



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL TEJIDO SUPERFICIAL Y
SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA EN *Escherichia coli* Y
Staphylococcus aureus EN CARACHI NEGRO (*Orestias agassii*) Y
CARACHI AMARILLO (*Orestias luteus*) EXPENDIDOS EN EL
MERCADO UNIÓN - DIGNIDAD DE LA CIUDAD DE PUNO, 2022**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. HEIDY CAMILA FLORES FLORES

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

**LICENCIADO EN BIOLOGÍA: MICROBIOLOGÍA Y
LABORATORIO CLÍNICO**

PUNO - PERÚ

2023



NOMBRE DEL TRABAJO

**CALIDAD BACTERIOLÓGICA DEL TEJIDO
SUPERFICIAL Y SUSCEPTIBILIDAD ANTI
BIÓTICA EN Escherichia coli Y St**

AUTOR

HEIDY CAMILA FLORES FLORES

RECuento DE PALABRAS

23750 Words

RECuento DE CARACTERES

126565 Characters

RECuento DE PÁGINAS

105 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

1.7MB

FECHA DE ENTREGA

May 4, 2023 1:08 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

May 4, 2023 1:10 AM GMT-5

● **17% de similitud general**

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base c

- 16% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 9% Base de datos de trabajos entregados
- 6% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossr

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)





DEDICATORIA

A Dios,

a mi hermano,

a mis padres,

a mis abuelos,

y a mis amigos,

todo se lo debo a ustedes.

Heidy Camila Flores Flores



AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional del Altiplano y a la Facultad de Ciencias Biológicas, por haberme acogido durante mi formación como profesional, darme la oportunidad de vivir experiencias únicas y en sus aulas conocer a grandes personas, tanto docentes como a compañeros a los que considero mis mejores amigos.

A Dios por brindarme salud y darme la fuerza, a él me encomiendo día a día para continuar.

A mi hermano por siempre apoyarme incondicionalmente y alentarme a continuar a pesar de las dificultades que se nos presenten, siempre recibirme con calidez al llegar a casa y ser el apoyo moral más fuerte que tengo. Gracias Kheops, sin tu compañía y consejos no hubiera podido aguantar mucho.

A mis padres Mary y John por la compañía, comprensión y apoyo que me han brindado a lo largo de todo mi crecimiento como persona y como profesional.

A mi asesor de tesis el Dr. Juan José Pauro Roque por darme el empujoncito necesario para poder ir mejorando como estudiante, sus tan motivantes consejos y su apoyo en la realización de esta tesis.

Por último y no menos importante estoy agradecida con mis amigos y soporte físico y emocional durante todo este proceso. Annie, Michael, Ever, Cinthia y Lucio, grandes compañeros de vida que me dieron la mano cuando más lo necesité sin dudarlo. Los aprecio con todo mi corazón, por ser un pilar importante en mi vida.

Heidy Camila Flores Flores



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 12

ABSTRACT..... 13

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 de tejido superficial de peces 19

2.2.2 Susceptibilidad antibiótica 21

2.2.3 Resistencia bacteriana a los antibióticos..... 22

2.2.4 *Escherichia coli* 30

2.2.5 *Staphylococcus aureus* 31

2.2.6 Carachi negro (*Orestias agassii* Valenciennes 1846)..... 34

2.2.7 Carachi amarillo (*Orestias luteus* Valenciennes 1846) 37

2.2.8 NTS N° 071-MINSA/DIGESA V.01. 40



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	ZONA DE ESTUDIO	42
3.2	TIPO Y DISEÑO DE ESTUDIO	42
3.3	POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA	43
3.4	EVALUACIÓN DE LA CARGA BACTERIANA DE <i>Escherichia coli</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i> EN INDIVIDUOS DE CARACHI NEGRO Y CARACHI AMARILLO	44
3.5	EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE <i>Escherichia coli</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i> AISLADOS DE LA SUPERFICIE CORPORAL DE CARACHI NEGRO Y CARACHI AMARILLO	48

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	RECuentos de <i>Escherichia coli</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i> EN LA SUPERFICIE EPITELIAL DE CARACHIS NEGRO Y AMARILLO EXPENDIDOS EN EL MERCADO UNIÓN – DIGNIDAD.....	51
4.2	SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE <i>Escherichia coli</i> Y <i>Staphylococcus aureus</i> AISLADOS DE LA SUPERFICIE EPITELIAL DE CARACHIS NEGRO Y AMARILLO.....	65
V.	CONCLUSIONES.....	81
VI.	RECOMENDACIONES	83
VII.	REFERENCIAS.....	84
	ANEXOS.....	94

Área: Ciencias Biomédicas.

Línea: Diagnóstico y Epidemiología.

Fecha de sustentación: 08 de mayo del 2023.



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Recuentos de <i>Escherichia coli</i> en la superficie corporal de caracho negro y amarillo.....	53
Figura 2.	Prueba de Tukey de los recuentos de <i>Escherichia coli</i> según número de muestreo en carachi negro.....	53
Figura 3.	Prueba de Tukey de los recuentos de <i>Escherichia coli</i> según número de muestreo en carachi amarillo.....	54
Figura 4.	Recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> en la superficie corporal de carachi negro y amarillo.....	60
Figura 5.	Prueba de Tukey de los recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> según número de muestreo en carachi negro.....	60
Figura 6.	Prueba de Tukey de los recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> según número de muestreo en carachi amarillo.....	61
Figura 7.	Expendio de carachis en el mercado Unión - Dignidad de la ciudad de Puno.....	96
Figura 8.	Preparación del caldo triptona para luego su vertimiento en bolsas herméticas para la agitación con las muestras de carachi.....	96
Figura 9.	Muestras de carachi negro y amarillo en bolsas herméticas con caldo triptona previo a su agitación.....	96
Figura 10.	Preparación de caldo triptona en tubos para su posterior dilución con las muestras.....	97
Figura 11.	Inoculación de la muestra líquida del lavado superficial de peces en diluciones de los tubos de ensayo.....	97
Figura 12.	Preparación de agar EMB y MS para el conteo de bacterias en placas, realizado para las primeras repeticiones.....	97



Figura 13. Siembra por extensión en placas de los resultados de las diluciones.	98
Figura 14. Colonias de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> en agar EMB (eosin metil blue) y MS (manitol salado).	98
Figura 15. Agar Baird Parker y su aditivo de yema de huevo - Telurito, específico para <i>Staphylococcus aureus</i>	98
Figura 16. Siembra de <i>Staphylococcus aureus</i> en placas Petry conteniendo agar Baird Parker.	99
Figura 17. Recuento de colonias bacterianas en el equipo de cuenta colonias.	99
Figura 18. Preparación de pruebas bioquímicas diferenciales para <i>Escherichia coli</i>	99
Figura 19. Pruebas bioquímicas para <i>Escherichia coli</i> y de catalasa para <i>Staphylococcus aureus</i>	100
Figura 20. Tinción de Gram de colonias bacterianas aisladas de carachi negro y carachi amarillo.	100
Figura 21. Observación al microscopio de <i>Staphylococcus aureus</i> (izquierda) y <i>Escherichia coli</i> (derecha).	100
Figura 22. Turbidez estándar 0.5 de McFarland.	101
Figura 23. Disposición de discos de sensibilidad en agar Mueller Hinton para <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>	101
Figura 24. Medición de los halos resultantes con un calibrador sobre una cartulina negra para una correcta observación.	101
Figura 25. Antibiógramas de <i>Staphylococcus aureus</i> (placas de la parte superior) y de <i>Escherichia coli</i> (placas de la parte inferior).	102
Figura 26. Diagrama de flujo de la metodología.	103



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Diámetros de halos de inhibición de <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los antibióticos (INS, 2002).	26
Tabla 2.	<i>Staphylococcus aureus</i> : toxinas y efectos biológicos (Martínez, 2005).	33
Tabla 3.	Requerimientos de número de muestras, recuentos tolerables y límites por g de muestra (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).	41
Tabla 4.	Distribución de muestras por pescado y repeticiones.	44
Tabla 5.	Recuentos de <i>Escherichia coli</i> ($\times 10^4$ UFC/g) en superficie corporal de carachis negro y amarillo.	51
Tabla 6.	Recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> ($\times 10^4$ UFC/g) en superficie corporal de carachis negro y amarillo.	58
Tabla 7.	Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de <i>Escherichia coli</i> aisladas de la superficie corporal de carachi negro.	66
Tabla 8.	Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de <i>Escherichia coli</i> aisladas de la superficie corporal de carachi amarillo.	70
Tabla 9.	Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de <i>Staphylococcus aureus</i> aisladas de la superficie corporal de carachi negro.	73
Tabla 10.	Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de <i>Staphylococcus aureus</i> aisladas de la superficie corporal de carachi amarillo.	77



Tabla 11. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de <i>Escherichia coli</i> según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis negro.	94
Tabla 12. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de <i>Escherichia coli</i> según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis amarillo.	94
Tabla 13. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis negro.	95
Tabla 14. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i> según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis amarillo.	95



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

°C	: grados centígrados
C. V.	: coeficiente de variabilidad
<i>et al.</i>	: y colaboradores
g	: gramo
R1, R2, R3, R4, R5:	repeticiones 1, 2, 3, 4 y 5
mm	: milímetros
NTS	: Norma técnica sanitaria
P	: probabilidad
pH	: potencial de hidrogeniones
Prom	: promedio
UFC/g	: unidades formadoras de colonia por gramo de muestra



RESUMEN

En los mercados de la ciudad de Puno, se expenden especies de carachis negro (*Orestias agassii*) y amarillo (*Orestias luteus*) muy apetecidos y consumidos por la población debido a su alto valor nutritivo, pero según la procedencia puede ser portadora de bacterias patógenas, asimismo carece de estudios sobre la carga bacteriana que posee de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en su superficie corporal y la susceptibilidad a los antibióticos de prescripción médica en salud pública. En tal sentido, el objetivo general fue determinar la calidad bacteriológica del tejido superficial y la susceptibilidad antibiótica en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aislados de individuos de carachi negro (*Orestias agassii*) y carachi amarillo (*Orestias luteus*) expendidos en el mercado Unión – Dignidad de la ciudad de Puno. Para ello se adquirió 50 muestras entre carachis negro y amarillo en el mercado Unión - Dignidad de Puno, la cuantificación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* fue mediante el método de recuento en placa utilizando los medios de cultivo agar EMB y Baird Parker respectivamente, se realizó pruebas bioquímicas para la identificación de cada bacteria, los recuentos fueron interpretados según la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 para productos hidrobiológicos crudos y frescos. La prueba de susceptibilidad bacteriana se realizó mediante la técnica de Kirby – Bauer con discos de antibióticos para enterobacterias y *Staphylococcus* (INS, 2002). Los datos numéricos se analizaron mediante promedios, coeficientes de variación, análisis de varianza y pruebas de Tukey. Los recuentos bacterianos en superficie epitelial de los carachis fueron superiores a los valores permitidos en la norma vigente, con recuentos de *Escherichia coli* entre 3.52×10^4 UFC/g en carachi negro y 22.70×10^4 UFC/g en carachi amarillo, *Staphylococcus aureus* entre 2.18×10^4 UFC/g y 12.74×10^4 UFC/g ambos valores en carachi negro. *Escherichia coli* fue resistente a amoxicilina - ácido clavulánico (8%) en carachi negro, a ampicilina (24%), amoxicilina - ácido clavulánico (60%) y a ácido nalidíxico (24%) en carachi amarillo. *Staphylococcus aureus* fue resistente a tetraciclina (8%), penicilina (80%), nitrofurantoína (24%) en carachi negro y a penicilina (72%) y nitrofurantoína (12%) en carachi amarillo. Se concluye en que los recuentos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* superan los valores permitidos por la NTS N° 0.71 y poseen resistencia a amoxicilina + ácido clavulánico, ácido nalidíxico, tetraciclina, penicilina y nitrofurantoina.

Palabras clave: calidad, *Escherichia coli*, *Orestias*, *Staphylococcus aureus*, susceptibilidad antibiótica.



ABSTRACT

In the markets of the city of Puno, species of black (*Orestias agassii*) and yellow (*Orestias luteus*) carachis are sold, highly desired and consumed by the population due to their high nutritional value, but depending on the origin, they can carry pathogenic bacteria. Likewise, there are no studies on the bacterial load of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* on its body surface and its susceptibility to prescription antibiotics in public health. In this sense, the general objective was to determine the bacteriological quality of the superficial tissue and the antibiotic susceptibility in *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from individuals of black carachi (*Orestias agassii*) and yellow carachi (*Orestias luteus*) sold in the Unión - Dignidad de the city of Puno. For this, 50 samples were acquired between black and yellow carachis in the Unión - Dignidad market in Puno, the quantification of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was by means of the plate count method using the EMB and Baird Parker agar culture media respectively, it was carried out biochemical tests for the identification of each bacterium, the counts were interpreted according to NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 for raw and fresh hydrobiological products. The bacterial susceptibility test was performed using the Kirby-Bauer technique with antibiotic disks for enterobacteria and *Staphylococcus* (INS, 2002). Numerical data were analyzed using averages, coefficients of variation, analysis of variance, and Tukey's tests. The bacterial counts on the epithelial surface of the carachis were higher than the values allowed in the current standard, with *Escherichia coli* counts between 3.52×10^4 CFU/g in black carachi and 22.70×10^4 CFU/g in yellow carachi, *Staphylococcus aureus* between 2.18×10^4 CFU/g and 12.74×10^4 CFU/g both values in black carachi. *Escherichia coli* was resistant to amoxicillin - clavulanic acid (8%) in black carachi, to ampicillin (24%), amoxicillin - clavulanic acid (60%) and to nalidixic acid (24%) in yellow carachi. *Staphylococcus aureus* was resistant to tetracycline (8%), penicillin (80%), nitrofurantoin (24%) in black carachi and to penicillin (72%) and nitrofurantoin (12%) in yellow carachi. It is concluded that the counts of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* exceed the values allowed by NTS No. 0.71 and have resistance to amoxicillin + clavulanic acid, nalidixic acid, tetracycline, penicillin and nitrofurantoin.

Keywords: quality, *Escherichia coli*, *Orestias*, *Staphylococcus aureus*, antibiotic susceptibility.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La carga bacteriana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* que poseen los alimentos de origen animal y procedentes de un cuerpo acuático como los peces, se elevan rápidamente debido a los altos niveles de proteínas, la manipulación por personas en diferentes etapas, el uso de utensilios poco higiénicos y las condiciones de venta expuesta al aire en el establecimiento de venta, originan la contaminación bacteriana de carachi negro (*Orestias agassii*) y carachi amarillo (*Orestias luteus*) en el mercado Unión – Dignidad de la ciudad de Puno.

El estudio de la carga bacteriana que posee la superficie corporal de los carachis negro y amarillo y la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, fueron las razones de investigación, que no solo deberá ser divulgada a la comunidad científica y académica, sino también a la municipalidad y las autoridades que velan por la salud pública, para que tomen las medidas correctivas y la población consuma recursos hidrobiológicos inocuos y así lograr una nutrición adecuada.

Los carachis negro y amarillo (*Orestias agassii* y *Orestias luteus*) motivo de la presente investigación fueron considerados en razón de que planificó evaluar los conteos bacterianos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en sus superficies corporales y seguidamente evaluar la susceptibilidad a los antibióticos, en razón de que los peces procederían de zonas acuáticas contaminadas con aguas residuales que presentarían altos recuentos bacterianos y con resistencia a los antibióticos, siendo posible su expendio a la población consumidora transmitiendo dichas bacterias.

Las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* son patógenos que afectan



a la salud de personas y animales, este hecho produce la necesidad de realizar tratamientos con antibióticos, donde su uso inadecuado es la principal causa de resistencia antibiótica, suponiendo un problema en el tratamiento clínico de enfermedades.

Por tales razones la presente investigación presentó los siguientes objetivos general y específicos:

1.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad bacteriológica del tejido superficial y la susceptibilidad antibiótica en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aislados de individuos de carachi negro (*Orestias agassii*) y carachi amarillo (*Orestias luteus*) expendidos en el mercado Unión – Dignidad de la ciudad de Puno, 2022.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar los recuentos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en la superficie epitelial externa del carachi negro (*Orestias agassii*) y carachi amarillo (*Orestias luteus*) expendidos en el mercado Unión - Dignidad.
- Evaluar la susceptibilidad antibiótica de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aislados de la superficie epitelial en carachi negro (*Orestias agassii*) y carachi amarillo (*Orestias luteus*).



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

García *et al.*, (2003), en Chihuahua (México), caracterizaron la calidad microbiológica del cultivo de 200 truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y 260 muestras de agua de producción de la misma y reportaron que la trucha tuvo diferencias entre épocas con respecto a mesófilos aerobios (398.11 UFC/ml en invierno y 19,489.45 UFC/ml en verano), sin aislar *Salmonella*, por tanto la trucha producida en esta zona tiene buena calidad microbiológica superficial y el sistema de producción no deteriora el ecosistema de acuerdo a las regulaciones vigentes.

Corrales *et al.*, (2011), en Cundinamarca (Colombia), confirman la ausencia de los patógenos *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae* en los expendios de pescado fresco, pero si se aisló en alto índice de enterobacterias relacionadas con el agua de donde proviene el pescado, como *Citrobacter amalonaticus* y *Citrobacter freundii* en un 30% de las muestras; *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* y *Edwardsiella tarda* en un 10% respectivamente. Para la “Mojarra Roja” se aisló *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Edwardsiella tarda* y *Proteus mirabilis* en un 20% respectivamente y *Vibrio metschnikovii* en un 10%; microorganismos que en elevadas cantidades pueden representar un alto riesgo para la salud pública.

Martínez & Romero (2015), en el Puerto de La Libertad (San Salvador), para evaluar la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en los establecimientos de ventas fijas, obtuvo que el 100% de las muestras presentaron ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Vibrio cholerae*, el 30% presentó *Salmonella* spp, el 37% de



las muestras >460 NMP/g de coliformes fecales y el 100% sobrepasa los límites máximos permisibles para *Escherichia coli*, también encontraron coliformes totales, por tanto no son aptas para el consumo humano.

Navarro (2017), en Lima (Perú), determinó la calidad microbiológica de “jurel” y “choro” procedentes de treinta mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y de San Martín de Porres, donde el 56% del total de las muestras analizadas fueron consideradas “No aptas” para consumo humano, el 17% de las muestras de “jurel” y 63% de las muestras de “choro” superan los límites máximos permitidos establecidos para *Salmonella* sp *Escherichia coli*, fue aislada en el 7% de las muestras de “jurel” y el 20% de las muestras de “choro”. *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahaemolyticus* no fueron detectadas.

Romero (2017), en Jaén (España), estudió determinantes genéticos de tolerancia a los biocidas, los metales y la resistencia a los antibióticos en 14 especies de pescado y productos del mar y aisló a bacterias de los géneros *Pseudomonas* (63.33%), *Acinetobacter* (13.33%), *Aeromonas* (13.33%), *Shewanella*, *Proteus* y *Listeria* (un aislado cada uno), los cuales presentaron determinantes de resistencia a antibióticos como *sul1* (43.33%), *sul2* (6.66%), *blaTEM* (16.66%), *blaCTX-M* (16.66%), *blaPSE* (10.00%), *blaIMP* (3.33%), *blaNDM-1* (3.33%), *floR* (16.66%), *aadA1* (20.0%) y *aac* (6')-Ib (16.66%).

Vásquez *et al.*, (2018), en Huánuco (Perú), establecieron el estado microbiológico de los pescados y mariscos expendidos en mercados y mercadillos, en 49 muestras todas las muestras fueron positivas a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, en mayor o menor grado, dependiendo del mercado de origen de la muestra. *Escherichia coli* se identificó con un promedio de 208, 880 UFC, y *Staphylococcus aureus* con 259, 120



UFC. Las muestras del Mercado Central fueron las más contaminadas con *Escherichia coli*, y las del Mercadillo Don Pedrito las más contaminadas con *Staphylococcus aureus*.

Sánchez (2018), en Lima (Perú), con el objetivo de determinar molecular y fenotípicamente la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de agua de mar utilizada en el expendio de productos hidrobiológicos, de un total de 32 aislados de *Escherichia coli* en el terminal pesquero de Ancón el 40.6 % de estos aislados mostraron resistencia a ampicilina, 31.3% a tetraciclina y ácido nalidíxico, 15.6% a sulfatrimetropim y solo 3.1% a cloranfenicol; mientras que de los aislados del terminal pesquero de Chorrillos el 46.9% fue resistente a ampicilina y tetraciclina, 40.6 % a ácido nalidíxico y oxitetraciclina, mientras que todos los aislados fueron sensibles al cloranfenicol.

Sanabria & Chiquillo (2019), en Boyacá (Colombia), indican que las especies más consumidas son la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y el bagre (*Brachyplatistoma* sp.), al determinar su calidad microbiológica, evidenciaron la presencia de cepas de *Salmonella* spp, *Escherichia coli*, y *Vibrio* spp, por tanto, los peces evaluados no cumplen con los requisitos microbiológicos para ser comercializadas y podrían representar una potencial amenaza para la salud del consumidor.

Rondón *et al.*, (2020), en Pucallpa (Perú), caracterizaron el agua y el pescado desde el desembarque hasta la venta, en el puerto de Pucallpa, los parámetros fisicoquímicos de las muestras de agua estaban dentro de los rangos normales y se detectó a coliformes, *Escherichia coli* y *Pseudomona* sp en niveles elevados, en los pescados, los mesófilos superaron al Límite Máximo Permisible (LMP) en carne de bagre (*Siluriforme* spp), *Escherichia coli* estuvo en bajos niveles en la carne de las tres especies evaluadas (boquichico - *Prochilodus nigricans*, palometa - *Mylossoma duriventre* y bagre), *Staphylococcus aureus* estuvo presente en niveles bajos, pero por encima del LMP en



bagres; *Salmonella* sp, *Vibrio cholerae* y *Vibrio parahemolyticus* estuvieron ausentes.

