de tinción Gram y observación de bacterias al microscopio, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	79
<b>Figura 17.</b> Crecimiento de <i>Salmonella</i> sp en agar XLD y pruebas bioquímicas (TSI, LIA, CS , Urea e Indol), Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	80
<b>Figura 18.</b> Turbidez de estándar 0.5 McFarland y prueba de Antibiograma, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	80
<b>Figura 19.</b> Resultados de las pruebas de susceptibilidad bacteriana en <i>E. coli</i> en agar Müller Hinton, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	80
<b>Figura 20.</b> Resultados de las pruebas de susceptibilidad bacteriana en <i>Salmonella</i> sp en agar Müller Hinton, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	81



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Norma Sanitaria que establece los Límites Máximos de Residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano, establecidos por el Ministerio de Salud del Perú (NTS N° 120-MINSA/DIGESA, 2016)...	23
<b>Tabla 2.</b> Límites permisibles de agentes microbianos en vísceras de aves y otras especies; refrigeradas y congeladas (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01)...	26
<b>Tabla 3.</b> Antibióticos y diámetros críticos para Enterobacterias (INS, 2002). .....	27
<b>Tabla 4.</b> Principales bacterias que originan infecciones humanas que presentan mayor resistencia a los antibióticos (Calderón & Aguilar, 2016).....	29
<b>Tabla 5.</b> Carga bacteriana de mesófilas aerobias, <i>Escherichia coli</i> y presencia de <i>Salmonella</i> sp en vísceras de pollo de tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	40
<b>Tabla 6.</b> Antibiograma en <i>Escherichia coli</i> frente a antibióticos, aislados en tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019. ....	53
<b>Tabla 7.</b> Análisis de varianza y prueba de Tukey de los halos de inhibición (mm) de los antibióticos sobre <i>E. coli</i> según procedencia de mercado, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019. ....	56
<b>Tabla 8.</b> Antibiograma en <i>Salmonella</i> sp frente a antibióticos, aislados en tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019. ....	59
<b>Tabla 9.</b> Análisis de varianza y prueba de Tukey de los halos de inhibición (mm) de los antibióticos sobre <i>Salmonella</i> sp, según procedencia de mercado, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019. ....	61
<b>Tabla 10.</b> Análisis de varianza y prueba de Tukey del recuento de bacterias mesófilas aerobias en vísceras de pollos de tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. ....	81



<b>Tabla 11.</b> Análisis de varianza y prueba de Tukey del recuento de <i>E. coli</i> , en vísceras de pollos de tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.....	81
--	----



## ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

°C: grados centígrados

μg: microgramo

CV : coeficiente de variabilidad

*et al.*: y colaboradores

ETA: enfermedades transmitidas por alimentos.

LP : límites permisibles

gl : grados de libertad

Neg : negativo

P: probabilidad

Pos : positivo

Prom : promedio

UFC/g: unidades formadoras de colonia por gramo

Φ : diámetro



## RESUMEN

La administración de antibióticos en las aves, trae consigo consecuencias de reacciones alérgicas o alteraciones de la microbiota intestinal, favoreciendo la selección de bacterias resistentes, por lo que es indispensable evaluar la resistencia antimicrobiana en bacterias procedentes de dichos alimentos. Los objetivos fueron: a) determinar la carga bacteriana de mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y la presencia de *Salmonella* sp en vísceras de pollo expandidas en tres centros de venta mercados Unión y Dignidad, Laykakota y un Minimarket de la ciudad de Puno y b) determinar la resistencia a los antibióticos doxiciclina, oxitetraciclina, tetraciclina (tetraciclinas), ampicilina, amoxicilina – ácido clavulánico y cefalexina (beta – lactámicos) en bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella* sp. La metodología consistió en coleccionar 5 muestras de vísceras en cada centro de venta, la técnica de recuento en placa se utilizó para la cuantificación de mesófilas aerobias y *E. coli*, en agar APC y Endo respectivamente y la presencia de *Salmonella* sp se determinó en agar XLD; la resistencia antibiótica se determinó mediante el método de difusión en agar con discos de sensibilidad. Los datos obtenidos fueron analizados mediante pruebas de análisis de varianza y pruebas de Tukey. Los resultados fueron: las bacterias mesófilas aerobias fluctuaron de  $6.36 \times 10^6$  a  $8.42 \times 10^6$  UFC/g, *E. coli* de  $3.66 \times 10^6$  a  $5.38 \times 10^6$  UFC/g y existió la presencia de *Salmonella* sp en las vísceras de pollo; *Salmonella* sp fue resistente a doxiciclina y oxitetraciclina y *E. coli* fue resistente a oxitetraciclina y adicionalmente a doxiciclina y amoxicilina – ácido clavulánico. Se concluye que las vísceras de pollo incumplen con la normatividad vigente y existe resistencia bacteriana a los antibióticos.

**Palabras clave:** Antibióticos, bacterias aerobias, *Escherichia coli*, pollo, *Salmonella*, resistencia bacteriana a antibióticos, vísceras.



## ABSTRACT

The administration of antibiotics in birds brings with it consequences of allergic reactions or alterations of the intestinal microbiota, favoring the selection of resistant bacteria, for which it is essential to evaluate antimicrobial resistance in bacteria from these foods. The objectives were: a) to determine the bacterial load of aerobic mesophiles, *Escherichia coli* and *Salmonella* sp in chicken viscera expended in three sales centers of the Unión y Dignidad markets and Laykakota and Minimarket in the city of Puno, and b) to determine resistance to antibiotics doxycycline, oxytetracycline, tetracycline (tetracyclines), ampicillin, amoxicillin-clavulanic acid and cephalexin (beta-lactams) in bacteria *Escherichia coli* and *Salmonella* sp. The methodology consisted of collecting 5 samples of viscera in each sales center, the plate count technique was used for the quantification of aerobic mesophiles and *E. coli*, in APC and Endo agar respectively and the presence of *Salmonella* sp was determined in agar XLD; Antibiotic resistance was determined using the agar diffusion method with sensitivity discs. The results were: aerobic mesophiles fluctuated from  $6.36 \times 10^6$  a  $8.42 \times 10^6$  UFC/g, *E. coli* de  $3.66 \times 10^6$  a  $5.38 \times 10^6$  UFC/g and the presence of *Salmonella* sp existed in chicken viscera; *Salmonella* was resistant to doxycycline and oxytetracycline and *E. coli* was resistant to oxytetracycline and additionally to doxycycline and amoxicillin - clavulanic acid. It is concluded that chicken viscera do not comply with current regulations and there is bacterial resistance to antibiotics.

**Key words:** Antibiotics, aerobic bacteria, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp, bacterial resistance to antibiotics, organ meats.



# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

Los antibióticos, se aplican en la medicina veterinaria como promotores del crecimiento de aves y contribuir al control y la erradicación de las infecciones bacterianas que sufren, para mejorar sus índices productivos, pero su uso indiscriminado sin respetar el tiempo de prescripción de los antibacterianos, origina resistencia a la penicilina y multiresistencia a las ampicilinas, llegando a que la Comunidad Europea, prohibiera el uso de promotores de crecimiento a los antibióticos tetraciclinas o  $\beta$ -láctamicos, los cuales se administraban en veterinaria.

En el siglo XX, se inició con la administración de los antibióticos en la medicina humana y animal (Aarestrup, 2004), en la producción veterinaria como en la avícola, los antibióticos son administrados en niveles subterapéuticos con la finalidad de lograr el engorde de los animales y con fines preventivos de enfermedades veterinarias (Doyle, 2012), por tanto los antibióticos no solo tenía efectos terapéuticos sino también funciones como promotores de crecimiento en animales sanos y a partir de los años 60 se reportan procesos de resistencia a la penicilina y en los 70 se tienen reportes de multiresistencia a las ampicilinas (Toro, 2011). La administración de antibióticos en las aves, es una práctica no regulada que carece de mecanismos de control y supervisión, y ante su uso inadecuado origina el desarrollo de cepas resistentes a los antibióticos, tanto de bacterias patógenas como no patógenas (Mattar *et al.*, 2009).

Los antibióticos como promotores de crecimiento se han empleado en dosis sub – terapéuticas por mucho tiempo, sin embargo, fueron poco a poco restringidos, en razón de que muchos de ellos se administran también en la medicina humana con fines curativos (Vázquez & Olvera, 2012). Se desconoce el mecanismo de como los antibióticos estimulan el crecimiento en animales, pero modifican cuantitativamente y cualitativamente su flora microbiana intestinal, disminuyendo la población microbiana causante de enfermedades sub – clínicas, reduce la flora normal hospedera que compete por los nutrientes, mejorando la productividad y reduciendo la mortalidad de los animales (Falcón *et al.*, 2010). Por lo tanto, en la investigación se evaluó la resistencia bacteriana en *Escherichia coli* y *Salmonella* sp, sean estas patógenas o no de las aves, en razón de



que se quiso determinar si las bacterias presentes en las vísceras de aves, poseerían resistencia a los antibióticos que normalmente se administran en la salud pública humana, ya que actualmente a las aves se les administra antibióticos no siempre para el tratamiento de infecciones, sino más bien para lograr el engorde de los animales y como preventivos de infecciones en las aves.

En los mercados de la ciudad de Puno, actualmente se vienen expendiendo carnes de pollos, gallinas y pavos e inclusive menudencia y vísceras de pollo, las cuales poseen una procedencia generalmente de la costa peruana, desconociéndose la forma de producción de las aves y de los antibióticos que vendrían administrándose no solo para controlar sus infecciones sino también para promover y lograr un adecuado crecimiento en menor tiempo posible. Al respecto Albújar (2015), en los mercados de Piura (Perú), encontró hígados de pollos comercializados con residuos de antimicrobianos, como son tetraciclina, sulfametoxazol/trimetoprim y gentamicina, dándonos a conocer que durante la crianza de las aves se les estaría administrando antibióticos para su mejor desarrollo y próxima venta.

One Health o “Una Salud”, reconoce la salud humana y animal como interconectadas, donde las enfermedades se difunden de los humanos a los animales y viceversa, por tanto, recomienda diseñar y aplicar programas, políticas, leyes e investigaciones para lograr la inocuidad de los alimentos, el control de zoonosis tales como la gripe, fiebre amarilla, rabia, cisticercosis, leptospirosis, la peste, entre otras, y la resistencia a los antibióticos (Ramón *et al.*, 2018). La aplicación rutinaria de antibióticos en el alimento de animales para el consumo humano, contribuyó a incrementar la generación de bacterias resistentes lo que conlleva a un problema mayor de salud pública (Cota *et al.*, 2014), desconociéndose si las bacterias presentes en vísceras de pollo expendidas en mercados de la ciudad de Puno, poseen resistencia a los antibióticos administrados en la salud pública.

Es por eso que se planteó realizar el recuento bacteriano de mesófilas aerobias y *Escherichia coli*, así como determinar la presencia de *Salmonella* sp en vísceras de pollo expendidas en tres centros de expendio (mercados) de la ciudad de Puno y luego determinar si las bacterias identificadas previamente posean o no resistencia a los antibióticos tales como doxiciclina, oxitetraciclina, tetraciclina, ampicilina, amoxicilina -



ácido clavulánico y cefalexina y así establecer la prevalencia de resistencia antimicrobiana en bacterias procedentes de las aves de consumo humano.

Por tal razón esta investigación tuvo los siguientes objetivos:

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar la calidad bacteriológica y la resistencia antibacteriana de patógenos provenientes de las vísceras de pollo expandidas en tres centros de venta de la ciudad de Puno.

### **1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar la carga bacteriana de mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y presencia de *Salmonella* sp en vísceras de pollo expandidas en tres centros de venta mercados Unión Dignidad, Laykakota y un Minimarket de la ciudad de Puno.
- Determinar la resistencia a los antibióticos doxiciclina, oxitetraciclina, tetraciclina (tetraciclinas), ampicilina, amoxicilina – ácido clavulánico, cefalexina (beta – lactámicos) en bacterias aisladas e identificadas de las vísceras de pollo.



## CAPÍTULO II

### REVISIÓN DE LITERATURA

#### 2.1 ANTECEDENTES

Nina (2019), analizó 75 muestras de carne de pollo expandida en mercados, de los cuales 23 no cumplieron con los parámetros de calidad microbiológica, en ellas se determinó que el 17.33% excedieron los límites permisibles de aerobias mesófilas, el 14.67% fue positivo a *Salmonella* spp, analizadas; además, Moreno *et al.* (2018) indican que la transferencia de la resistencia antimicrobiana se produce en forma bidireccional entre el humano y el animal, evidenciándose que *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* sp, *Salmonella typhimurium*, *E. coli* y *Streptococcus* sp son bacterias comunes en las infecciones resistentes a los antibióticos en pequeños animales y sus genes de resistencia de mayor prevalencia son gen blaTEM, CTX-M-1, mecA y clones como Tn5405-like; asimismo, Arenas & Moreno (2018), indican que en Colombia usar antibióticos es muy común para aumentar la producción pecuaria, que resultaría en la emergencia de cepas multidrogoresistentes, siendo los patógenos resistentes a antibióticos más reportados *Salmonella* sp y *Escherichia coli*, debido al uso no terapéutico y excesivo de antibióticos  $\beta$ -lactámicos, macrólidos y tetraciclinas, es posible encontrar trazas de antibióticos en muestras ambientales y alimentos; por otra parte, Da Silva *et al.* (2017), evaluaron la calidad de la carne de pollo de engorde en Brasil y reportaron que el recuento de aerobias mesófilas y coliformes estuvieron dentro de los límites permitidos por la norma brasileña, pero el 50% de las muestras de pollo de corral y el 25% de pollo de engorde industrial presentaron *Salmonella* spp.

Lavado (2017), estudió la carga bacteriana en carcasas de pollo de centros de beneficio y comercialización (Trujillo) y obtuvo diferencia altamente significativa en el grado de contaminación bacteriana de los sistemas de beneficio y los elevados recuentos de aerobias mesófilas demuestran carencia de sistemas de beneficio tecnificado y de cadena de frío y malas prácticas sanitarias; a la vez, Zotta *et al.* (2016), evaluaron las muestras de vísceras bovinas y obtuvieron que el 84.2% de bacterias coliformes no presentaron ningún factor de virulencia que los caracterice como productora de toxina Shiga (STEC) o como *Escherichia coli* O157 y las menudencias de pollos presentaron el 95.5% de



bacterias coliformes, sin genes que codifican a las toxinas Shiga 1 y 2 (*stx1*, *stx2*) y el gen *rfbO157*; asimismo, Rodríguez *et al.* (2016), determinaron la presencia de *Campylobacter* y *Salmonella* en 76 muestras de pollo a la venta en el mercado de abastos, *Campylobacter* spp en el 89% de las muestras analizadas y *Salmonella* en el 63%, los cuales se asocian comúnmente con productos de pollo; Arenaz *et al.* (2015), registraron en vísceras de pollos parrilleros recuentos de heterótrofos en placa, en hígado oscilaron entre  $45 \times 10^3$  y  $14 \times 10^4$  UFC/ml, en bazo se obtuvieron cifras entre  $93 \times 10^3$  y  $28 \times 10^4$  UFC/ml y, en intestino,  $14$  y  $40 \times 10^4$  UFC/ml, *E. coli* en 75 (100%) muestras analizadas; por otro lado, Sánchez *et al.* (2015), en 10 clínicas encontraron bacterias potencialmente patógenas multirresistentes a amoxicilina y cloranfenicol que pertenecían a 8 de 16 especies aisladas, entre ellas *Staphylococcus intermedius*, *Acinetobacter baumannii*, *Pantoea agglomerans*, *Klebsiella pneumoniae* y *Burkholderia cepacia*, procedieron del piso de consulta externa y la mesa de examen clínico; además, Álvarez (2013) indica que de un total de 23 (21.67% del total) cepas de *Escherichia coli* aisladas de productos avícolas, fueron pan – susceptibles y 78.33% mostraron resistencia a uno (22.50%) o más (58.33%) antimicrobianos, la mayor prevalencia de resistencia se observó para los grupos de antimicrobianos más frecuentemente usados en las explotaciones avícolas.

Palma (2013) realizó una evaluación microbiológica de la carne de pollo en mercados de Loja (Ecuador) y obtuvo que no hubo presencia de *Salmonella* spp, *S. aureus* en 56.05% de carnes, *E. coli* en 40.53%, *Clostridium* sp en 5.35% y las bacterias aerobias mesófilas en un 49.4%; de igual modo, Zambrano *et al.* (2013), realizaron la determinación de *Salmonella* spp en centros de beneficio clandestino de pollos de engorde en Lima, en hisopados cloacales de 170 aves, arrojó que el 23.5% de superficies corporales y el 32.4% de los hisopados cloacales resultados positivas a *Salmonella* spp; asimismo, Pérez & Serrano (2013), evaluaron la calidad microbiológica de la carne de pollo (*Gallus gallus*) expandida en Huancavelica y resultaron con coliformes totales 83.3% de avícola “Rocío” y el 43.3% de avícola “La Chacra”; *Salmonella* spp se evidenció en ambas avícolas con un 3.3% y 10% respectivamente; *S. aureus*, 86.7% y 96.7% en las avícolas “Rocío” y “La Chacra”, respectivamente, concluyéndose que tienen un deficiente grado de higiene.

Molero (2012), realizó el análisis microbiológico de canales de pollo en mataderos y encontró que, de 30 muestras de contenido intestinal, el 100% fue positivo a *Salmonella* sp; los recuentos de mesófilas aerobias oscilaron entre  $3.98 \times 10^4$  a  $4.80 \times 10^8$  UFC/g, la



contaminación de las canales con *Salmonella*, precisa realizar estudios epidemiológicos en las granjas productoras, aplicar medidas de vigilancia, control y su erradicación en la producción primaria; por otra parte, Carloni *et al.* (2011), manifiesta que el porcentaje de resistencia frente a tetraciclinas en el entre 34% de las muestras de origen felino y 75% de origen equino, las cepas de origen canino y felino tuvieron porcentajes de 27% de caninos y 53% de felinos frente ampicilina/sulbactam y ante ciprofloxacina en 30% y 67% respectivamente y multiresistencia en 29% en caninos y 67% en felinos; es más, Medina (2011), al administrar en conejos con doxiciclina originó un cambio en las poblaciones de *E. coli* predominantes en la microbiota intestinal de los conejos, favoreciendo un fenotipo de resistencia predominante a doxiciclina y eritromicina, debido a la mutación de genes *gyrA* y *parC* que revelaron la resistencia a fluoroquinolonas.

Camacho *et al.* (2010), aislaron de 82 muestras de vísceras de pollo 152 cepas de *Salmonella* spp y presentaron resistencia a cefalotina (41%), amoxicilina (38%), ácido clavulánico (38%), cefoxitina (36%) y ampicilina (26%), todos ellos betalactámicos, el 15% de los aislamientos fueron resistentes a estreptomomicina y el 12% a tetraciclina; por su parte, Molina *et al.* (2010) manifiestan que las bacterias aerobias mesófilas, coliforme totales, *E. coli* y *S. aureus*, superaron significativamente los recuentos límites de aceptabilidad, *Salmonella enterica* en 20% de las muestras y las serovariedades Heidelberg (55.6%) y Enteritidis (22.2%) fueron las más frecuentes, presentaron multirresistencia y producían BLEE; asimismo, Junod (2010), analizó aislados de *Salmonella enterica* de origen animal y de alimento, de 68 cepas aisladas de origen animal y alimentario, se identificaron 9 serovares, el 54.68% de las cepas fueron resistentes a 1 o más antibióticos, la resistencia a múltiples drogas fue observada en el 20.5% de las cepas analizadas y el antibiótico que presentó la mayor tasa de resistencia fue oxitetraciclina.

Velásquez (2006), determinó en 66 muestras de carne de pollo en mercados de la ciudad de Guatemala, que el 57.58% fueron positivos para *Salmonella* spp, concluyendo que la carne de pollo está contaminada y los consumidores y pone en peligro la salud capitalina; por otro lado, Yang *et al.* (2004a), caracterizaron cepas de *Escherichia coli* aisladas de carne de cerdos y pollos multirresistentes a los antibióticos, aislando 160 cepas de 89 muestras de carne de cerdo y 71 muestras de pollo y presentaron un 100% de resistencia al ácido nalidíxico, 98% a tetraciclina, 84% a sulfametoxazol, 79% a ampicilina, 77% a



estreptomomicina y el 76% a trimetropin con sulfametoxazol. En las fluoroquinolonas la resistencia osciló del 64% a la levofloxacin, 79% a ciprofloxacina, y 95% a la difloxacina.

## **2.2 MARCO TEÓRICO**

### **2.2.1 Calidad bacteriológica**

#### **2.2.1.1 Calidad**

Deriva de la palabra latín “*quality*”, la cual significa valorar o catalogar a una cosa como peor, igual o mejor que los demás, según las propiedades que posee (Rodríguez, 2013). La calidad inicia desde su proceso de control, pasando por un medio de inspección (Rodríguez & Rodríguez, 2009).

#### **2.2.1.2 Calidad de un derivado alimenticio**

Según el MINCETUR (2013), la calidad de alimentos que se brinda lo define como la agrupación de diversos requisitos sensoriales, fisicoquímicos y microbiológicos, que deberían congregarse los alimentos procedentes de todo tipo para así ser calificado como apto para el consumo humano, como también tiene que precisar la aceptación al cliente (DIF, 2015).