Gázquez (2020), en Jaén (España), manifiesta que el pescado constituye uno de los pilares básicos de la alimentación debido a sus propiedades nutricionales, evaluó bacaladilla, merluza, lubina, tintorera, dorada, boquerón, caballa, jurel, salmón y sardina y determinó que los mesófilos totales se encuentran dentro de los límites establecidos por la FAO y por el Reglamento (CE) N° 2073/2005, a excepción de la bacaladilla que sobrepasa y respecto a las resistencias a antibióticos, el porcentaje de cepas resistentes y multirresistentes que se han obtenido han sido de 100% y 70%, respectivamente.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Calidad bacteriológica de tejido superficial de peces

Los mariscos y pescados consiguen formar parte de ser transmisores de microorganismos, los alimentos como pescado y marisco incluyen formas de transmisión de patógenos clásicos y emergentes para la humanidad (Yucel, 2010). Los patógenos con mayor preeminencia mencionados ya, referencian a *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas* spp., *Listeria* spp. y especies relevantes del género *Vibrio*; sin embargo, la mayoría de los estudios realizados con la comercialización de pescados y mariscos abocan en su colectividad a la búsqueda de *Vibrio parahaemolyticus* y *Vibrio cholerae* no-O1/no-O139 (Da Silva *et al.*, 2010).

Pese a que los pescados son demandados en niveles altísimos, una manipulación adecuada e higiene se debe a tres factores: a) el contenido con más del 70% de agua y el contenido de proteína de 17 al 20% que es un medio selectivo para el crecimiento de los microorganismos. b) ya en el pescado, estas empiezan a actuar gracias a las enzimas, provocando un deterioro oxidativo; y c) las vías de contaminantes del mar o del medio



ambiente al lado de la desembocadura de los ríos, aún peor reciben aguas servidas (Buorgeois *et al.*, 2005).

Además, las diferentes etapas por las que traspasan los productos pesqueros en el mercado, en distintas oportunidades conllevan a una serie de circunstancias que impactan en forma negativa en la inocuidad y calidad de éstos (Vásquez *et al.*, 2018).

Las consecuencias que acarrearán comúnmente presentan relación con la inapropiada infraestructura para amparar la cadena de frío, empezando desde la recolección hasta llegar al consumidor; debido a la falta de cuidado con la manipulación de estos productos, profanación con extraños microorganismos, el chantaje económico y sanitario, esto en base a la extracción de recursos en lugares prohibidos (FAO/INFOPECA, 2013).

Como consecuencia de la mala gestión y pérdida de la calidad de productos con microorganismos, conlleva a causar situaciones de intoxicación, infección alimentaria, y alteraciones de los mismos alimentos. En tanto surgieron cuestiones de enfermedades relacionados con agentes bacteriológicos en los distintos alimentos, como ejemplo en Piura en el año 1991 se reflejó una incidencia debido al consumo de alimentos contaminados con *Vibrio cholerae*. En niños suma enfermedades diarreicas con causas relevantes de morbilidad y mortalidad a diferencia de otras edades (Carbajal, 2003).

Respecto al pronunciamiento de la normativa en el país, el SANIPES formuló “Lineamientos para el expendio de pescados, mariscos y/o productos hidrobiológicos en mercados de abasto mayoristas y minoristas”; se encontraron requisitos en su capítulo IX, haciendo saber que los proveedores a cargo de los mercados minoristas que comercializan pescado, mariscos y/o productos hidrobiológicos deben cumplir con: recibir, manipular,



almacenar bien y exhibir a los consumidores, de este sentido reducir al mínimo los posibles influyentes peligrosos, defectos de inocuidad alimentaria y se mantengan la calidad primordial, además de asegurar el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Higiene y Manipulación de pescado, mariscos y productos hidrobiológicos (SANIPES, 2016).

Sin embargo, para la mantención del pescado libre de agentes patógenos, aún muchos no disponen de locales distribuidoras de perfectas condiciones; se fundamenta con que los comerciantes tienen déficit con escamas de hielo o simplemente no utilizan en la conservación del alimento comercializado, en tanto, estos alimentos duran por varias horas a temperatura ambiente, que solo los refrescan con agua la parte superior del pescado; con el objetivo de máquetin, y de esta manera embaucadora su venta influye riesgo a la salud pública (Carreño & Arquino, 2014).

Datos indicados con una contaminación de fuente terrestre, cabe decir que hay presencia de microorganismos como los coliformes fecales en estos alimentos (CIEMA, 1985). Desde el enfoque de la salud pública, la presencia de este grupo indicador es sumamente valioso por la relación con microorganismos patógenos proveniente de animales de sangre caliente (Fapohunda *et al.*, 1994). El mantenimiento de las coliformes es debido a la competición con el microbiota, concentración de sales, y los nutrientes (Hermenegildo & Pérez, 2017).

2.2.2 Susceptibilidad antibiótica

Indica la incapacidad de los microorganismos de presentar crecimiento a los efectos de un antimicrobiano, y lo contrario es la resistencia indicando la capacidad de sobrevivir a altas concentraciones de antibióticos, realizando la selección natural, también



mutaciones o presión selectiva a una población (Abreu *et al.*, 2011). La OMS ha considerado como uno de los fundamentales problemas de salud pública (Cifuentes *et al.*, 2014), debido a que disminuye la eficacia terapéutica, esto ocasionando la transmisión del agente infeccioso hacia otros, desarrollando amenazas de seguridad sanitaria y una elevación de costos para la atención (Galán *et al.*, 2014). Cuando más cepas están involucradas es debido a la resistencia de los antibióticos.

2.2.3 Resistencia bacteriana a los antibióticos

La resistencia a los antibióticos implica más cepas, nuevos mecanismos y nuevas especies, a lo largo del tiempo con el uso inapropiado e indiscriminado de antimicrobianos (Calderón & Aguilar, 2016).

Asimismo, la resistencia antimicrobiana es la capacidad de una bacteria de mantenerse a la exposición de una concentración mínima inhibitoria (CMI) de diferente o cualquier antibiótico, ya sea que presente la capacidad de inhibición o elimine a otras de la misma especie (Alós, 2015); por el contrario, la multiresistencia es la resistencia de un microorganismo a la exhibición de varias dosis terapéuticas, que serán tres o más antibióticos, que pertenecen a diferentes grupos antibacterianos (Cabrera *et al.*, 2007).

a. Mecanismos de transferencia de ADN para la resistencia a los antibióticos

Indicando sobre la resistencia antimicrobiana, se menciona de la capacidad que ejerce el agente y/o mecanismo que posee un microorganismo para resistir y sobrevivir a los diferentes efectos de un antibiótico, disminuyendo o inactivando la acción de los agentes antimicrobianos (Fernández *et al.*, 2003). Las bacterias tienen resistencia a los antibióticos debido al intercambio de material genético y mutaciones cromosomales entre agentes bacterianos, los mecanismos son:



- **Transformación.** Es la transferencia o incorporación por un microorganismo de ADN libre extracelular originario de la lisis de otras bacterias (Moreno *et al.*, 2009).
- **Transducción.** Trata en la transferencia de ADN desde un agente bacteriófago hacia el ADN cromosómico o plasmídico de un microbio (virus que infecta bacterias) (Abreu *et al.*, 2011).
- **Transposición.** Indica movimiento de una región de ADN (transposón) que puede integrar genes para la resistencia a varios antibióticos y otros segmentos de ADN reunidos son buenos para la expresión de un promotor en particular (Cabrera *et al.*, 2007).
- **Conjugación.** Consiste en el cambio de material genético entre dos microorganismos bacterianos señalados como donante y receptor, a través de un contacto físico o entre ambas hebras sexuales (Abreu *et al.*, 2011).

Además, la resistencia bacteriana tiene alcance de ser natural o intrínseca, está siendo específica de las bacterias y se visualiza en el uso de antibióticos siendo inherente a una especie en concreto; y la adquirida (Fernández *et al.*, 2003). Es fundamental en la práctica para el médico y para un microbiólogo, evitando de que se exponga de manera errónea los antibióticos en donde algunas bacterias son resistentes. La resistencia adquirida siendo una permuta en su estructura genético bacteriano, generando un falaz problema en lo clínico; también, es un fenómeno temporal debido a que está condicionada por factores de su entorno y/o suelen ser intactos cuando presentan mutaciones o haber adquirido a través de integrones, plásmidos, transposones, u otros (Abreu *et al.*, 2011).



b. Mecanismos de resistencia a los antibióticos en las bacterias

- **Bombas de reflujo o expulsión del antibiótico del interior de la célula bacteriana.** Es un transporte del agente microbiano al exterior de la célula sin alterar, y sin acción antimicrobiana (Moreno *et al.*, 2009), con bombas de expulsión dependientes de energía (Abreu *et al.*, 2011).
- **Modificación o inactivación del antibiótico mediante enzimas hidrolíticas.** Es en base al mecanismo común de resistencia adquirida determinado a través de la producción de enzimas que hidrolizan al agente microbiano (Cordiés *et al.*, 1998), como las enzimas hidrolizadoras del anillo betalactámico de la molécula y betalactamasas (Cabrera *et al.*, 2007).
- **Bloqueo de la penetración del antibacteriano mediante modificación del sitio activo.** El bloqueo mediante la alteración del lugar de unión del antimicrobiano sobrelleva una pérdida de la afinidad y con esa acción impide (Abreu *et al.*, 2011); además, la modificación de un aminoácido producirá un blanco diferente y esto disminuirá la afinidad de unión por el agente microbiano (Moreno *et al.*, 2009).
- **Modificación de PBP (penicilin-bindingprotein).** Es un complejo enzimático que interactúa permitiendo la síntesis del peptidoglicano, si en caso se genera la mutación del área de unión al agente bacteriano será imposible generar resistencia y la actuación (Moreno *et al.*, 2009).
- **Modificación ribosomal.** Los siguientes genes *erm A* y *erm B* alteran el sitio activo del ribosoma prosiguiendo metilación, y tal sentido constituye el mecanismo importante en la resistencia a macrólidos (*Staphylococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae*) (Moreno *et al.*, 2009).
- **Variación de la permeabilidad de la membrana citoplasmática bacteriana.** Son alteraciones en el número y diámetro de porinas, logrando estancar el paso de



antimicrobiano al agente microbiano, así no alcanza el núcleo celular (Cordiés *et al.*, 1998). Resaltante en las bacterias Gram negativas, ellas presentan porinas que facilitan u obstruyen el paso de moléculas hidrofóbicas (Abreu *et al.*, 2011).

- **Biofilmes.** Son protectores de la luz ultravioleta (UV), acción de los antibióticos, deshidratación, amenazas ambientales y de mecanismos de defensa inespecíficos del organismo (Abreu *et al.*, 2011).
- **Expresión incrementada del sitio blanco.** Están presentes en micobacterias, a causa de la duplicación génica a las mutaciones o alteraciones de los principales implicados en la transcripción de estos genes (Cabrera *et al.*, 2007). El INS (2002), recomienda la utilización de los siguientes antimicrobianos para evaluar su respuesta frente al crecimiento bacteriano (Tabla 1):

Tabla 1. Diámetros de halos de inhibición de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* frente a los antibióticos (INS, 2002).

Grupo	Antimicrobiano	Contenido del disco	Diámetro en mm		
			Resistente	Intermedio	Sensible
<i>Enterobacterias (Escherichia coli)</i>					
Penicilinas	Ampicilina	10 µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17
Cefalosporina	Cefotaxima	30 µg	≤ 14	15 – 22	≥ 23
β - Lactámico	Amoxicilina + Ácido clavulánico	20/10 µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18
Aminoglucósido	Gentamicina	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15
Quinolona	Ácido Nalidíxico	30 µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19
Otros	Trimetoprim sulfametoxazol	1.25/23.75 µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16
<i>Staphylococcus aureus</i>					
Aminoglucósido	Gentamicina	10 Unid	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Tetraciclina	Tetraciclina	30 µg	≤ 14	15 – 18	≥ 19
Penicilina	Penicilina	10 unidades	≤ 28	–	≥ 29
Otros	Nitrofurantoina	300 µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17
Fluoroquinolonas	Ciprofloxacina	5 µg	≤ 15	16 – 20	≥ 21

c. Impacto de la resistencia antibiótica en la salud pública

La implicancia de la resistencia bacteriana a distintos antibióticos amplió el panorama a nivel económico, social y político; en donde el antibiótico pierde su propiedad, en seguida aparecen microorganismos bacterianos panresistentes, que funcionan incontroladamente y se diseminan mediante la transferencia de genes de resistencia causando patologías no clínicas, y a un futuro 2050 se diagnostican más defunciones por tales infecciones bacterianas a lo actual como es el cáncer (Quesada *et al.*, 2016).



La existencia de microorganismos resistentes en hombres, medio ambiente, animales y alimentos abarca un problema complejo y global, se originó ante el excesivo uso de antibióticos, expandiéndose a nivel global causando un impacto a la salud pública, y también impactó en la economía de distintas naciones. En Latinoamérica se estableció realizar evaluación a la resistencia a los antibióticos específicamente y a la vigilancia epidemiológica de enfermedades, tomando en cuenta la inmensa variedad de paisajes geográficos, diversidad biológica y climas (Dangles *et al.*, 2016), el compartir de muchas similitudes entre los países de Latinoamérica hace que existe una amplia brecha: los saneamientos son inapropiados, viviendas en muy mal estados y entre otras muchas cosas, causando factores para la propagación de agentes patógenos, desarrollo de genes entre hombre y en el medio ambiente (Ramón *et al.*, 2018).

A pleno periodo del tiempo presente se observó la amplia variedad de resurgimientos resistentes a antibióticos por parte de agentes microbianos, en el 2016 se identificó un gen *mcr-1* que brinda resistencia al antibiótico colistina, prendiendo las alarmas de alerta epidemiológicas de la Organización Panamericana de la Salud (OPS / OMS, 2016), sin embargo en el pasado prevaleció en *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* en los años 2011 y 2014 en China, se encontró la expresión del gen *mcr-1* en 16 (1%) de 1322 personas hospitalizadas, 166 (21%) de 804 muestras de animales y 78 (15%) de 523 muestras en carnes crudas (Liu *et al.*, 2016), de los Latinoamericanos se aislaron *Salmonella* y *Escherichia coli*, en hombres, aves y carnes de cerdos (Scov & Monnet, 2016), en donde la transferencia de los genes se basó mediante la participación de los plásmidos, influyendo a varios especímenes; ya a los últimos diez años los enterococos estuvieron causando severas infecciones y a la atención de la salud pública, en los EEUU se acopló las oxazolidinonas, llamada por otro nombre como linezolid, para



poner un freno contra infecciones por enterococo que presentaron resistencia a vancomicina, incluyendo a *Staphylococcus aureus* que también es resistente al antibiótico metilina (Ramón *et al.*, 2018).

El gen conocido como *optrA*, brinda resistencia a fenicoles y a oxazolidinonas (cloranfenicol como florfenicol) en las bacterias *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*, en muestras de hombres y animales (He *et al.*, 2016), el problema en la salud pública aporta y conlleva a manifestaciones de aislamiento en portadores con bacterias en humanos, animales como cerdo y pollo; en cambio, no hay certeza directa con su transmisión entre patógenos *optrA* en animales y humanos, obteniendo el 80% del consumo de antimicrobianos básicamente en el sector animal, con el fin de estimular el grado largo del crecimiento en los animales, esquivando el riesgo para la selección de estos y la diseminación de resistencias, un vía de transmisión a humanos es mediante los alimentos o la influencia del medio ambiente, en esa misma línea se deben restringir el uso de antibióticos en el área de la ganadería, con el fin de disminuir la resistencia a los antimicrobianos en los humanos (Ramón *et al.*, 2018).

Cuando se empezó a restringir el uso de antibióticos en los animales para el consumo indirecto de los humanos, así mismo, el 15% de bacterias resistentes en los animales disminuyó, en cambio las bacterias multirresistentes en un porcentaje de 24% y 32% (Tang *et al.*, 2017), en seguida también en los seres humanos se podría reducir hasta un 24 % las bacterias resistentes, lo que requiere muchos estudios para aclarar tal teoría, la Organización Mundial de la Salud (OMS) encamina varias normas para el uso de antimicrobianos en los animales que son importantes a nivel alimenticio para el ser humano (OMS, 2017), indicando y recalando la preservación de la eficacia antimicrobiana en la salud humana y disminuyendo la intervención administrativa de



antibióticos innecesarios en los animales; insistentemente la OMS; además, recomienda disminuir el uso de antibiótico aplicados en seres humanos y en animales que serán procesados para la alimento humano, así también orientar su administración con un previo diagnóstico adecuado y prevenir infecciones o enfermedades (Ramón *et al.*, 2018).

Muchos países interesados a nivel global optaron por disminuir el uso de antibióticos que son destinados para consumo del hombre, la Unión Europea en el 2006 prohibió la administración de antibióticos del crecimiento (EUC, 2005); por otro lado, en el mercado los consumidores están comprando carne sin ningún suministro de antibióticos, a lo que conlleva tener influencia de regulaciones nacionales e internacionales, y política. Además, se debería destacar indicios de disminución y/o prevención de patologías en los animales, por medio de implementación higiénica en la producción, el idóneo proceso de la vacuna, aplicando nuevas técnicas de estabulación y en el desarrollo de los alimentos, siempre en cuando muestran apoyo financiero e inversión de las autoridades correspondientes (Ramón *et al.*, 2018).

La bacteria *Staphylococcus aureus*, presenta en su genoma una resistencia a los antibióticos expresado en el gen *blaZ*, a su vez realiza la síntesis de β -lactamasa, y la proteína de unión es *BlaI*, la expresión de la transcripción de los genes *blaZ* y *blaR1-blaI* están acoplados en la región del operón y la β -lactamasa presenta codificación a niveles bajos debido a que no hubo presencia de la penicilina. Al acoplarse la penicilina donde el receptor transmembrana (sensor – transductor) la proteína *BlaR1* promueve la auto activación catalítica, luego empieza a clivarse a sí mismo, por otro lado la proteína *BlaR1* activa directa o indirectamente, por otro camino la proteína *BlaR2*- rompe a *BlaI* sintetizando fragmentos inactivos, y así activándose el comienzo de la transcripción del



genes *blaZ* y gen *blaR1-blaI*, finalizando con la β - lactamasa, enzima importante de la producción extracelular de la penicilina (Lowy, 2003).

2.2.4 *Escherichia coli*

Es una bacteria bacilo Gram negativo, anaerobio facultativo, pertenece a la familia Enterobacteriaceae, son fermentadores la glucosa y la lactosa, básicamente son móviles e inmóviles, presentan pili o fimbrias, que les sirve para adherirse a las superficies mucosas del hospedero (Croxen *et al.*, 2013). Es una de las principales bacterias de la microflora de humanos y animales, en algunos casos se resaltan como patógenas causantes de diarrea o diarreogénicas, es más su factor de virulencia y las propiedades fenotípicas como *Escherichia coli* enteroagregativa (EAEC), enteropatogénica (EPEC), enteroinvasiva (EIEC), enteroagregativa (EAEC), enterotoxigénica (ETEC), productoras de toxinas Shiga (STEC) y de adherencia difusa (DAEC), y en concreto se reconocen dentro de los subgrupo enterohemorrágico (EHEC) (Kaper *et al.*, 2004).

Las manifestaciones clínicas producidas por una inefectiva dosis es de diez a cien bacterias por gramo de alimento, además depende de la susceptibilidad del hospedero (Scheutz & Strockbine, 2005), las sintomatologías son complicaciones diarreicas, colitis hemorrágica, las ITUs, meningitis, septicemia, el síndrome urémico hemolítico (SUH), entre varios otros más (Croxen & Finlay, 2009), lo otro es insuficiencia renal aguda, trombocitopenia y anemia hemolítica microangiopática (Delaquis *et al.*, 2007); la virulencia del microorganismo son factores natos en donde son responsables de la producción de toxinas tipo Shiga que son mortales para los endotelios vasculares (Croxen & Finlay, 2009).



La Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), nombró a *Escherichia coli* como un microorganismo adulterante en la carne de res molida, dado que las *Escherichia coli* no – O157 productoras de la toxina shiga (STEC), con sus serogrupos O26, O45, O103, O111, O121 y O145, originan manifestaciones casi iguales al serotipo O157:H7 (Gould *et al.*, 2013), éstos mencionados serotipos son adulterantes en la carne de res troceada (Almanza, 2011). Los animales como los ganados bovinos son reservorios para *Escherichia coli* O157 y no-O157 productoras de toxinas shiga, aunque forman parte de la flora normal intestinal, sin embargo, si encuentran canales contaminados abiertos con heces o heridas de la piel aprovechan al máximo (Gun *et al.*, 2003).

Scallan *et al.*, (2011), obtuvieron resultados aproximadamente de 63,153 casos de ETAs por un año en Estados Unidos causados por STEC O157 y las cepas no – O157 con 112,752 casos de enfermedades. Tales cifras muestran registros de alto impacto en la inocuidad y seguridad alimentaria, como en el comercio de carne bovina (Callaway *et al.*, 2003). En tanto *Escherichia coli* O157:H7 es reconocido como el patógeno más peligroso con respecto a contaminante de alimentos para la salud del hombre.

2.2.5 *Staphylococcus aureus*

Es un microorganismo presente en el ambiente, posee características distintas de virulencia y resistencia a los antibióticos, esta bacteria figura como un grave problema para la salud, por su repartimiento a nivel global, la morbimortalidad es considerable a nivel comunitario e intrahospitalario, ocasionando enfermedades resistentes a la meticilina (MRSA) e infecciosas, dicha resistencia se debe por selección natural a través de diferentes mutaciones producidas al azar, al abuso del uso de antibióticos; generando importancia de carácter genético convirtiéndose en una de las más importantes en las



clínicas y ETAs (Zendejas *et al.*, 2014). El género *Staphylococcus* son bacterias Gram positivas, con un diámetro entre 0.5 y 1.5 micras, fácil de reconocerlos debido a que son semejantes a un racimo de uva (Harris *et al.*, 2002), se han obtenido reportes de 35 especies conocidas con 17 subespecies, afectando también a los mamíferos, y presenta una capacidad fácil de propagación entre humano a animales y viceversa (Fox *et al.*, 2007).

Las ETAs ocasionadas por el consumo de alimentos contaminados con toxinas microbianas o con varias bacterias patógenas, asimismo teniendo favorecimiento de diversos ambientes, como la presión osmótica elevada y humedad reducida, por lo que habita en las secreciones nasales, entre otros (Tortora & Funke, 2007) del portador, a su vez, la contaminación puede ser endógena o en algún punto de su obtención (Parrilla *et al.*, 1993). Es capaz de producir enzimas extracelulares y toxinas ocasionando graves intoxicaciones alimentarias según la cantidad ingerida de alimento (Martínez, 2005). En la tabla 2 se dividen las toxinas.

Tabla 2. *Staphylococcus aureus*: toxinas y efectos biológicos (Martínez, 2005).

Toxinas	Efecto biológico
Citotoxinas (α , β , δ y γ leucocidina de PV)	Mecanismos poro – perforador sobre las membranas de leucocitos, eritrocitos, macrófagos, plaquetas y fibroblastos.
Toxina exfoliativa (ETA y ETB).	Proteasas que rompen los puentes intercelulares en el estrato granuloso de la epidermis.
Enterotoxinas (A – E, G – I).	Súper antígenos (estimula la proliferación de células T y la liberación de citosinas): estimula la liberación de mediadores químicos en los mastocitos, aumentando el peristaltismo.
Toxina del síndrome del choque tóxico TSST – 1.	Súper antígenos (estimulan la proliferación de células T y la liberación de citosinas); produce extravasación o la destrucción de las células endoteliales.

El incremento de patologías a causa de *Staphylococcus aureus* en humanos se debe a su resistencia a los agentes antimicrobianos y los sumisos cuidados médicos (Vasconcelos & De Souza, 2010), visto desde otro panorama, implica importancia en los factores de virulencia, adaptación y resistencia, en especial los elementos genéticos móviles (EGM), manipulados en la transferencia de información genética y determinación de la resistencia contra antimicrobianos (De Colsa, 2011). Muchos de los daños originados no sólo son los EGM, sino también sus enzimas extracelulares que son usados para la penetración y la invasión hacia los tejidos, se suma su capacidad de adherirse a tejidos del huésped, a materiales protésicos y forman biopelículas (Gordon & Lowry, 2008) además estas especies consiguieron sobrevivir sobre plásticos como los



catéteres intravasculares. *Staphylococcus aureus* presenta resistencia a los antibióticos junto a sus genes implicados como los son los plásmidos, los transposones y los profagos, incluyendo también poseer transferencia horizontal de genes con otras bacterias (Chambers & De Leo, 2009).

Los análisis genéticos de *Staphylococcus aureus* proceden de las cepas *Mu50* y *N315* y existen diez secuencias genómicas completas adicionales provenientes de otras cepas de *Staphylococcus aureus*, a su vez el cromosoma es circular y de 2.8 a 2.9 Mbp de tamaño y G+C de 33% (Madigan, 2003) además, tienen genes que codifican las toxinas, como las *TSST – 1* y enterotoxina estafilocócica. En cambio, *Staphylococcus aureus* es resistente a meticilina, biosintetiza proteínas de unión a penicilina tipo 2a (PBP2a) (Llarrull *et al.*, 2009), se acoplan a los betalactámicos con actividad antiestafilocócica (Velázquez, 2005), inhibiendo la síntesis de peptidoglicano, tal proteína lo codifica el gen *mecA*, incluso posee un complejo genético llamado *ccr* que codifica las recombinasas *ccrA*, *ccrB* y *ccrC*, estas a su vez permiten la movilidad del SCCmec de las cepas estafilocócicas (De Colza, 2011).

2.2.6 Carachi negro (*Orestias agassii* Cuvier & Valenciennes, 1846)

- a. **Distribución.** Se localizan desde el sur desde Antofagasta (Chile) hasta Ancash al norte del Perú (Dejoux & Iltis, 1991). Se encuentran en regiones someras del litoral en la etapa alevín, en cambio en la etapa de desarrollo emigran a las profundidades. La temperatura en su etapa de crecimiento oscila dentro de los rangos 15 a 20 °C (Buitron, 2005).



b. Posición taxonomía de *Orestias*. Sobre la base de la revisión bibliográfica especializada y a las investigaciones propias, Zúñiga (1998), indica el siguiente orden taxonómico para las especies ícticas nativas del lago Titicaca es:

Dominio	: Eukarya
Reino	: Animal
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Grupo	: Gnathostomata
Super clase	: Pisces
Clase	: Actinopterygii
División	: Teleostei
Super Orden	: Cyprinodontimorpha
Orden	: Cyprinodontiformes
Sub Orden	: Cyprinodontoidei
Super Familia	: Cyprinodontoidae
Familia	: Cyprinodontidae
Sub Familia	: Cyprinodontinae
Género	: <i>Orestias</i>
Especie	: <i>Orestias agassii</i> Cuvier & Valenciennes 1846
Nombre común	: carachi negro (Qollasuyo y CIPP UNA, 2000).

d. Épocas de reproducción. Ohashi (1992), menciona que tienen ovas todo el año, sin embargo, maduran sexualmente en los meses de julio a octubre en un mayor número. Necesariamente producen huevos demersales más pesados que el agua, además adhesivo de forma translúcida, con una viscosidad y color amarillento. Y con una mediana reproducción oscilan entre marzo y mayo.

e. Hábitos alimenticios. Según, Guzmán & Sielfeld (2009), en el contenido estomacal oscilaban; ostrácodos, anfípodos, copépodos, moluscos, coleópteros, ácaros y algas



micrófitas, las especies consumidas permiten afirmar que es un predador carnívoro, que se alimenta de una amplia variedad de micro crustáceos que busca activamente entre la vegetación, según Vilca *et al.*, (2002), así mismo, las tallas menores tienen mayor preferencia por los organismos bentónicos y en las tallas mayores es zooplanctófaga.

- f. **Coloración.** Ohashi (1992), define que, el tamaño del adulto varía en el rango entre 10 a 18 cm, la coloración varía de acuerdo al desmesurado polimorfismo en especial en los estadios juveniles, en cambio los adultos son más negros por la parte dorsal, en los fondos más claros y con un vientre completamente blanco.
- g. **Forma y caracterización del cuerpo.** Ruiz (2004), nos detalla a la especie con un cuerpo fusiforme y largo, las escamas del cuerpo cambian de acuerdo a la edad y solo tiene una aleta dorsal. Arratia (1981), describe que tiene un patrón de descamación irregular, en la región anterior a la órbita y en la zona cefálica en la cabeza.
- h. **Tamaño y peso.** Ruiz (2004), menciona que, en las *Orestias* hembras la longitud alcanzada a los 157.8 mm, diámetro estándar es de 131.4 mm, además con un peso de 66.2 g y en machos se observan una longitud total de 143.1 mm, 117.3 mm diámetro estándar y con un peso de 45.7 g siendo menor que las hembras. En el lago Titicaca las especies ícticas presentan menor biomasa que la especie *Orestias luteus*. Las *Orestias* debido a su variada alimentación y de acuerdo a lugar que reside son reconocidas como especies oportunistas. Cabe señalar que también la alimentación de las *Orestias* oscila de acuerdo a la edad y biotopos; de esa forma los alevinos en sus primeras edades se alimentan de zooplancton y fitoplancton; los especímenes tanto juveniles y adultos tienen una alimentación eurífaga, dieta balanceada por varios componentes (Vilca *et al.*, 2002).



2.2.7 Carachi amarillo (*Orestias luteus* Cuvier & Valenciennes, 1846)

a. **Posición taxonómica.** Según (Thernavin, 1944) citado por (QOLLASUYO & CIPP UNA, 2000), el carachi amarillo posee la siguiente clasificación taxonómica:

Dominio	: Eukarya
Reino	: Animal
Phylum	: Chordata
Sub Phylum	: Vertebrata
Grupo	: Gnathostomata
Super clase	: Pisces
Clase	: Osteichthyes
División	: Teleostei
Super Orden	: Cyprinodontimorpha
Orden	: Cyprinodontiformes
Sub Orden	: Cyprinodontoidei
Super Familia	: Cyprinodontoidae
Familia	: Cyprinodontidae
Sub Familia	: Cyprinodontinae
Género	: <i>Orestias</i>
Especie	: <i>Orestias luteus</i> Cuvier & Valenciennes, 1846
Nombre común	: carachi amarillo (Qollasuyo y CIPP UNA, 2000).

b. **Descripción biométrica.** *Orestias luteus* nombre común “carachi amarillo” muestra tallas superiores al rango entre los 148-163 mm. Presentan una ausencia total de machos, en vista que aún no alcanzan las tallas referentes, las hembras como los machos oscilan entre las tallas 123-133 mm. Cruz (1984), indica que la longitud promedio de *Orestias luteus* es de 86 mm, donde el 50% de la población alcanza su primer desove a tallas de 112 mm.



c. Características biomorfológicas (Thernavin, 1944). La coloración del cuerpo es de color gris amarillenta por la parte dorsal, en algunas partes oscuras y el abdomen amarillo cremoso o también amarillo canario. Presenta la cabeza casi redonda y un cuerpo por su parte lateral comprimido. Sus dos ojos simétricamente orbitales, casi convexos. Tiene la boca protractil, presenta dientes romos y la comisura baja hacia un nivel más bajo de la órbita. Tiene las escamas con granulaciones en la parte anterior, grandes y pronunciadas al tacto, de radios circulares (ctenoidea). Las aletas presentan un dorsal posterior, aletas ventrales, una anal, dos aletas pectorales, aleta anal presente, aleta caudal típicamente homocerca con el borde convexo.

El aparato digestivo internamente inicia con la boca protractil con premaxilares y maxilares, tienen dientes de arcos branquiales simples. En la cavidad bucofaríngea se localiza una pequeña y lisa lengua, y a sus costados están las branquias. El estómago en estas especies no existe de tal forma, sino presenta una región del intestino dilatado que concluye en un ciego pilórico y prosigue con el intestino; en su mayoría la longitud de la cavidad celómica y en el interior se repliega. Se encuentra en su porción final una válvula intestinal, cumpliendo empíricamente dos funciones como el retorno de alimento ingerido y prolongación de la digestión. El hígado rojizo de contextura voluminoso ubicado en la parte anterior de la cavidad celómica, junto a la vesícula biliar de color amarillo y algo esférica. El corazón está cerca de las branquias y cerca a la cavidad opercular y es pequeña. Los testículos de los machos son alargadas y a su vez se comunica con el orificio genital a través del conducto, asimismo en las hembras tienen un solo ovario y están cerca a la abertura anal de ambos.

d. Alimentación (Qollasuyo & CIPP UNA, 2000). La alimentación de *Orestias luteus* “carachi amarillo” está constituida por tres épocas con un promedio anual de 96.3% y



97.5% de volumen, constituidos por anfípodos en las tres épocas; 8.15% y volumen 2.05% constituidas por las larvas de quironómidos en las épocas de invierno seco, y 4.57% y volumen 1.09% en época transitoria; en la temporada de lluvia con un 19.44% volumen 2.27% constituida por el alimento ostrácoda y también están los más importantes que lo conforman los moluscos (planorbis, pelecípoda, y littoridina) porcentaje 10.97%, con un porcentaje de 6.27% las ovas de los pescados fueron consumidos en la temporada de invierno. Aunque para esta especie el zooplancton y grupo terrestre no son importantes; con el 2.37% y volumen 4.85% en la temporada transitoria representa el Corixidae como un grupo nectónico. Resaltando que *Orestias luteus* “carachi amarillo” se representa como una especie bentónica, carnívoro y con una dieta no muy variada (estenófaga).

e. Distribución geográfica. La especie *Orestias* se extiende geográficamente desde el norte de Perú aproximadamente desde la provincia de Ancash (Perú) hasta Antofagasta (Chile). Es endémico debido a que están presentes en los profundos lagos y corrientes de los Andes Peruanos, de los vecinos países bolivianos y chilenos, y lo más resaltante es que se encuentran de un total de 43 especies en la cuenca cerrada del lago Titicaca y de los cuales 23 existen solo en el Lago Titicaca. El lago se compone de tres zonas, el lago menor y Bahía de Puno son reservorios de una gran cantidad de especies, sin embargo, aún no se sabe la cifra exacta de las especies de *Orestias* en el lago o solamente la facilidad de su colección. Las relevantes densidades de la población de *Orestias* se localizan en los lagos: Poopó (Bolivia), Titicaca (Perú y Bolivia) y Junín (Perú), ríos y lagunas aledañas. Ya hacia los tramos mayores se presencia los 4299 msnm su distribución altitudinal, así pudiendo vivir las *Orestias* en riachuelos y charcos de muy poca profundidad. Yacía en el año de 1979 se descubrió *Orestias* al norte de Lima, en 3 pequeños lagos dando como



esperanza que puedan encontrarse *Orestias* en los numerosos lagos pequeños que se encuentran al sur de los Andes ecuatorianos (Parenti, 1984).

2.2.8 NTS N° 071-MINSA/DIGESA V.01.

La Norma Técnica Sanitaria, se origina del artículo 92° de la Ley N° 26842 Ley General de Salud, quien manifiesta que la autoridad de salud está encargada del control sanitario de los alimentos y bebidas. Por otro lado, en el artículo 25° de la Ley N° 27657, Ley del Ministerio de Salud, manifiesta que la Dirección General de Salud Ambiental (DIGESA) está encargada del saneamiento básico, salud ocupacional, higiene alimentaria, zoonosis y la protección del ambiente. Asimismo, el artículo 49° del reglamento de organización y funciones del MINSA, indica que la Dirección de Higiene Alimentaria y Zoonosis de la DIGESA concerta y articula los aspectos técnicos y normativos en temas de inocuidad de alimentos bebidas y prevención de zoonosis. Esta norma señala los criterios microbiológicos que deben cumplir los alimentos y bebidas naturales o procesados, con la finalidad de ser considerados como aptos para el consumo humano (Diario Oficial El Peruano, 2008). Esta norma técnica sanitaria fue aprobada por la Resolución Ministerial N° 591-2008-MINSA.



Tabla 3. Requerimientos de número de muestras, recuentos tolerables y límites por g de muestra (NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01).

Agente microbiano	Categoría	Clase	n	c	Límite por g	
					m	M
<i>Escherichia coli</i>	4	3	5	3	10	10 ²
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	5	2	10 ²	10 ³



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 ZONA DE ESTUDIO

Estuvo conformada por el mercado Unión - Dignidad ubicada en la Avenida Simón Bolívar de la ciudad de Puno (provincia y región Puno). Este centro de abastos presenta puestos de venta de carne porcina, ovina, bovina, pollo, pescados, entre otros. La carga bacteriana superficial de los carachis negro y amarillo y las determinaciones de la susceptibilidad antibiótica se desarrollaron en el Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

3.2 DISEÑO Y TIPO DE ESTUDIO

Se realizó bajo un diseño observacional, en razón de que no se manipularon variables, se cuantificó *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en muestras de carachi y en dichas bacterias se evaluaron su respuesta a los antibióticos tanto para Gram negativos y Gram positivos, respectivamente, tal como lo recomienda el manual INS (2002). Adicionalmente, fue transversal porque se desarrolló entre los meses enero a mayo del año 2022. El estudio fue de tipo descriptivo (Hernández *et al.*, 2014), porque los recuentos bacterianos se realizaron en superficies corporales de dos especies nativas del Lago Titicaca, asimismo se evaluó la susceptibilidad antibiótica y su explicación se realizó según normas legales vigentes, antecedentes y marco teórico. Por otro lado.



2.3 POBLACIÓN Y TAMAÑO DE MUESTRA

La población estuvo conformada por los individuos de carachis negro y amarillo que se expendieron en el mercado Unión – Dignidad de la ciudad de Puno. La muestra fue establecida mediante un muestreo no probabilístico por conveniencia, tal como se muestra en la Tabla 3, en razón de que se planteó reportar la carga bacteriana de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en la superficie corporal de dos especies nativas del Lago Titicaca y evaluar en cada uno de ellos la susceptibilidad a los antibióticos.

Según la norma vigente Resolución Ministerial N° 591-2008-MINSA, “Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano”, los productos hidrobiológicos crudos (frescos, refrigerados, congelados, entre otros) se recomienda coleccionar 5 muestras por lote, donde cada lote fue representado por los carachis expendidos por cada comerciante en el mercado Unión – Dignidad. Se realizaron cinco muestreos y en cada muestreo se llevó a cabo cinco repeticiones, cada muestra estuvo conformada por 0.5 Kg de pescado.

Se coleccionaron 25 muestras de carachi negro y 25 muestras de carachi amarillo, al final se realizaron 50 evaluaciones de carga bacteriana en carachis, de cada muestra positiva a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, luego de su aislamiento, fueron codificadas para su evaluación de susceptibilidad a los antibióticos correspondientes.

Tabla 4. Distribución de muestras por pescado y repeticiones.

Pescado	N° de muestreo	Rep 1	Rep 2	Rep 3	Rep 4	Rep 5	Total
Carachi negro	1	M-1	M-1	M-1	M-1	M-1	25
	2	M-2	M-2	M-2	M-2	M-2	
	3	M-3	M-3	M-3	M-3	M-3	
	4	M-4	M-4	M-4	M-4	M-4	
	5	M-5	M-5	M-5	M-5	M-5	
Carachi amarillo	1	M-1	M-1	M-1	M-1	M-1	25
	2	M-2	M-2	M-2	M-2	M-2	
	3	M-3	M-3	M-3	M-3	M-3	
	4	M-4	M-4	M-4	M-4	M-4	
	5	M-5	M-5	M-5	M-5	M-5	
Total		10	10	10	10	10	50

Donde: M = muestra.

Asimismo, el tamaño de muestra de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* para la evaluación de la susceptibilidad fueron representados por los 25 aislamientos bacterianos que procedieron de cada una de las muestras de pescado.

3.3 EVALUACIÓN DE LA CARGA BACTERIANA DE *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* EN INDIVIDUOS DE CARACHI NEGRO Y CARACHI AMARILLO

a. Recolección de muestras

- Para iniciar con la recolección de muestras se dispuso de una mascarilla facial o barbijo y guantes quirúrgicos descartables.
- Se seleccionaron 25 muestras de carachi negro y 25 muestras de carachi amarillo, cada muestra estuvo conformada por 0.5 Kg de pescado, que fueron adquiridas en el horario entre las 8 am y 10 am (Figura 7).



- Luego de la manipulación del vendedor fueron depositadas en bolsas plásticas con cierre hermético a continuación, se colocaron en una caja de tecnopor acondicionadas con bolsas de hielo para impedir el crecimiento microbiano.
- Luego fue trasladado al Laboratorio de Botánica y Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNA Puno.
- Los muestreos se realizaron en las siguientes fechas: 07 de febrero, 04 de marzo, 29 de marzo, 23 abril y 18 de mayo del 2022.

b. Cuantificación de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*

Método: Recuento en placa.

Fundamento: Método sugerido por el Standard Methods, y se fundamenta en el crecimiento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) a partir de diluciones seriadas 10^{-1} a 10^{-5} o más según la carga microbiana que posea el producto a evaluar y se registra los recuentos a partir de placas Petri que posean entre 30 y 300 colonias (Corpas & Arcila, 2014).

Procedimientos:

● **Recuento de *Escherichia coli***

- Se pesaron 10 g de la muestra de pescado carachi y se depositaron en una bolsa estéril con cierre hermético, se agregaron 90 ml de agua de peptona al 1% (Figuras 8, 9, 10 y 11) y se agitó vigorosamente durante 5 minutos para liberar los microorganismos de la matriz superficial hacia el caldo de cultivo (Laura, 2000).
- Se realizaron tres diluciones seriadas por muestra (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}), 1 ml de cada dilución procedente de la superficie de los peces fueron sembraron en placas Petri por duplicado conteniendo agar EMB (Figuras 12 y 13), las diluciones fueron



- extendidas mediante un asa de Drigalsky previamente esterilizado.
- Las placas se incubaron por 24 horas a 37 °C.
 - Finalmente se realizó la cuantificación de *Escherichia coli*, mediante la aparición de colonias medianas de 2 - 3 mm de diámetro, de coloración rosada con brillo verde metálico característico, a causa de la elevada producción de ácidos y aldehídos producto de la fermentación de la lactosa (Figura 14). Se utilizó un testigo blanco (agua destilada estéril) para determinar posibles fuentes de contaminación cruzada durante el procedimiento (Jiménez *et al.*, 2012).
 - Luego de evaluar las características culturales en el agar EMB, la confirmación de *Escherichia coli* se realizó mediante la tinción de Gram y pruebas bioquímicas de TSI, LIA, CS, indol y urea (Figura 18).
 - El conteo de bacterias *Escherichia coli* fue realizado enumerando las colonias, que fueron expresadas en UFC/g de muestra.
- **Recuento de *Staphylococcus aureus***
 - El recuento de *Staphylococcus aureus* se realizó mediante la técnica de recuento en placa en agar Baird Parker (Figura 15).
 - Se realizaron tres diluciones seriadas por muestras (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}), 1 ml de cada dilución se sembraron en placas Petri por duplicado conteniendo agar Baird Parker, las diluciones fueron extendidas mediante un asa de Drigalsky previamente esterilizado. Luego las placas fueron incubadas por 48 horas a 37 °C, según el “Manual de Técnicas de Análisis para Control de Calidad Microbiológico de Alimentos para Consumo Humano” del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (MINSA - Colombia, 1998).
 - Las colonias de *Staphylococcus aureus* fueron aquellas que poseían una coloración oscura o negruzca, debido a la reducción de telurito a telurio que es



adicionado al medio de cultivo, asimismo presentaron doble halo alrededor de la colonia por la presencia del fenómeno de lipólisis y proteólisis producidas por la acción de lipasas y proteasas presentes en este género bacteriano (Murray & Pfaller, 2007). El conteo se determinó enumerando las colonias y expresando en UFC/g (Figuras 16 y 17). La confirmación de *Staphylococcus aureus* fue según su crecimiento en agar Baird Parker (BP), la prueba de la catalasa y la tinción Gram (Figuras 19, 20 y 21).