### **2.2.2 Agentes antibacterianos**

#### **Doxiciclina**

La doxiciclina es un antibiótico que pertenece a las tetraciclinas, la cual evita el incremento y propagación de microorganismos Gram negativos (-) Gram positivos (+), es útil para tratar la neumonía así como otras como la enfermedad periodontal, la rosácea, el acné, la malaria, fue comercializado en distintas concentraciones de 40 a 200 mg, bajo el nombre de otras marcas (Nelson & Levy, 2011).

#### **Oxitetraciclina**

La oxitetraciclina es un antibiótico dentro de las tetraciclinas, su uso se basa en la apicultura mediante el Clorhidrato, es usado para contrarrestar a la mastitis, artritis, neumonía, metritis, leptospirosis, anaplasmosis, enteritis, querato conjuntivitis, onfalitis y otras infecciones en general, como también a la infección dada por caprinos, ovinos, bovinos y porcinos, tiene actividad bacteriana en bacterias Gram negativas y positivas



(Mensa *et al.*, 2008).

### **Tetraciclina**

Las tetraciclinas forman un conjunto de antibióticos, los cuales algunos son naturales y otros son semi sintéticos, Son derivados químicamente de la Naftacenocarboxamida policíclica, la cual posee un núcleo tetracíclico por la cual se da el nombre de todo el grupo. Las tetraciclinas de procedencia natural se adquiere de *Streptomyces rimosus* se extrae la tetraciclina y la oxitetraciclina, como también se puede adquirir de la forma semi sintética. Una de las características más importantes es su carácter anfotérico, la cual hace que desarrollará sales en bases o ácidos con el solo uso de clorhidratos solubles (Mathers *et al.*, 2011).

### **Amoxicilina – Ácido clavulánico**

Es un antibiótico semi sintético procedente de la penicilina, es efectiva en contra de distintos tipos de bacterias Gram positivas como negativas, fue el primer fármaco para ser empleado en distintas infecciones de gravedad tanto en la medicina veterinaria como también en la humana (Mensa *et al.*, 2008). El ácido clavulánico es un inhibidor de  $\beta$ -lactamasas que se mezcla en preparados antibióticos, usado para eliminar la resistencia efectuada por microorganismos secretadores de  $\beta$ -lactamasa, como el *Staphylococcus aureus* (Bertram *et al.*, 1982).

### **Cefalexina (Beta – Lactámicos)**

La Cefalexina es un antibiótico perteneciente a las cefalosporinas, los cuales son considerados pertenecientes a la primera generación, su uso es para el tratamiento de infecciones por bacterias en las vías respiratorias como la faringitis , neumonía, así como también lo producido en el oído y los huesos, su gran importancia radica en que se puede usar en pacientes que son hipersensibles a la penicilina (Mensa *et al.*, 2008).

### **Ampicilina**

La ampicilina es una penicilina sensible a la penicilinasas, es eficaz contra gérmenes - Gram positivos y Gram negativos. Su mecanismo de acción inicia al unirse a las proteínas que ligan penicilinas ubicadas en las membranas citoplasmáticas de las bacterias, e inhiben la síntesis del septo y pared celular de las bacterias, probablemente debido a la acetilación de las enzimas transpectidasas que se encuentran unidas a la membrana,



desencadenando la rigidez de la pared celular, también inhibe la división celular y el crecimiento (Bertram *et al.*, 1982).

### 2.2.2 Bacterias mesófilas aerobias

Este grupo contiene a todas las bacterias que se desarrollan en temperaturas de hasta 35 °C  $\pm$  2 °C en distintas condiciones, el recuento de estas en la microflora refleja las condiciones en las que estuvo expuesta, la calidad sanitaria de un alimento y las condiciones higiénicas de la materia prima (Fonseca & Avina, 2008). Las bacterias mesófilas aerobias en la piel de los pollos en el recuento deben ser comúnmente menor a 16.000 UFC/cm<sup>2</sup> de las enterobacterias (Mulder, 1985). Los recuentos de las mesófilas se realizan para monitorear la implementación de Buenas Prácticas de Manufactura, en tal sentido indica el contenido microbiano de materiales crudos y sus ingredientes, la eficiencia de su elaboración y/o proceso, la higiene del equipo y utensilios y el tiempo - temperatura de almacenamiento y de la distribución (ANMAT, 2020).

Por lo tanto, las mesófilas indican la calidad de los alimentos, su elevado recuento se atribuye a la manipulación de los alimentos de venta ambulancia (Campuzano *et al.*, 2015) y agrupan en dos géneros importantes *Bacillus* y *Sporolactobacillus* formadores de endoesporas, las especies no poseen un hábitat definido y generalmente no provocan enfermedades en el ser humano, por lo que son utilizados como indicadores de la calidad del procesamiento (Vanderzant & Splittstoesser, 1992).

### 2.2.3 *Escherichia coli*

Dominio	: Bacteria
Filo	: Proteobacteria
Clase	: Gammaproteobacteria
Orden	: Enterobacteriales
Familia	: Enterobacteriaceae
Género	: <i>Escherichia</i>
Especie	: <i>E. coli</i> (Escherich, 1885) (Hold & Hendricks, 1994).

*Escherichia coli* es un bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo que posee un metabolismo respiratorio y fermentativo, suele ser móvil o inmóvil ya que posee flagelos peritricos. Se encuentran en el tracto intestinal de los animales de sangre caliente y del



hombre, estas llegan a colonizarse en el tracto gastrointestinal poseen un papel importante de mantener fisiología intestinal (Coguila & Concha, 2015).

*E. coli* se localiza en el tracto gastrointestinal de aves esparciéndose a una gran escala en las heces, es un patógeno oportunista por los diversos factores de virulencia (Perello, 2009). Esto daña consecutivamente a la producción de derivados en la industria avícola (Mantilla & Portacio, 2012). Existen diferencias entre los tipos de *Echerichia coli*, la gran parte de ellos son inofensivos y algunos son patógenos (Marshall *et. al*, 2005).

#### **2.2.4 *Salmonella sp***

La *Salmonella* es un bacilo Gram negativo que actúa como un patógeno intracelular facultativo (Ramírez, 2017). Habita en el tracto gastrointestinal de las aves por lo tanto es posible encontrarlos sobre los huevos, y el ser humano lo puede adquirir por el consumo de alimentos contaminados originando enfermedades infecciosas (Figuroa & Verdugo, 2005). Contiene a poco más de 2500 diversidades serológicas, en cambio solo algunas de los serotipos se dan en ciertos lugares del mundo. Los antígenos implicados en la serotipificación son: capsular (K), la cual es un antígeno termolábil que tiene la capacidad de realizar fagocitosis, somático (O), y antígeno flagelar (H) es proteico (Mahmoud, 2012).

#### **2.2.5 Vísceras**

Quito (1977) señala que las vísceras son consideradas todos los órganos interiores del animal, como son: corazón, estómago, hígado, bazo, intestinos, riñón, pulmón entre otros, y que desde el punto de vista nutricional estos poseen un gran contenido de minerales, proteínas y vitaminas. Tales órganos se hallan en el interior del cuerpo del animal, y la gran mayoría se sitúa en la cavidad abdominal, en la cavidad pectoral, y en la cavidad pélvica.

Quito (1977) señala que las vísceras poseen proteínas en proporciones parecidas a la carne, sin embargo, superan la concentración de hierro, el hígado posee selenio, vitamina D, A y B12. Las vísceras proporcionan cantidades altas de purinas (componentes del ARN y ADN en todas las células, tal composición forma ácido úrico). Las vísceras con más contenido de purinas son el páncreas, el riñón e hígado, ya que estos órganos están integrados por un gran número células.

### Límites máximos permitidos para los principales antibióticos en carne de ave

Los límites máximos permisibles de antibióticos para productos cárnicos provenientes de ave, los que se muestran en la Tabla 1, el cual se presenta a continuación:

**Tabla 1.** Norma Sanitaria que establece los Límites Máximos de Residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano, establecidos por el Ministerio de Salud del Perú (NTS N° 120-MINSA/DIGESA, 2016).

Principio activo	Residuo marcador	Especie animal	Matriz	LMR (µg/kg)
Clortetraciclina	Clortetraciclina	Aves	Músculo	200
Oxitetraciclina	Oxitetraciclina		Riñón	1200
Tetraciclina	Tetraciclina		Hígado	600
			Huevos	400
Amoxicilina	Amoxicilina	Todas las especies productoras de alimentos	Músculo	50
			Grasa	50
			Riñón	50
			Leche	4
Enrofloxacin	Suma de enrofloxacin y de ciprofloxacina	Aves	Músculo	100
			Piel grasa	100
			Hígado	200
			Riñón	300

Lozano & Arias (2008), manifiestan que la carne debe estar libre de medicamentos veterinarios para el consumo humano, en razón de que se provocarían reacciones alérgicas, cepas bacterianas resistentes y su transmisión, lesiones óticas, hepáticas y renales, sordera congénita, afecciones endocrinas y la genotoxicidad y generación de anemia aplásica. Según el MINSA (2010), considera a levofloxacino (fluoroquinolona), y administrado en pacientes con tuberculosis multidrogoresistentes, pertenece a la familia que la enrofloxacin y sus residuos presentes en la carne de pollo influiría su resistencia al antibiótico en seres humanos (Villalobos, 2018).

#### 2.2.5.5 Comercialización de vísceras

La comercialización puede estar fraccionada en diferentes etapas dependiendo de la cifra

de mediadores que interceden en los distintos procesos. Un excelente sistema de comercialización de carnes y de las menudencias es el sistema de comercialización compuesto que se diferencia en las varias fases de transporte y de producción, conservación y beneficio, y la distribución, la comercialización y por último el consumo (Figura 1). La venta de vísceras en nuestro país es muy desorganizada, en forma genérica se podría decir que no se ha tecnificado, es costumbrista y en muchos casos tradicionalistas (Télles, 1992).



**Figura 1.** Vísceras de pollo fresco en el mercado (Saetung, 2019).

#### **2.2.5.6 Contaminación bacteriana de la carne y vísceras de pollo**

La carne y las vísceras de pollo, están propensos a contaminarse con microorganismos mediante los piensos y el agua de bebida en la granja (Glatz & Bolla, 2004). El tipo y el número de microorganismos establecidos en las plumas y en la piel de las aves vivas, y luego en las canales, influye el tipo y las condiciones de la cama en la que se crían las aves, ya que se contamina con los excrementos y plumas, a pesar de ellos poseen amoníaco y el pH que crean condiciones adversas para los microorganismos entre ellos *Salmonella*; pero, la cama vieja, los excrementos y el pienso húmedo son hábitats favorables para levaduras y el crecimiento de mohos (Cox & Pavic, 2010).

Por otro lado, los insectos se pueden constituir en reservorios y vectores de microorganismos, los pelos, las heces de roedores entre otros pequeños mamíferos, inducen a la propagación microbiana dentro de los corrales (Lofton *et al.*, 1962). Tanto las aves silvestres o aves domésticas consiguen transmitir *Salmonella* y otros microorganismos de una granja a granja, los reptiles, los anfibios, las mascotas entre otros animales de granja son reservorios de algunos patógenos, a ellos se adiciona que los



trabajadores agrícolas pueden lograr propagar los agentes infecciosos en sus botas o equipos (ICMSF, 1998).

Los pollos jóvenes contagiados transmiten rápidamente las bacterias *Salmonella* y *Campylobacter* a otros miembros jóvenes, siendo la dosis infectiva de *Salmonella* para pollitos menos de 100 células; mientras que en aves de mayor edad se vuelven más resistentes (Snoeyenbos *et al.*, 1969), sus plumas, las patas y las canales de las aves y el tracto intestinal son consideradas como fuentes importantes de contaminación bacteriana (ICMSF, 1998). La carga microbiana que poseen las canales de aves de corral son la flora natural de la piel, la flora transitoria de las plumas que se establecerían en la piel luego durante el sacrificio, y las bacterias de la piel se adquieren durante el procesamiento (Ordoñez & García de Fernando, 2014). En la etapa de procesado, la contaminación bacteriana se origina por los equipos y el agua utilizadas en otras aves que también se están procesando, siendo mínimo por los trabajadores (Mead *et al.*, 1999), la incidencia de *Salmonella*, es variable y está influenciada por las condiciones de las aves entrantes, su procesado, el muestreo entre otros (ICMSF, 1998). La prevalencia bacteriana puede ser alta, pero el recuento de *Salmonella* en la canal es bastante bajo siendo menor de 100 UFC/100g de piel (Mulder & Dorresteyjn, 1977).

#### **2.2.6 Carga bacteriana en vísceras de pollo en la normatividad peruana vigente**

En la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, se recomienda los límites permisibles de la carga bacteriana en vísceras de pollo (aves), bovinos, caprinos y ovinos refrigeradas y congeladas, la cuales fueron consideradas para comparar con los resultados en la investigación y así determinar la calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos de consumo humano.

**Tabla 2.** Límites permisibles de agentes microbianos en vísceras de aves y otras especies; refrigeradas y congeladas (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).

Agentes microbianos	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
Aerobias mesófilas (30 °C)	2	3	5	2	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
<i>Escherichia coli</i>	5	3	5	2	50	5 x 10 <sup>2</sup>
<i>Salmonella</i> sp	10	2	5	0	Ausencia / 25 g	---

En la Tabla 2, se presenta que los agentes microbianos aerobias mesófilas se encuentran en la categoría 2, *Escherichia coli* en la categoría 5 y *Salmonella* sp en la categoría 10, esto significa que mientras mayor sea la categoría, mayor es la capacidad de originar cuadros infecciosos en los consumidores de dichos alimentos, por tanto, *Salmonella* sería el microorganismo más infeccioso por tanto no debería estar presente en los alimentos, a continuación está *Escherichia coli*, el cual originaría una infección moderada, y los microorganismos aerobias mesófilas son poco infecciosos y representarían contaminación accidental por las manos, los utensilios, entre otros. Las clases 3 y 2 significan que las aerobias mesófilas y *Escherichia coli* podría tener tres resultados, como son aceptable, medianamente aceptable y rechazable, presentando una flexibilidad al realizar un análisis microbiológico, sin superar el límite superior (M); mientras tanto, que *Salmonella* sp está dentro de la clase 2, vale decir que tendría dos resultados aceptable y rechazable, si en caso se aísla el alimento es rechazable y si no se encuentra será aceptable; “n” es el número de unidades de muestra seleccionadas al azar de un lote, y “c” es el número máximo de unidades de muestra rechazables en un plan de muestreo de 2 clases, o número máximo de unidades de muestra que puede contener un número de microorganismos comprendidos entre “m” y “M” en un plan de muestreo de 3 clases. Cuando se detecta un número de unidades de muestra mayor de muestra mayor a “c” se rechaza el lote; “m” es el límite microbiológico que separa la calidad aceptable de la rechazable. En general, un valor igual o menor a “m”, representa un producto aceptable y los valores superiores a “m” indican lotes aceptables o inaceptables. “M” son los valores de recuentos microbianos superiores a “M” son inaceptables, el alimento representa un riesgo para la salud (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).

### 2.2.7 Resistencia antibacteriana

En la industria avícola la resistencia antimicrobiana está asociada al mal uso de

antibióticos y el incorrecto manejo de los controles en los tratamientos (Carvajal *et al.*, 2019). Las bacterias poseen la capacidad de producir distintos mecanismos de resistencia lo que consiste en la fabricación de ciertas enzimas bacterianas que imposibilitan el efecto de los antibióticos (Daza, 1998). La bacteria posee sensibilidad cuando con una concentración apropiada de un antibacteriano recaiga en el sitio de la infección debe ser por lo menos tres o cuatro veces mayor con respecto a la CIM (OMS, 2010). Tal resistencia a los diversos antibióticos existentes es un problema muy grande en la salud pública ya que impide y estropea la capacidad de poder realizar un control a las distintas enfermedades que aquejan a la salud humana, es por eso que el déficit de la medicina la cual da lugar al incremento de mortalidad (Calderón & Aguilar, 2016). Los diámetros establecidos en la normatividad vigente del Perú se presentan en la Tabla 3.

**Tabla 3.** Antibióticos y diámetros críticos para Enterobacterias (INS, 2002).

Antimicrobiano	Contenido del disco	Diámetro (mm)		
		Resistente	Intermedio	Sensible
Doxiciclina	30 µg	≤ 10	11 – 13	≥ 14
Oxitetraciclina	30 µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19
Tetraciclina	30 µg	≤ 11	12 – 14	≥ 15
Ampicilina	10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17
Amoxicilina – Ácido clavulánico	20 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18
Cefalexina	30 µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18

#### 2.2.7.5 Mecanismos de resistencia

La capacidad que tienen las bacterias frente a los antibióticos de resistir, inactivar o disminuir a los efectos producidos por estos (Fernández *et al.*, 2003). La resistencia presentada por microorganismos es a consecuencia de las mutaciones cromosómicas y del intercambio genético con otras bacterias por medio de la transformación, transducción, transposición y conjugación (Cabrera *et al.*, 2007). Las bacterias, por su enorme poder de adaptación, poseen tipos de resistencias como:

- a) **Resistencia natural o intrínseca** la cual es propia de las bacterias, se dio antes del uso de los antibióticos, posee una característica inherente (OPS, 2011). Eso ocurre cuando las bacterias carecen de diana en un antibiótico la cual es la ausencia de pared



en el Mycoplasma en correlación a los betalactámicos (García & García, 1997).

- b) **Resistencia adquirida** es considerada importante en la parte clínica, debido a las transformaciones de la carga genética y da lugar a la mutación cromosomática (Martínez, 1997). El fenómeno de la tolerancia también es considerado resistencia, a pesar que la bacteria sea sensible a un antibiótico (OPS, 2011).
- c) **Resistencia transmisible** es considera la más importante, la cual está mediada por integrones y plásmidos, que tiene la capacidad de pasar una bacteria por otra distinta (Martínez, 1997).

Los mecanismos de resistencia que poseen las bacterias son (Mandell *et al.*, 2010):

- **Alteración enzimática.** Mediante la síntesis de enzimas que inactivan a los antibióticos.
- **Disminución de la permeabilidad de la membrana bacteriana.** La membrana externa de las bacterias Gram negativas, es rica en lipopolisacáridos, por tanto, es menos accesible por los antibióticos hidrófobos, mutación de las proteínas de membrana.
- **Disminución de la acumulación del antibiótico y aumento de su eliminación.** Mediante la expulsión activa del antibiótico por proteínas de membrana, disminuyendo su captación y acumulación.
- **Alteración de los sitios diana.** Mediante la capacidad para bloquear la síntesis proteica y el crecimiento celular y disminuyendo la afinidad por medio de enzimas y en los precursores de peptidoglucanos en la pared celular.
- **Protección de los sitios diana.** Mediante genes de resistencia que protegen a las zonas diana.
- **Sobreproducción de los sitios diana.** Mediante la producción de enzimas de unión.
- **Impedimento de la inhibición del antibiótico.** Mediante la mutación convirtiéndolas en auxótrofos.
- **Unión al antibiótico.** Originando sitios falsos de unión.

Las bacterias pueden adquirir más de un mecanismo de resistencia a la vez, es lo que se denomina multirresistencia.

### 2.2.7.6 Resistencia bacteriana a los antibióticos

**Tabla 4.** Principales bacterias que originan infecciones humanas que presentan mayor resistencia a los antibióticos (Calderón & Aguilar, 2016).

Microorganismos	Antibióticos
<i>Escherichia coli</i>	Cefalosporinas, quinolonas, ampicilina, ácido nalidixico, trimetroprima – sulfametoxazol, clindamicina, ampicilina/sulbactam
<i>Enterococcus</i> sp	Vancomicina, ampicilina, ciprofloxacina, cefalosporinas, aminoglucósidos
<i>Staphylococcus aureus</i>	Penicilina, oxacilina, ampicilina, trimetroprima – sulfametoxazol, ciprofloxacina, levofloxacina, clindamicina, gentamicina, cefalexina, ampicilina/sulbactam, vancomicina, macrólidos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Levofloxacino, oxacilina, linezolid, clindamicina, cefalexina
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Betalactámicos, cloranfenico, eritromicina, tetraciclina, trimetroprima – sulfametoxazol, fluoroquinolonas, penicilina, aminoglucósidos
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Betalactámicos, macrólidos, aminoglucósidos, sulfonamidas
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vancomicina, aminoglucósidos
<i>Acinetobacter</i> sp	Meropenem, imipenem, fluoroquinolonas, aminoglucosidos, trimetroprima – sulfametoxazol, tetraciclinas, macrólidos, gentamicina, amikacina, clindamicina
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Quinolonas, cefalosporinas tercera generación, carbapenémicos, macrólidos, aminoglucósidos, tetraciclinas, penicilina
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cefalosporinas, carbapenémicos, ampicilina, gentamicina, amikacina
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Fluoroquinolonas, cefalosporinas, macrólidos, carbapenémicos



<i>Micobacterium tuberculosis</i>	Carbapenémicos, linezolid, estreptomicina, cefalosporinas, penicilinas
<i>Clostridium perfringens</i>	Clindamicina, cloranfenicol, penicilina
<i>Moraxella cararrhalis</i> y <i>Haemophilus influenzae</i>	Betalactámicos, macrólidos
<i>Shigella</i> sp	Ampicilina, cloranfenicol
<i>Proteus</i> sp y <i>Salmonella</i> sp	Ciprofloxacina

### 2.2.8 Una Salud o “One Health”

One Health o “Una Salud” describe el principio que reconoce la salud humana y animal como interconectadas, donde las enfermedades se difunden de los humanos a los animales y viceversa y deben enfocarse desde ambos aspectos. Con ello se debe diseñar y aplicar programas, políticas, leyes e investigaciones para lograr mejores resultados de salud pública, por tanto, el enfoque de “One Health” está en la inocuidad de los alimentos, el control de zoonosis tales como la gripe, fiebre amarilla, rabia, cisticercosis, leptospirosis, la peste, entre otras, y la resistencia a los antibióticos (Ramón *et al.*, 2018). Las bacterias resistentes a los antibióticos que tienen origen en humanos, animales o el medio ambiente lograrían propagarse de un país a otro. La resistencia bacteriana a los antimicrobianos traspasa fronteras geográficas o humano / animal. La Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), vienen tomando medidas para minimizar la aparición y propagación de la resistencia con los objetivos de asegurar que los antimicrobianos sigan siendo efectivos y útiles para el tratamiento de enfermedades en humanos y animales, así como promover el uso prudente y responsable de agentes antimicrobianos y lograr asegurar el acceso mundial a medicamentos de buena calidad (FAO *et al.*, 2016).