- La ecuación matemática para calcular las UFC/g (Gázquez, 2020), fue la siguiente:

$$\frac{UFC}{g} = \frac{N^{\circ} \text{ de colonias} * \text{factor de dilución} * 10}{\text{Volumen}}$$

Los recuentos de UFC/g de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* fueron contrastados con la norma técnica sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01, que es la Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, que para los “Productos hidrobiológicos crudos, frescos, refrigerados, congelados, salpessos o ahumados en frío” (numeral XI.1) deberán de tener los límites máximos permisibles.

c. Variables analizadas

- **Variable independiente:** carachis negro y amarillo.
- **Variable dependiente:** Recuento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.

d. Análisis estadístico de datos:

Las UFC/g de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* fueron registradas a partir de los carachis negro y amarillo, se tuvieron cinco muestreos con cinco repeticiones cada uno, haciendo un total de 50 individuos muestreados. Los recuentos fueron analizados



mediante el cálculo de promedio, desviación estándar y coeficientes de variación, pruebas de T de Student y su correspondiente prueba de contraste. Los análisis estadísticos se realizaron en el software estadístico libre Infostat.

3.4 EVALUACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* AISLADOS DE LA SUPERFICIE CORPORAL DE CARACHI NEGRO Y CARACHI AMARILLO

- a. **Método.** Disco difusión de Kirby Bauer.
- b. **Fundamento.** El método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar Mueller Hinton previamente inoculada con el microorganismo y discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano (Picaso, 2000; Mendo, 2003).
- c. **Procedimientos:**
 - De las 50 muestras evaluadas para el cumplimiento del primer objetivo, todas fueron positivas a *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, luego de su aislamiento hasta cultivo axénico y conservadas en tubos de ensayo con agar incluido de EMB y Baird Parker respectivamente, fueron expuestas a los antibióticos pre determinados.
 - Previamente a partir de los cultivos axénicos de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en agar EMB (Eosin Metil Blue) y agar BP (Baird Parker) respectivamente, se prepararon diluciones bacterianas con una turbidez



equivalente al estándar 0.5 de McFarland (Figura 22), a continuación, con un hisopo estéril embebido en la dilución bacteriana se realizó la extensión completa sobre toda la superficie de la placa Petri conteniendo agar Mueller Hinton (MH).

- En cada placa Petri con agar MH y el microorganismo previamente cultivado, se dispusieron de forma aséptica y con una ayuda de una pinza esterilizada, los siguientes discos de antibióticos: ampicilina, cefotaxima, amoxicilina – ácido clavulánico, gentamicina, ácido nalidíxico y trimetoprim – sulfametoxazol, para *Escherichia coli*; mientras que la gentamicina, tetraciclina penicilina, nitrofurantoína y ciprofloxacina fueron para evaluar la susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* (Figura 23).
- Los cultivos se incubaron durante 48 horas a una temperatura de 37 °C.
- La respuesta sensible, intermedia o resistente de cada microorganismo bacteriano a los discos de sensibilidad fue determinada con la medida del diámetro del halo de inhibición (Figuras 24 y 25) con un vernier calibrado (Camacho, 2014).
- Los resultados de susceptibilidad bacteriana como la sensibilidad, la respuesta intermedia y la resistencia fueron determinados al comparar los diámetros de los halos de inhibición bacteriana con el Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antibiótica por el método de disco difusión (INS, 2002).

d. Variables que se analizaron:

- **Variable independiente:** antibióticos para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.
- **Variable dependiente:** Respuesta de susceptibilidad antibacteriana a causa de cada antibiótico.



e. Análisis estadístico de datos

Los resultados de los halos de inhibición bacteriana fueron contrastados con los valores recomendados por el INS (2002), razón por la cual no se realizó ningún análisis estadístico inferencial, solo se representó mediante porcentajes.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RECuentOS DE *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* EN LA SUPERFICIE EPITELIAL DE CARACHIS NEGRO Y AMARILLO EXPENDIDOS EN EL MERCADO UNIÓN – DIGNIDAD

4.1.1 Recuentos de *Escherichia coli* (UFC/g)

Tabla 5. Recuentos de *Escherichia coli* ($\times 10^4$ UFC/g) en superficie corporal de carachis negro y amarillo.

Carachis	N° muestreo	Recuentos de <i>Escherichia coli</i>					Prom	C. V. (%)
		R1	R2	R3	R4	R5		
Negro	1	13.7	16.3	11.5	13.5	14.4	13.88	12.46
	2	4.2	3.5	2.8	3.8	3.3	3.52	14.95
	3	10.2	8.4	8.6	9.3	8.9	9.08	7.84
	4	5.4	5.0	4.8	5.2	4.0	4.88	11.07
	5	12.5	13.7	14.2	15.0	14.9	14.06	7.26
		Promedio general: 9.08; Desviación estándar: 4.91						
Amarillo	1	26.3	20.3	19.9	22.5	23.6	22.52	11.59
	2	15.0	17.4	15.6	18.2	17.8	16.80	8.42
	3	8.0	7.5	5.0	6.8	5.6	6.58	19.18
	4	10.3	9.3	8.2	9.0	7.3	8.82	12.86
	5	23.6	24.1	20.5	22.2	23.1	22.70	6.24
		Promedio general: 15.48; Desviación estándar: 7.53						
		Recuento de <i>Escherichia coli</i>: $m = 10$; $M = 10^2$ (NTS N° 071-2008)						

Donde: R = repetición (individuo de carachi); Prom = promedio; C. V. = coeficiente de variación.

Los recuentos de *Escherichia coli* en la superficie corporal luego de cinco repeticiones en muestras de carachi negro tuvo un promedio general de 9.08×10^4 UFC/g

y una desviación estándar general de 4.91×10^4 UFC/g, asimismo varió entre promedios de 3.52×10^4 UFC/g ubicado en el segundo muestreo, con un rango entre 2.80×10^4 UFC/g a 4.2×10^4 UFC/g, y 14.06×10^4 UFC/g ubicado en el quinto muestreo, con un rango entre 13.70×10^4 UFC/g a 15.00×10^4 UFC/g. Los coeficientes de variabilidad variaron entre 7.26% y 14.95%, encontrándose una dispersión leve, acorde para realizar los análisis de varianza (Tabla 5). Entre los números de muestreo los recuentos de *Escherichia coli* en carachi negro presentaron diferencia estadística significativa ($F = 112.88$; $gl = 4$; $P = <0.0001$) (Tabla 11 - Anexos), siendo mayores las cuantificaciones en los muestreos uno y cinco, y menores en los muestreos dos y cuatro (Figura 2).

De manera similar, la cuantificación de *Escherichia coli* en la superficie corporal en muestras de carachi amarillo, presentó un promedio general de 15.48×10^4 UFC/g y una desviación estándar general de 7.53×10^4 UFC/g, una oscilación entre promedios de 6.58×10^4 UFC/g ubicado en el tercer muestreo, con un rango entre 5.00×10^4 UFC/g a 8.0×10^4 UFC/g, y 22.70×10^4 UFC/g ubicado en el quinto muestreo, con un rango entre 20.50×10^4 UFC/g a 24.10×10^4 UFC/g (Figura 3). Los coeficientes de variabilidad variaron entre 6.24% (quinto muestreo) y 19.18% (tercer muestreo), en esta última se encontró una dispersión leve, acorde para realizar los análisis de varianza (Tabla 5). Entre los números de muestreo los recuentos de *Escherichia coli* en carachi amarillo presentaron diferencia estadística significativa ($F = 8.27$; $gl = 4$; $P = 0.0008$) (Tabla 12 - Anexos), siendo mayores las cuantificaciones de *Escherichia coli* en los muestreos uno y dos, mientras que los menores en los muestreos cuatro y cinco (Figura 3).

Las cuantificaciones de *Escherichia coli* entre 3.52×10^4 UFC/g y 22.70×10^4 UFC/g, registrada en la superficie corporal de carachi negro y amarillo superaron el valor M (recuento microbiano de límite aceptable), cuyo valor es 10^2 UFC/g, para los productos

hidrobiológicos crudos frescos, refrigerados, entre otros (numeral XI.1), citados en la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 (Figura 1).

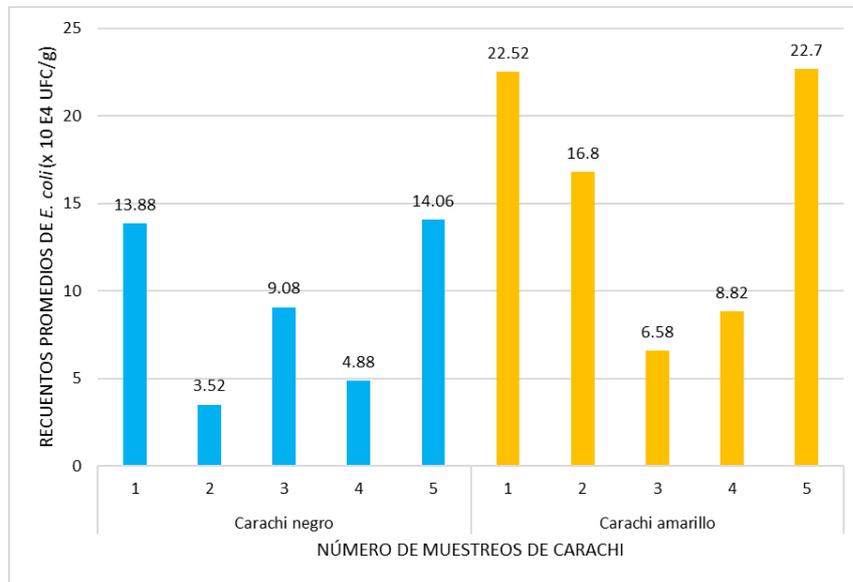


Figura 1. Recuentos promedios de *Escherichia coli* en la superficie corporal de caracho negro y amarillo.

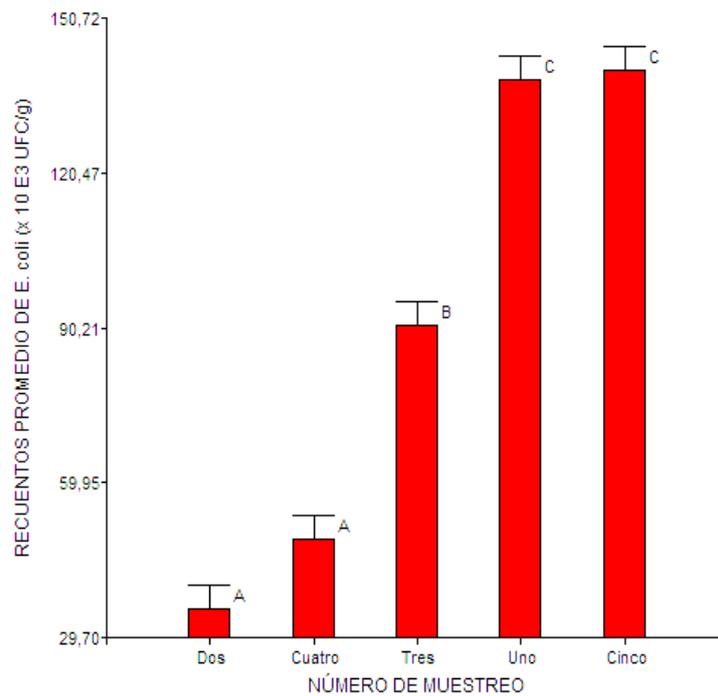


Figura 2. Prueba de Tukey de los recuentos de *Escherichia coli* según número de muestreo en carachi negro.

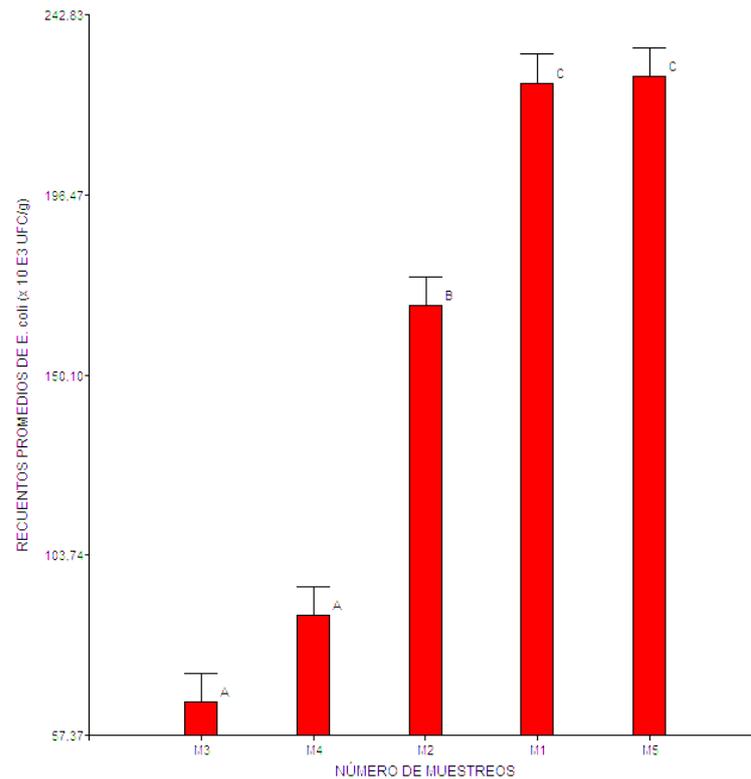


Figura 3. Prueba de Tukey de los recuentos de *Escherichia coli* según número de muestreo en carachi amarillo.

En la presente investigación, la superficie corporal de los carachis negro y amarillo, presentaron cargas bacterianas de *Escherichia coli*, estos resultados fueron diferentes a los obtenidos por García *et al.*, (2003), quienes en Chihuahua (México) evaluaron bacterias en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) reportando bacterias mesófilas aerobias mayormente en verano, sin aislar *Salmonella* ni *Escherichia coli*, indicando que la zona de producción es de buena calidad; en comparación a los resultados obtenidos por Corrales *et al.*, (2011), en Cundinamarca (Colombia), no aislaron *Escherichia coli* en los expendios de pescado fresco, pero si aislaron otras bacterias indicadoras de la calidad del agua como *Citrobacter amalonaticus* y *Citrobacter freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* y *Edwardsiella tarda*, pero que representan un alto riesgo para los consumidores.



Los recuentos de *Escherichia coli* obtenidos en la investigación, fueron similares a los obtenidos por Martínez & Romero (2015), en el Puerto de La Libertad (San Salvador), ya que, al evaluar la carga bacteriana en pescado crudo comercializado, se aisló *Salmonella* spp y *Escherichia coli*, en tal sentido se puede afirmar que estos productos hidrobiológicos no son aptos para el consumo humano. Por otro lado, Navarro (2017), en Lima (Perú), al evaluar la calidad microbiológica de “jurel” y “choros” de mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y de San Martín de Porres, encontraron presencia de *Salmonella* y *Escherichia coli*, razón por la cual también fueron catalogadas como no aptas para consumo humano.

Los resultados de la investigación concuerdan con lo obtenido por Vásquez *et al.*, (2018), quienes en Huánuco (Perú), al determinar el estado microbiológico de los pescados y mariscos expendidos en mercados y mercadillos, todos fueron positivos a *Escherichia coli* quien depende del mercado de origen de la muestra. Asimismo, coincide con lo mencionado por Rondón *et al.*, (2020), quienes en Pucallpa (Perú), caracterizaron el pescado desde el desembarque hasta la venta, detectando coliformes, *Escherichia coli* y *Pseudomonas* sp en niveles elevados.

La presencia de *Escherichia coli* en la superficie corporal de los carachis negro y amarillo se debería a que poseen favorables condiciones medioambientales y debido a la inadecuada manipulación sin cumplir con las normas de higiene por los expendedores, lo cual es corroborado por Chapman *et al.*, (2000), quienes indican que el incremento bacteriano de *Escherichia coli* sobre una muestra, se debería a que los pescados comercializados pasan de vendedores mayoristas a minoristas, llegando al menudeo, incrementando los recuentos de bacterias en la superficie de los productos cárnicos, en especial en las estaciones de primavera y verano, siendo favorecidas por la temperatura



ambiental. Por otro lado, las muestras biológicas de carachi poseen una mucosidad en su superficie corporal al cual se adhieren los microorganismos, según Gill & Landers (2003), se debería a que la carne se constituye en una excelente fuente de nutrientes otorgándoles humedad y proteínas necesarias para la proliferación microbiana.

Por su parte Jay *et al.*, (2005), indican que el aislamiento de *Escherichia coli* en la carne de los recursos cárnicos, representa la mala calidad higiénica y sanitaria del producto, en razón de que la bacteria es indicadora de contaminación fecal y se encuentra presente en el intestino humano y animales de sangre caliente. Y muchas de las bacterias entéricas son capaces de originar toxiinfecciones y gastroenteritis en los seres humanos, entre ellos se podrían encontrar serotipos patógenos como *Escherichia coli* O157:H7 (Ray & Bhumia, 2010), aunado a ello se mencionan las malas prácticas de higiene que realizan los manipuladores desde que son capturados en las mallas en los cuerpos de agua hasta los mercados ya que se ponen contacto con utensilios poco higiénicos (Púa & Navas, 2014).

A pesar de que la ciudad de Puno posea un clima frígido, *Escherichia coli* presenta un recuento elevado en carachis, debiéndose probablemente a que *Escherichia coli* O157:H7 sobrevive a temperaturas entre los 7 °C a 10 °C y una máxima que varía de 45 °C a 50 °C (OMS, 2011), y una óptima de 37 °C (ICMSF, 1996), e inclusive Ansay *et al.*, (1999), afirman que *Escherichia coli* O157:H7 sobrevive a temperaturas de congelación. En forma adicional, Pascual (2005), reafirma que *Escherichia coli* sobrevive a temperaturas de -20 °C en muestras de carne picada y congelada, hasta por un tiempo de 9 meses, estas serían las razones por las que *Escherichia coli* prolifera y posee altos recuentos bacterianos en la superficie corporal de los carachis.



De todos modos la presencia de *Escherichia coli* en muestras de alimentos hidrobiológicos se debería a que estos productos tuvieron una inadecuada manipulación de los procesos desde la pesca en el cuerpo acuático que sería el lago Titicaca así como durante su venta, donde los carachis serían portadoras de microorganismos patógenos (Ortega *et al.*, 2009), la importancia de *Escherichia coli* radica en que representa un alto riesgo para la salud humana (Chinen *et al.*, 2001), ya que muchas cepas son portadoras de genes de virulencia tal como lo afirman Brooks *et al.*, (2005), inclusive en cepas de serotipo no O157:H7. En la investigación no se realizó la determinación de genes virulencia, pero se asume que no son cepas virulentas, lo cual es reafirmado por Jiménez *et al.*, (2012), en carnes bovinas en Culiacán (Sinaloa – México), donde no lograron aislar *Escherichia coli* con genes de virulencia, y asumieron no ser patógenas para los humanos, en esas muestras los productos cárnicos si cumplen con las especificaciones establecidas en la normatividad mexicana, por lo tanto en el mercado Unión - Dignidad el Municipio Provincia de Puno y las autoridad competentes deberían de implementar programas de buenas prácticas higiénicas y de manufactura y así lograr un control sanitario estricto y constante y asegurar la inocuidad de los productos hidrobiológicos.

Por lo analizado en los párrafos anteriores, *Escherichia coli* es parte de la microbiota normal intestinal del organismo (procedencia fecal) y su hallazgo en los alimentos cárnicos representaría una mala manipulación del carachi negro y amarillo en las etapas desde que son colectadas y extraídas de las mallas de captura, un mal proceso de almacenamiento y de transporte por la deficiente manipulación por parte de los vendedores, utilización de guantes, valdes, bolsas plásticas no higiénicos, entre otros procedimientos de transporte, aunado a las malas condiciones de expendio a la

intemperie, sin conservación con hielo que ulteriormente podrían ser motivo de enfermedades de transmisión alimentaria (ETAs).

4.1.2 Recuento de *Staphylococcus aureus* (UFC/g)

Tabla 6. Recuentos de *Staphylococcus aureus* ($\times 10^4$ UFC/g) en superficie corporal de carachis negro y amarillo.

Carachis	N° muestreo	Recuentos de <i>Staphylococcus aureus</i>					Prom	C. V. (%)
		<i>aureus</i>						
		R1	R2	R3	R4	R5		
Negro	1	12.0	11.7	13.3	12.8	13.9	12.74	7.12
	2	3.0	1.9	1.8	1.8	2.4	2.18	23.92
	3	11.0	10.3	11.5	11.2	9.9	10.78	6.13
	4	7.5	8.0	5.3	5.5	7.4	6.74	18.49
	5	8.3	8.9	7.9	9.5	9.0	8.72	7.18
Promedio general: 8.23; Desviación estándar: 4.06								
Amarillo	1	10.3	11.0	10.7	9.9	11.9	10.76	7.07
	2	7.7	8.5	9.1	8.8	7.5	8.32	8.34
	3	1.3	3.2	3.3	2.7	3.7	2.84	32.81
	4	9.8	10.5	9.7	11.5	9.5	10.20	8.02
	5	6.4	6.6	4.9	4.3	4.4	5.32	20.74
Promedio general: 7.49; Desviación estándar: 3.36								
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i>: m = 10²; M = 10³ (NTS N° 071-2008)								

Donde: R = repetición; Prom = promedio; C. V. = coeficiente de variación.

De los recuentos de *Staphylococcus aureus* en la superficie corporal posterior a las cinco repeticiones en muestras de carachi negro, se determinó un promedio general de 8.23×10^4 UFC/g y una desviación estándar general de 4.06×10^4 UFC/g, entre los muestreos tuvo una oscilación entre promedios de 2.18×10^4 UFC/g ubicado en el segundo muestreo, con un rango entre 1.80×10^4 UFC/g a 3.00×10^4 UFC/g, y 12.74×10^4 UFC/g ubicado en el primer muestreo, con un rango entre 11.70×10^4 UFC/g a 13.90



x 10^4 UFC/g. Los coeficientes de variabilidad variaron entre 6.13% (tercer muestreo) y 23.92% (segundo muestreo), en esta última se encontró una dispersión baja y moderada, respectivamente, acorde para realizar los análisis de varianza (Tabla 6). Entre los números de muestreo los recuentos de *Staphylococcus aureus* en carachi negro presentaron diferencia estadística significativa ($F = 101.47$; $gl = 4$; $P = <0.0001$) (Tabla 13 - Anexos), siendo mayor la cuantificación en el muestreo uno y menor en el muestreo dos (Figura 5).

Por otro lado, la cuantificación de *Staphylococcus aureus* en la superficie corporal en muestras de carachi amarillo, presentó un promedio general de 7.49×10^4 UFC/g y una desviación estándar general de 3.36×10^4 UFC/g, entre los muestreos presentó una fluctuación entre promedios de 2.84×10^4 UFC/g ubicado en el tercer muestreo, con un rango entre 1.30×10^4 UFC/g a 3.70×10^4 UFC/g, y 10.76×10^4 UFC/g ubicado en el primer muestreo, con un rango entre 9.90×10^4 UFC/g a 11.90×10^4 UFC/g. Los coeficientes de variabilidad variaron entre 8.02% (cuarto muestreo) y 32.81% (tercer muestreo), en esta última se encontró una dispersión baja, acorde para realizar los análisis de varianza (Tabla 6). Entre los números de muestreo los recuentos de *Staphylococcus aureus* en carachi amarillo presentaron diferencia estadística significativa ($F = 67.60$; $gl = 4$; $P = <0.0001$) (Tabla 14 - Anexos), siendo mayores las cuantificaciones en los muestreos uno y cuatro, y menor en el muestreo tres (Figura 6).

Las cuantificaciones de *Staphylococcus aureus* entre 2.18×10^4 UFC/g y 12.74×10^4 UFC/g, registrada en la superficie corporal de carachi negro y amarillo superaron el valor M (recuento microbiano de límite aceptable), cuyo valor es 10^3 UFC/g, para los productos hidrobiológicos crudos frescos, refrigerados, entre otros (numeral XI.1), prescritos en la Norma Técnica Sanitaria NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 (Figura 4).

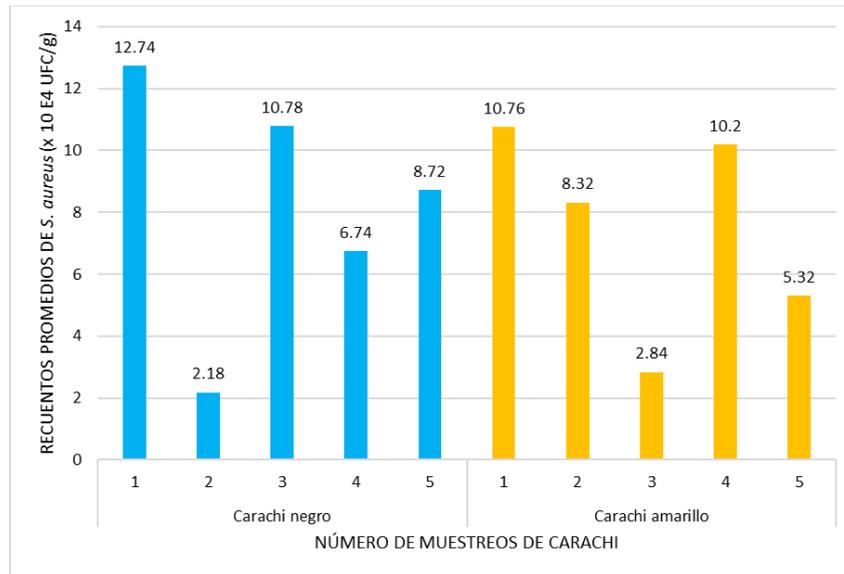


Figura 4. Recuentos promedios de *Staphylococcus aureus* en la superficie corporal de carachi negro y amarillo.

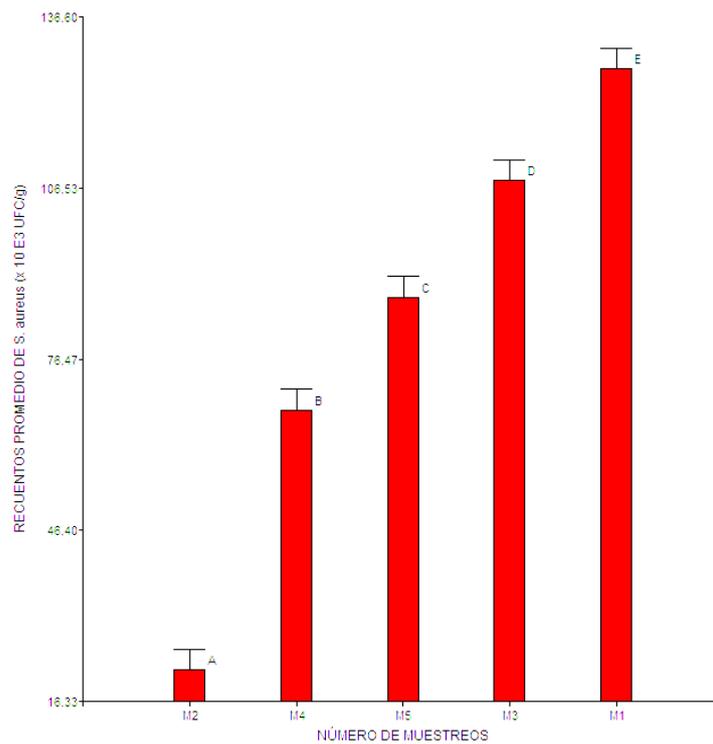


Figura 5. Prueba de Tukey de los recuentos de *Staphylococcus aureus* según número de muestreo en carachi negro.

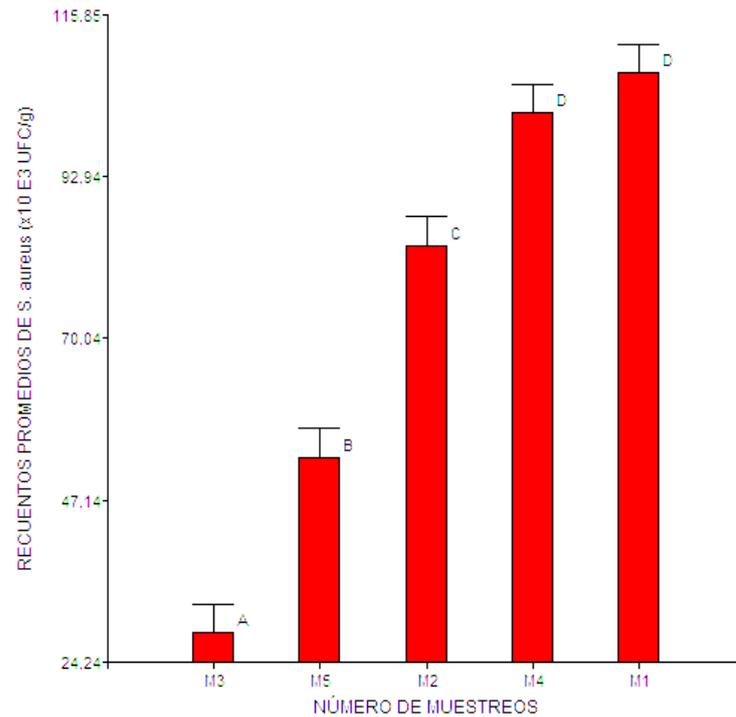


Figura 6. Prueba de Tukey de los recuentos de *Staphylococcus aureus* según número de muestreo en carachi amarillo.

En la investigación la carga bacteriana de *Staphylococcus aureus* presente en la superficie corporal de los carachis negro y amarillo, fueron parecidos a la investigación realizada por García *et al.*, (2003), quienes en Chihuahua (México), evaluaron la calidad microbiológica en trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y reportaron a mesófilos aerobios y *Staphylococcus aureus* en recuentos elevados en temporada de verano con ausencia de *Salmonella*; de similar forma Vásquez *et al.*, (2018), en Huánuco (Perú), mencionaron que al evaluar la carga microbiológica de los pescados y mariscos en centros de venta, todas las muestras fueron positivas a *Staphylococcus aureus*; y Rondón *et al.*, (2020), en Pucallpa (Perú), determinaron la presencia de bacterias *Staphylococcus aureus* en pescados boquichico (*Prochilodus nigricans*), palometa (*Mylossoma duriventre*) y bagre (*Siluriforme* spp) desde su desembarque hasta su comercialización en carne, asimismo la presencia de coliformes, *Escherichia coli* y *Pseudomonas* sp en niveles altos,



indicando que no son aptos para consumo humano.

Los recuentos de *Staphylococcus aureus* obtenidos en la presente investigación fueron distintos a los obtenidos por Corrales *et al.*, (2011), en Cundinamarca (Colombia), quienes indican la ausencia *Staphylococcus aureus* en los expendios de pescado fresco, pero si se aisló enterobacterias relacionadas con el agua como *Citrobacter amalonaticus* y *C. freundii*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae* y *Edwarsiella tarda*; de similar forma Martínez & Romero (2015), en el Puerto de La Libertad (San Salvador), al evaluar la calidad microbiológica en pescado crudo reportaron la ausencia de *Staphylococcus aureus*, pero la presencia de *Escherichia coli* y coliformes totales sobrepasan los límites máximos permisibles, indicando también que estos productos hidrobiológicos no son aptos para el consumo del hombre.

Los recuentos de *Staphylococcus aureus* en superficie corporal de los carachis negro y amarillo que superan las normas de calidad de los alimentos hidrobiológicos en el Perú, se debe probablemente a la presencia de corrientes del aire portadoras de polvo y microorganismos como las bacterias, asimismo que los productos hidrobiológicos se expenden sobre superficies poco higiénicas, el uso de guantes o muchas veces la manipulación directa con las manos por parte de los expendedores y el uso de agua no potable para el lavado de utensilios y materiales de transporte se constituirían entre los parámetros extrínsecos que incrementarían los valores bacterianos. Entre los parámetros intrínsecos de la superficie corporal de los carachis que influyen en *Staphylococcus aureus* se mencionan el alto contenido de proteínas, el pH próximo a la neutralidad, su persistencia en la piel de los animales y el hombre (los expendedores e intermediarios), siendo considerados estos últimos como reservorios, tal como lo menciona Pascual & Calderón (2000), en tal sentido se deberían de consumir estos alimentos bien cocidos, ya



que *Staphylococcus aureus* puede llegar a producir hasta 5 enterotoxinas (A, B, C, D y E), siendo la enterotoxina A la más nociva (Jay, 2005).

Se debe tener especial cuidado con *Staphylococcus aureus* y las enterotoxinas que biosintetizan en razón de que son muy peligrosas al ser agentes eméticos y originan intoxicación alimentaria, debido a que son termoestables y sus consecuencias se darían al consumir alimentos guardados a temperatura ambiente por períodos considerables (Eroski, 2012). Asimismo, Murray & Pfaller (2007), indican que pueden originar infecciones dermatológicas y de tejidos blandos, llegando a bacteriemias en el ser humano (Larsen *et al.*, 2009). Ante ello, Jay *et al.*, (2005), recomienda para evitar las infecciones por *Staphylococcus aureus*, que los alimentos sean sometidos a 66 °C por 12 minutos o a 60 °C por 78 y 83 minutos, dichas condiciones lograrían inactivar un millón de células bacterianas por ml o g de alimento que consume una persona.

Los recuentos de *Staphylococcus aureus* fueron elevados en la superficie corporal de los carachis negro y amarillo, según Ray & Bhunia (2010), mencionan que los parámetros extrínsecos e intrínsecos serían los factores que vendrían influyendo en el crecimiento bacteriano, entre ellos se mencionan al pH, la temperatura y la actividad agua. El pH y la temperatura serían factores que alterarían la fisiología de proteínas y las enzimas bacterianas, logrando desestabilizar las estructuras internas de las bacterias, asimismo la humedad (actividad agua) que posee el pescado fresco evaluado en la investigación es fundamental para el metabolismo bacterianos ya que todo proceso bioquímico se lleva a cabo en un ambiente acuoso y la frescura e hidratación del carachi llegaría a inducir a la descomposición bacteriana.

Al igual que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* fue aislado en todas las muestras de superficie corporal de los carachis negro y amarillo, a pesar de que la ciudad



de Puno se caracteriza por poseer un clima seco y frígido, la persistencia bacteriana se debería a que es una bacteria mesófila anaerobia facultativa, crece en rangos amplios de pH y de actividad agua, inclusive a temperaturas de congelación y descongelación, por otro lado, toleran a la salinidad y son inactivadas a 66 °C por un lapso de 12 minutos o 60 °C entre 78 y 83 minutos (Ray & Bhunia, 2010; Jay *et al.*, 2005). *In situ* se ha observado que el expendio de carachis negro y amarillo se realiza mediante la manipulación por parte de los expendedores en el mercado Unión - Dignidad, donde las manos se constituirían en la principal fuente de contaminación bacteriana en razón de que *Staphylococcus aureus* habita diferentes partes del cuerpo humano. Al respecto Food Info (2012), corrobora lo mencionado anteriormente al afirmar que se ubica en la piel, la garganta y las fosas nasales de los animales y de las personas, siendo la totalidad de los seres humanos portadores de *Staphylococcus aureus* a lo largo de su vida, en ese sentido las manos de los expendedores tanto pescadores, intermediarios y vendedores en los mercados tendrían una alta probabilidad de contaminar a los productos hidrobiológicos, no solo por los señores operarios, expendedores, sino también por los clientes quienes tocan los carachis para determinar manualmente la frescura o huelen los alimentos.

Los valores de los recuentos de *Staphylococcus aureus* encontrados en muestras de carachi en la investigación se debe probablemente a que estas bacterias poseen la capacidad de multiplicarse muy rápidamente originando gran número de colonias sin que el producto hidrobiológico manifieste descomposición. Otra fuente importante de *Staphylococcus aureus*, serían las personas que presentan infecciones en la piel, generalmente causadas por *Staphylococcus aureus* y que posteriormente podría traer problemas en la salud pública al consumir alimentos preparados inadecuadamente o conservados a temperaturas no idóneas (Kérouanton *et al.*, 2007), tal como sucedió en



Colombia en el año 2009, en 899 brotes de enfermedades transmitidas por alimentos, el 56% fue originado por agentes bacterianos, de ellos el 18.4% fueron causados por *Staphylococcus* coagulasa positiva, mayormente aislados desde los alimentos, las muestras biológicas y las superficies de venta (SIVIGILA, 2013).

Luego de realizar la discusión de los resultados, *Staphylococcus aureus* es parte de la microbiota normal de la superficie corporal y las mucosas de las fosas nasales, esta sería la principal razón por la que los recuentos bacterianos superan la norma legal de productos hidrobiológicos ya que estos los carachis por el tamaño que poseen son expendidos contando los individuos y son manipulados por los vendedores mediante guantes poco higiénicos o manos no desinfectadas adecuadamente, por lo que se recomendarían que los vendedores deben constantemente lavarse las manos para lograr recuentos mínimos, ya que los consumidores estarían propensos a múltiples patologías digestivas.

4.2 SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *Escherichia coli* Y *Staphylococcus aureus* AISLADOS DE LA SUPERFICIE EPITELIAL EN CARACHIS NEGRO Y AMARILLO

4.2.1 Susceptibilidad de *Escherichia coli* aislados de la superficie epitelial en carachi negro

En la Tabla 7 se visualizan las mediciones de los diámetros de halos originados por *Escherichia coli* aislados del carachi negro frente a seis antibióticos. De los 25 aislamientos bacterianos, frente a ampicilina (AMP) el 100% (25) fueron sensibles. Frente a cefotaxima (CEF) el 96% (24) resultaron sensibles y el 4% (1) presentaron respuesta intermedia y ninguna cepa (0%) fue resistente al antibiótico. Asimismo, ante

ácido clavulánico - amoxicilina (AC+AMO), el 16% (4) resultaron sensibles, el 76% (19) exhibieron respuesta intermedia y el 8% (2) presentaron resistencia al antibiótico. Por otra parte, ante gentamicina (GEN), el 100% (25) resultaron sensibles. De similar forma, ante ácido nalidíxico (AN), el 92% (23) resultaron sensibles, el 8% (2) fueron de respuesta intermedia y ninguna fue resistente al antibiótico. Y ante trimetoprim – sulfametoxazol (TS), el 100% (25) fueron sensibles al antibiótico.

Tabla 7. Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de *Escherichia coli* aisladas de la superficie corporal de carachi negro.

Aislamiento <i>Escherichia coli</i>	Discos de antibióticos											
	AMP		CEF		AMO + AC		GEN		AN		TS	
	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA
A - 1	18.2	S	22.0	I	14.1	I	24.5	S	22.4	S	19.6	S
A - 2	18.5	S	30.2	S	15.6	I	23.7	S	23.5	S	30.7	S
A - 3	21.2	S	35.8	S	15.3	I	19.9	S	19.3	S	26.5	S
A - 4	21.5	S	30.4	S	14.8	I	21.6	S	21.8	S	24.7	S
A - 5	22.5	S	33.4	S	16.7	I	19.8	S	20.4	S	22.8	S
A - 6	19.5	S	32.4	S	17.1	I	24.8	S	25.8	S	26.9	S
A - 7	18.6	S	29.6	S	17.1	I	23.8	S	22.7	S	31.0	S
A - 8	21.0	S	35.7	S	15.8	I	18.8	S	18.4	I	26.8	S
A - 9	21.0	S	33.0	S	14.2	I	16.9	S	18.5	I	21.4	S
A - 10	20.4	S	33.2	S	14.7	I	22.1	S	19.2	S	25.8	S
A - 11	20.0	S	33.5	S	19.4	S	24.1	S	20.8	S	32.5	S
A - 12	17.9	S	29.8	S	15.3	I	24.1	S	24.3	S	29.9	S
A - 13	20.8	S	36.2	S	14.9	I	17.8	S	21.6	S	25.9	S
A - 14	21.5	S	35.0	S	18.2	S	19.7	S	21.7	S	23.6	S
A - 15	23.7	S	35.4	S	15.5	I	18.6	S	20.8	S	23.1	S
A - 16	17.8	S	27.2	S	16.3	I	22.2	S	26.1	S	31.0	S
A - 17	17.4	S	30.5	S	16.8	I	23.5	S	25.4	S	30.4	S
A - 18	19.9	S	34.7	S	18.5	S	20.1	S	21.2	S	24.8	S
A - 19	18.1	S	29.7	S	17.3	I	21.6	S	23.8	S	28.9	S
A - 20	18.3	S	30.7	S	18.1	S	22.5	S	24.9	S	29.2	S
A - 21	17.6	S	32.2	S	13.7	R	23.0	S	26.1	S	29.3	S
A - 22	18.4	S	31.8	S	12.9	R	23.8	S	23.9	S	30.6	S
A - 23	19.2	S	36.0	S	17.0	I	20.6	S	20.0	S	28.9	S
A - 24	20.3	S	33.2	S	15.7	I	22.2	S	24.7	S	29.6	S
A - 25	22.5	S	32.6	S	17.8	I	18.9	S	21.2	S	22.3	S
Frecuencia (%)	S = 25 (100) I = 0 (0) R = 0 (0)		S = 24 (96) I = 1 (4) R = 0 (0)		S = 4 (16) I = 19 (76) R = 2 (8)		S = 25 (100) I = 0 (0) R = 0 (0)		S = 23 (92) I = 2 (8) R = 0 (0)		S = 25 (100) I = 0 (0) R = 0 (0)	



Diámetros de halos de inhibición (INS, 2002)	S: ≤13 I: 14-16 R: ≥17	S: ≤14 I: 15-22 R: ≥23	S: ≤13 I: 14-17 R: ≥18	S: ≤12 I: 13-14 R: ≥15	S: ≤10 I: 11-15 R: ≥16	S: ≤10 I: 11-15 R: ≥16
--	------------------------------	------------------------------	------------------------------	------------------------------	------------------------------	------------------------------

Donde: A = aislamiento; AMP = ampicilina; CEF = cefotaxima; AMO + AC = amoxicilina + ácido clavulánico; GEN = gentamicina; AN = ácido nalidíxico; TS = trimetoprim sulfametoxazol; DH = diámetro de halo promedio de 3 repeticiones; RA = respuesta antibiótica; S = sensible; I = intermedio; R = resistente.

Entre los resultados de la presente investigación, se obtuvo que el 8% (2) de aislamientos de *Escherichia coli* fueron resistentes a amoxicilina - ácido clavulánico, asimismo en su gran mayoría (76%) presentaron respuesta intermedia. Estos resultados fueron diferentes a los obtenidos por Sánchez (2018), en Lima (Perú), quien al evaluar la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* aisladas de productos hidrobiológicos, registró que el 31.3% de los aislamientos fueron resistentes a ácido nalidíxico y en la investigación se obtuvo 0% de resistencia al mismo antibiótico, por otro lado el antecedente revisado el 15.6% de cepas fue resistente a sulfatrimetopim y en el presente estudio se obtuvo 0% de resistencia al antibiótico trimetoprim sulfametoxazol. La resistencia a un antibiótico se origina debido a la diseminación de bacterias resistentes a los antibióticos y que a través de la conjugación bacteriana de la misma o diferente especie pueden intercambiar genes de resistencia codificados en los plásmidos (Huycke *et al.*, 1998; Kühn *et al.*, 2000). Por otro lado, Da Costa *et al.*, (2015), manifiestan que la transferencia génica es facilitada en la mayoría de los patógenos entéricos que comparten genes de resistencia a antimicrobianos.

La resistencia a amoxicilina - ácido clavulánico en las cepas 21 y 22, se debería a que presentaría determinantes genéticos de tolerancia a los antibióticos, tal como lo afirmó Romero (2017), quien en Jaén (España), aisló bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Shewanella*, *Proteus* y *Listeria*, los cuales



presentaron determinantes de resistencia a antibióticos como *sul1*, *sul2*, *blaTEM*, *blaCTX-M*, *blaPSE*, *blaIMP*, *blaNDM-1*, *floR*, *aadA1* y *aac (6')-Ib*. Por otro lado, Gázquez (2020), en Jaén (España), confirma que el pescado es un pilar básico de la alimentación por sus propiedades nutricionales, y que a pesar de que las bacterias mesófilas totales están entre los límites establecidos por la FAO y por el Reglamento (CE) N° 2073/2005 de España, en bacaladilla los recuentos bacterianos sobrepasaron y presentaron resistencia a los antibióticos, con cepas resistentes y multirresistentes que iban entre el 100% y 70%, respectivamente.