La aparición y diseminación de nuevos mecanismos de resistencia es considerado importante por la “One Health”, y en el año 2016, se identificó el nuevo gen *mcr-1* que otorga resistencia a colistina, iniciando la alerta epidemiológica por la Organización Panamericana de Salud (OPS & OMS, 2018). En estudios realizados en China en los años 2011 y 2014, reportan la presencia del gen *mcr-1* en *E. coli* y *K. pneumoniae* en 78 (15%) de 523 muestras originarios de carne cruda, 166 (21%) de 804 muestras oriundos de animales y 16 (1%) de 1322 muestras procedentes de pacientes hospitalizados con infección (Liu *et al.*, 2016). Posteriormente, el mismo gen fue detectado en cepas



bacterianas en todos los continentes, incluido Latinoamérica, donde *E. coli* y salmonellas fueron portadoras y tuvieron como fuentes, los humanos, como también en carnes de cerdos y aves (Scov & Monnet, 2016).

Recientemente se determinó el gen *optrA*, que confiere resistencia a las oxazolidinonas, cloranfenicol y florfenicol en *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, en muestras humanas y animales (He *et al.*, 2016), entre ellas muestras clínicas humanas y animales, principalmente en cerdos y pollos para el consumo humano, a pesar de que no hay una evidencia objetiva sobre la transferencia de genes *optrA* positivos entre animales y humanos, se debe considerar que *Enterococcus faecalis* de humanos y cerdos poseen un patrón similar por electroforesis en gel de campo pulsado y el mismo perfil evaluado por secuenciación multilocus (Ramón *et al.*, 2018).

En Latinoamérica, existe una débil regulación de la producción y venta de antibióticos, tanto en la salud pública, la agricultura y en ámbito veterinario, donde se expenden sin receta en muchos países, llegando a un uso indiscriminado (Wirtz *et al.*, 2013). Asimismo, la difusión se generaliza de bacterias y genes resistentes en el medio ambiente y en los sistemas alimentarios, es más donde existe la presencia de contaminación coliforme del agua corriente existiría la transferencia de genes resistentes a los antibióticos en muchos países de la región, aunándose a ello el uso indiscriminado de antibióticos administrados al ganado y en la acuicultura tanto para tratar y promover el crecimiento ha incrementado la aparición y expansión de patógenos con resistencia a los antibióticos transmitidos por medio de los alimentos (Singh, 2017). Actualmente el principal desafío a nivel mundial es la falta de regulación sobre la contaminación en los procesos productivos o en la manufactura de los antimicrobianos, proponiéndose los límites para la regulación medioambiental (Bengtsson & Larsson, 2016), y deben estar en función de las concentraciones inhibitorias mínimas de los antibióticos sobre las bacterias entre especies y genotipos, siendo prioritario investigar la producción de antibióticos y crear agencias reguladoras para lograr emisiones aceptables de antibióticos al medio ambiente, tomando en consideración los riesgos para seleccionar microorganismos resistentes (Ramón *et al.*, 2018).

### **2.2.9 Genética bacteriana de la resistencia de antibióticos**



Los productores avícolas administran antibióticos para promover el crecimiento de las aves y lograr potenciar la producción, en forma incontrolada y que para evitar las enfermedades aplican antimicrobianos, generalmente en dosis menores a las recomendadas (Briz, 2006), de tal modo que los microorganismos se adaptan e incrementan la resistencia a los antibióticos (Soufi *et al.*, 2011), en realidad la introducción descontrolada de antibióticos y la multicausalidad del origen de la resistencia bacteriana puede deberse al consumo de antibióticos en la práctica avícola (Laube *et al.*, 2014). *E. coli* se encuentra en las heces de las aves y éstas estresadas y bajo condiciones inadecuadas de manejo, la bacteria se convierte en un patógeno oportunista, ya que posee factores de virulencia, muchas veces en forma asintomática (Perello, 2009).

La resistencia antimicrobiana en la producción avícola se da gracias al uso indiscriminado de antimicrobianos y la aplicación incontrolada de los tratamientos, entre ellas cepas de *E. coli* multirresistentes se diseminan entre las aves de corral (Hernández *et al.*, 2017), dicha resistencia se realiza mediante la transferencia horizontal, entre los elementos genéticos se citan a los transposones, los plásmidos, y los cassettes genéticos de resistencia, aunándose los integrones importantes en la evolución de los genomas bacterianos, de los determinantes de resistencia a los antibióticos en Gram negativos (Berglund, 2015). A pesar de todo en Colombia, Argentina y Perú está restringida la venta de antibióticos entre ellos el cloranfenicol, olaquinox, nitroimidazoles y nitrofuranos para administrarlos en animales para el consumo humano (Quesada *et al.*, 2016); pero algunos continúan siendo aplicados como promotores de crecimiento para evitar a nivel intestinal sin bacterias patógenas, generando que cepas de *E. coli* generen resistencia a los antibióticos (Díaz *et al.*, 2017).

Mainali *et al.* (2013), evidenciaron en bacterias el 100% de resistencia a las cefalosporinas de primera generación, relacionado con el uso de betalactámicos, así como los malos manejos de las aves (densidades altas, tratamientos de agua inadecuados, cambios en la temperatura ambiental, entre otros), así se facilita el intercambio de bacterias con genes de resistencia, el cual puede ser al humano por el consumo de carne de pollo (Abreu *et al.*, 2013). La mayoría de bacterias *E. coli* aislados de muestras de alimentos no son patógenos, pero son reservorios de genes de resistencia a antibióticos (Pons *et al.*, 2014), éstos pueden transferirse directamente mediante conjugación, o indirectamente por



transformación luego de la lisis bacteriana y la liberación de ADN dentro del intestinal (Levy *et al.*, 1976).

La resistencia a las cefalosporinas es mediada por el gen *AmpC* ubicado en los plásmidos (pAmpC), reportado en el Perú, en muestras de hospitales (Rivera, 2012), debido al uso indiscriminado de antibióticos, en el tratamiento y profilaxis (mayormente aminoglucósidos, cefalosporinas, betalactámicos, quinolonas, macrólidos, tetraciclinas, fenicoles y sulfonamidas) de animales en el Perú (MINSA, 2012), a pesar de ello en el Perú, en veterinaria los antibióticos más utilizados son oxitetraciclina, penicilina y cotrimoxazol, en granjas lecheras en el norte del país (Redding *et al.*, 2014).

Las Enterobacterias poseen plásmidos y poseen la multiresistencia antibiótica, *Citrobacter spp*, *Enterobacter spp*, *Proteus spp* y *Serratia spp* poseen el gen cromosómico de la  $\beta$  – Lactamasa de amplio espectro (Galí, 2010), inclusive poseen a aminoglicósidos, tetraciclinas, cloranfenicol, sulfonamidas, trimetoprim, macrólidos y quinolonas (Carattoli, 2009). La presencia de bacterias resistentes en la producción de pollos, según Petersen *et al.* (2006), indican que sus progenitores son el reservorio de las bacterias y se transmite vía la contaminación de la cáscara del huevo (transmisión vertical). *E. coli*, reduce o elimina la funcionalidad de enzimas nitrorreductasas NfsA y NfsB y posee resistencia a nitrofuranos (Shanmugam *et al.*, 2016), también posee bombas de expulsión contra nitrofuranos, entre ellas la bomba de expulsión OqxAB (Ho *et al.*, 2015), que se encuentra en *Klebsiella spp.*, detectada y codificada en plásmidos de *E. coli* resistentes a olaquinox (Ruíz, 2019). Las mutaciones en los genes *acrB*, *emrD*, *yajR* o *macB*, de las bombas de expulsión cromosomales, están implicadas con la resistencia a nitrofuranos (Li *et al.*, 2015). *Salmonella entérica*, aisladas de alimentos cárnicos, posee resistencia a nitrofuranos, y están relacionados con la presencia de mutaciones cromosomales en los genes *snrA* y *cnr* (Martínez *et al.*, 2020), por lo que ciertas alteraciones producto de la evolución bacteriana, podrían originar otros mecanismos de resistencia a los antibióticos.



## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO

La investigación, estuvo enmarcada en un tipo de estudio descriptivo, en razón de que la carga bacteriana de mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y presencia de *Salmonella* sp, fue representada en los recuentos bacterianos, sus análisis estadísticos y la interpretación de los mismos con antecedentes y el marco teórico. Por otro lado, fue no experimental en razón de que las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella* sp, fueron sometidos a diversos antibióticos, y se contrastaron con lo recomendado en el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión de Kirby Bauer empleado por el INS (2002), a continuación se evaluó estadísticamente los halos de inhibición antibiótica de tal modo que se comprobó la hipótesis planteada que afirmaba que las bacterias identificadas son resistentes a los antibióticos. Y fue de corte transversal, en razón a que los resultados se obtuvieron entre los meses de setiembre a noviembre del 2019. El diseño aplicado en la investigación fue no experimental, en razón de que se describirá y explicará los mecanismos de resistencia y formación de los halos de inhibición que originaron al disponer a las bacterias frente a los antibióticos.

#### 3.2 ZONA DE ESTUDIO

Las muestras de estudio (vísceras de pollo), a partir del cual se aislaron las bacterias, procedieron de tres puntos de expendio de la ciudad de Puno (Figura 2). El mercado Laykakota es el más grande centro de abasto de alimentos de la zona sur de la ciudad de Puno, por otro lado, el mercado Unión y Dignidad, es el centro de abasto más concurrido por las amas de casa generalmente los días sábados, en ambos mercados se expenden todo tipo de productos alimenticios, entre carnes, verduras, tubérculos, entre otros, y el Minimarket se ha denominado así con la finalidad de guardar el nombre real de la empresa privada y evitar así perjuicios posteriores producto de la investigación realizada, y expende productos muy variados para el consumo humano, en buenas condiciones de conservación y gran variedad de productos envasados entre carnes, fideos, entre otros productos.



**Figura 2.** Zonas de muestreo de vísceras de pollo.

### 3.3 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA

El tamaño de muestra estuvo definido por lo recomendado en la Norma Técnica Sanitaria N° 071-MINSA/DIGESA-V.01. (2008), el cual indica la colecta de 5 muestras en un establecimiento determinado, luego de su distribución, 2 muestreos se realizaron en el mes de setiembre, 2 muestreos en el mes de octubre y 1 muestreo en el mes de noviembre del año 2019.

### 3.4 METODOLOGÍA

#### 3.4.1 Determinación de la carga bacteriana de mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y presencia de *Salmonella* sp en vísceras de pollo

##### a. Frecuencia y muestreo

Las cinco muestras analizadas de cada zona de muestreo (mercados Unión Dignidad, Laykakota y un Minimarket) se distribuyeron entre los tres meses de muestreo, los cuales tuvieron un espacio de tiempo de 15 días.

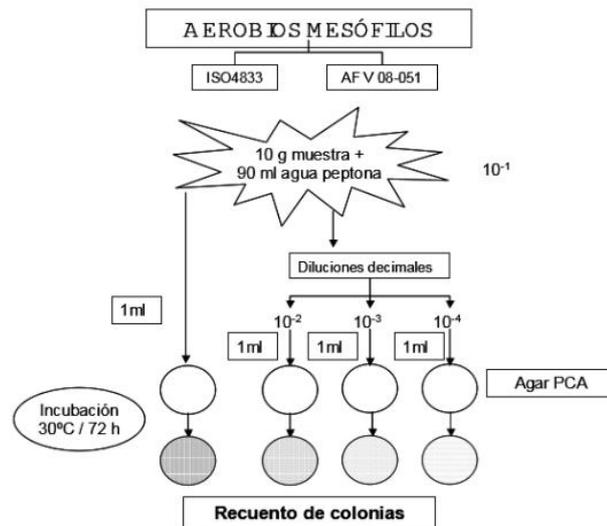
## b. Determinación de la carga bacteriana en vísceras de pollo

### Recuento de bacterias mesófilas aerobias

**Método:** recuento en placa.

**Fundamento:** los recuentos de las bacterias mesófilas aerobias se basan en el número de colonias que se crecerán en las placas de agar, que previamente fueron inoculadas con porciones o cantidades pre determinadas de alimento, en este caso fueron muestras de vísceras de pollo, las cuales fueron diluidas e incubadas en condiciones ambientales predeterminadas (ICMSF, 2000).

### Procedimientos:



**Figura 3.** Recuento de bacterias aerobias mesófilas en vísceras de pollo (ANMAT, 2020).

Las vísceras se colocaron en bolsas estériles Ziploc con cierre hermético y se conservaron en una caja de tecnopor acondicionada con bolsas de hielo para su transporte al Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno. El análisis microbiológico se determinó en Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por g de muestra (Figura 3). Los pasos realizados se detallan a continuación:

- 1) Una vez que las muestras estuvieron en el laboratorio se pesaron 10 g de vísceras y se colocaron en un matraz conteniendo 90 ml de agua peptonada debidamente esterilizados, se agitó tratando de cubrir toda la muestra con el agua peptonada, obteniéndose así la dilución madre  $10^{-1}$ .
- 2) Para preparar las diluciones decimales, haciendo uso de una pipeta estéril se extrajo 1 ml de la dilución inicial ( $10^{-1}$ ) y se llevó al siguiente tubo conteniendo 9 ml de diluyente ( $10^{-2}$ ), este procedimiento se repitió, transfiriendo 1 ml de la dilución  $10^{-2}$  a un tubo con 9 ml de diluyente, preparando así la dilución  $10^{-3}$ ,



hasta obtener una dilución de  $10^{-6}$ .

- 3) De la dilución  $10^{-5}$  se tomó 1 ml de cada dilución y se depositó en placas Petri vacías, limpias y esterilizadas, a cada placa se le agregó 20 ml de agar APC, previamente esterilizado y luego fue incubado a 37 °C por 48 horas, agitando suavemente con movimientos circulares horarios y antihorarios sobre la superficie de la mesa a fin de mezclar el inóculo con el agar.
- 4) Luego se procedió con el conteo de colonias y el cálculo de UFC/g, mediante la siguiente ecuación:  $\text{UFC/g} = \text{número de colonias} \times \text{factor de dilución}$ .

### **Recuento de *Escherichia coli*.**

**Método:** recuento en placa.

**Fundamento:** los recuentos de *Escherichia coli* se basan en el número de colonias que se crecerán en las placas de agar Endo, que previamente fueron inoculadas con porciones o cantidades pre determinadas de alimento (vísceras de pollo), las cuales fueron cultivadas hasta diluciones de  $10^{-5}$  en condiciones ambientales predeterminadas (ICMSF, 2000).

#### **Procedimientos:**

Las muestras de vísceras de pollo previa preparación de diluciones, fueron cultivadas en el medio de cultivo agar Endo, transfiriendo 1 ml de dilución sobre la superficie de agar Endo, y con un asa de Digralsky previamente esterilizada se extendió el inóculo sobre la superficie, se incubó por 48 horas a 37 °C, luego del proceso se contabilizó las colonias de *Escherichia coli*, en el equipo cuenta colonias. Para la identificación definitiva de *Escherichia coli*, se realizaron la tinción Gram y pruebas bioquímicas de TSI, LIA, CS e indol (Mendo, 2003). El recuento de colonias fue similar a las obtenidas para los mesófilas aerobias.

**Presencia de *Salmonella sp.*** Cultivo por extensión en agar.

**Etapas de pre – enriquecimiento.** Según la metodología seguida por Philip *et al.* (2003), se pesaron 25 g de vísceras de pollo y se colocaron en un matraz, luego se agregó de medios de cultivo no selectivos como caldo lactosado, y se incubó a 37 °C durante 24 horas.

**Etapas de enriquecimiento selectivo.** Esta etapa estimuló y favoreció el crecimiento de *Salmonella sp.*, inhibiendo la flora acompañante en caldo tetracionado, donde la selectividad se debe a la presencia de sales biliares y tetracionato inhibe el crecimiento de bacterias Gram positivas y algunas Enterobacterias (FDA, 2007), tal como lo

recomienda la AOAC (Philip *et al.*, 2003).

**Etapa de aislamiento en medios selectivos.** Esta etapa se logró la diferenciación de colonias de *Salmonella* sp, de otras bacterias, en el medio Xilosa, Lisina, Desoxicolato (XLD), donde las colonias fueron rosadas con o sin centro negro (Philip *et al.*, 2003).

**c. Variables que se analizaron**

- **Variable independiente:** Vísceras de pollo contaminadas por bacterias procedentes de tres centros de venta de la ciudad de Puno.
- **Variable dependiente:** Recuento de bacterias mesófilas aerobias, *E. coli* y presencia de *Salmonella* sp (calidad bacteriológica).

**d. Aplicación de pruebas bioestadísticas para contrastar hipótesis**

Los tratamientos estuvieron conformados por los centros de expendio, se realizaron 5 repeticiones por zona. Los recuentos de colonias de las bacterias mesófilas aerobias y *E. coli* fueron evaluados mediante un análisis de varianza y prueba de medias de Tukey ( $P < 0.05$ ), con un nivel de confianza del 95%. Los softwares donde se realizaron los análisis fueron el Infostat versión estudiantil 2018 y el Excel 2016.

**3.4.2 Determinación de la resistencia a los antibióticos en bacterias aisladas e identificadas de las vísceras de pollo.**

**a. Frecuencia y muestreo**

Las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella* sp previamente aisladas en agar nutritivo e identificadas de las vísceras de pollo, se distribuyeron frente a los antibióticos tetraciclinas y beta – lactámicos en tres repeticiones, cada 15 días durante 45 días.

**b. Determinación de la susceptibilidad bacteriana a los antibióticos**

**Método:** Kirby Bauer o difusión en agar con discos de sensibilidad.

**Fundamento:** el antibiograma disco – placa (Kirby Bauer) es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para determinar la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos, en el cual se deposita en la superficie del agar de una placa Petri inoculada con un microorganismo, y sobre ellos se dispone discos de papel secante empapados con antibióticos, es cual será absorbido por el medio y el antibiótico se difunde al agar radialmente a través del espesor del agar



originándose una gradiente de concentración, finalmente luego de 24 horas de incubación se visualizará halos de inhibición microbiana que serán medidos con un vernier (Picazo, 2000).

### **Procedimientos:**

Las bacterias previamente fueron diluidas a concentraciones del estándar 0.5 de McFarland equivalente a una densidad bacteriana de  $1.5 \times 10^8$  células/ml, y con un hisopo embebido en la solución anterior, estriando en tres direcciones sobre el medio de cultivo Müller Hinton por agotamiento. A continuación, se colocaron en forma aséptica los discos de sensibilidad de doxiciclina, oxitetraciclina, tetraciclina (tetraciclinas), ampicilina, amoxicilina – ácido clavulánico y cefalexina (beta – lactámicos). Los cultivos de *Escherichia coli* y *Salmonella* sp se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 37 °C. La actividad antibacteriana fue determinada con la medida del diámetro de inhibición producido alrededor de cada disco de antibióticos, los cuales fueron contrastados con los diámetros estándares para determinar la respuesta antimicrobiana (INS, 2002). Todos los ensayos fueron realizados por triplicado (Ochoa *et al.*, 2012).

### **c. Variables que se analizaron**

- **Variable independiente:** Antibióticos tetraciclinas y beta - lactámicos.
- **Variable dependiente:** Resistencia antibacteriana en *E. coli* y *Salmonella* sp.