Escherichia coli aisladas en la superficie corporal de carachis negro y amarillo casi todas fueron sensibles a los antibióticos expuestos, un mayor porcentaje presentó respuesta intermedia a amoxicilina - ácido clavulánico y tan solo dos aislamientos resultaron resistentes al mismo antibiótico. Estas bacterias probablemente posean la capacidad de resistencia debido a que recibieron la transferencia de determinantes genéticos a partir de otras bacterias mediante procesos de conjugación bacteriana, por lo que existe la necesidad futura de estudiar genes de resistencia a los antibióticos en las bacterias superficiales del pescado.

4.2.2 Susceptibilidad de *Escherichia coli* aislados de la superficie epitelial en carachi amarillo

En la Tabla 8 se presentan los resultados obtenidos de los diámetros de halos originados por *Escherichia coli* aisladas de carachi amarillo frente a seis antibióticos. De los 25 aislamientos bacterianos frente a ampicilina (AMP) el 64% (16) resultaron sensibles, el 12% (3) presentaron respuesta intermedia y el 24% (6) fueron resistentes al antibiótico. Por otro lado, frente a cefotaxima (CEF) el 60% (15) resultaron sensibles, el 40% (10) presentaron respuesta intermedia y ningún aislamiento (0%) fue resistente al



antibiótico. Asimismo, ante ácido clavulánico - amoxicilina (AC+AMO), el 16% (4) resultaron sensibles, el 24% (6) exhibieron respuesta intermedia y el 60% (15) fueron resistentes al antibiótico. Por otra parte, ante gentamicina (GEN), el 92% (23) resultaron sensibles, el 8% (2) manifestaron respuesta intermedia y ningún aislamiento (0%) fue resistente al antibiótico. De similar forma, ante ácido nalidíxico (AN), el 68% (17) resultaron sensibles, el 8% (2) exhibieron respuesta intermedia y el 24% (6) fueron resistentes al antibiótico. Y frente a trimetoprim – sulfametoxazol (TS), el 100% (25) resultaron ser sensibles al antibiótico.

Escherichia coli aisladas desde carachis amarillos presentaron mayores frecuencias de resistencia a amoxicilina - ácido clavulánico (60%) y frente a ampicilina y ácido nalidíxico (24%), estos resultados fueron inferiores a los reportados por Sánchez (2018), en Lima (Perú), que al evaluar productos hidrobiológicos, encontraron a *Escherichia coli* con el 40.6% de resistencia a ampicilina y 31.3% a ácido nalidíxico, e incluso reportó que el 15.6% de las cepas aisladas resultaron resistentes a sulfatrimetoprim y en la presente investigación todos los aislamientos bacterianos fueron sensibles a este último antibiótico. Otro detalle reportado por este autor es que los porcentajes de resistencia en *Escherichia coli* varían según los mercados donde se recolectaron las muestras, lo cual tendría sentido con la investigación, en razón de que los hábitats de los carachis negro y amarillo son variables y vendría originando las diferencias de resistencia a los antibióticos entre bacterias aisladas y carachis muestreados en diferentes zonas del lago Titicaca. De forma similar se asume que las bacterias puedan poseer genes de resistencia a los antibióticos, tal como cita Romero (2017), en Jaén (España), al haber encontrado genes de resistencia a los antibióticos en bacterias, entre

ellas a los genes *sul1*, *sul2*, *blaTEM*, *blaCTX-M*, *blaPSE*, *blaIMP*, *blaNDM-1*, *floR*, *aadA1* y *aac (6')-Ib*.

Tabla 8. Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de *Escherichia coli* aisladas de la superficie corporal de carachi amarillo.

Aislamiento <i>Escherichia coli</i>	Discos de antibióticos											
	AMP		CEF		AMO + AC		GEN		AN		TS	
	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA
A - 1	14.4	I	18.2	I	12.4	R	17.5	S	12.0	R	30.6	S
A - 2	15.9	I	17.8	I	13.3	R	16.9	S	10.4	R	29.6	S
A - 3	16.9	I	31.8	S	11.5	R	18.2	S	21.3	S	28.9	S
A - 4	23.8	S	32.6	S	10.8	R	18.8	S	19.7	S	28.6	S
A - 5	21.4	S	28.6	S	13.8	R	16.5	S	20.5	S	29.1	S
A - 6	7.9	R	16.8	I	13.4	R	26.0	S	20.2	S	25.0	S
A - 7	13.3	R	19.4	I	9.8	R	15.7	S	9.7	R	28.7	S
A - 8	17.5	S	32.7	S	12.6	R	21.0	S	20.8	S	29.2	S
A - 9	17.9	S	32.3	S	14.0	I	17.0	S	17.4	I	29.8	S
A - 10	22.2	S	30.8	S	14.6	I	18.5	S	21.0	S	29.7	S
A - 11	23.8	S	19.7	I	8.5	R	14.2	I	15.1	I	25.9	S
A - 12	10.5	R	18.6	I	10.5	R	16.2	S	10.9	R	28.4	S
A - 13	18.8	S	33.5	S	12.8	R	18.5	S	19.7	S	27.7	S
A - 14	29.3	S	37.6	S	16.3	I	27.6	S	26.0	S	37.0	S
A - 15	25.7	S	32.1	S	12.4	R	18.1	S	20.5	S	28.2	S
A - 16	21.8	S	14.9	I	17.1	I	23.2	S	19.9	S	31.3	S
A - 17	9.8	R	15.5	I	11.2	R	15.3	S	12.3	R	25.0	S
A - 18	20.4	S	31.5	S	11.9	R	20.8	S	9.5	R	27.5	S
A - 19	20.0	S	31.3	S	18.4	S	18.7	S	22.0	S	32.0	S
A - 20	28.2	S	33.0	S	17.5	I	21.3	S	20.9	S	34.5	S
A - 21	8.3	R	22.6	I	19.6	S	17.4	S	19.2	S	24.4	S
A - 22	8.5	R	17.3	I	13.0	R	14.9	I	21.1	S	27.2	S
A - 23	22.0	S	34.0	S	14.1	I	19.1	S	21.8	S	29.3	S
A - 24	21.6	S	32.4	S	18.5	S	19.6	S	20.9	S	28.3	S
A - 25	23.4	S	33.9	S	18.9	S	21.7	S	19.8	S	33.5	S
Frecuencia (%)	S = 16 (64) I = 3 (12) R = 6 (24)	S = 15 (60) I = 10 (40) R = 0 (0)	S = 4 (16) I = 6 (24) R = 15 (60)	S = 23 (92) I = 2 (8) R = 0 (0)	S = 17 (68) I = 2 (8) R = 6 (24)	S = 25 (100) I = 0 (0) R = 0 (0)						
Diámetros de halos de inhibición (INS, 2002)	S: ≤13 I: 14-16 R: ≥17	S: ≤14 I: 15-22 R: ≥23	S: ≤13 I: 14-17 R: ≥18	S: ≤12 I: 13-14 R: ≥15	S: ≤10 I: 11-15 R: ≥16	S: ≤10 I: 11-15 R: ≥16						

Donde: A = aislamiento; AMP = ampicilina; CEF = cefotaxima; AMO + AC = amoxicilina + ácido clavulánico; GEN = gentamicina; AN = ácido nalidíxico; TS = trimetoprim sulfametoxazol; DH = diámetro de halo promedio de 3 repeticiones; RA = respuesta antibiótica; S = sensible; I = intermedio; R = resistente.

La presencia de *Escherichia coli* resistente a la ampicilina fue también reportada por Flores (2017), quien menciona que el 39% de las cepas aisladas de productos cárnicos presentaron resistencia a la ampicilina, los cuales fueron superiores a los reportados en ésta investigación, según Moreno *et al.*, (2018), confirman que algunas cepas de *Escherichia coli* que poseen resistencia a los antibióticos sería a causa de los genes *blaTEM*, *CTX-M-1*, *mecA* y clones como *Tn5405-like*, de similar forma Reyes *et al.*, (2013), manifiestan que la resistencia a gentamicina, amikacina y cefalotina en *Escherichia coli* O157:H7 aislada de productos cárnicos, se debería a que son portadoras de genes *eae*, *stx1* y *stx2*.

Las resistencia a la amoxicilina en aislamientos de *Escherichia coli* se debería a que poseen un mecanismo de hidrólisis enzimática frente a enzimas beta – lactamasas como la *blaTEM* y *blaSHV* que son penicilinasas, hidrolizando el enlace amida del núcleo beta – lactámico, las cuales son inhibidas por el ácido clavulánico (Bush & Jacoby, 2009), pero en la presente investigación *Escherichia coli* fue resistente a amoxicilina - ácido clavulánico, indicando que dichas bacterias poseerían probablemente un mecanismo adicional para neutralizar al ácido clavulánico. Adicionalmente, Sabate & Guillem (2002), mencionan que *Escherichia coli* resistentes a los antibióticos, poseen integrones que son piezas genéticas que expresan resistencia antibiótica y lo conforman elementos de inserción de genes exógenos, como la integrasa (*intI*), en el extremo 3' y una secuencia promotora (Pc) donde se transcriben los genes integrados.

Ante este punto, la OMS (2001), refiere que la resistencia bacteriana a los antibióticos es un fenómeno natural a causa de las mutaciones, la transferencia horizontalmente vía conjugación bacteriana, originándose una correlación entre el uso de antibióticos y la resistencia bacteriana, esta sería la razón de la variabilidad de respuestas



a los antibióticos encontrados en los 25 aislamientos de *Escherichia coli*, ya que la mayoría de los carachis amarillos procederían de zonas contaminadas por aguas residuales, que vendrían originando la transferencia de genes de resistencia a los antibióticos entre bacterias, mientras que otros especímenes de carachi procederían de zonas poco contaminadas presentando bacterias en su superficie corporal sensibles a los antibióticos.

Por lo tanto, luego de realizar el análisis de la resistencia antibiótica de *Escherichia coli* aislada desde carachis amarillos, se afirma que la genética bacteriana es muy importante en la resistencia a los antibióticos, ya que las bacterias expresarían la síntesis de enzimas que repelerán el efecto antibiótico, asimismo las respuestas bacterianas variarán según la procedencia del lugar de pesca de los especímenes de carachi, como también de las bacterias portadores de las personas que manipularon al pescado.

4.2.3 Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados de la superficie epitelial en carachi negro

En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos de los diámetros de halos originados por *Staphylococcus aureus* aislados de carachi negro frente a cinco antibióticos. De los 25 aislamientos bacterianos frente a gentamicina (GEN) el 100% (25) resultaron sensibles. Por otro lado, frente a tetraciclina (TET) el 44% (11) resultaron sensibles, el 48% (12) presentaron respuesta intermedia y el 8% (2) fueron resistentes al antibiótico. Asimismo, ante penicilina (PEN), el 20% (5) resultaron sensibles, ninguna exhibió respuesta intermedia y el 80% (20) fueron resistentes al antibiótico. Por otra parte, ante nitrofurantoina (NIT), el 56% (14) resultaron sensibles, 20% (5) manifestaron

respuesta intermedia y el 24% (6) fueron resistentes al antibiótico. De similar forma, ante ciprofloxacina (CIP), el 100% (25) resultaron sensibles al antibiótico.

Tabla 9. Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* aisladas de la superficie corporal de carachi negro.

Aislamiento <i>Staphylococcus aureus</i>	Discos de antibióticos (n=3)									
	GEN		TET		PEN		NIT		CIP	
	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA
A - 1	27.5	S	16.9	I	21.8	R	16.5	I	38.2	S
A - 2	25.9	S	16.9	I	19.7	R	23.5	S	36.8	S
A - 3	20.6	S	29.4	S	31.6	S	21.0	S	29.1	S
A - 4	22.5	S	17.3	I	24.4	R	17.9	S	32.6	S
A - 5	21.5	S	19.4	S	28.9	S	15.8	I	26.7	S
A - 6	30.6	S	21.7	S	25.8	R	25.7	S	39.6	S
A - 7	25.2	S	16.2	I	19.9	R	10.6	R	28.9	S
A - 8	20.6	S	29.8	S	27.4	R	21.7	S	30.0	S
A - 9	22.3	S	19.4	S	23.0	R	13.3	R	30.6	S
A - 10	21.9	S	19.8	I	24.9	R	15.7	I	26.9	S
A - 11	27.5	S	32.4	S	36.4	S	23.7	S	38.4	S
A - 12	27.4	S	20.5	S	31.0	S	17.4	S	36.6	S
A - 13	22.6	S	25.8	S	31.5	S	17.6	S	28.4	S
A - 14	23.0	S	29.4	S	28.2	R	22.1	S	22.6	S
A - 15	23.0	S	18.7	I	29.1	S	18.4	S	28.9	S
A - 16	26.3	S	17.3	I	20.0	R	19.8	S	38.8	S
A - 17	28.5	S	18.3	I	20.5	R	11.6	R	39.5	S
A - 18	29.4	S	20.6	S	20.5	R	11.9	R	30.3	S
A - 19	22.6	S	15.8	I	27.7	R	18.5	S	26.6	S
A - 20	20.9	S	19.3	S	28.5	R	19.6	S	29.3	S
A - 21	20.6	S	16.0	I	17.9	R	10.8	R	28.4	S
A - 22	26.1	S	19.4	R	21.3	R	16.5	I	37.4	S
A - 23	32.8	S	16.6	I	16.3	R	12.2	R	29.2	S
A - 24	16.3	S	10.2	R	18.4	R	18.2	S	37.0	S
A - 25	21.8	S	17.2	I	27.0	R	16.5	I	30.2	S
Frecuencia (%)	S = 25 (100) I = 0 (0) R = 0 (0)		S = 11 (44) I = 12 (48) R = 2 (8)		S = 5 (20) I = 0 (0) R = 20 (80)		S = 14 (56) I = 5 (20) R = 6 (24)		S = 25 (0) I = 0 (0) R = 0 (0)	
Diámetros de halos de inhibición (INS, 2002)	S: ≤12 I: 13-14 R: ≥15		S: ≤14 I: 15-218 R: ≥19		S: ≤28 I: -- R: ≥29		S: ≤14 I: 15-16 R: ≥17		S: ≤15 I: 16-20 R: ≥21	

Donde: A = aislamiento; GEN = gentamicina; TET = tetraciclina; PEN = penicilina; NIT = nitrofurantoina; CIP = ciprofloxacina; DH = diámetro de halo promedio de 3 repeticiones; RA = respuesta antibiótica; S = sensible; I = intermedio; R = resistente.



Los resultados obtenidos en la investigación con el aislamiento de *Staphylococcus aureus* en todas las muestras de pescado, fueron similares a los obtenidos por Puig *et al.*, (2019), quienes en Cuba aislaron a partir de muestras de pescado a cepas de *Staphylococcus* resistentes a tetraciclina, cloranfenicol y eritromicina, aunado a bacterias resistentes de los géneros *Salmonella*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus* presentes como contaminantes. Ante este punto, Frost *et al.*, (2005), manifiesta que toda resistencia bacteriana es una propiedad intrínseca, es decir que se inicia en una mutación o es mediada por los plásmidos sea por autorreplicación o el ADN extracromosómico o bien mediante los transposones pudiendo ser cromosómico o integrado en plásmidos o ADN transmisibles; por otro lado, la resistencia natural tendría su causa en factores como la ausencia del sitio diana, presencia de una zona diana insensible al antibiótico o debido a la impermeabilidad del antibiótico a la célula.

Según De Lencastre *et al.*, (1994), las cepas de *Staphylococcus aureus* podrían tener hasta tres mecanismos de resistencia a los β -lactámicos, como son las biosíntesis de β -lactamasas, la resistencia por proteínas fijadoras de penicilina modificadas (resistencia a la meticilina) y los fenómenos de tolerancia, donde la resistencia a meticilina se debe a la producción de una nueva proteína PBP (PBP2a ó PBP2') de 78 kDa que posee una baja afinidad por la meticilina y los β -lactámicos y su determinante genético es de naturaleza cromosómica (gen *mec*) el cual posee loci distintos, que expresarían a la PBP2a y el *mecR* sería el gen regulador, este mecanismo sería la causa de la resistencia a la penicilina.

Si la cepa de *Staphylococcus aureus* es resistente a la meticilina, también implica resistencia a los betalactámicos, como las penicilinas y el inhibidor de betalactamasas, cefalosporinas (con excepción de las cefalosporinas ceftobiprole y ceftarolina),



monobactamas y carbapenemas (con excepción de razupenem), como se manifestó anteriormente todo estaba mediada por el gen *mecA* siendo muy compleja y puede ser afectada por factores como la temperatura, la osmolaridad, el pH, la presencia de secuencias cromosómicas reguladoras y genes cromosómicos no relacionados (Ardanuy *et al.*, 2011).

La presencia de *Staphylococcus aureus* en los productos hidrobiológicos muy consumidos por la población como son los carachis con resistencia a los antibióticos, es de mucha preocupación en la salud pública en razón de que genera altas morbimortalidades induciendo a la elevación en los costos de atención médica, en tal sentido es considerado como un problema mundial. En el Perú existen muchos reportes donde algunas cepas bacterianas son resistentes a los antibióticos, lo cual es corroborado por García (2012), quien manifiesta que en los países en vías de desarrollo se presentan los mayores niveles de resistencia bacteriana que en países desarrollados, pero a pesar de que es un problema global, las consecuencias son mayores en países con bajas economías. A su vez Hawkers (2008), afirma que la determinación de la resistencia antibiótica se convirtió en una prioridad de salud pública a nivel internacional y su difusión es muy rápida a comparación de descubrir nuevos antibióticos.

En la investigación el 32% de los aislamientos bacterianos de *Staphylococcus aureus* fueron resistentes a dos antibióticos a la vez de tal manera que serían denominados multidrogoresistentes, ante ello se manifiesta que es común encontrar aislamientos bacterianos en el ámbito clínico así como en el ambiente, los cuales poseen diversos niveles de resistencia como los multidrogoresistentes cuando son resistentes a 2 o más antibióticos, extremadamente resistentes cuando son resistentes a 3 o más antibióticos y panresistentes cuando son intratables con antibióticos, incluyendo terapias combinadas,

donde el uso indiscriminado de antibióticos contribuyó a generar la resistencia, tal como lo menciona Rocha *et al.*, (2015). La resistencia a dos antibióticos en algunas bacterias aisladas de *Staphylococcus aureus* estaría presente en la superficie corporal de carachi debido a que poseen más de un mecanismo de resistencia y a la facilidad de ser transmitido en forma horizontal a bacterias de la misma o diferente especie (Moreno, 2009).

De todo lo analizado los aislamientos bacterianos de *Staphylococcus aureus* del carachi negro poseen resistencia a tres antibióticos (tetraciclinas, penicilinas y nitrofurantoína), algunas bacterias fueron sensibles a todos los antibióticos expuestos, por lo que nos ayuda a deducir la gran variabilidad de la resistencia de los aislamientos bacterianos establecidos en la superficie corporal que se debería a las características de la zona de captura correlacionado con la calidad fisicoquímica y bacteriológica del agua y las buenas prácticas de higiene de los manipuladores y sus en el transporte y la venta del pescado en el mercado Unión - Dignidad.

4.2.4 Susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados de la superficie epitelial en carachi amarillo

En la Tabla 10 se presentan los resultados obtenidos de los diámetros de halos originados por *Staphylococcus aureus* aislados de carachi amarillo frente a cinco antibióticos. De las 25 bacterias aisladas, frente a gentamicina (GEN) el 100% (25) resultaron sensibles. Por otro lado, frente a tetraciclina (TET) el 48% (12) resultaron sensibles, el 52% (13) presentaron respuesta intermedia y ninguna cepa (0%) fue resistente al antibiótico. Asimismo, ante penicilina (PEN), el 28% (7) resultaron sensibles, ninguna exhibió respuesta intermedia y el 72% (18) fueron resistentes al antibiótico. Por otra parte, ante nitrofurantoína (NIT), el 80% (20) resultaron sensibles, el

8% (2) manifestaron respuesta intermedia y el 12% (3) fueron resistentes al antibiótico.

Y ante la ciprofloxacina (CIP), el 100% (25) resultaron sensibles al antibiótico.

Tabla 10. Diámetros de halos de inhibición (mm) y respuestas de susceptibilidad antibiótica de *Staphylococcus aureus* aisladas de la superficie corporal de carachi amarillo.

Aislamiento <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	Discos de antibióticos (n=3)									
	GEN		TET		PEN		NIT		CIP	
	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA	DH	RA
A - 1	25.5	S	24.4	S	22.2	R	20.8	S	34.2	S
A - 2	24.8	S	21.4	S	20.2	R	18.4	S	30.3	S
A - 3	29.8	S	18.9	I	26.0	R	19.7	S	31.4	S
A - 4	21.1	S	15.9	I	30.2	S	21.7	S	27.1	S
A - 5	20.2	S	17.5	I	31.3	S	18.5	S	30.4	S
A - 6	21.4	S	23.5	S	26.8	R	17.2	S	28.0	S
A - 7	23.2	S	19.4	S	22.3	R	19.5	S	27.0	S
A - 8	32.6	S	15.2	I	18.4	R	18.1	S	27.8	S
A - 9	21.6	S	15.7	I	35.4	S	21.5	S	28.6	S
A - 10	20.0	S	15.3	I	29.7	S	17.9	S	32.1	S
A - 11	24.2	S	30.2	S	27.2	R	20.7	S	37.5	S
A - 12	25.6	S	23.7	S	19.6	R	18.9	S	35.5	S
A - 13	20.9	S	29.9	S	22.6	R	20.0	S	25.4	S
A - 14	17.3	S	18.3	I	20.8	R	13.7	R	25.3	S
A - 15	19.5	S	17.8	I	29.5	S	18.3	S	29.7	S
A - 16	24.6	S	21.1	S	21.6	R	21.1	S	41.0	S
A - 17	25.3	S	21.2	S	20.9	R	18.5	S	29.9	S
A - 18	23.5	S	27.8	S	28.3	R	19.0	S	29.0	S
A - 19	16.3	S	20.5	S	21.7	R	14.3	R	28.9	S
A - 20	17.9	S	15.7	I	30.6	S	16.4	I	27.8	S
A - 21	21.2	S	18.3	I	14.0	R	17.3	S	38.6	S
A - 22	22.5	S	22.0	S	18.7	R	17.8	S	37.7	S
A - 23	23.4	S	17.7	I	29.9	S	16.2	I	30.1	S
A - 24	15.6	S	18.9	I	15.0	R	11.5	R	26.6	S
A - 25	18.7	S	18.0	I	25.9	R	19.8	S	30.0	S
Frecuencia (Porcentaje)	S = 25 (100) I = 0 (0) R = 0 (0)		S = 12 (48) I = 13 (52) R = 0 (0)		S = 7 (28) I = 0 (0) R = 18 (72)		S = 20 (80) I = 2 (8) R = 3 (12)		S = 25 (100) I = 0 (0) R = 0 (0)	
Diámetros de halos de inhibición (INS, 2002)	S: ≤12 I: 13-14 R: ≥15		S: ≤14 I: 15-218 R: ≥19		S: ≤28 I: -- R: ≥29		S: ≤14 I: 15-16 R: ≥17		S: ≤15 I: 16-20 R: ≥21	

Donde: A = aislamiento; GEN = gentamicina; TET = tetraciclina; PEN = penicilina; NIT = nitrofurantoína; CIP = ciprofloxacina; DH = diámetro de halo promedio de 3 repeticiones; RA = respuesta antibiótica; S = sensible; I = intermedio; R = resistente.



En la Tabla 10 se aprecia que en los aislamientos de *Staphylococcus aureus*, el mayor porcentaje se determinó ser resistentes a penicilina y en menor grado a nitrofurantoína, estos resultados fueron próximos a los reportados por Da Costa (2018), quien menciona la incidencia y perfil de resistencia de *Staphylococcus aureus*, siendo resistentes a los antibióticos penicilina en un 100%. La presencia de esta bacteria en la superficie corporal de los carachis, se podría atribuir a la contaminación del pescado, a los factores ambientales de los hábitats acuáticos que vienen siendo contaminadas por aguas residuales, la otra causa sería que es parte de la microbiota de peces permanentes y transitorios, donde *Staphylococcus* se presenta como comensal o bien como un contaminante ambiental, siendo muy difícil determinar su origen; a pesar de ellos demostraron que en *Cuprinus carpio* y en *Sirlus glanis* la bacteria se localiza de forma común en la piel, los intestinos, el hígado y los músculos, pero la alta prevalencia de *Staphylococcus spp* tal como fue reportada en la investigación es un indicador de prácticas no higiénicas tanto en el ambiente acuático y en los procesos de post - pesca, comercialización y manejo del pescado, tal como lo afirma Ali (2014).

En la presente investigación *Staphylococcus aureus* presentó respuesta resistente al antibiótico penicilina en casi todas las muestras de carachi (72%), estos resultados fueron similares a los obtenidos por San Martín *et al.*, (2002), quienes reportaron *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina, ampicilina, amoxicilina, estreptomicina y lincomicina, además, Cortez (2017), donde en productos cárnicos de supermercados de Miraflores (Lima), registró cepas de *Staphylococcus* resistentes a meticilina en el 13.64%. Pero fueron diferentes a los reportados por Cardona *et al.*, (2013), quienes aislaron *Staphylococcus aureus* resistentes a la gentamicina y trimetoprim – sulfametoxazol,



mientras que en la presente investigación todas las cepas fueron sensibles a dichos antibióticos.

La respuesta resistente a penicilina y nitrofurantoína de *Staphylococcus aureus* se fundamentaría en su estructura genética gracias a la presencia del gen *mecA*, que expresa la síntesis de la proteína ligadora de penicilina (CDC, 2018), a parte del gen *mecA*, *Staphylococcus aureus* poseen otros mecanismos de resistencia como la presión selectiva originada por los tratamientos antimicrobianos, y la transmisión se acumula y disemina por medio de los plásmidos, las secuencias de inserción (integrones) y los transposones (Velásquez, 2005). Por otro lado, la resistencia bacteriana se basa en la producción de enzimas como las β – lactamasas o penicilinasas (resistencia intrínseca) y la mutación de las proteínas de unión a las penicilinas debido al gen *mecA* (Gil, 2000).

El aislamiento de *Staphylococcus aureus* en un producto hidrobiológico comestible como los carachis, no deberían poseer en su superficie bacterias resistentes a los antibióticos, debido a que este microorganismo es muy patógeno y oportunista en pacientes hospitalizados, y requiere de un análisis y vigilancia especial en razón de que las cepas resistentes pueden originar morbilidad y mortalidad en pacientes de casos ambulatorios tal como lo afirma Reyes *et al.*, (2007). La resistencia a la penicilina y la nitrofurantoína reportadas en la presente investigación, concuerda con la elevada resistencia a oxacilina y otros antibióticos de forma simultánea, trayendo como consecuencia la disminución de las opciones terapéuticas y casos de mortalidad específicamente en pacientes críticos (Rankin, 2005).

Luego de analizar los resultados de la investigación, los aislamientos de *Staphylococcus aureus* que se realizaron de la superficie corporal de los carachis amarillos, poseen respuesta variable frente a los antibióticos, pero ninguno fue sensible a



todos los antibióticos expuestos, y que todas las cepas al menos poseen una respuesta intermedia o resistente a un antibiótico (como en tres de los aislamientos, que son resistentes a dos antibióticos). Como anteriormente se indicó se debería a la variabilidad genética que poseen, el lugar de procedencia de las muestras de pescado y las formas de manipulación entre las zonas de pesca hasta llegar al mercado, ya que *Staphylococcus aureus* coloniza la piel y las mucosas de los humanos y dichos lugares se vendría desarrollando la transferencia horizontal de genes de resistencia.



V. CONCLUSIONES

- Los recuentos bacterianos en la superficie epitelial externa del carachi negro (*Orestias agassii*) y carachi amarillo (*Orestias luteus*) superaron los límites máximos permisibles en la NTS N° 071-MINSA/DIGESA-V.01 (numeral XI.1) para productos hidrobiológicos crudos, *Escherichia coli* presentó recuentos promedios de 9.08×10^4 UFC/g en carachi negro y 15.48×10^4 UFC/g en carachi amarillo, *Staphylococcus aureus* tuvo una cuantificación promedio de 8.23×10^4 UFC/g en carachi negro y 7.49×10^4 UFC/g en carachi amarillo, los conteos bacterianos presentaron diferencia estadística entre las especies de carachis y números de muestreo ($P < 0.05$).
- *Escherichia coli* aisladas de carachi negro fue resistente en el 8% a amoxicilina + ácido clavulánico; intermedia en 4%, el 76% y el 8% a cefotaxima, gentamicina y ácido nalidíxico, respectivamente, 100% fueron sensibles a ampicilina, gentamicina y trimetoprim sulfametoxazol, el 96%, el 16% y 92% a cefotaxima, amoxicilina + ácido clavulánico y ácido nalidíxico, respectivamente; en cepas aisladas de carachi amarillo, la resistencia se presentó en el 24%, el 60%, el 24% a ampicilina, amoxicilina + ácido clavulánico y ácido nalidíxico, respectivamente; fueron intermedias en el 12%, el 40%, el 24%, el 8% a ampicilina, cefotaxima, amoxicilina + ácido clavulánico, gentamicina y ácido clavulánico, respectivamente y sensibles en el 64%, el 60%, el 16%, el 92% , el 68% y el 100% a ampicilina, cefotaxima, amoxicilina + ácido clavulánico, gentamicina, ácido clavulánico y trimetoprim sulfametoxazol, respectivamente.



- *Staphylococcus aureus* aisladas de carachi negro resultaron resistentes en el 8%, el 80%, el 24% a tetraciclina, penicilina y nitrofurantoína; intermedios en el 48% y el 20% frente a tetraciclina y nitrofurantoína, respectivamente y sensibles en el 100% frente a gentamicina y ciprofloxacina, el 44%, 20% y el 56% quienes fueron sensibles a tetraciclina, penicilina y nitrofurantoína; en bacterias aisladas de carachi amarillo, la resistencia se presentó en el 72% y el 12% a penicilina y nitrofurantoína; intermedio en el 52%, el 8% a tetraciclina y nitrofurantoína; fueron 100% sensibles a gentamicina y ciprofloxacina, mientras que el 48%, el 28% y el 80% a tetraciclina, penicilina y nitrofurantoína, respectivamente.



VI. RECOMENDACIONES

- A los estudiantes y profesionales investigadores realizar estudios de aislamientos bacterianos y los parámetros fisicoquímicos en muestras de agua donde se capturaron los individuos de carachis para corroborar la presencia de bacterias patógenas aisladas en la superficie corporal y su resistencia a los antibióticos.
- A los estudiantes y profesionales investigadores realizar evaluaciones de la presencia de genes de resistencia antibiótica en bacterias aisladas de la superficie corporal y de los hábitats acuáticos de los peces nativos del Lago Titicaca.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, O., Alpuche C., Arathoon E. & Arbo A. (2011). Tratamiento de las enfermedades infecciosas. Quinta edición Washington, D.C: OPS.
- Almanza, A. (2011). Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in certain raw beef products. pp. 58157–58165. Fed. Regist.
- Ali, H. (2014). Isolation and identification of *Staphylococcus* bacteria from fish of fresh water and its antibiotics sensitivity in mosul city. Basrah Journal of Veterinary Research. Vol. 1: 33-42.
- Alós, J. (2015). Resistencia bacteriana a los antibióticos. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Vol. 33 (10): 692-697.
- Arratia, G. (1981). Géneros de peces de aguas continentales de Chile. Museo Nacional de Historia Natural. Vol. 34: 3-108.
- Ardanuy, C., Cercenado E., Morosini M. & Torres C. (2011). Procedimientos en Microbiología Clínica. Detección fenotípica de mecanismos de resistencia en Gram positivos. SEIMC.
<https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia39.pdf>.
- Buitron, C. (2005). Utilización de diferentes tipos de kakabans para incubación in situ de ovas de "carachi" *Orestias agassii*, "punku" *Orestias luteus* y "carachi enano" *Orestias olivaceus* en el lago menor del Titicaca. La Paz, Bolivia: Universidad Mayor de San Andrés.
- Buorgeois, M., Zuca J. & Mescle J. (2004). Microbiología Alimentaria. Volumen 1: Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria, en Microbiología Alimentaria. Editorial Acribia. S.A. Zaragoza – España. p. 263-277.
- 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. LXXIII (621): 757 – 763.



- Callaway, T., Elder R., Keen J., Anderson R. & Nisbet D. (2003). Forage feeding to reduce preharvest *Escherichia coli* populations in cattle, a review. *Journal of dairy science*. Vol. 86: 852 – 860.
- Camacho, S. (2014). *Ensayos microbiológicos*. Editorial Síntesis. Madrid – España. 467 p.
- Carbajal, M., Rabelo P., Sebastián C. & Ayala M. (2003). Evaluación Microbiológica de productos adquiridos en el mercado mayorista pesquero de Ventanilla. *Revista Cubana Salud Pública - Revista virtual*. Vol. 29(2): 121-123. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662003000200005.
- Carreño, M. & Arquino K. (2014). Evaluación de la calidad del *Odentesthes regia regia* “Pejerrey” que se expende en el mercado modelo y central del distrito de Huacho-Región Lima. 2014. Universidad Nacional Faustino Sánchez Carrión-Huacho. https://biblioteca.imarpe.gob.pe/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=22775.
- Chambers H. & De Leo F. (2009). Reemergence of antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus* in the genomics era. *J. Clin Inv.* Vol. 119 (9): 2464 – 2474.
- CIEMA, Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas para Alimentos. (1980). Pescados Mariscos y sus productos, p. 573-612. En *Ecología Microbiana de los Alimentos*; Vol.2. Productos Alimenticios. Acribia. Zaragoza, España.
- Cifuentes, M., Silva F., García P., Bello H., Briceño I., Calvo M. & Labarca J. (2014). Susceptibilidad antimicrobiana en Chile 2012. *Revista Chilena de Infectología*. Vol. 31 (2): 123-130.
- Cordiés, L., Machado A. & Hamiton M. (1998). Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta Médica Cubana*. Vol. 8 (1):18-20.
- Corpas, E. & Arcila J. (2014). Recuento de coliformes y *Escherichia coli* en canales bovinas sometidas a tratamientos físicos y químicos. *Rev. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. Vol. 12 (2): 125-133. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v12n2/v12n2a14.pdf>
- Corrales, L., Alvarado M., Castillo L. & Camacho Y. (2011). Estudio bacteriológico de la calidad del pescado fresco, Bagre (*Pseudoplatystoma* sp.) y Mojarra Roja (*Oreochromis* sp.) comercializado en el municipio de El Colegio, Cundinamarca (Colombia). *NOVA – Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*. Vol. 9 (15): 113-214. <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/181-Texto%20del%20art%C3%ADculo-1324-2-10-20140725.pdf>



- Croxen, M. & Finlay B. (2009). Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity. Nature Reviews Microbiology. Vol. 8: 26 – 38.
- Croxen, M., Law R., Scholz R., Keeney M. Wlodarska B. & Finlay B. (2013). Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*. Clinical microbiology reviews. Vol. 26 (4): 822 – 880.
- Cruz, J. (1984). Estudio de fecundidad de *Orestias ispi* "ispi" en Llachón, Lago Titicaca. Tesis, Facultad de Ciencias Biológicas, Puno.
- Da Costa Andrade, V., del Busso, B., Ballesteros, E., Pinto, A. & Fernández A. (2015). Densities and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from marine waters and beach sands. Environmental Monitoring and Assessment. Vol. 187 (6): 342.
- Da Costa, P., do Nascimento, F. & da Silva Júnior, S. (2018). Perfil de resistência de *Staphylococcus aureus* isolados de pescada amarela (*Cynoscion acoupa*) comercializada em feira pública. Pub Vet. Vol. 12: 172.
- Da Silva, M., Rogério G., Germano M. & Matté, M. (2010). Occurrence of pathogenic microorganisms in fish sold in São Paulo, Brazil. Journal of Food Safety. Vol. 30(1): 94-110. [Doi: 10.1111/j.1745-4565.2009.00192.x](https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2009.00192.x).
- Dangles, O., Loirat J., Freour C., Serre S., Vacher J., & Le Roux X. (2016). Research on biodiversity and climate change at a distance: collaboration networks between Europe and Latin America and the Caribbean. PLoS One. Vol. 11 (6).
- De Colsa, A. (2011). *Staphylococcus aureus*: De la genómica a la clínica. Rev Enf Infec Pediatr. Vol. 24 (95): 91 – 94.
- Dejoux, C., & Iltis, A. (1991). El Lago Titicaca - Síntesis del conocimiento limnológico actual. La Paz - Bolivia: HISBOL.
- Delaquis, P., Bach S. & Dinu L. (2007). Behavior of *Escherichia coli* O157: H7 in leafy vegetables. Journal of Food Protection. Vol. 70: 1966 – 1974.
- De Lencastre, H., De Jonge B., Matthews P. & Tomasz A. (1994). Molecular aspects of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. J Antimicrob Chemother. Vol. 33:7-24.
- Diario Oficial El Peruano. (2008). Normas Legales. NTS N° 071-MINSA/DIGESA V.01. Aprueban “Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano”. 26 p.



https://www.saludarequipa.gob.pe/desa/archivos/Normas_Legales/alimentos/RM591MINSANORMA.pdf.

- EUC, European Union Commission. (2005). Ban on antibiotics as growth promoters in animal feed enters into effect. Regulation 1831/2003/EC on additives for use in animal nutrition, replacing Directive 70/524/EEC on additives in feed-stuffs, Brussels, 22 December.
- FAO/INFOPECA. (2013). Directiva Higiénico Sanitaria para Productos Pesqueros Comercializados en los Mercados Internos. Proyecto de Mejoramiento de los Mercados Internos de Productos Pesqueros en América Latina y el Caribe-TCP/RLA/3111. Roma.
- Fapohunda, O., McMillin K., Marshall D. & Waites W. (1994). Growth of selected cross-contaminating bacterial pathogens on beef and fish at 15-35 °CC. *Journal of Food Protection*. Vol. 57: 337-340.
- Fernández, F., López J., Ponce L. & Machado C. (2003). Resistencia Bacteriana. *Revista Cubana de Medicina*. Vol. 32 (1): 44 – 48.
- Fox, J., Barthold S., Davisson M., Newcomer C., Quimby F. & Smith A. editors (2007). *The Mouse in Biomed Research: Diseases*. 2nd Ed. New York: Academic Press.
- Frost, L., Leplae R., Summers O. & Toussaint A. (2005). Mobile genetic elements: The agents of open source evolution. *Nat. Rev. Microbiol*. Vol. 3:722-732.
- Galán, J., Borarull A. & Baquero F. (2014). Impacto de los movimientos migratorios en la resistencia bacteriana a los antibióticos. *Revista Española Salud Pública*. Vol. 88: 829-837.
- García, C. (2012). Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. *Acta Med Per*. Vol. 29 (2).
- García, J., Núñez F., Chacón O., Alfaro R. & Espinosa M. (2003). Estudio microbiológico de tejido superficial de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) y del agua circundante. *Hidrobiológica*. Vol. 13 (2): 111-118.
<http://www.scielo.org.mx/pdf/hbio/v13n2/v13n2a3.pdf>
- Gázquez, C. (2020). Análisis microbiológico y de resistencia a antibióticos en distintas variedades de pescado. Trabajo de Fin de Grado. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Jaén. España. 50 p.
<http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/12246/1/TFG%20DEFINITIVO%20CAROLINA%20GAZQUEZ%20MARTINEZ.pdf>



- Gordon, R. & Lowry F. (2008). Pathogenesis of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. Clin Infect Dis. Vol. 48 (suppl 5): 350 – 359.
- Gould, L., Mody R., Ong K., Clogher P., Cronquist A., Garman K., Lathrop S., Medus C., Spina N. & Webb T. (2013). Increased recognition of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000–2010: Epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157 Infections. Foodborne Pathogens and Disease. Vol. 10: 453 - 460.
- Gun, H., Yilmaz A., Turker S., Tanlasi A. & Yilmaz H. (2003). Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157:H7 in Istanbul. International Journal of Food Microbiology. Vol. 84: 339 – 344.
- Guzmán, J. & Sielfeld, W. (2009). Dieta de *Orestias agassii*, (Teleostei: Cyprinodontidae) del salar del Huasco. ISSN 0717-652X, Universidad de Concepción. Casilla. Vol. 5: 28-32.
- Harris, L., Foster S., & Richards R. (2002). An introduction to *Staphylococcus aureus*, and techniques for identifying and quantifying *S. aureus* adhesins in relations to adhesion to biomaterials: Review. Eur Cells Mater. Vol. 4 (2): 39 – 60.
- Hawkey, P. (2008). The growing burden of antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother. Vol. 62 (S1): 1–9.
- 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. Vol. 71 (6): 1466-1473.
- Hermenegildo, M. & Pérez E. (2017). Evaluación de la calidad Microbiológica y los niveles de Metabisulfito de Sodio en Camarones expendidos en el mercado Caraguay Guayaquil-Ecuador. Tesis Maestría Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.
- Hernández R., Fernández C. & Baptista M. (2014). Metodología de la investigación. Sexta edición. Editorial Mc Graw Hill. México. 600 p.
- Huycke, M., Sahm, D. & Gilmore, S. (1998). Multiple drug resistant enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future. Emerging Infectious Diseases. Vol. 4 (2): 239–249.
- INS, Instituto Nacional de Salud. (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana pro el método de disco difusión. Serie de Normas



Técnicas No. 30. Lima – Perú. 67 p.

https://antimicrobianos.ins.gob.pe/images/contenido/documentos/nacionales/manual_1_sensibilidad.pdf

- INS, Instituto Nacional de Salud. (2002). Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas N° 30. Ministerio de Salud. Lima – Perú. 67 p.
- Jiménez, M., Chaidez C. & León J. (2012). Calidad microbiológica de carne de res comercializada en el mercado municipal de Culiacán, Sinaloa. Rev. Vet. Méx. Vol. 43 (4): 273-284. <http://www.scielo.org.mx/pdf/vetmex/v43n4/v43n4a2.pdf>
- Kaper, B., Nataro J. & Mobley H. (2004). Pathogenic *Escherichia coli*. Nature Reviews Microbiology. Vol. 2 (2): 123 – 140.
- Kühn, I., Iversen, A., Burman, L., Olsson, B., Franklin, A., Finn, M., *et al.* (2000). Epidemiology and ecology of enterococci, with special reference to antibiotic resistant strains, in animals, humans and the environment. Example of an ongoing project within the European research program. International Journal of Antimicrobial Agents. Vol. 14 (4): 337–342.
- Laura, E. (2000). Control de calidad de los alimentos. Texto Universitario. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Altiplano. Puno – Perú. 74 p.
- Liu, Y., Wang Y., Walsh R., 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.
- Llarrull L., Fisher J. & Mobashery S. (2009). Molecular Basis and Phenotype of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* and Insights into New β -Lactams that Meet the Challenge. Antimicrob. Agents Chemother. Vol. 53 (10): 4051 – 4063.
- López, L., Bettin A. & Suárez H. (2015). Caracterización microbiológica y molecular de *Staphylococcus aureus* en productos cárnicos comercializados en Cartagena, Colombia. Rev. Costarricense de Salud Pública. Vol. 25 (2): 113-121. <https://www.scielo.sa.cr/pdf/rcsp/v25n2/1409-1429-rcsp-25-02-81.pdf>
- Lowy, F. (2003). Antimicrobial Resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. J Clin Invest. Vol. 111 (9): 1265-73.
- Madigan J. (2003). Biología de los microorganismos. Madrid, España: Editorial Pearson Practice Hall.