### **d. Aplicación de pruebas bioestadísticas para contrastar hipótesis.**

Los tratamientos estuvieron conformados por discos de antibióticos tetraciclinas y beta - lactámicos. Los datos obtenidos de los halos de inhibición bacteriana obtenidos por antibiótico entre los centros de expendio, fueron evaluados mediante un análisis de varianza y prueba de medias de Tukey ( $P < 0.05$ ), para determinar diferencia estadística significativa.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 CARGA BACTERIANA DE MESÓFILAS AEROBIAS, *Escherichia coli* Y PRESENCIA DE *Salmonella* SP EN VÍSCERAS DE POLLO

Los recuentos bacterianos en vísceras de pollo presentaron los siguientes resultados. Los recuentos de bacterias mesófilas aerobias presentaron promedios entre  $6.36 \times 10^6$  y  $8.42 \times 10^6$  UFC/g, en el mercado Unión y Dignidad los recuentos oscilaron entre  $5.1 \times 10^6$  y  $7.5 \times 10^6$  UFC/g, con una dispersión (CV) de datos del 17.28%, en el mercado Laykakota variaron entre  $5.9 \times 10^6$  y  $8.4 \times 10^6$  UFC/g con una dispersión de 12.78%, y en el Minimarket oscilaron entre  $7.7 \times 10^6$  y  $10.1 \times 10^6$  UFC/g, con una dispersión de 11.74% (Tabla 5).

**Tabla 5.** Carga bacteriana de mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y presencia de *Salmonella* sp en vísceras de pollo de tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

Bacterias	Mercados	Repeticiones					Prom	CV (%)
		1	2	3	4	5		
Mesófilas aerobias (x $10^6$ UFC/g) LP: $10^5 - 10^7$	Unión Dignidad	5.6	7.5	5.1	6.1	7.5	6.36	17.28
	Laykakota	7.8	7.7	8.0	8.4	5.9	7.56	12.78
	Minimarket	7.7	10.1	8.0	8.5	7.8	8.42	11.74
<i>Escherichia coli</i> (x $10^6$ UFC/g) LP: $50 - 5 \times 10^2$	Unión Dignidad	3.4	3.5	5.1	3.1	3.2	3.66	22.41
	Laykakota	5.1	5.0	6.8	4.8	5.2	5.38	15.01
	Minimarket	5.0	3.5	4.5	3.2	3.6	3.96	19.12
<i>Salmonella</i> sp LP: Ausencia / 25g	Unión Dignidad	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Neg : 3; Pos : 2	
	Laykakota	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg : 2; Pos : 3	
	Minimarket	Pos	Neg	Pos	Neg	Neg	Neg : 3; Pos : 2	

**Donde:** CV: coeficiente de variación; Prom: promedio; Pos: Positivo; Neg: Negativo; LP: límite permisible.



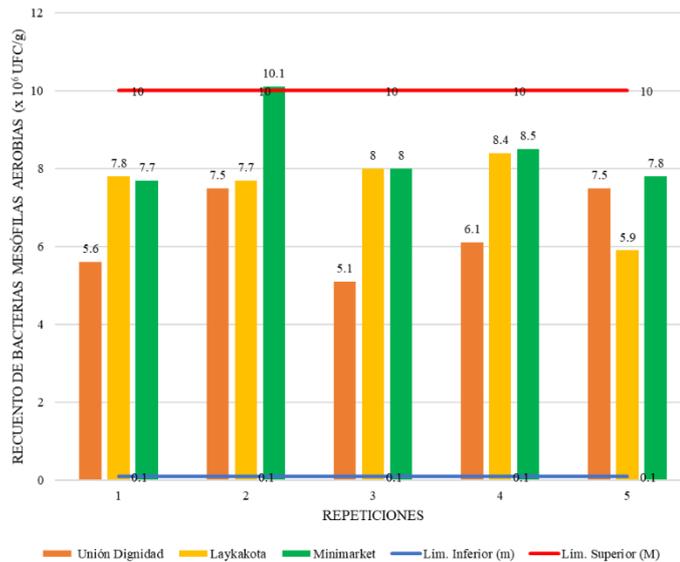
Por otro lado, los recuentos de *Escherichia coli* presentaron promedios entre  $3.66 \times 10^6$  y  $5.38 \times 10^6$  UFC/g, en el mercado Unión y Dignidad los recuentos oscilaron entre  $3.1 \times 10^6$  y  $5.1 \times 10^6$  UFC/g, con una dispersión de datos del 22.41%, en el mercado Laykakota variaron entre  $4.8 \times 10^6$  y  $6.8 \times 10^6$  UFC/g con una dispersión de 15.01%, y en el Minimarket oscilaron entre  $3.2 \times 10^6$  y  $5.0 \times 10^6$  UFC/g, con una dispersión de 19.12%.

Mientras tanto, con respecto a la presencia de *Salmonella* sp, de 5 muestras evaluadas, el mercado que presentó el mayor número de muestras positivas fue Laykakota con 3 positivos, mientras tanto que el mercado Unión y Dignidad y el Minimarket, dieron positivos 2 muestras.

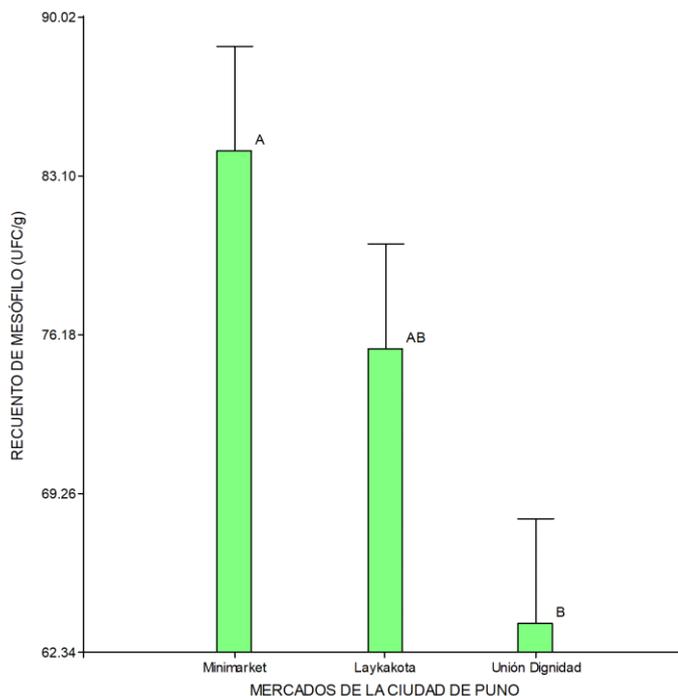
#### 4.1.1 Carga bacteriana de mesófilas aerobias

La Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, recomienda para vísceras de aves, bovinos, ovinos, caprinos, entre refrigeradas y congeladas, recuentos de mesófilas que oscilen entre  $10^5$  (m) y  $10^7$  (M) UFC/g, en un máximo de dos muestras de un total de 5 muestras colectadas de vísceras de pollo, para un muestreo de tres clases. En razón de que las cinco muestras colectadas se encuentran entre los valores m y M, las vísceras de pollo se constituyen en un riesgo para la salud, tal como lo manifiesta la NTS N° 071. Asimismo, se observa que el recuento de mesófilas aerobias de la muestra del Minimarket en la segunda repetición supera el límite superior de la citada norma de calidad de alimentos (Figura 4).

El análisis de varianza realizado a los recuentos de bacterias mesófilas aerobias en muestras procedentes de tres mercados de la ciudad de Puno, resultaron que sí presentaron diferencia estadística significativa ( $F=5.15$ ;  $gl=2$ ;  $P=0.0243$ ) (Tabla 10 – Anexos), y según la prueba de Tukey, los recuentos de bacterias mesófilas aerobias fueron mayores en muestras de vísceras del Minimarket (a), seguidos de Laykakota (ab) y finalmente de Unión y Dignidad (b), en razón de que según las indicaciones de interpretación del software las letras diferentes indican diferencia estadística significativa (Figura 5).



**Figura 4.** Comparación del recuento de bacterias mesófilas aerobias en vísceras de pollo y los límites permisibles según normatividad vigente, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



**Figura 5.** Prueba de Tukey del recuento de bacterias mesófilas aerobias en vísceras de pollo en tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

En la investigación se determinó valores de bacterias mesófilas aerobias en vísceras de pollo entre  $6.36 \times 10^6$  y  $8.42 \times 10^6$  UFC/g, estos resultados están dentro de los valores



encontrados por Molero (2012), quien, al realizar el análisis microbiológico de carne de pollo en mataderos, encontraron en el contenido intestinal, recuentos de bacterias mesófilas aerobias que oscilaron entre  $3.98 \times 10^4$  a  $4.80 \times 10^8$  UFC/g. Los resultados obtenidos en la investigación no fueron aceptables según la normatividad vigente (NTS N° 071), estos fueron diferentes a los citados por Da Silva *et al.* (2017), quienes, en carne de pollo de engorde en Brasil, reportaron recuentos de bacterias aerobias mesófilas que estuvieron dentro de los límites permitidos por la norma brasileña. Por otro lado, fueron similares a los obtenidos por Nina (2019), quien, en carne de pollo expendida en mercados, de un total de 75 muestras, en el 17.33% excedieron los límites permisibles de bacterias aerobias mesófilas, lo mismo encontró Lavado (2017), quien al estudiar la carga bacteriana en carcasas de pollo de centros de beneficio y comercialización (Trujillo), obtuvo elevados recuentos de aerobias mesófilas, de similar forma, Molina *et al.* (2010), manifestó que las bacterias aerobias mesófilas, en pollo del área urbana de Mérida (Venezuela), superaron significativamente los recuentos límites de aceptabilidad. En tal sentido, con respecto a lo mencionado anteriormente, se puede aseverar que los recuentos de bacterias mesófilas aerobias poseen un incremento en las muestras de productos avícolas, superando en la mayoría de estudios los valores permitidos emanados en las normas sanitarias vigentes, la razón de que se presente un recuento alto de bacterias mesófilas aerobias, es que incluyen a toda la carga bacteriana presente en las vísceras al momento del muestreo e indicará la falta de calidad higiénica de éstos productos.

En el estudio, la presencia de bacterias mesófilas aerobias se dio en la mayoría de las muestras, por tanto, concuerda con Palma (2013), quien al realizar la evaluación microbiológica de la carne de pollo en mercados de Loja (Ecuador), obtuvo que las bacterias aerobias mesófilas se determinaron en el 49.4% de las muestras. La presencia de los altos recuentos de mesófilas aerobias se debería a la carencia de sistemas de beneficio tecnificado y de cadena de frío y malas prácticas sanitarias, tal como se observa en los centros de beneficios y comercialización (Lavado, 2017). Por lo tanto, con respecto a lo considerado anteriormente, se puede ver que no solo hay problemas en el Perú con el problema de la producción industrial o la calidad en la obtención de los productos avícolas, según autores también se presenta en otros países, donde el problema de la calidad y el procesamiento de carnes de aves posee recuentos altos de bacterias mesófilas aerobias, el cual muchas veces supera las normas sanitarias vigentes.



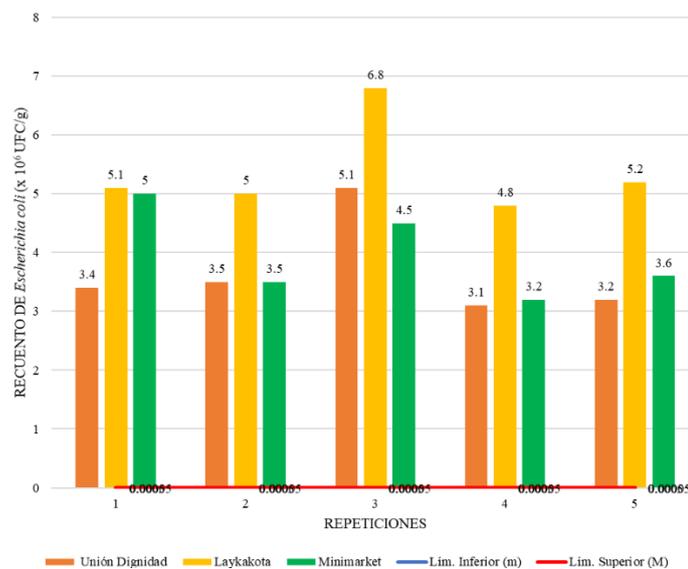
La carga microbiana de mesófilas aerobias en vísceras de pollo, superaron las cifras recomendadas por la norma vigente, sus altos valores se deberían a que incluyen a todas las bacterias, mohos y levaduras, con capacidad de crecer a 30 °C y 35 °C, inclusive en rangos de temperaturas inferiores y mayores a los 30 °C (ICMSF, 2000), entre las bacterias, también agrupan a dos géneros como *Bacillus* y *Sporolactobacillus*, quienes forman endosporas, se encuentran en muchos alimentos ya que no poseen un hábitat definido, así como también no provocan enfermedades en el ser humano (Vanderzant & Splittstoesser, 1992), y como se encuentra por encima del límite inferior, indica que posee un grado de contaminación en las muestras (Moreno *et al.*, 2000), asimismo refleja que las condiciones en las que estuvo expuesta no fueron las ideales, la calidad sanitaria del alimento y las condiciones higiénicas no fueron adecuadas (Fonseca & Avina, 2008). Por lo visto, con respecto a lo analizado, la carga excesiva de las bacterias mesófilas aerobias es muy importante para el control y calidad del producto, ya que no son considerados como patógenos, pero posee una gran variedad de diferentes tipos de microorganismos, los productos avícolas deben tener la aceptabilidad del público a nivel de análisis microbiológico mediante la evaluación que son los parámetros de calidad.

A nivel industrial, el recuento de bacterias mesófilas aerobias, es utilizado para monitorear la implementación de las buenas prácticas de manufactura, y es un indicador de la carga microbiana de los insumos crudos e ingredientes, la eficiencia del procedimiento de elaboración o proceso, la condición de higiene de los materiales, los equipos y utensilios y la relación tiempo – temperatura del almacenamiento y la distribución; pero a veces por más que se manipule correctamente, los recuentos de bacterias mesófilas aerobias se incrementan y hacen que disminuya su calidad si son almacenados por tiempo prolongado (ANMAT, 2020). Al igual que en la investigación, en alimentos de venta callejera es posible encontrar un elevado recuento de bacterias mesófilas, lo que indicaría una mala manipulación de los alimentos durante su preparación, malas prácticas higiénicas en los lugares de venta ambulantes, haciendo que el 100% de los alimentos fueron inaceptables según el recuento de bacterias mesófilas (Campuzano *et al.*, 2015). Según lo observado en la investigación, se muestra que en nuestra región de Puno la venta de carne de pollo o vísceras no son tecnificadas es decir no cumplen con las buenas prácticas de manufactura y poseen accesos limitado a los servicios sanitarios, presentando un riesgo de intoxicación alimentaria, por lo tanto, hace falta realizar la vigilancia o hacer controles esporádicos e inopinados por parte del

municipio, para velar la calidad higiénica y sanitaria del producto a expendirse al público.

#### 4.1.2 Carga bacteriana de *Escherichia coli*

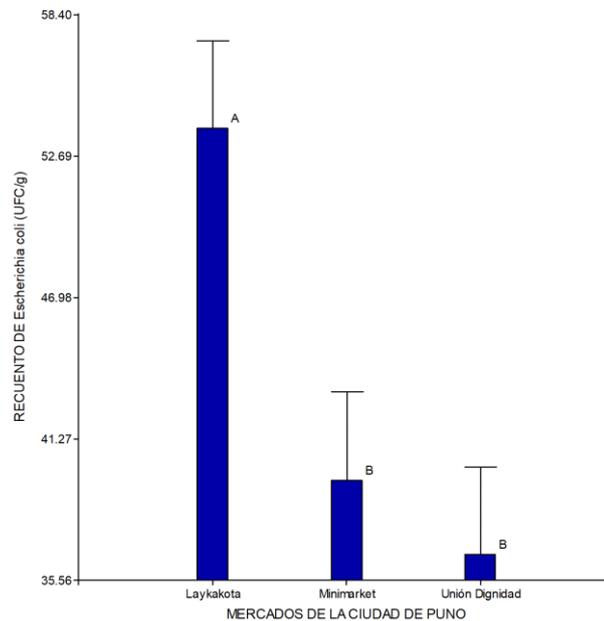
La Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071, recomienda para vísceras de aves, recuentos de *Escherichia coli* entre 50 (m) y  $5 \times 10^2$  (M) UFC/g, en un máximo de dos muestras positivas entre dichos límites (m y M) de un total de 5 muestras colectadas, para un muestreo de tres clases, las cinco muestras colectadas superan los valores de M, por tanto, para este parámetro microbiológico, las vísceras de pollo se constituyen en un riesgo para la salud, así lo manifiesta la NTS N° 071. Asimismo, se observa que el recuento de *E. coli* sobrepasa el límite inferior (50 UFC/g) y el superior (500 UFC/g), en las repeticiones 1, 2, 3, 4 y 5 respectivamente y los resultados estuvieron por encima de los límites superiores (Figura 6).



**Figura 6.** Comparación del recuento de *E. coli* en vísceras de pollo y los límites permisibles según normatividad vigente, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

El análisis de varianza realizado a los recuentos de *E. coli* en muestras procedentes de tres mercados de la ciudad de Puno, resultaron que sí presentaron diferencia estadística significativa ( $F=6.67$ ;  $gl=2$ ;  $P=0.0113$ ) (Tabla 11 – Anexos), y según la prueba de Tukey, los recuentos de *E. coli* fueron mayores en muestras de vísceras del mercado Laykakota (a), seguidas del Minimarket (b) y el mercado Unión y Dignidad (b), entre estos dos últimos no existió diferencia estadística significativa, en razón de que según las

indicaciones de interpretación del software las letras diferentes indican diferencia estadística significativa, mientras que letras iguales no presentan diferencia estadística (Figura 7).



**Figura 7.** Prueba de Tukey del recuento de *E. coli* en vísceras de pollo en tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

En la investigación las muestras de vísceras de pollo, presentaron recuentos de *Escherichia coli* entre  $3.66 \times 10^6$  y  $5.38 \times 10^6$  UFC/g, estos fueron superiores a los reportados por Arenaz *et al.* (2015), quienes, en vísceras de pollos parrilleros, sus intestinos presentaron recuentos de  $40 \times 10^4$  UFC/g de *Escherichia coli* en el 75 (100%) de las muestras analizadas, su presencia también coincide con Palma (2013), quien al realizar la evaluación microbiológica de la carne de pollo en mercados de Loja (Ecuador) obtuvo que el 40.53% de las muestras presentaron *E. coli*. Los recuentos bacterianos, superaron en todas las muestras el límite superior recomendado en la norma vigente, lo cual no concuerda con lo determinado por Da Silva *et al.* (2017), quienes al evaluar la calidad de la carne de pollo de engorde en Brasil reportaron que el recuento de coliformes se encontró dentro de los límites permitidos por la norma de ese país. En contraste, coinciden con Molina *et al.* (2010), quienes, encontraron que los recuentos de bacterias coliformes totales y *E. coli*, superaron ampliamente los recuentos de aceptabilidad y Zotta *et al.* (2016), mencionan que las menudencias de pollos en un 95.5% presentaron bacterias coliformes, lo cual también coincide con los resultados obtenidos en la investigación. En



tal sentido, con respecto a lo mencionado anteriormente, se observa que los recuentos de *Escherichia coli* poseen un incremento en las muestras de productos avícolas, que sobrepasan las normas sanitarias vigentes, superando en la mayoría de estudios citados por los autores, donde los altos recuentos bacterianos son a causa de la contaminación fecal, contaminación cruzada, excesivas manipulaciones ya que *E. coli* presenta como su hábitat propio en el tracto intestinal y lo correcto es que no habite en otras zonas del cuerpo en este caso del pollo.

La presencia de *Escherichia coli* en las muestras de vísceras de pollo, manifiesta contaminación fecal, en razón de que habita el tracto intestinal de los animales de sangre caliente y del hombre (Coguila & Concha, 2015), también se encuentran en el tracto gastrointestinal de las aves llegando a las heces, muchas veces es un patógeno oportunista ya que pueden poseer diferentes factores de virulencia (Perello, 2009), el cual traería consigo la disminución de la producción de derivados en la industria avícola (Mantilla & Portacio, 2012), por tanto existen *Escherichia coli*, tanto inofensivos y patógenos (Marshall *et. al.*, 2005). Como es habitante regular y normal del intestino, es el mejor indicador de contaminación de alimentos con material fecal, con su presencia también se sospecha la presencia de otras bacterias potencialmente perjudiciales o patógenas para el hombre en razón de que poseen un hábitat en común como la *Salmonella sp* (Michanie, 2003). Por lo tanto, de acuerdo a lo mencionado anteriormente, se puede apreciar que *Escherichia coli*, posee la capacidad de ser perjudicial al hombre, logrando ser dañino para las aves en forma infecciosa originando muchas veces colibacilosis, de igual forma actúa como oportunista cuando las condiciones se dan como en aves enfermas, originando pérdidas económicas y baja producción, generando intoxicaciones alimentarias en sus consumidores.

Con la presencia de *E. coli*, se afirma también que la calidad sanitaria de las vísceras de pollo está comprometida a que se constituyan vehículos de las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) (Hernández *et al.*, 2008), además es preocupante debido a su comportamiento y su difusión, ya que se asocia a *Salmonella sp*, por lo que se sugiere medidas preventivas básicas para evitarlas (Ortega *et al.*, 2009), por tanto debe de extremarse la higiene del personal, sobre todo en portadores del microorganismo, se debe evitar el consumo de éstos alimentos crudos o poco cocinados, ya que como las aves defecan en el mismo lugar en donde consume sus alimentos y existe una alta probabilidad

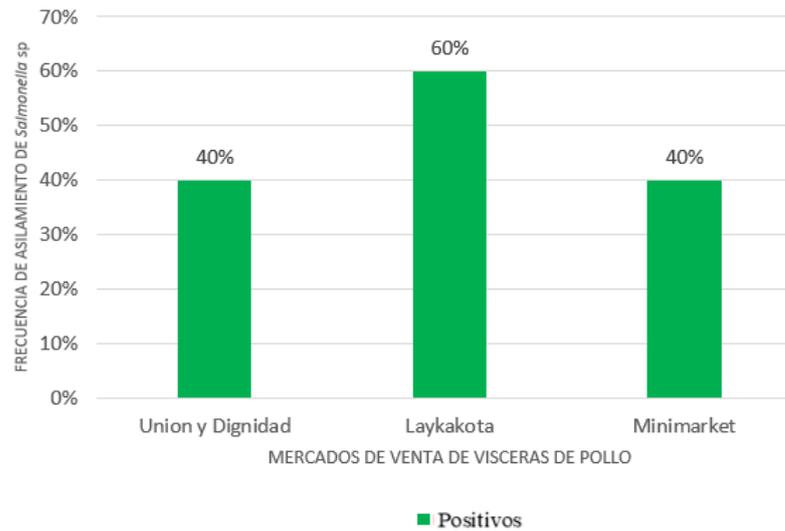


de contaminación, ante una deficiente higiene de los mataderos en la etapa de evisceración primordialmente, el mantenimiento inadecuado de la cadena de frío en su distribución, en la manipulación por los operarios, bajas condiciones higiénicas en el punto de venta ya que podría existir contaminación cruzada, por lo que se plantea la necesidad de realizar inspecciones inopinadas en la cadena de producción que contribuyan al mejoramiento los aspectos sanitarios en la industria alimentaria (Hernández *et al.*, 2008). Por lo analizado, comprender que la ETA generada por el consumo de carnes o alimentos contaminados, para ello las instituciones sanitarias (municipio, el MINSA y el SENASA) deben de realizar controles sorpresivos para la prevención de ETAs, ya que, por revisión bibliográfica, se reportó la presencia de *Escherichia coli* productoras de toxina Shiga en carnes de pollo, para evitar ello se deben cumplir con los protocolos y vigilancias en la inocuidad de estos alimentos.

Otro factor que influye la presencia de *E. coli*, vendría ser la venta de carne al menudeo y la temperatura ambiental, ya que, durante la primavera y el verano, favorecen el desarrollo microbiano y también a que las vísceras constituyen una excelente fuente de nutrientes y humedad otorgándoles una satisfactoria permanencia y multiplicación de muchos microorganismos patógenos (Gill & Lander, 2003). Con respecto a lo mencionado anteriormente, en la región de Puno por ser de clima frígido, los productos avícolas pueden durar más en tiempo de almacenamiento y la reproducción de microorganismos se vuelve lenta, a comparación en climas como la costa y selva, el desarrollo de microorganismos es acelerado, por lo tanto, los productos avícolas deben conservar los recuentos de *E. coli* que esté dentro de los parámetros permitidos.

#### **4.1.3 Presencia de *Salmonella* sp**

La Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071, recomienda para vísceras de aves, la ausencia de *Salmonella* sp en 25 g de muestra, por tanto, si en caso se confirmara la presencia de la bacteria, las muestras evaluadas serán catalogadas como inaceptables, para un muestreo de dos clases. Al encontrar una muestra positiva de presencia de *Salmonella* sp, se afirma que las vísceras de pollo son de riesgo para la salud (Figura 8).



**Figura 8.** Porcentaje de casos positivos de *Salmonella sp* en vísceras de pollo en tres mercados de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

*Salmonella sp*, estuvo presente en las vísceras de pollo, de 5 muestras evaluadas, tres fueron positivas a dicha bacteria en el mercado Laykakota, siendo equivalente al 60%, estos resultados fueron superiores a los reportados por Nina (2019), quien en carne de pollo expendida en mercados de Tacna, el 14.67 % fue positivo a *Salmonella spp*, analizadas, asimismo a los citados por Da Silva *et al.* (2017), quienes evaluaron la calidad de la carne de pollo de engorde en Brasil y el 25% presentaron *Salmonella spp*; también fue superior a los registrados por Zambrano *et al.* (2013), quienes determinaron que *Salmonella spp* se encontró en 32.4 % de hisopados cloacales en el centro de beneficio clandestino de pollos de engorde en Lima; y a los citados por Velásquez (2006), quien en los mercados de la ciudad de Guatemala, el 57.58% fueron positivos a *Salmonella spp* en muestras de carne de pollo. Por lo tanto, se puede comprender que *Salmonella sp* es un problema a nivel mundial y generar muertes por ser patógeno de transmisión alimentaria, el cual muchos autores reportaron de todos los países el problema que ocurre al hallar la presencia de esta bacteria *Salmonella sp* y de no tener un buen sistema de sanidad o también deficiencias en los criaderos de aves, se debería de realizar una vigilancia y controles epidemiológicos.

Por otro lado, fueron inferiores a los reportados por Rodríguez *et al.* (2016), quienes determinaron que el 63 % de pollo a la venta en mercados de abasto, presentaron



*Salmonella*; inclusive, Molero (2012), en carne de pollo en mataderos de Zulia (Venezuela), encontró en muestras de contenido intestinal, el 100 % positivo a *Salmonella* sp; en contraste Palma (2013), al realizar la evaluación microbiológica de la carne de pollo en mercados de Loja (Ecuador), obtuvo que ninguna muestra tuvo presencia de *Salmonella* spp; de igual modo Pérez & Serrano (2013), al evaluar la calidad microbiológica de la carne de pollo expendida en Huancavelica, dos avícolas resultaron positivas a *Salmonella* spp, con ello se afirma de que existió un deficiente grado de higiene, por lo que indica contaminación poniendo en peligro la salud pública (Velásquez, 2006), en tal sentido, se debe realizar estudios epidemiológicos en las granjas productoras, asimismo aplicar medidas de vigilancia, control y erradicación en la producción de aves (Molero, 2012). Ante estas aseveraciones, se puede observar que los resultados reportados por otros investigadores, manifiestan que las infecciones por *Salmonella* sp es un problema sanitario, no solo a nivel local si también a nivel internacional, por malos procesos de tecnificado de manufactura y contaminación cruzada, los productos avícolas que posean *Salmonella* sp son peligrosos debido a que las bacterias son muy invasivas y patógenas, es por ello que las municipalidades deben de realizar inspecciones higiénicas en mercados, y lograr en la población las actitudes de higiene de los alimentos y su conservación, mediante charlas, el lavado de manos y en cumplimiento de las normas y leyes sanitarias.

La salmonelosis que posee como etiología a una especie de *Salmonella*, se constituye en la zoonosis con mayor frecuencia en brotes de transmisión alimentaria a nivel internacional, incluyendo a los países desarrollados (Gutiérrez *et al.*, 2008), donde la carne de aves o de pollo y sus derivados como las vísceras son las fuentes principales (FAO/ OMS, 2003). En el Perú, tan solo el 25% de la producción avícola se realiza en lugares acreditados (Málaga, 2011), el resto se realiza en establecimientos clandestinos con condiciones sanitarias e higiénicas deficientes, como falta de agua o usan agua contaminada, carecen de sistemas de refrigeración, deficiente proceso de eviscerado, entre otros, los cuales coadyuvarían con la contaminación de los productos cárnicos con *Salmonella* spp (Heyndrickx *et al.*, 2002). En tal sentido, con respecto a lo mencionado anteriormente, se ve un punto muy delicado en el Perú, ya que no se ha logrado una tecnificación en la producción avícola, y de no acatar las leyes o normas sanitarias en los mercados, otra alternativa sería realizar vigilancias en los criaderos y mataderos de las aves, los cuales deben de cumplir con las buenas prácticas de manufactura por parte de



profesionales calificados en las empresas dedicadas a ello, en nuestro país la gran mayoría de personas realizan un comercio informal ambulatorio y carece de sistemas sanitarios y falta de cultura.

Los puntos críticos de la contaminación de las vísceras de pollo y la carne de pollo son en los procesos del eviscerado y el desplumado (FAO & OMS, 2003), en razón de que se ponen contacto con las heces que proceden de los intestinos o de las plumas contaminadas (Ponsa, 2005), utilizan agua contaminada o no analizada para el lavado de los canales, (CCFH, 2007), aplican una inadecuada temperatura del agua de escaldado (Mosquera *et al.*, 2007) y realizan la acumulación de pollos enteros sin eviscerar en los recipientes de lavado sin agua potable, por todas estas ocurrencias, es que *Salmonella* sp se hace presente en las carne de pollo, inclusive la falta de higiene en los trabajadores de los centros de beneficio incrementan los riesgos de contaminación (SENASA, 2007). En tal sentido, con respecto a lo mencionado anteriormente, todo ello apunta a los inadecuados procesos de producción y el no cumplimiento de los protocolos sanitarios, con el objetivo obtener productos avícolas en poco tiempo y generar más ingresos, con una mentalidad de lucro, pero no elaborar productos de calidad, el cual todo ello generaría la reproducción y propagación de *Salmonella* sp y los perjudicados serían los consumidores.

La presencia de *Salmonella* sp es muy frecuente lo cual concuerda con los resultados obtenidos por Dione *et al.* (2009), quienes al realizar el hisopado cloacal dieron positivo a la bacteria, y también en pollos al final de la etapa de crecimiento, aislándose inclusive en las heces de pollos broilers durante el transporte hacia el matadero. *Salmonella* sería aislada debido a la contaminación ambiental en los galpones de crianza y al estrés e inmunosupresión que las aves sufren en su transporte alterando así la población microbiana del intestino (OMS, 1988), pero las aves adquieren la bacteria a partir de los insectos, los roedores, las aves silvestres, el ser humano y por la ingestión con alimento contaminado (Pérez *et al.*, 2008), el estrés del transporte, origina la multiplicación de bacterias intestinales, entre ellas *Salmonella*, de tal manera que se considera en un factor importante para la contaminación de la canal durante el beneficio de las aves (Adelantado *et al.*, 2008). Por lo analizado, se debe velar las condiciones de faenamiento sin provocar sufrimientos en los pollos y se debe realizar en aves con bajo estrés, ya que se podría presentar el establecimiento de *Salmonella* sp al incrementar el pH hacia la neutralidad, en tal sentido sería bueno reforzar las capacidades de análisis de laboratorio para una



vigilancia de este patógeno, capacitaciones a los veterinarios para evitar la contaminación a los productos cárnicos, una razón más porque hacer estudios en los pollos, es que el Perú se volvió el primer país consumidor y productor de pollos seguido de Brasil y Argentina.

Por lo interpretado anteriormente y en razón de que los recuentos bacterianos determinados en las vísceras de pollo de tres centros de expendio de la ciudad de Puno, superan lo estipulado en la NTS N° 071 enmarcado en la Resolución Ministerial N° 591-2008/MINSA, se acepta la hipótesis alterna, el cual afirma que “La carga bacteriana de mesófilas aerobias, *Escherichia coli* y *Salmonella* sp en vísceras de pollo expandidas en tres centros de venta mercados Unión y Dignidad, Laykakota y un Minimarket de la ciudad de Puno”.

## 4.2 RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN BACTERIAS AISLADAS E IDENTIFICADAS DE LAS VÍSCERAS DE POLLO

### 4.2.1 Resistencia a antibióticos en *Escherichia coli*

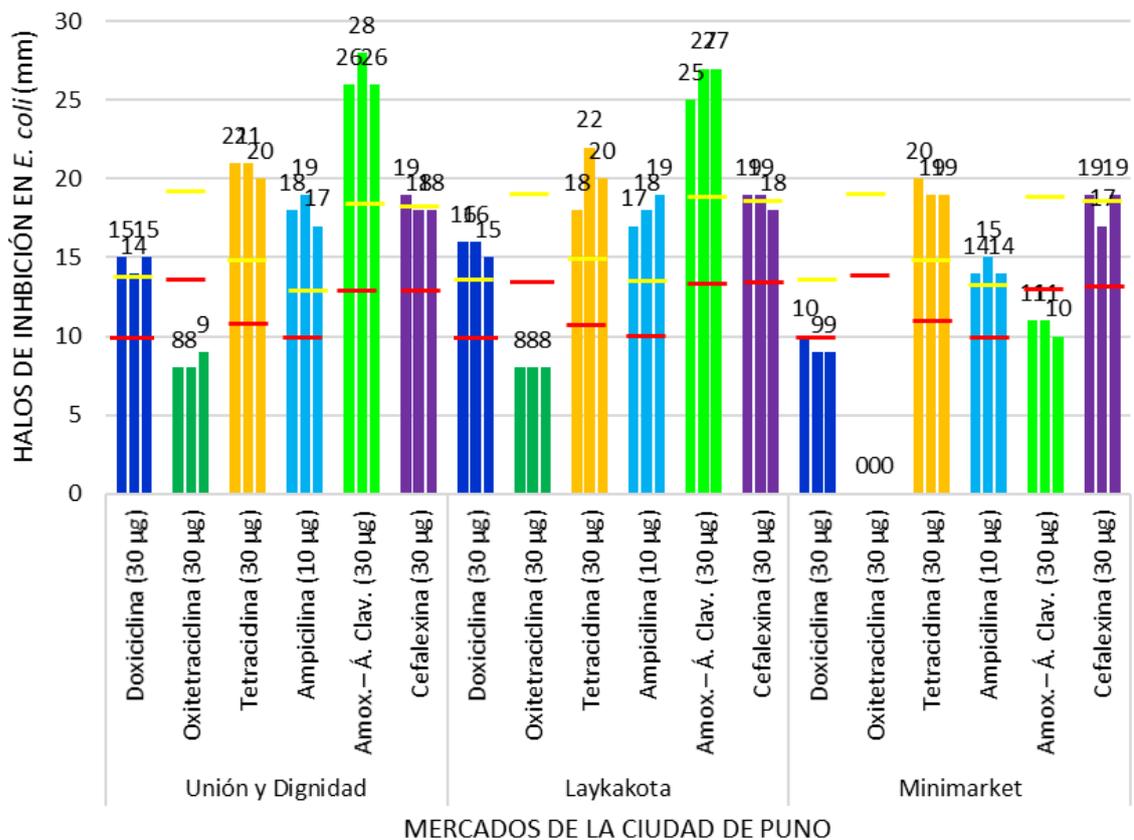
*Escherichia coli*, resultó presentar resistencia antibiótica a la oxitetraciclina, en bacterias aisladas de los mercados Unión y Dignidad y de Laykakota, donde los halos de inhibición variaron entre 8 y 9 mm y los resultados de resistencia al antibiótico se catalogan al obtenerse un diámetro  $\leq 14$  mm; mientras que fueron sensibles a doxiciclina, tetraciclina, ampicilina, amoxicilina – ácido clavulánico y cefalexina. Sin embargo, en bacterias *E. coli* aisladas del Minimarket, aparte de ser resistente a la oxitetraciclina como en los anteriores aislamientos, adicionalmente fue resistente a doxiciclina en el que se obtuvo 9.33 mm y se considera resistente a  $\leq 10$  mm y a amoxicilina – ácido clavulánico con un promedio de 10.67 mm y se considera resistente  $\leq 13$  mm (Tabla 6). Al evaluar la dispersión de datos mediante el cálculo del coeficiente de variabilidad, estos oscilaron entre 0.00% y 10%, lo cual indica que presentaron una baja dispersión de sus valores obtenidos en las repeticiones con respecto a su promedio.

**Tabla 6.** Antibiograma en *Escherichia coli* frente a antibióticos, aislados en tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019.

Mercados	Antibióticos	Halo (mm)			Prom	CV	Respuesta
		R1	R2	R3			
Unión y Dignidad	Doxiciclina (30 $\mu$ g)	15	14	15	14.67	3.94	Sensible
	Oxitetraciclina (30 $\mu$ g)	8	8	9	8.33	6.93	Resistente
	Tetraciclina (30 $\mu$ g)	21	21	20	20.67	2.79	Sensible
	Ampicilina (10 $\mu$ g)	18	19	17	18.00	5.56	Sensible
	Amox.– Á. Clav. (20 $\mu$ g)	26	28	26	26.67	4.33	Sensible
	Cefalexina (30 $\mu$ g)	19	18	18	18.33	3.15	Sensible
Laykakota	Doxiciclina (30 $\mu$ g)	16	16	15	15.67	3.69	Sensible
	Oxitetraciclina (30 $\mu$ g)	8	8	8	8.00	0.00	Resistente
	Tetraciclina (30 $\mu$ g)	18	22	20	20.00	10.00	Sensible
	Ampicilina (10 $\mu$ g)	17	18	19	18.00	5.56	Sensible
	Amox.– Á. Clav. (20 $\mu$ g)	25	27	27	26.33	4.38	Sensible

Minimarket	Cefalexina (30 µg)	19	19	18	18.67	3.09	Sensible
	Doxiciclina (30 µg)	10	9	9	9.33	6.19	Resistente
	Oxitetraciclina (30 µg)	0	0	0	0.00	0.00	Resistente
	Tetraciclina (30 µg)	20	19	19	19.33	2.99	Sensible
	Ampicilina (10 µg)	14	15	14	14.33	4.03	Sensible
	Amox.- Á. Clav. (20 µg)	11	11	10	10.67	5.41	Resistente
	Cefalexina (30 µg)	19	17	19	18.33	6.30	Sensible

**Donde:** CV = coeficiente de variación; Prom = promedio



**Figura 9.** Comparación de halos de inhibición por antibióticos en *E. coli* según valores referenciales del INS (2002), Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. Línea roja es el límite de resistencia y la línea amarilla el límite de sensible.

En la representación gráfica, se observa los límites de los valores de resistencia (línea roja) y la línea amarilla que indica el valor límite de la sensibilidad, dichos valores límites fueron recomendados por el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión del INS (2002), y que *E. coli* fue



resistente a oxitetraciclina (barras verdes oscuras) en bacterias aisladas de los tres mercados, así como a doxiciclina y amoxicilina – ácido clavulánico en bacterias aisladas del Minimarket (Figura 9).

Las pruebas estadísticas de análisis de varianza realizadas a los valores de los diámetros de halos de inhibición en *E. coli* según la procedencia del mercado, arrojaron de que existió diferencia estadística significativa en los halos originados por los antibióticos doxiciclina, oxitetraciclina, ampicilina y amoxicilina – ácido clavulánico ( $P < 0.05$ ), y luego de realizar la prueba de Tukey, los mayores diámetros de halos se determinaron en bacterias aisladas de los mercados Laykakota (Layk) y Unión y Dignidad (UyD) y los menores en aquellas aisladas del Minimarket. Por otro lado, los halos obtenidos por los antibióticos tetraciclina y cefalexina no presentaron diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ) (Tabla 7).

En la investigación se encontró que *E. coli* fue resistente a varios antibióticos, los cuales concuerdan con los hallazgos de Álvarez (2013), quien indica que de 23 cepas de *E. coli* aisladas de productos avícolas, el 78.33% mostraron resistencia a uno o más antimicrobianos, en especial a los antimicrobianos usados en la crianza avícola; asimismo, a los obtenidos por Yang *et al.* (2004a), quienes caracterizaron cepas de *E. coli* aisladas de carne de cerdos y pollos, y presentaron 100% de resistencia al ácido nalidíxico, 98% a tetraciclina, 84% a sulfametoxazol, 79% a ampicilina, 77% a estreptomina y el 76% a trimetropin – sulfametoxazol. En otras Enterobacterias, Sánchez *et al.* (2015), determinó que *Klebsiella pneumoniae* presentó multiresistencia a amoxicilina y cloranfenicol. De tal modo, se puede apreciar que los antibióticos administrados a las aves, son con fines de lograr un mejor crecimiento así como también impedir las enfermedades; pero éstos antibióticos son usados también por los humanos en infecciones por *Escherichia coli*, el cual en la investigación logró ser resistente a los antibióticos a nivel fenotípico, esta bacteria tiene la capacidad de actuar como reservorio de genes, pudiendo mutar y generar sus propios genes de resistencia y sería un problema grande para la salud pública a un futuro.

**Tabla 7.** Análisis de varianza y prueba de Tukey de los halos de inhibición (mm) de los antibióticos sobre *E. coli* según procedencia de mercado, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019.

N/O	Antibióticos	P-valor	Prueba de Tukey	
			Mayor $\Phi$	Menor $\Phi$
1	Doxiciclina (30 $\mu$ g)	<0.0001	Layk - UyD	Minimarket
2	Oxitetraciclina (30 $\mu$ g)	<0.0001	UyD – Layk	Minimarket
3	Tetraciclina (30 $\mu$ g)	0.4705	--	--
4	Ampicilina (10 $\mu$ g)	0.0032	Layk - UyD	Minimarket
5	Amox.– Á. Clav. (20 $\mu$ g)	<0.0001	UyD – Layk	Minimarket
6	Cefalexina (30 $\mu$ g)	0.8503	--	--

Una de las causas de resistencia a los antibióticos es la mala dosificación y el tiempo de administración por el profesional pertinente, es así que Medina (2011), al administrar en conejos el antibiótico doxiciclina terminó alterando las poblaciones de *E. coli* intestinal, favoreciendo el origen de un fenotipo de resistencia que predominó a doxiciclina y eritromicina, ello gracias a la mutación de los genes *gyrA* y *parC* que favorecieron la resistencia a fluoroquinolonas. Por otro lado, Moreno *et al.* (2018), indican que la resistencia antibiótica se origina entre el ser humano y el animal, demostrándose de que *E. coli* es común en infecciones resistentes a antibióticos en animales menores y en ellos se manifiesta la resistencia gracias a la prevalencia de los genes *blaTEM*, *CTX-M-1*, *mecA* y *Tn5405*. La resistencia antibiótica encontrada en *E. coli* aisladas de vísceras de pollo, entonces indicaría que dichos antibióticos fueron aplicados durante su crianza, tal como lo menciona Carloni *et al.* (2011), quienes aislaron bacterias resistentes a tetraciclinas en el 34% de las muestras de origen felino y 75% de origen equino, 27% de caninos y 53% de felinos frente ampicilina/sulbactama y multirresistencia en 29% en caninos y 67% en felinos. En tal sentido, con respecto a lo mencionado anteriormente, se sabe que mediante la zoonosis, es posible transmitir la resistencia de antibióticos de los animales al ser humano y viceversa, tal como lo indica la One Health, el cual se logra a causa de la conjugación e intercambio de genes de resistencia.

La resistencia bacteriana a los antibióticos se origina por las mutaciones y la habilidad de transferir horizontalmente su carga genética, en ellas los caracteres genéticos con la



resistencia bacteriana (OMS, 2001). El antibiótico tetraciclina poseen su mecanismo de acción al unirse a la parte 16 S de la subunidad 30 S del ribosoma bacteriano, por tanto, inhibe la síntesis proteica al impedir la unión del aminoacil – tRNA en la posición A del ribosoma (Chopra & Roberts, 2001). Éste antibiótico es utilizado en los tratamientos en humanos y veterinario, en este último es utilizado como un factor de crecimiento en aves (Karami *et al.*, 2006), razón por la cual probablemente resultó con resistencia a oxitetraciclina y doxiciclina, ambas tetraciclinas. El mecanismo bacteriano de resistencia a las tetraciclinas sería mediante sistemas de eflujo, y en *E. coli* y otros Gram negativos serían codificados por los genes *tetA*, *tetB*, *tetC*, *tetD*, *tetE*, *tetI* y *tetY*; asimismo, a la resistencia como la protección ribosomal y la acción enzimática sobre las tetraciclinas las cuales son codificados por diversos genes (Levy *et al.*, 1999). Comprender que el uso recurrente del antibiótico tetraciclina, a mucha dosis logró la capacidad de generar a *E. coli* resistente, sus mecanismos de defensa de generar enzimas en base a sus genes contra los antibióticos, se constituyen en un problema futuro, en razón de que los antibióticos convencionales ya no serían efectivos en los tratamientos clínicos, por lo tanto, debe regularizarse la administración de los antibióticos especialmente para animales y no juntarlos con los de uso humano.

Por otro lado, *E. coli* fue resistente al antibiótico amoxicilina – ácido clavulánico, éste es un betalactámico semisintético, con actividad efectiva en Gram positivos y Gram negativos, interfiriendo la producción de peptidoglicanos de la pared celular bacteriana, y su defensa ante el antibiótico es la producción de betalactamasa, que hidrolizan el anillo betalactámico y forma el ácido peniciloico el cual no posee actividad antibacteriana pero ante la presencia del ácido clavulánico puede prevenirse su inhibición (Guevara, 1992). Las betalactamasas *AmpC* son enzimas cromosomales, poseen expresión inducible del gen *AmpC*, el cual posee actividad frente a penicilinas, aminopenicilinas como la amoxicilina – ácido clavulánico, pero también es activa contra las cefalosporinas (cefalexina) (Hernández *et al.*, 2014), por tanto, se afirma que las bacterias *E. coli* aisladas en vísceras de pollo, poseerían los genes *AmpC* por su resistencia observada en algunos de los antibióticos citados anteriormente. Asimismo, estas enzimas bacterianas son las primeras reportadas que destruían a la penicilina en *E. coli* (Flórez, 2013). El uso de betalactámicos es de mucha importancia en el ámbito clínico para los seres humanos y al ser administrados a los animales se vendría cometiendo un gran error ya que *E. coli* puede generar, mecanismos de resistencia produciendo la betalactamasa, los genes *AmpC*



generan la formación de enzimas tipo cefalosporinasas, el cual son considerados como una resistencia natural propio de la bacteria y es capaz de destruir a la penicilina y aminopenicilinas, por lo que sería interesante realizar un secuenciamiento genético en la resistencia bacteriana en *E. coli* aislada de esta investigación.

#### 4.2.2 Resistencia a antibióticos en *Salmonella* sp

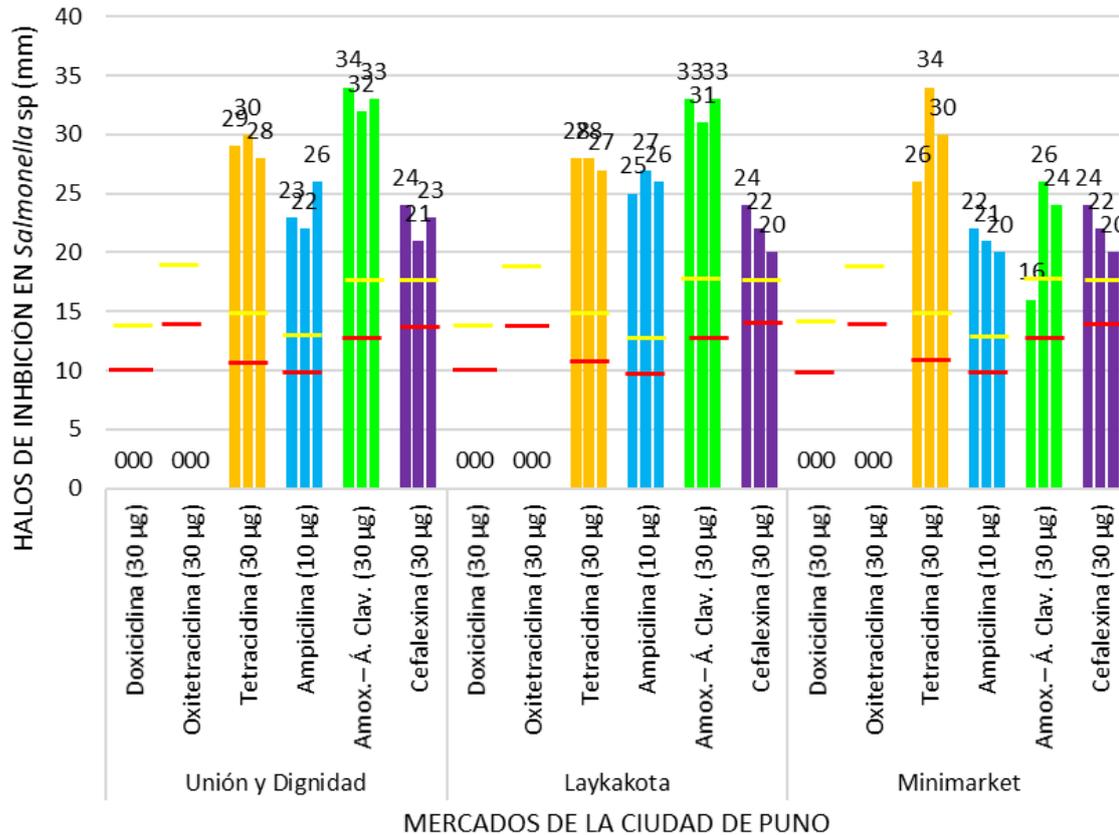
*Salmonella* sp, resultó presentar resistencia antibiótica absoluta a doxiciclina y oxitetraciclina, ya que no formaron halos de inhibición, en bacterias aisladas de los tres centros de expendio (mercados Unión y Dignidad, Laykakota y un Minimarket). Con los restantes antibióticos, en bacterias aisladas del mercado Unión y Dignidad, los promedios de halos de inhibición oscilaron entre 22.67 mm con cefalexina y 33 mm con amoxicilina – ácido clavulánico. En bacterias aisladas del mercado de Laykakota, los halos promedios de inhibición fueron similares a los anteriores con cefalexina (22 mm) y amoxicilina – ácido clavulánico (32.33 mm) y en bacterias aisladas en vísceras de pollo procedentes del Minimarket, el menor promedio se obtuvo con ampicilina con 21 mm y el mayor promedio con tetraciclina con 30 mm (Tabla 8). Al evaluar la dispersión de datos mediante el cálculo del coeficiente de variabilidad, estos oscilaron entre 0.00% y 24.05%, lo cual indica que presentaron una moderada dispersión de sus valores obtenidos en las repeticiones con respecto a su promedio.

En la representación gráfica, se observa los límites de los valores de resistencia (línea roja) y la línea amarilla que indica el valor límite de la sensibilidad, dichos valores límites fueron recomendados por el Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión del INS (2002), y que *Salmonella* sp fue resistente a doxiciclina y oxitetraciclina (halos nulos o sin barras) en bacterias aisladas de los tres mercados, el resto fueron sensibles (Figura 10).

**Tabla 8.** Antibiograma en *Salmonella* sp frente a antibióticos, aislados en tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019.

Mercados	Antibióticos	Halo (mm)			Prom	CV	Respuesta
		R1	R2	R3			
Unión y Dignidad	Doxiciclina (30 µg)	0	0	0	0.00	0.00	Resistente
	Oxitetraciclina (30 µg)	0	0	0	0.00	0.00	Resistente
	Tetraciclina (30 µg)	29	30	28	29.00	3.45	Sensible
	Ampicilina (10 µg)	23	22	26	23.67	8.80	Sensible
	Amox.– Á. Clav. (20 µg)	34	32	33	33.00	3.03	Sensible
	Cefalexina (30 µg)	24	21	23	22.67	6.74	Sensible
Laykakota	Doxiciclina (30 µg)	0	0	0	0.00	0.00	Resistente
	Oxitetraciclina (30 µg)	0	0	0	0.00	0.00	Resistente
	Tetraciclina (30 µg)	28	28	27	27.67	2.09	Sensible
	Ampicilina (10 µg)	25	27	26	26.00	3.85	Sensible
	Amox.– Á. Clav. (20 µg)	33	31	33	32.33	3.57	Sensible
	Cefalexina (30 µg)	24	22	20	22.00	9.09	Sensible
Minimarket	Doxiciclina (30 µg)	0	0	0	0.00	0.00	Resistente
	Oxitetraciclina (30 µg)	0	0	0	0.00	0.00	Resistente
	Tetraciclina (30 µg)	26	34	30	30.00	13.33	Sensible
	Ampicilina (10 µg)	22	21	20	21.00	4.76	Sensible
	Amox.– Á. Clav. (20 µg)	16	26	24	22.00	24.05	Sensible
	Cefalexina (30 µg)	24	22	20	22.00	9.09	Sensible

**Donde:** CV = coeficiente de variación; Prom = promedio



**Figura 10.** Comparación de halos de inhibición por antibióticos en *Salmonella* sp, según valores referenciales del INS (2002), Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019. Línea roja es el límite de resistencia y la línea amarilla el límite de sensible.

Las pruebas estadísticas de análisis de varianza realizadas a los valores de los diámetros de halos de inhibición en *Salmonella* sp según la procedencia del mercado, arrojaron de que existió diferencia estadística significativa en los halos originados por los antibióticos ampicilina y amoxicilina – ácido clavulánico ( $P < 0.05$ ), y luego de realizar la prueba de Tukey, los mayores diámetros de halos se determinaron en bacterias aisladas de los mercados Laykakota (Layk) y Unión y Dignidad (UyD) y los menores en aquellas aisladas del Minimarket. Por otro lado, los halos obtenidos por los antibióticos tetraciclina y cefalexina no presentaron diferencia estadística significativa ( $P \geq 0.05$ ), mientras que para doxiciclina y oxitetraciclina no hubo halo alguno (Tabla 9).

**Tabla 9.** Análisis de varianza y prueba de Tukey de los halos de inhibición (mm) de los antibióticos sobre *Salmonella* sp, según procedencia de mercado, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre del 2019.

N/O	Antibióticos	P-valor	Prueba de Tukey	
			Mayor $\Phi$	Menor $\Phi$
1	Doxiciclina (30 $\mu$ g)	--	--	--
2	Oxitetraciclina (30 $\mu$ g)	--	--	--
3	Tetraciclina (30 $\mu$ g)	0.5281	--	--
4	Ampicilina (10 $\mu$ g)	0.0160	Layk - UyD	Minimarket
5	Amox.- Á. Clav. (20 $\mu$ g)	0.0093	UyD – Layk	Minimarket
6	Cefalexina (30 $\mu$ g)	0.8813	--	--

En la investigación obtuvimos que la bacteria *Salmonella* sp aislada de vísceras de pollo, resultaron ser resistentes a los antibióticos doxiciclina y oxitetraciclina, lo cual concuerda con Camacho *et al.* (2010), quienes, en muestras de vísceras de pollo, aislaron 152 cepas de *Salmonella* spp resistentes a cefalotina, amoxicilina, ácido clavulánico, cefoxitina, ampicilina, estreptomina y a tetraciclina; asimismo, a lo mencionado por Junod (2010), quien aisló *Salmonella enterica* de origen animal y en alimento, el 54.68% de las cepas resultaron resistentes a uno o más antibióticos, y al igual que en ésta investigación, se presentó la mayor frecuencia de resistencia a oxitetraciclina. *Salmonella typhimurium* posee una transferencia de resistencia antimicrobiana bidireccional entre el humano y el animal, siendo común en infecciones de pequeños animales, donde los genes de mayor prevalencia son el *blaTEM*, *CTX-M-1*, *mecA* y *Tn5405* (Moreno *et al.*, 2018). Asimismo, Carloni *et al.* (2011), indica que la resistencia bacteriana a tetraciclinas se presenta en muestras de origen felino y equino, frente a ampicilina/sulbactam y ciprofloxacina, inclusive existe la presencia de multirresistencia. Se debe considerar que *Salmonella* sp es resistente a los antibióticos tetraciclinas y betalactámicos, el cual es reportado por estos investigadores y el problema radicaría en el empleo de antibióticos en diferentes composiciones y tipos a nivel internacional, presentando carencias en normas legales que no hacen cumplir con las vigilancias en el uso desmedido de antibióticos, por lo tanto se desconoce el impacto que generaría mediante la zoonosis o el consumo humano de carnes de aves contaminadas con *Salmonella*.



La resistencia bacteriana a las tetraciclinas (doxiciclina y oxitetraciclina), está mediada por dos mecanismos, tales como el sistema de excreción activa de la tetraciclina (Morejón *et al.*, 2003) y la disminución o pérdida de la permeabilidad celular, tal como sucede con la doxiciclina, minimizando el transporte activo por la membrana celular, los cuales son generados por genes cromosómicos y extracromosómicos (plásmides) (Meuer, 2002). La resistencia a un antibiótico, se originaría por los factores como el uso y mal uso en medicina humana, su introducción en clínica veterinaria, su uso en calidad de promotores de crecimiento en animales de producción y su aplicación en la agricultura, el cual se debió a la adquisición bacteriana de los genes *tet* (tetraciclina) y/o genes *otr* (oxitetraciclina), entre comensales y patógenas (Chopra & Roberts, 2001). En tal sentido, con respecto a lo mencionado anteriormente, se puede observar la capacidad de respuesta de los genes que posee *Salmonella* sp, el cual genera genes resistentes que podrían mutar frente a los antibióticos o a nuevos antibióticos, como es el uso de las tetraciclinas que se emplea en gran medida durante la crianza para lograr el mayor desarrollo y comercio de estas aves de consumo en Perú, por tanto sería un problema en la salud pública.

Por otro lado, Yang *et al.* (2004b), manifiestan que la resistencia a tetraciclina se realiza mediante tres mecanismos: eflujo activo, protección ribosomal e inactivación enzimática, presentes tanto en Gram negativos y positivos. La primera resistencia transferible a tetraciclina, se determinó primero en *Shigella dysenteriae* en el año 1960 (Akiba *et al.*, 1960), y en ella interactúan 24 genes los cuales codifican las bombas de eflujo y 11 genes codifican las proteínas de protección ribosomal (Roberts, 2005), entre ellos se citan a las proteínas *TetM*, *TetO*, *TetQ*, y *TetS*, quienes bloquean la unión de la tetraciclina a la subunidad 30 S del ribosoma (Chopra & Roberts, 2001). Desde nuestro punto de vista, esta investigación apuntaría más realizar estudios moleculares de las bacterias, como son la secuenciación de genes de resistencia y de virulencia, a pesar de que a nivel cultural se visualiza la resistencia a los antibióticos, en bacterias de vísceras de pollo.

Por lo interpretado anteriormente y en razón de que existió resistencia en *E. coli* frente a oxitetraciclina, doxiciclina y amoxicilina – ácido clavulánico y en *Salmonella* sp a doxiciclina y oxitetraciclina, según los halos de inhibición bacteriana (INS, 2002), es que se acepta la hipótesis alterna, el cual afirma que “Las bacterias aisladas e identificadas de vísceras de pollo son resistentes a los antibióticos (beta – lactámicos)”.



## V. CONCLUSIONES

- La carga bacteriana de mesófilas aerobias osciló entre  $6.36 \times 10^6$  y  $8.42 \times 10^6$  UFC/g, *Escherichia coli* varió entre  $3.66 \times 10^6$  y  $5.38 \times 10^6$  UFC/g y la presencia de *Salmonella* sp de 5 muestras colectadas, tres llegaron a ser positivas en vísceras de pollo expandidas en tres centros de venta de la ciudad de Puno, y al superar los valores de referencia estipulados en la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, no se encuentran aptos para el consumo humano.
- Entre las bacterias aisladas de vísceras de pollo, *Escherichia coli* presentó resistencia a oxitetraciclina, formando halos de inhibición promedios entre 0.00 y 8.33 mm, a doxiciclina con halo promedio de 9.33 mm y a amoxicilina – ácido clavulánico con halo promedio de 10.67 mm, presentando diferencia estadística significativa ( $P < 0.05$ ) entre los halos de inhibición antibiótica y *Salmonella* sp fue resistente a doxiciclina y oxitetraciclina, no presentando halos de inhibición, en ambos casos superaron los diámetros establecidos por el INS (2002), por tanto las bacterias presentaron resistencia a los antibióticos.



## VI. RECOMENDACIONES

- Realizar la determinación de antibióticos utilizados como promotores de crecimiento en la producción de aves, presentes en la carne y vísceras de pollos y gallinas, expandidas en los mercados de la ciudad de Puno.
- Realizar la identificación molecular de especies de *Salmonella* sp aisladas de vísceras de pollos y gallinas, para determinar su potencial efecto patológico en los consumidores.
- Realizar experimentos con bacterias ATCC para realizar comparaciones con las bacterias aisladas en la carne y vísceras de pollos y gallinas.



## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aarestrup, F. (2004). Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. *Pharmacology and Toxicology*. Vol. 96: 271-281.
- Abreu, R., Castro B., Madueño A., Espigares E., Moreno E., Moreno P. *et al.* (2013). Prevalencia de cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) aisladas en pollos de granjas avícolas de la isla de Tenerife (España). *Higiene y Sanidad Ambiental*. Vol. 13: 1091 – 1096.
- Adelantado, C., Arosema E., Calvo M., Manteca L., Martín M., Ordóñez G. *et al.* (2008). La *Salmonella*, de actualidad desde siempre. Barcelona. Real Escuela de Avicultura. 240 p.
- Akiba, T., Koyama K., Ishiki Y., Kimura S. & Fukushima T. (1960). On the mechanism of the development of multiple-drugresistant clones of *Shigella*. *Jpn. J. Microbiol.* Vol. 4: 219 – 227.
- Albújar, R. (2015). Residuos de antimicrobianos en hígados de pollo comercializados en el mercado Modelo de Piura, por el método microbiológico de las tres placas. Tesis de Médico Veterinario. Facultad de Zootecnia, Universidad Nacional de Piura. Piura – Perú. 54 p.  
<http://repositorio.unp.edu.pe/bitstream/handle/UNP/882/VET-ALB-CAN-15.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Álvarez, E. (2013). Prevalencia de bacterias resistentes a antibióticos en productos avícolas: influencia de diferentes factores y consecuencia para la seguridad alimentaria. Tesis Doctoral. Universidad de León. España.
- ANMAT, Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica. (2020). Guía de interpretación de resultados microbiológicos en alimentos. Instituto Nacional de Alimentos. Página web: [http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/Guia\\_de\\_interpretacion\\_resultados\\_microbiologicos.pdf](http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/Guia_de_interpretacion_resultados_microbiologicos.pdf). Fecha de revisión: 26 abril 2020.  
*Antimicrob Agents Chemother*. Vol. 60 (1): 537-543.
- Arenas, N. & Moreno V. (2018). Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática. *Rev Infectio*. Vol. 22 (2): 110-119.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v22n2/0123-9392-inf-22-02-00110.pdf>.
- Arenaz, F., Cuppari, S., Salerno, C., Amela M., Fernández, H., Rodríguez, H. & Muscillo,



- B. (2015). Monitoreo microbiológico en vísceras de pollos parrilleros. Universidad Nacional del Sur, Buenos Aires, Argentina.
- Bengtsson, J. & Larsson J. (2016). Concentrations of antibiotics predicted to select for resistant bacteria: Proposed limits for environmental regulation. *Environ Int.* 86: 140 - 149. [Doi: 10.1016/j.envint.2015.10.015](https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.10.015).
- Benjah, B. (2007). Oxytetracycline-2D-skeletal.
- Berglund, B. (2015). Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infect Ecol Epidemiol.* Vol. 5: 28564.
- Bertram, G., Masters, S., & Trevor, A. (1982). Lactámicos  $\beta$  y otros antibióticos activos en la pared y membrana celulares. *Farmacología básica y clínica.* p. 11.
- Bortolaia, V., Guardabassi L., Trevisani M., Bisgaard M., Venturi L. & Bojesen M. (2010). High diversity of extended-spectrum beta-lactamases in *Escherichia coli* isolates from Italian broiler flocks. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* Vol. 54: 1623 – 1626
- Briz, C. (2006). Retirada de los antibióticos promotores de crecimiento en la unión europea: causas y consecuencias. Universidad de Zaragoza. Página web: [http://www.wpsa-aeca.es/aeca\\_imgs\\_docs/wpsa1142587453a.pdf](http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1142587453a.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 del Valle.* Vol. 38: 149 – 158.
- Calderón G. & Aguilar L. (2016). Resistencia Antimicrobiana: Microorganismos más resistentes y Antibióticos con Menor Actividad. *Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica.* Vol. 73 (621): 757 – 763.
- Camacho, O., Acedo, L., Moreno, G., Sánchez, R., Castellón, L. & Navarro M. (2010). Detección de *Salmonella* resistente a los antibióticos en vísceras de pollo. *Biotecnia.* Vol. 12 (1).
- Campuzano, S., Mejía D., Madero C. & Pabón P. (2015). Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos preparados vendidos en la vía pública de la ciudad de Bogotá D. C. *Rev. NOVA.* Vol. 13 (23): 81 – 92.
- Carattoli, A. (2009). Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae. *Antimicrob. Agents Chemoter.* Vol. 53: 2227 – 2238
- Carlóni, G., Pereyra, A., Denamiel, G. & Gentilini, E. (2011). Resistencia a antimicrobianos en aislamientos de *Escherichia coli* de origen animal. In *Vet.* Vol.



13 (2): 47 – 51.

- Carvajal, E., Hernández, W., Torres, M., López, D., Rueda, E & Vásquez, M. (2019). Resistencia antimicrobiana de cepas de *Escherichia coli* aisladas de contenidos de bursa de Fabricio de aves para engorde. *Rev Inv Vet Perú*. Vol. 30 (1): 430 – 437.
- CCFH, Codex Committee on Food Higiene. (2007). Food safety risk profile for *Salmonella* species in broiler (young) chickens. Geneva: CCFH Working Group on Guidelines for control of *Campylobacter* and *Salmonella* spp in broiler (young bird) chicken meat. 30 p.
- Chopra, I. & Roberts M. (2001). Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. Vol. 65: 232 – 260.
- Clin Microbiol Rev. Vol. 32 (4): 7-19.
- Coguila, N & Concha, A. (2015). Influencia de la Calidad Sanitaria de la Materia Prima y de las Buenas Prácticas de Manipulación sobre la Calidad Sanitaria del producto final: Ceviche de Pescado comercializado en las Cevicherías del Cercado de Arequipa, 2015. Tesis de Licenciado en Nutrición Humana, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de San Agustín, Arequipa- Perú. 199 p.
- Cota, E., Hurtado L., Pérez E. & Alcántara L. (2014). Resistencia a antibióticos de cepas bacterianas aisladas de animales destinados al consumo humano. *Rev. Iberoamericana de Ciencias*. Vol. 1 (1): 75 – 85.  
<http://www.reibci.org/publicados/2014/mayo/4569156.pdf>.
- Cox, M. & Pavic A. (2010). Advances in enteropathogen control in poultry production. *Journal of Applied Microbiology*. Vol. 108 (3): 745 – 755.
- Cuba.
- Da Silva, D., de Arruda A. & Gonçalves A. (2017). Quality characteristics of broiler chicken meat from free-range and industrial poultry system for the consumers (Brazil). *Journal of Food Science and Technology*. Vol. 54 (7): 1818 – 1826.
- Daza R. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información terapéutica del sistema nacional de salud*. Vol. 22 (3): 57 – 63.
- Díaz, M. (2017). Determinantes del desarrollo en la avicultura en Colombia: instituciones, organizaciones y tecnología. Banco de la República, Cartagena. Página web: [http://www.-banrep.gov.co/docum/Lectura\\_finanzas/pdf/dtser\\_214.pdf](http://www.-banrep.gov.co/docum/Lectura_finanzas/pdf/dtser_214.pdf).



- DIF, Desarrollo Integral de la Familia. (2015). Guía de Aseguramiento de la Calidad Alimentaria. 75 p.
- Dione, M., Ieven M., Garin B., Marcotty T. & Geerts S. (2009). Prevalence and antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from broiler farms, chicken carcasses, and street-vended restaurants in Casamance, Senegal. *J Food Protect.* Vol. 72: 2423 – 2427.
- Doyle, M. (2012). Veterinary drug residues in processed meats-potential health risk. Food Research Institute (FRI Briefings). [http://fri.wisc.edu/docs/pdf/t-RIBrief\\_vetDrgres.pdf](http://fri.wisc.edu/docs/pdf/t-RIBrief_vetDrgres.pdf). Fecha de acceso 10 de septiembre de 2012 edición. Ediciones Laboratoriales S. R. L.
- Falcón, N., Ortega C., Gorniak S., Villa M., & Ríos C. (2010). El problema de la resistencia a antibióticos en salud pública. *Revista La Salle.* Vol. 1 (1): 75-88.
- FAO & OMS, Food and Agriculture Organization of the United Nations & Organización Mundial de la Salud. (2003). Documento de debate sobre estrategias de gestión de riesgos de *Salmonella* spp en aves de corral. Orlando, EEUU: Comisión del Codex Alimentarius. 20 p.
- FAO, WOAHA & OMS, Food and Agriculture Organization of the United Nations, World Organization for Animal Health, World Health Organization. (2016). Antimicrobial resistance: a manual for developing national action plans. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204470/1/9789241549530\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204470/1/9789241549530_eng.pdf?ua=1).
- FDA, Food and Drug Administration. (2007). *Bacteriol. A. M.* (cap.5). *Salmonella*.
- Fernández F, López J, Ponce L, Machado C. (2003). Resistencia Bacteriana. *Revista Cubana de Medicina.* Vol. 32 (1): 44 – 48.
- Figueroa, I & Verdugo, A. (2005). Mecanismos Moleculares de patogenicidad de *Salmonella* sp. *Revista Latinoamericana de Microbiología.* Vol. 47: 1 – 2.
- Flórez, A. (2013). Factores de riesgo para infección de vías urinarias por enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido o *AmpC* adquiridas en la comunidad. Tesis de Especialista en Medicina Interna. Página web: <http://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/4464/80041997-2013.pdf?sequence=1>
- Fonseca, M., & Avina, G. (2008). Calidad Microbiológica de jugos preparados en hogares de bienestar familiar en la zona Norte de Cundinamarca. Trabajo de grado, Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias. Bogotá - Colombia.



- Gali (2010). Enterobacterias y antibioticoterapia. Informe de la Red de Salud de Cuba.
- García, J., & García, E. (1997). Resistencias bacterianas y antibioterapia. En: Eficacia *in vivo* Eficacia *in vitro*. Ed Doyma, S.A. p. 39 – 50. Madrid – Barcelona.
- García, V., Montero I., Bances M., Rodicio R. & Rodicio M. (2017). Incidence and genetic bases of nitrofurantoin resistance in clinical isolates of two successful multidrug-resistant clones of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium: pandemic “DT 104” and pUO-StVR2. *Microb Drug Resist.* Vol. 23 (4): 405 - 412.
- Gill, O. & Landers C. (2003). Effects of spray-cooling processes on the microbiological conditions of decontaminated beef carcasses. *J Food Prot.* Vol. 66: 1247 – 1252.
- Glatz, P. & Bolla G. (2004). Poultry. In *Encyclopedia of meat sciences*. Ed Jensen, W.K, Devine, C, Dikeman, M. ElSevier, Oxford, U.K. Vol. 3: 1085 – 1092.
- Guevara, J. (1992). Estudio de sensibilidad amoxicilina – ácido clavulánico, comparativo con ampicilina y cefalotina *in vitro*. *Revista Médica de Costa Rica.* Vol. LIX (521): 149 – 152.
- Gutiérrez, A., Paasch L. & Calderón N. (2008). Salmonelosis y campilobacteriosis, las zoonosis emergentes de mayor expansión en el mundo. *Vet Méx.* Vol. 39: 81 – 90.
- He, T., Shen Y., Schwarz S., Cai J., Lv Y., Li J. *et al.* (2016). Genetic environment of the transferable oxazolidinone/phenicol resistance gene *optrA* in *Enterococcus faecalis* isolates of human and animal origin. *J Antimicrob Chemother.* 71 (6): 1466 - 1473. [Doi: 10.1093/jac/dkw016](https://doi.org/10.1093/jac/dkw016).
- Hernández, A., Ramos A. & Hurtado E. (2008). Incidencia de *Escherichia coli* en chuletas de cerdo vendidas al detal en Maturín, estado Monagas, Venezuela. *Rev. Científica UDO Agrícola.* Vol. 8 (1): 138 – 142.
- Hernández, C., Blanco V., Motoa G., Correa A., Maya J., De la Cadena E. *et al.* (2014). Evolución de la resistencia antimicrobiana en bacilos Gram negativos en unidades de cuidados intensivos en Colombia. *Biomédica.* Vol. 34 (Supl 1): 91 – 100.
- Hernández, E., Báez M., Alfonso P. & Espinosa I. (2017). Susceptibilidad antimicrobiana y formación de biopelícula en aislados de *Escherichia coli* procedentes de gallinas ponedoras. *Rev Salud Animal.* Vol. 39 (3).
- Heyndrickx, M., Vandekerchove D., Herman L., Rollier I., Grijspeerdt K., De Zutter L. (2002). Routes for *Salmonella* contamination of poultry meat: epidemiological study from hatchery to slaughterhouse. *Epidemiol Infect.* Vol. 129: 253 – 265.
- Ho, P., Ng K., Lo W., Law P., Lai E., Wang Y., *et al.* (2015). Plasmid-mediated OqxAB



- Hold, J., & Hendricks, D. (1994). *Manual of Determinative Bacteriology*. (Lippincott , & Wilkins, Edits.) Edición Ilustrada. 789 p.
- ICMSF, International Commission on Microbiological Specifications for Foods. (1998). *Microorganisms in foods. Vol 6. Microbial specifications of food commodities*. Blackie Academic and Professional, London.
- ICMSF. (2000). *Micro Organismos de los Alimentos 1 su significado y métodos de enumeración*. 2da edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España.
- INS, Instituto Nacional de Salud. (2002). *Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión*. Instituto Nacional de Salud. Lima – Perú.
- is an important mechanism for nitrofurantoin resistance in *Escherichia coli*.
- Junod, T. (2010). *Susceptibilidad a antibióticos en cepas de Salmonella entérica de origen animal y alimentario*. Tesis de Magíster. Universidad de Concepción, Concepción, Chile.
- Karami, N., Nowrouzian F., Adlerberth I. & Wold A. (2006). Tetracycline resistance in *Escherichia coli* and persistence in the infantile colonic microbiota. *Antimicrob Agents Chemother*. Vol. 50: 156 – 161.
- Laube, H., Friese A., Von Salviati C., Guerra B. & Rösler U. (2014). Transmission of ESBL/AmpC-producing *Escherichia coli* from broiler chicken farms to surrounding areas. *Vet Microbiol*. Vol. 172: 519 – 527.
- Lavado, D. (2017). *Estudio comparativo de la carga bacteriana en carcasas de pollo provenientes de diferentes sistemas de beneficio y comercialización en el distrito de Trujillo*. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo - Perú. 57 p.
- Levy, B., FitzGerald B. & Macone B. (1976). Spread of antibiotic-resistant plasmids from chicken to chicken and from chicken to man. *Nature*. Vol. 260: 40 – 42.
- Levy, B., McMurry L., Barbosa T., Burdett V., Courvalin P., Hillen W., *et al.* (1999). Nomenclature for new tetracycline resistance determinants. *Antimicrob Agents Chemother*. Vol. 43: 1523 - 1524.
- Li, Z., Plésiat P. & Nikaido H. (2015). The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Rev*. Vol. 28 (2): 337 – 418.
- Lisch, A. (2009). Structure of Doxycycline (created with BKChem).
- Liu, Y., Wang Y., Walsh T., Yi L., Zhang R., Spencer J. *et al.* (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism *mcr-1* in animals and human



- beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis.* Vol. 16 (2): 161 - 168. [Doi: 10.1016/ S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7).
- Lofton, B., Morrison M. & Leiby D. (1962). The Enterobacteriaceae of some colorado small mammals and birds and their possible role in gastroenteritis in man and domestic animals. *Zoonoses Research.* Vol. 1: 277 – 293.
- Lozano, A., María C., Arias M. & Diana C. (2008). Residuos de fármacos en alimentos de origen animal: Panorama actual en Colombia.
- Mahmoud, B. (2012). *Salmonella* A Dangerous Food Pathogen. Recuperado de: <https://library.umac.mo/ebooks/b28055688.pdf>
- Mainali, C., McFall M., King R. & Irwin R. (2013). Evaluation of antimicrobial resistance profiles of *Escherichia coli* isolates of broiler chickens at slaughter in Alberta, Canada. *J Food Protect.* Vol. 76: 2045 – 2051.
- Málaga, A. (2011). Plantas de beneficio peruanas: Hora Cero. Actualidad Avipecuaria. Fecha de revisión: 6 enero 2020. Página web: <http://www.actualidadavipecuaria.com/articulos/plantas-de-beneficio-peruanas-hora-cero.html>
- Mandell, G., Bennett E. & Dolin R. (2010). Enterobacteriaceae. En M. S. Donnenberg. (Ed.), *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases, 7ª Edition* (p. 2815 – 2833). United States: Elsevier.
- Mantilla, C & Portacio, A. (2012). Potencial probiótico de cepas nativas para uso como aditivos en la alimentación avícola. *Rev Colomb Biotecnol.* Vol. 14: 31 – 40.
- Marshall, K., Niebuhr S., Acuff G., Lucia M. & Dickson J. (2005). Identification of *Escherichia coli* O157:H7 meat processing indicators for fresh meat through comparison of the effects of selected antimicrobial interventions. *Journal of Food Protección.* Vol. 68 (12): 2580 – 2586.
- Martínez, F. (1997). Integrones: nueva causa de resistencia a antibióticos. *Rev Esp Quimioterapia.* Vol. 10: 191 – 194.
- Martínez, S., Pons M., Ruíz L., Laureano L., Corujo A., Ochoa T. & Ruíz J. (2020). Resistencia a nitrofuranos en *Salmonella entérica* aisladas de carne para consumo humano. *Rev. Perú Med. Exp. Salud Pública.* Vol. 37 (1): 99 – 103.
- Mathers, J., Flick, S., & Cox, J. (2011). Longer-duration uses of tetracyclines and penicillins in U.S. food-producing animals: Indications and microbiologic effects. *Environment International.* Vol. 37 (5): 991 – 1004.
- Mattar, S., Calderon A., Soltelo D., & Tordecillas G. (2009). Detección de antibióticos en leche un problema en salud pública. *Revista Salud Pública.* Vol. 11 (4): 579-



- 590.
- Mead, S., Slutsker L., Dietz V., McCaig F., Bresee S., Shapiro C. & Tauxe V. (1999). Food-related illness and death in the united states. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 5 (5): 607 – 625.
- Medina, A. (2011). Resistencia antimicrobiana en aislados de *Escherichia coli* de conejos tratados por vía oral con diferentes pautas de doxiciclina. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Mendo, M. (2003). Medios de cultivo en Microbiología. Manual de laboratorio. 5ta
- Mensa, J., Gatell, J., & Azanza, J. (2008). Guía de terapéutica antimicrobiana. Elsevier Doyma.
- Meuer, N. (2002). Management of *Helicobacter pylori* infection. *Am Fam Physician*. Vol. 65 (7): 1327 - 1336.
- Michanie, S. (2003). La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. *Revista Ganados & Carnes*. Año 4 (17): 40 – 42.
- MINCETUR; Ministerio de Comercio Exterior y Turismo. (2013). Manual de buenas prácticas de manipulación de alimentos para restaurantes y servicios afines. Lima-Perú. 75 p.
- Ministerio de Salud del Perú. (2010). DIGEMID Petitorio Nacional Único de Medicamentos Esenciales 2010.
- MINSA, Ministerio de Salud. (2012). Norma sanitaria que establece los límites máximos de residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano. MINSA. Lima – Perú. Página web: [ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2012/RM739\\_2012\\_MINSA.pdf](ftp://ftp2.minsa.gob.pe/normaslegales/2012/RM739_2012_MINSA.pdf)
- Molero, G. (2012). Análisis microbiológico de canales de pollo en los mataderos del estado Zulia, Venezuela. Tesis de Doctor en Veterinaria. Doctorado en Biología, Universidad de Córdoba. Córdoba – España. 88 p.
- Molina, N., Millán, B. & Araque, M. (2010). Indicadores de calidad sanitaria y fenotificación de *Salmonella* entérica aislada de pollo crudo comercializado en el área urbana de Mérida, Venezuela. *Infectio*. Vol. 14 (3): 174 – 185.
- Morejón, M., Salup R. & Cué M. (2003). Actualización en Tetraciclinas. *Rev. Cubana Farm*. Vol. 37 (3).
- Moreno, B., Diez V., García L., Menes I., Gutiérrez L. & Polledo F. (2000). Microorganismos de los alimentos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza - España.
- Moreno, M., Castillo, M., Ferrebuz, A., Osorio, W., Torres, M. & López, D. (2018).



- Resistencia bacteriana en pequeños animales, potencial riesgo para la salud humana. REDVET Rev. Electrón. Vet. Vol. 19 (2): 1 – 24.
- Mosquera, S., Alemán C. & Villada H. (2007). Aplicación de principios HACCP en el sacrificio y beneficio de pollos. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Vol. 5 (2): 9 – 19.
- Mulder, R. (1985). Decrease microbial contamination during poultry processing. Poultry Misset.
- Mulder, W. & Dorresteijn J. (1977). Hygiene beim brühen von Schlachtgeflügel. (Hygiene during the scalding of broilers.) Fleischwirtschaft. Vol. 57: 2220 – 2222.
- Nelson, M., & Levy, S. (2011). The history of the tetracyclines. Annals of the New York Academy of Sciences. Vol. 1241: 17 – 32.
- Nina, M. (2019). Calidad microbiológica de la carne de pollo expendida en el Mercado Mayorista Miguel Grau del distrito de Tacna. Tesis de Biólogo Microbiólogo. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Tacna – Perú. 92 p.
- NTS N° 120-MINSA/DIGESA (2016). Norma Sanitaria que Establece los Límites Máximos de Residuos de Medicamentos Veterinarios en Alimentos de Consumo Humano. Ministerio de Salud. Lima – Perú.
- NTS, Norma Técnica Sanitaria N° 071-MINSA/DIGESA-V.01. (2008). Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Ministerio de Salud. Lima – Perú. 26 p.
- Ochoa, K., Paredes, L., Bejarano, D. & Silva, R. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). Rev. Scientia Agropecuaria. Vol. 3: 291 – 302.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (1988). Control de la salmonelosis: Importancia de la higiene veterinaria y de los productos de origen animal. Ginebra: OMS Series de Informes Técnicos 774. 95 p.
- OMS. (2001). Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos. Rev Panam Salud Pública. Vol. 10: 284 – 293.
- OMS; Organización Mundial de la Salud. (2010). Informe sobre la salud en el mundo. 7 p.
- OPS & OMS, Organización Panamericana de la Salud & Organización Mundial de la Salud. (2016). Alerta Epidemiológica: Enterobacterias con resistencia transferible



- a colistina. Implicaciones para la salud pública en las Américas. 10 de junio de 2016, Washington, D.C.: OPS/OMS. Disponible en: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_docman&task=doc\\_view&Itemid=270&gid=35009&lang=es](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&Itemid=270&gid=35009&lang=es).
- OPS, Organización Panamericana de la Salud. (2011). Tratamiento de las enfermedades infecciosas, Washington. 344 p.
- Ordoñez, A. & García de Fernando D. (2014). Tecnología de los alimentos de origen animal. Fundamentos de química y microbiología de alimentos. Vol1. Síntesis. Madrid.
- Ortega, C., Solo H., Abdelzaher A., Wright M., Deng Y. & Stark L. (2009). Correlations between microbial indicators, pathogens, and environmental factors in a subtropical estuary. *Mar Pollut Bull.* Vol. 58: 1374 – 1381.
- Palma, D. (2013). Evaluación física y microbiológica de la carne de pollo que se expende en los mercados de la ciudad de Loja. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Área Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables, Universidad Nacional de Loja, Ecuador. 87 p.
- Perello, G. (2009). Detección y caracterización de aislados de *Escherichia coli* de origen clínico y fecal en gallinas ponedoras. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Madrid – España. 184 p
- Pérez, C., Sánchez M., Henao S. & Cardona N. (2008). Estandarización y evaluación de dos pruebas de reacción en cadena de la polimerasa para el diagnóstico de *Salmonella enterica* subespecie enterica en huevos. *Arch Med Vet.* Vol. 40: 235 – 242.
- Pérez, J. & Serrano F. (2013). Calidad microbiológica de la carne de pollo (*Gallus gallus*) comercializada en la ciudad de Huancavelica. Tesis de Ingeniero Zootecnista. Facultad de Ciencias de Ingeniería, Universidad Nacional de Huancavelica. Perú. 72 p.
- Petersen, A., Christensen P., Kuhnert P., Bisgaard M. & Olsen E. (2006). Vertical transmission of a fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* within an integrated broiler operation. *Vet. Microbiol.* Vol. 116: 120 – 128.
- Philip, T., Lienau H., Leung S., Mui L., Florence H., Bohnert M., Mooijman K., et al. (2003). Detection of *Salmonella* in Fresh Cheese, Poultry Products, and Dried Egg Products by the ISO 6579 *Salmonella* Culture Procedure and the AOAC Official Method: Collaborative Study. *J. AOAC Int.* Vol. 86: 275 – 295.



- Picazo, J. (2000). Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Procedimientos en Microbiología Médica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>.
- Pons, J., Mosquito S., Gomes C., Del Valle J., Ochoa J. & Ruiz J. (2014). Analysis of quinolone-resistance in commensal and diarrheagenic *Escherichia coli* isolates from infants in Lima, Peru. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* Vol. 108: 22 – 28.
- Ponsa F. (2005). Puntos críticos para el control de *Salmonella* y *Campylobacter* en la carne de pollo. En: Jornadas Profesionales de Avicultura de Carne. Valladolid, España: Real Escuela de Avicultura.
- Quesada, A., Reginatto A., Ruiz A., Colantonio D. & Burrone S. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. *Rev Per Med Exp Salud Pública.* Vol. 33: 32 – 44.
- Quito, M. (1977). Estudio Microbiológico de vísceras y apéndices de vacuno beneficiados en la Molina empacadas en bolsas de polietileno. Memoria para optar en título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Agraria la Molina. Lima – Perú.
- Ramírez, K. (2017). Determinación de mesófilos aerobios, coliformes totales y fecales en el cultivo de espinaca (*Spinacia oleracea* L.), producido en tres municipios del estado de México. Tesis de Ingeniero Agrónomo Industrial. Universidad Autónoma del estado de México. Toluca. p. 21 – 22.
- Ramón, P., Sati H. & Galas M. (2018). Enfoque de una salud en las acciones para enfrentar la resistencia a los antimicrobianos desde una óptica latinoamericana. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 35 (1): 103-109. Doi: 10.17843/rpmesp.2018.351.3605.
- Redding, E., Cubas F., Sammel D., Smith G., Galligan T., Levy Z. *et al.* (2014). The use of antibiotics on small dairy farms in rural Peru. *Vet Med.* Vol. 113: 88 – 95.
- Rivera A. (2012) Betalactamasas de espectro extendido en cepas de *Escherichia coli* y *Klebsiella* sp. aisladas de reservorios inanimados en un hospital del norte del Perú. *Rev Esp Quimioter.* Vol. 25: 161 – 163.
- Roberts, M. (2005). Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiol Letters.* Vol. 245: 195 – 203.
- Rodríguez, A. (2013). Administración de La Calidad. Universidad Autónoma de



- Chihuahua, Facultad de Ciencias Agro tecnológicas: p. 1 – 42.
- Rodríguez, M & Rodríguez, D. (2009). El Concepto de Calidad: Historia, Evolución E Importancia Para La Competitividad. Revista Universidad de La Salle. Vol. 48: 80 – 99.
- Rodríguez, R., Gómez, F., Vázquez, H., Corona, J. & Mendoza, M. (2016). Presencia de *Campylobacter* y *Salmonella* en pollo a la venta en Gómez Palacio Durango, México. REDVET, Revista Electrónica de Veterinaria. Vol. 17 (6): 1 – 7.
- Ruiz, J. (2019). Transferable Mechanisms of quinolone resistance from 1998 onward.
- Saetung, A. (2019). Foto de archivo, vísceras de pollo. Obtenido de [https://es.123rf.com/photo\\_58546924\\_v%C3%ADsceras-de-pollo-fresco-en-el-mercado-.html](https://es.123rf.com/photo_58546924_v%C3%ADsceras-de-pollo-fresco-en-el-mercado-.html).
- Sánchez, M., Gutiérrez, N., Padilla, M. & Suárez, L. (2015). Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué, Colombia. Rev. Univ. Salud. Vol. 17 (1): 18 – 31.
- Scov, R. & Monnet D. (2016). Plasmid-mediated colistin resistance (*mcr-1* gene): three months later, the story unfolds. Euro Surveill. 21 (9): 30155. Doi: [10.2807/1560-7917.ES.2016.21.9.30155](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.9.30155).
- SENASA, Servicio Nacional de Sanidad Agraria. (2007). Reglamento del sistema sanitario avícola. Decreto Supremo N° 029-2007-AG. Diario Oficial El Peruano: 1 de noviembre de 2007. Lima, Perú.
- Shanmugam, D., Esak B. & Narayanaswamy A. (2016). Molecular characterisation of *nfsA* gene in nitrofurantoin resistant uropathogens. J Clin Diagn Res. Vol. 10 (6): 05 – 09.
- Singh, P. (2017). One Health approach to tackle antimicrobial resistance in South East Asia. BMJ. 358: j3625. Doi: [10.1136/bmj.j3625](https://doi.org/10.1136/bmj.j3625).
- Snoeyenbos, H., Carlson L., Smyser F. & Olesiuk M. (1969). Dynamics of *Salmonella* infection in chicks reared on litter. Avian Diseases. Vol. 13 (1): 72 – 83.
- Soufi, L., Sáenz Y., Vinué L., Abbassi S., Ruiz E., Zarazaga M. *et al.* (2011). *Escherichia coli* of poultry food origin as reservoir of sulphonamide resistance genes and integrons. Int J Food Microbiol. Vol. 144: 497 – 502.
- Télez, J. (1992). Tecnología e industrias cárnicas. Tomo I y II. Talleres Gráficos Espino, Lima. 543 p.
- Toro, F. (2011). Uso de antibióticos en la nutrición animal. Rev Sist Prod Agroecol. Vol. 1 (2): 2.



- Vanderzant, C. & Splittstoesser D. (1992). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. 3 ed. Washington, D. C. American Public Health Association Inc. (APHA). 1219 p.
- Vázquez, J., & Olvera M. (2012). Residuos de antimicrobianos en leche cruda y factores asociados a su presentación. Revista de Actualidad y Divulgación Científica. Vol. 15 (1): 157-165.
- Velásquez, E. (2006). Determinación de *Salmonella* spp en carne de pollo que se venden los mercados de la ciudad de Guatemala. Tesis de Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos. Guatemala. 51 p.
- Villalobos, N. (2018). Evaluación de residuos de enrofloxacin en carne de pollo comercializado en el mercado La Hermelinda de la ciudad de Trujillo. Tesis de Médico Veterinario Zootecnista. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo – Perú. 39 p.
- Wirtz, V., Herrera J., Santa Y., Dreser A., Elseviers M., Vander R. (2013). Analysing policy interventions to prohibit over-the-counter antibiotic sales in four Latin American countries. Trop Med Int Health. 18 (6): 665 - 673. [Doi: 10.1111/tmi.12096](https://doi.org/10.1111/tmi.12096).
- Xiong, W., Sun, Y. & Zeng, Z. (2018). Antimicrobial use and antimicrobial resistance in food animals. Environmental Science and Pollution Research. Vol. 25: 18377 – 18384.
- Yang, H., Chen, S., While, D., Zhao, S., Mc Dermantt, P., Walker, R. & Merig, J. (2004a). Characterization of multiple- antimicrobial- resistant *Escherichia coli* isolates from diseased chicken and swine in China. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 42 (8): 3483 – 3489.
- Yang, W., Moore I., Koteva K., Bareich D., Hughes D. & Wright G. (2004b). TetX is a flavin-dependent monooxygenase conferring resistance to tetracycline antibiotics J. Biol. Chem. Vol. 279: 52346 – 52352.
- Zambrano, H., Lucas J., Vilca M. & Ramos D. (2013). Determinación de *Salmonella* spp en centros de beneficio clandestino de pollos de engorde en Lima, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Vol. 24 (3): 337 – 345.
- Zotta, C., Lavayén, S., Nario F. & Piquín, A. (2016). Detección de *Escherichia coli* productor de toxina Shiga en vísceras de animales bovinos y pollos destinados para el consumo humano. J. Selva Andina Res. Soc. Vol. 7 (1): 2 – 9.

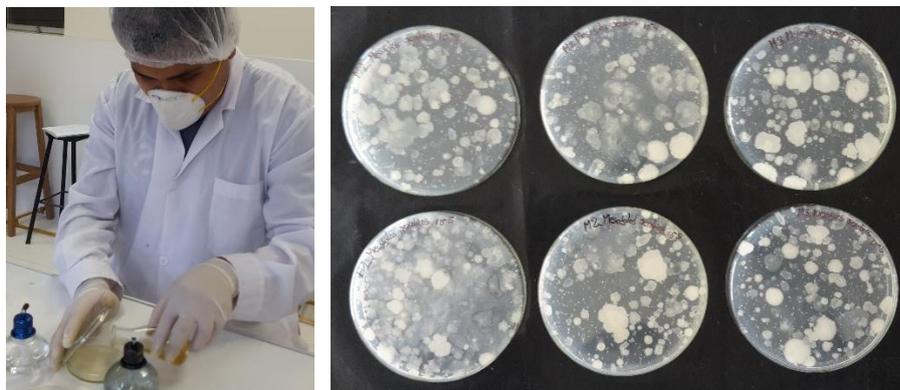
## ANEXOS



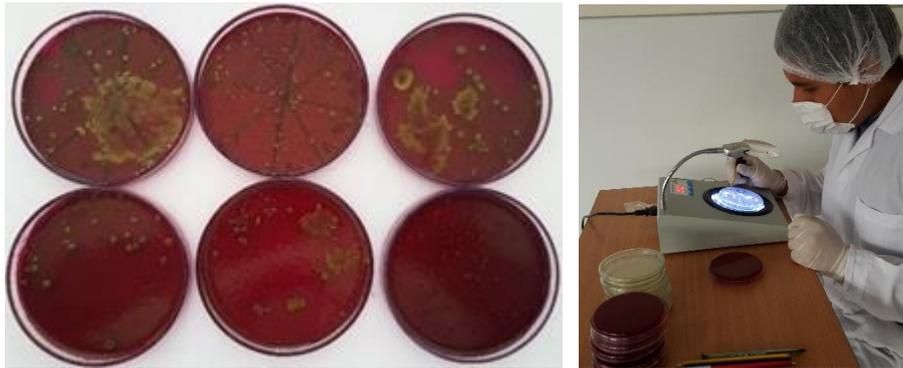
**Figura 11.** Transporte de muestras, separación de vísceras y pesado, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



**Figura 12.** Enriquecimiento de las muestras y preparación de diluciones para recuentos bacterianos, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



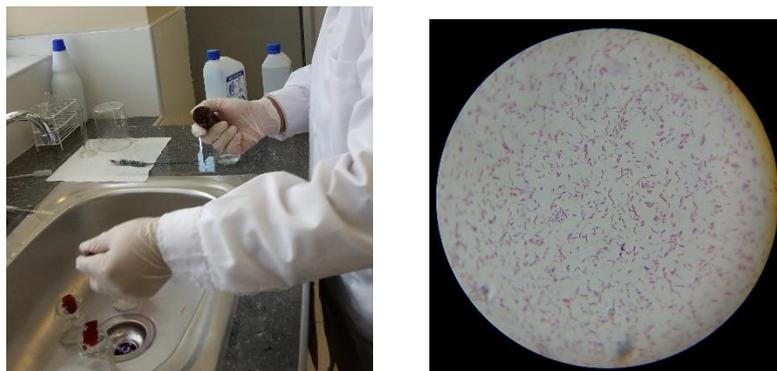
**Figura 13.** Cultivo y recuento de bacterias mesófilas aerobias en agar APC en vísceras de pollo, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



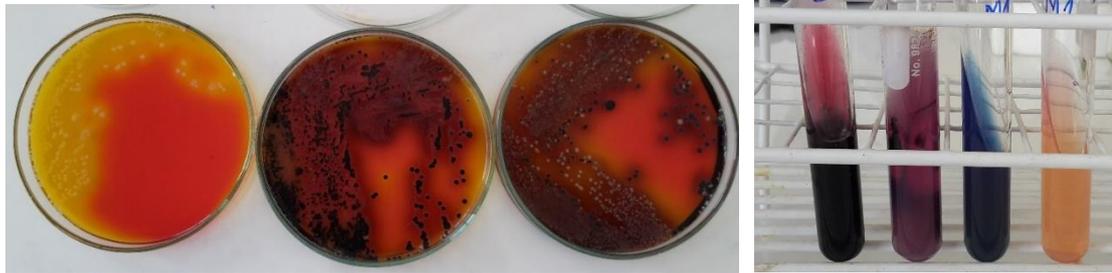
**Figura 14.** Colonias y recuento de *E. coli* en agar Endo en vísceras de pollo, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



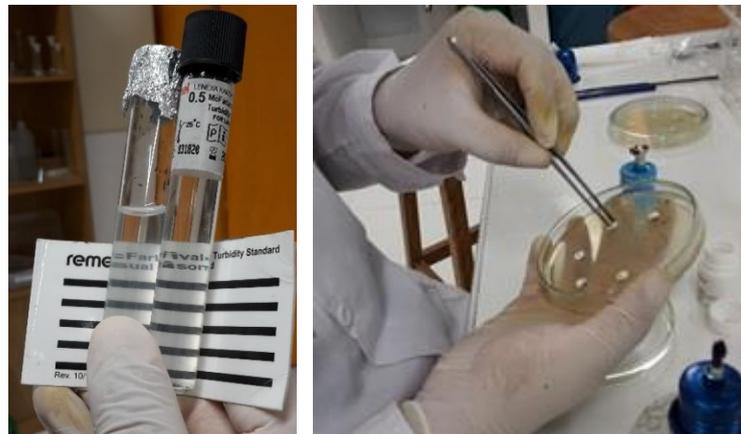
**Figura 15.** Colonias y pruebas bioquímicas TSI (A/A), LIA(K/K), CS (-) e Indol (+) de *E. coli*, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



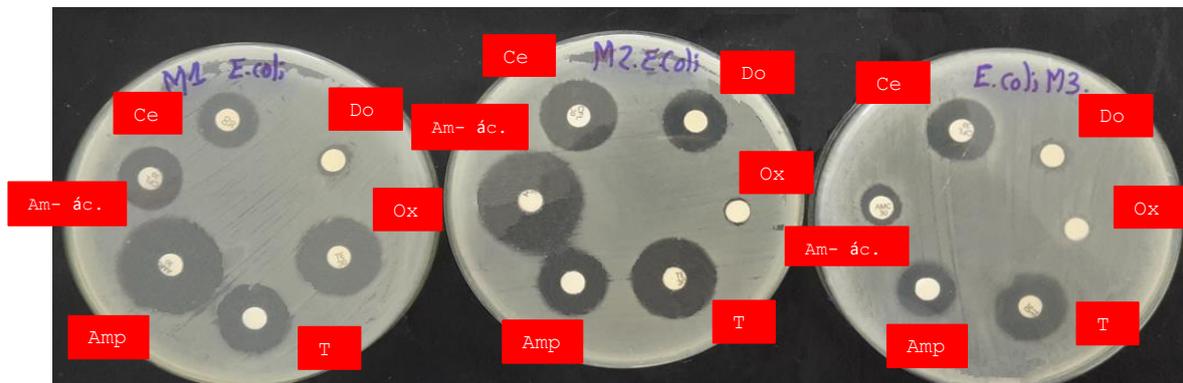
**Figura 16.** Proceso de tinción Gram y observación de bacterias al microscopio, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



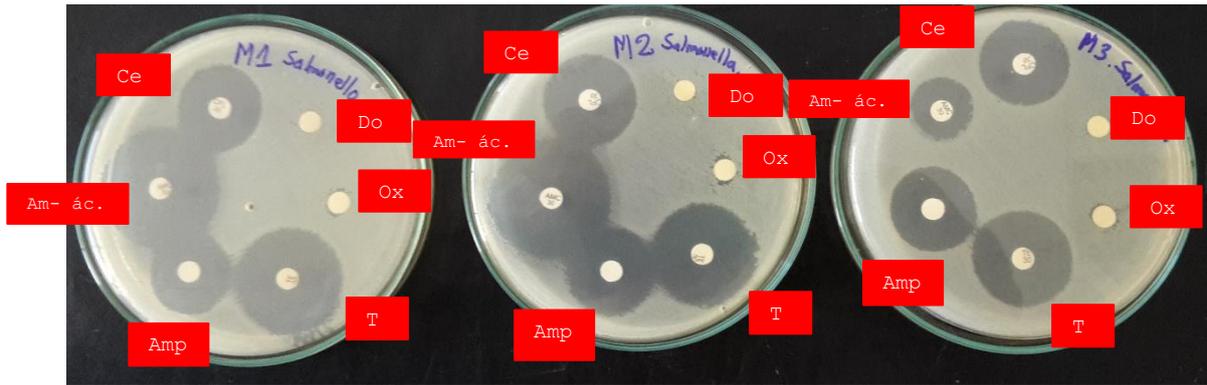
**Figura 17.** Crecimiento de *Salmonella* sp en agar XLD y pruebas bioquímicas TSI (K/A, H<sub>2</sub>S), LIA (K/K), CS (+), UREA (-) e Indol (-), Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



**Figura 18.** Turbidez de estándar 0.5 McFarland y prueba de Antibiograma, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



**Figura 19.** Resultados de las pruebas de susceptibilidad bacteriana en *E. coli* en agar Müller Hinton, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.



**Figura 20.** Resultados de las pruebas de susceptibilidad bacteriana en *Salmonella* sp en agar Müller Hinton, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

**Tabla 10.** Análisis de varianza y prueba de Tukey del recuento de bacterias mesófilas aerobias en vísceras de pollos de tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Mesófilas	15	0.46	0.37	13.69

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	1070.53	2	535.27	5.15	0.0243
Mercados	1070.53	2	535.27	5.15	0.0243
Error	1247.20	12	103.93		
Total	2317.73	14			

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=17.20169**

Error: 103.9333 gl: 12

Mercados	Medias	n	E.E.
Minimarket	84.20	5	4.56 A
Laykakota	75.60	5	4.56 A B
Unión Dignidad	63.60	5	4.56 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

**Tabla 11.** Análisis de varianza y prueba de Tukey del recuento de *E. coli*, en vísceras de pollos de tres mercados de la ciudad de Puno, Laboratorio de Botánica y Biotecnología, FCCBB – UNA Puno, setiembre a noviembre 2019.

Variable	N	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Aj	CV
Ecoli	15	0.53	0.45	18.36

**Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)**

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	844.13	2	422.07	6.67	0.0113
Mercados	844.13	2	422.07	6.67	0.0113
Error	759.20	12	63.27		
Total	1603.33	14			

**Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=13.42088**

Error: 63.2667 gl: 12

Mercados	Medias	n	E.E.
Laykakota	53.80	5	3.56 A
Minimarket	39.60	5	3.56 B
Unión Dignidad	36.60	5	3.56 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )



## *Universidad Nacional del Altiplano de Puno*

Facultad de Ciencias Biológicas  
Escuela Profesional de Biología  
Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico  
Laboratorio de Botánica y Biotecnología



**Registro: 005-2020**

## **CONSTANCIA**

LA QUE SUSCRIBE, **DECANO** DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO DE PUNO – PERÚ.

### **HACE CONSTAR:**

Que el (la) Bachiller **JULIO CÉSAR MENDOZA AGUILAR**, egresado (a) de la Escuela Profesional de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, ha realizado la parte experimental de su trabajo de investigación (Tesis) titulado: **CALIDAD BACTERIOLÓGICA Y RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE PATÓGENOS PROVENIENTES DE LAS VÍSCERAS DE POLLO EXPENDIDAS EN TRES CENTROS DE VENTA DE LA CIUDAD DE PUNO**, en el laboratorio de Botánica y Biotecnología, del Programa Académico de Microbiología y Laboratorio Clínico de la Escuela Profesional de Biología, entre los meses de setiembre a noviembre del 2019

Se le expide la presente Constancia a solicitud del (a) interesado (a) para los fines que se estime por conveniente.

Puno, 03 de noviembre del 2020.



**UNA**  
PUNO

Firmado digitalmente por  
LÁURA CHAUCA  
DE MEZA Eva FAU  
20145496170 soft  
Motivo: Soy el autor  
del documento Fecha:  
03.11.2020 15:29:45 -  
05:00

**M. Sc. EVA LAURA CHAUCA**  
**DECANO**  
**FCCBB – UNA Puno**