- Martínez, B. & Romero M. (2015). Evaluación de la calidad microbiológica de pescado crudo comercializado en el muelle del Puerto de La Libertad. Tesis de Licenciada en Química y Farmacia. Facultad de Química y Farmacia, Universidad de El Salvador. San Salvador – El Salvador. 223 p. <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/9326/>
- Martínez, S. (2005). Influencia de la catalasa y de la β -toxina en la patogénesis de *Staphylococcus aureus*. Memoria de Doctorado. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid. Madrid, España.
- Mendo, M. (2003). Medios de cultivo en Microbiología. Manual de Laboratorio. Ediciones Laborales S. R. L. Lima – Perú. 238 p.
- MINSA, Ministerio de Salud – Colombia. (1998). Manual de Técnicas de Análisis para Control de Calidad Microbiológico de Alimentos para Consumo Humano. Instituto Nacional de Vigilancia de Alimentos y Medicamentos INVIMA. Bogotá, Colombia.
- Moreno, C., González R. & Beltrán C. (2009). Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. Revista Otorrinolaringología Cirugía Cabeza y Cuello. Vol. 69: 185-192.
- Moreno, M., Castillo, M., Ferrebuz, A., Osorio, W., Torres, M., & López, D. (2018). Resistencia bacteriana en pequeños animales, potencial riesgo para la salud humana. Rev. Electrón. Vet. Vol. 19 (2): 1 – 24.
- Murray, R. & Pfaller M. (2007). Microbiología médica. 5a ed. Últ. Reimpr. Elsevier España. p. 221-236.
- Navarro, J. (2017). Evaluación de la calidad microbiológica de *Trachurus picturatus murphyi* “jurel” y *Aulacomya ater* “choro” comercializados en diferentes mercados de los distritos de San Juan de Lurigancho y San Martín de Porres, Lima – Perú. Tesis de Bióloga Microbióloga Parasitóloga. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú. 100 p. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/7310/Navarro_aj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Ohashi, M. (1992). Pruebas de reproducción de semillas de "mauri". Estudio ecológico de especies ícticas nativas. Parte III. Tiquina - Pongo. La Paz: Centro de Desarrollo Piscícola y Enseñanza Técnica del Altiplano.
- OMS, Organización Mundial de la Salud. (2017). Guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NCSA 3.0 IGO.OMS.



- 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. 2016.
- Parenti, L. (1984). A Taxonomic revision of the andean killifish genus *Orestias* (Cyprinodontiformes, Cyprinodontidae). American Museum of Natural History. Vol. 178(2): 112.
- Parrilla, M., Vázquez J., Saldade E. & Castañeda L. (1993). Brotes de toxiinfecciones alimentarias de origen microbiano y parasitario. Salud pública de Méx. Vol. 35 (5): 456 – 463.
- Picazo, J. (2000). Procedimientos en microbiología clínica. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. http://coesant-seimc.org/documents/M%C3%A9todosB%C3%A1sicos_SensibilidadAntibi%C3%B3ticos.pdf
- Puig, Y., Leyva V., Aportela N., Camejo A. & Tejedor R. (2019). Resistencia antimicrobiana en bacterias aisladas de pescados y mariscos. Rev. Haban Cienc Méd. Vol. 18 (3) 500-512. <http://www.revhabanera.sld.cu/index.php/rhab/article/view/2440>
- QOLLASUYO & CIPP UNA. (2000). Sinopsis Biológica de *Orestias luteus* "carachi amarillo". Puno.
- Quesada, A., Reginatto, G., Ruiz, A., Colantonio, L. & Burrone, M. (2016). Resistencia antimicrobiana de *Salmonella* spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. Rev. Peru. Med. Exp. Salud Pública. Vol. 33 (1): 32–44.
- Rocha, C., Reynolds D. & Simons P. (2015). Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. Rev Peru Med Exp Salud Publica. Vol. 32 (1): 139-45.
- 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. Vol. 35 (1):103-109.
- Romero, J. (2017). Resistencia a diferentes antimicrobianos en cepas bacterianas procedentes de pescado. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Jaén. España. 156 p. <http://ruja.ujaen.es/jspui/bitstream/10953/922/3/9788491591405.pdf>



- Rondón, J., Ramos D., Vilca M., Salazar E., Mendoza Y. & González R. (2020). Caracterización sanitaria e identificación de los puntos de contaminación microbiológica en la cadena de comercialización pesquera en el puerto de Pucallpa, Ucayali, Perú. *Rev. Inv Vet Perú*. Vol. 31 (1): 1-13. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v31i1.17539>
- Ruiz, V. (2004). Ictiofauna de aguas continentales chilenas. Chile: Universidad de Concepción.
- Ruiz, V. (2004). Ictiofauna de aguas continentales chilenas. Chile: Universidad de Concepción.
- Sanabria, G. & Chiquillo J. (2019). Análisis microbiológico de dos muestras de pescado comercializados en Tunja, Boyacá, Estudio de caso. *Cultura Científica*. N° 17: 52-65. [file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/admin,+RCC+17+OK7+\(1\)-52-65%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/admin,+RCC+17+OK7+(1)-52-65%20(1).pdf)
- Sánchez, C. (2018). Detección molecular y fenotípica de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* aislada de agua de mar utilizada en el expendio de productos hidrobiológicos en los terminales pesqueros de Ancón y Chorrillos. Tesis de Maestro en Sanidad Acuícola. Escuela de Posgrado, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima – Perú. 56 p. <https://repositorio.upch.edu.pe/handle/20.500.12866/3854>
- SANIPES, Organismo Nacional de Sanidad Pesquera. (2016). Resolución de Dirección Ejecutiva N° 057-2016-SANIPESDE. http://www.sanipes.gob.pe/normativas/15_R_DE_N_057_2016_A1.pdf.
- Scallan, E., Hoekstra R., Angulo F., Tauxe R., Widdowson M., Roy S., Jones J. & Griffin P. (2011). Foodborne illness acquired in the United States—major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 17: 1338 – 1340.
- Scheutz, F. & Strockbine N. (2005). Genus I. *Escherichia*. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Vol. 2: 607 – 623.
- Scov, L. & Monnet L. (2016). Plasmid-mediated colistin resistance (mcr-1 gene): three months later, the story unfolds. *Euro Surveill*. Vol. 21 (9).
- Tang, L., Caffrey P., Nobrega B., Cork C., Ronksley E., Barkema W., *et al.* (2017). Restricting the use of antibiotics in food-producing animals and its associations with antibiotic resistance in food-producing animals and human beings: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Planet Health*. Vol. 1 (8): e316-e327.
- Thernavin, V. (1944). A revision of the subfamily Orestiinae. *Proceeding of the general meetings for scientific business of the zoological of London*. Vol. 114: 140-233.



- Tortora, G. & Funke B. (2007). Introducción a la microbiología. Editorial Médica Panamericana. Buenos aires, Argentina.
- Vasconcelos, N. & De Souza M. (2010). *Staphylococcus* enterotoxins: Molecular aspects and methods. J Public Health Epidemiol. Vol. 2 (3): 29 – 42.
- Vásquez, J., Tasayco W., Chuquiyaui M. & Apac S. (2018). Evaluación microbiológica de pescados y mariscos expendidos en mercados de la ciudad de Huánuco. Revista de Investigación Valdizana. Vol. 12 (2): 75-82. <https://doi.org/10.33554/riv.12.2.142>
- Velázquez, E. (2005). Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilorresistente. Salud Pública de Méx. Vol. 47 (5): 381 – 387.
- Vilca, J., Castillo, Y., Jara, L., & Coila, Y. (2002). Desarrollar la capacidad de programas de pesca artesanal en el ámbito peruano del sistema TDPS. Puno - Perú: Proyecto PER/98/G-32.
- Yücel, N., Balci, y Enay. (2010). Prevalence of *Listeria*, *Aeromonas*, and *Vibrio* Species in Fish Used for Human Consumption in Turkey. Journal of Food Protection. Vol. 73(2): 380-384.
- Zendejas, G., Ávalos H. & Soto M. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev. Biomed. Vol. 25: 129 – 143.

ANEXOS

Tabla 11. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de *Escherichia coli* según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis negro.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RCTO. <i>Escherichia coli</i>	25	0.97	0.95	11.37

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	48533.52	8	6066.69	56.84	<0.0001
MUESTREO	48196.96	4	12049.24	112.88	<0.0001
REPETICIÓN	336.56	4	84.14	0.79	0.5495
Error	1707.84	16	106.74		
Total	50241.36	24			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=20,01871

Error: 106,7400 gl: 16

MUESTREO	Medias	n	E.E.	E.E.
Dos	35.20	5	4.62	A
Cuatro	48.80	5	4.62	A
Tres	90.80	5	4.62	B
Uno	138.80	5	4.62	C
Cinco	140.60	5	4.62	C

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

Tabla 12. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de *Escherichia coli* según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis amarillo.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
<i>Escherichia coli</i>	25	0.68	0.52	31.52

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	80871.12	8	10108.89	4.24	0.0067
MUESTREO	113498.96	4	28374.74	103.59	<0.0001
REPETICIÓN	2080.16	4	520.04	0.22	0.9243
Error	38106.24	16	2381.64		
Total	118977.36	24			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=31,32260

Error: 273,9200 gl: 20

MUESTREO	Medias	n	E.E.	E.E.
M3	65,80	5	7,40	A
M4	88,20	5	7,40	A
M2	168,00	5	7,40	B
M1	225,20	5	7,40	C
M5	227,00	5	7,40	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 13. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de *Staphylococcus aureus* según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis negro.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RCTO. <i>Staphylococcus aureus</i>	25	0.6	0.94	10.95

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	33044.48	8	4130.56	50.88	<0.0001
MUESTREO	32952.64	4	8238.16	101.47	<0.0001
REPETICIÓN	91.84	4	22.96	0.28	0.8848
Error	1298.96	16	81.18		
Total	34343.44	24			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=15,78205

Error: 69,5400 gl: 20

MUESTREOS	Medias	n	E.E.	
M2	21,80	5	3,73	A
M4	67,40	5	3,73	B
M5	87,20	5	3,73	C
M3	107,80	5	3,73	D
M1	127,40	5	3,73	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Tabla 14. Análisis de varianza y prueba de Tukey de los recuentos de *Staphylococcus aureus* según número de muestreo en muestras de superficie corporal en carachis amarillo.

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
RECUENTO	25	0.94	0.92	12.19

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	22721.68	8	2840.21	34.09	<0.0001
MUESTREO	22528.64	4	5632.16	67.60	<0.0001
REPETICIÓN	193.04	4	48.26	0.58	0.6819
Error	1332.96	16	83.31		
Total	24054.64	24			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=17.68565

Error: 83.3100 gl: 16

MUESTREOS	Medias	n	E.E.	
M3	28.40	5	4.08	A
M5	53.20	5	4.08	B
M2	83.20	5	4.08	C
M4	102.00	5	4.08	D
M1	107.60	5	4.08	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)



Figura 7. Expendio de carachis en el mercado Unión - Dignidad de la ciudad de Puno.



Figura 8. Preparación del caldo triptona para luego su vertimiento en bolsas herméticas para la agitación con las muestras de carachi.



Figura 9. Muestras de carachi negro y amarillo en bolsas herméticas con caldo triptona previo a su agitación.

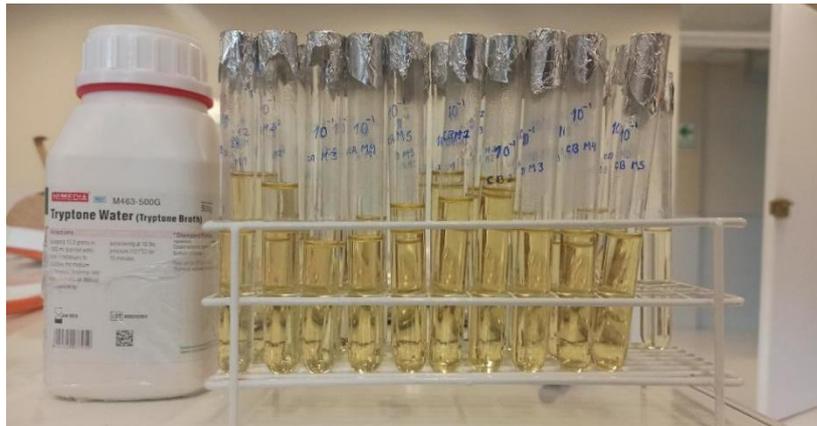


Figura 10. Preparación de caldo triptona en tubos para su posterior dilución con las muestras.



Figura 11. Inoculación de la muestra líquida del lavado superficial de peces en diluciones de los tubos de ensayo.



Figura 12. Preparación de agar EMB y MS para el conteo de bacterias en placas. realizado para las primeras repeticiones.



Figura 13. Siembra por extensión en placas de los resultados de las diluciones.

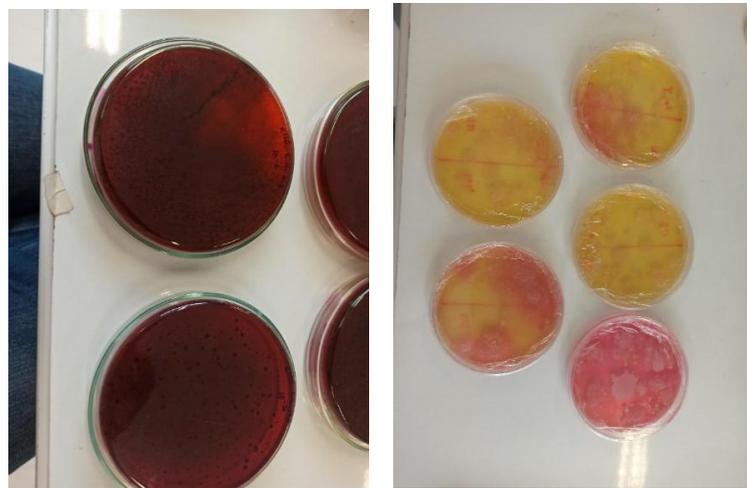


Figura 14. Colonias de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* en agar EMB (eosin metil blue) y MS (manitol salado).



Figura 15. Agar Baird Parker y su aditivo de yema de huevo - Telurito. específico para *Staphylococcus aureus*.

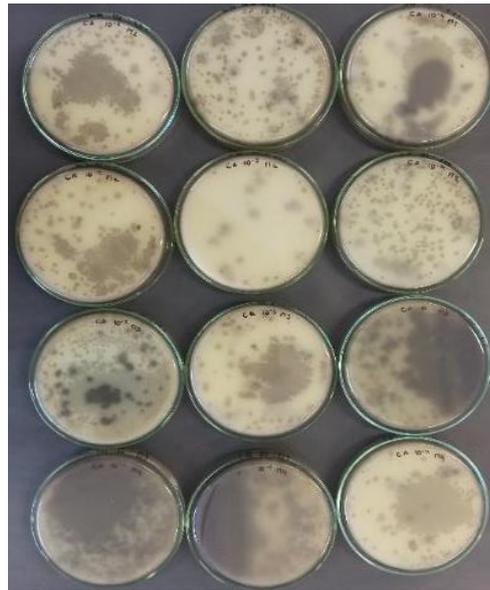


Figura 16. Siembra de *Staphylococcus aureus* en placas Petry conteniendo agar Baird Parker.



Figura 17. Recuento de colonias bacterianas en el equipo de cuenta colonias.



Figura 18. Preparación de pruebas bioquímicas diferenciales para *Escherichia coli*.



Figura 19. Pruebas bioquímicas para *Escherichia coli* y de catalasa para *Staphylococcus aureus*.



Figura 20. Tinción de Gram de colonias bacterianas aisladas de carachi negro y carachi amarillo.

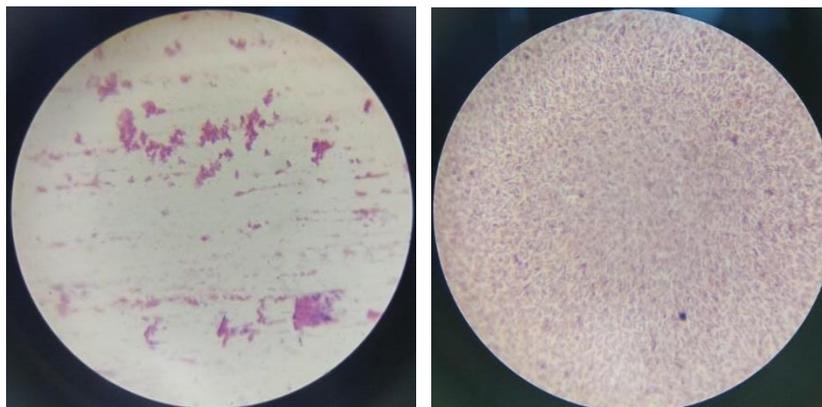


Figura 21. Observación al microscopio de *Staphylococcus aureus* (izquierda) y *Escherichia coli* (derecha).



Figura 22. Turbidez estándar 0.5 de McFarland.

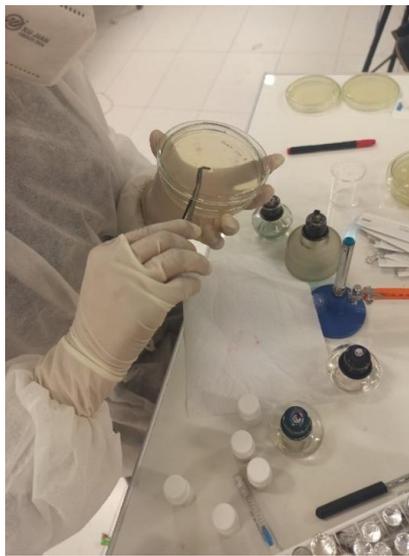


Figura 23. Disposición de discos de sensibilidad en agar Mueller Hinton para *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*.



Figura 24. Medición de los halos resultantes con un calibrador sobre una cartulina negra para una correcta observación.

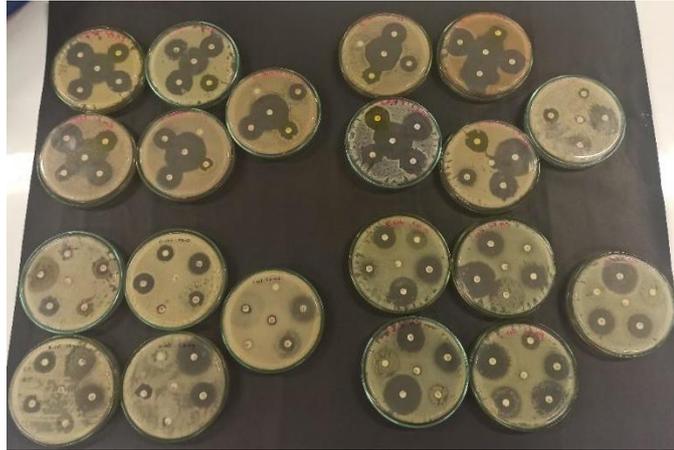


Figura 25. Antibiogramas de *Staphylococcus aureus* (placas de la parte superior) y de *Escherichia coli* (placas de la parte inferior).

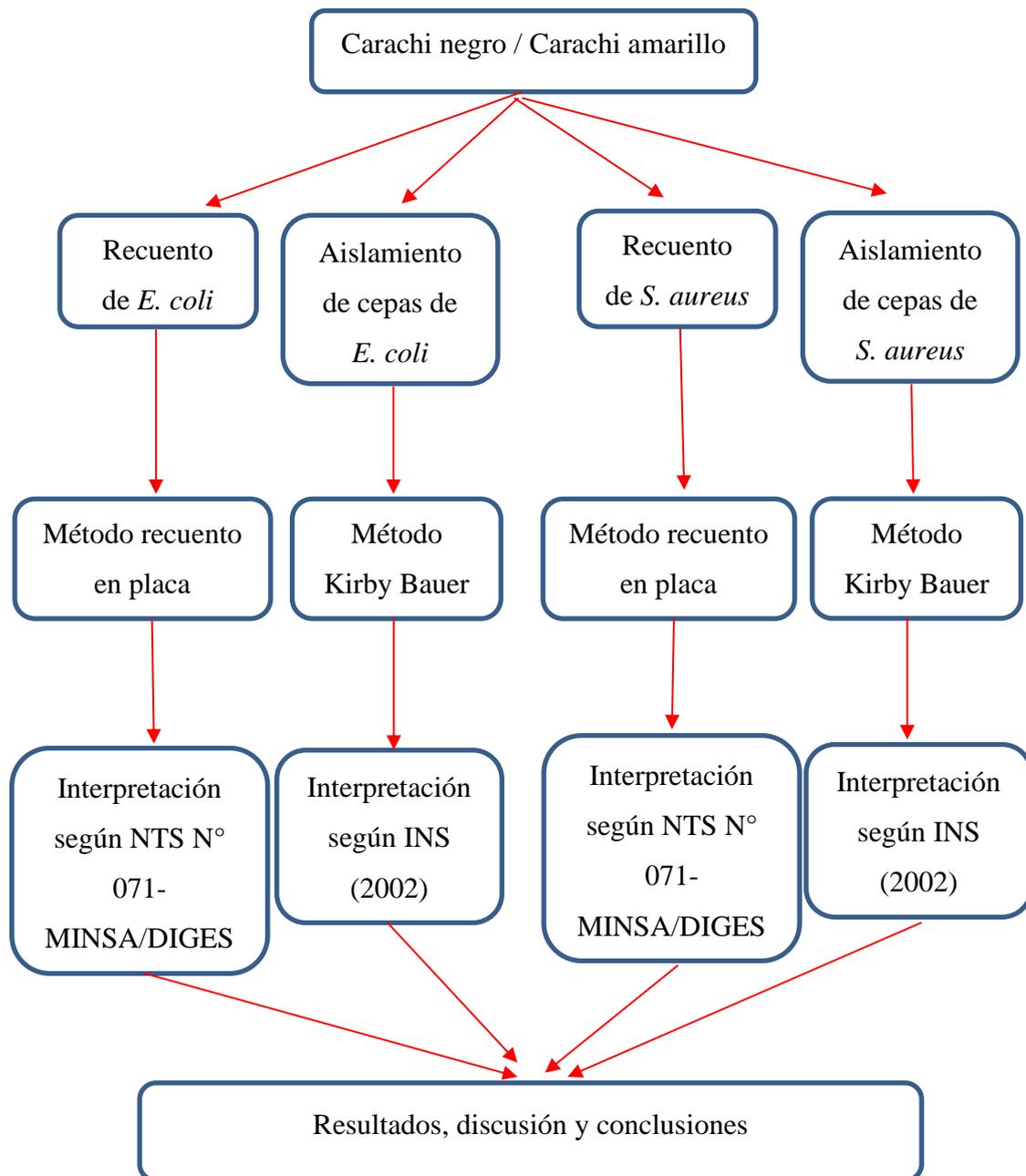


Figura 26. Diagrama de flujo de la metodología.



**AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL**

Por el presente documento, Yo Heidy Camila Flores Flores
, identificado con DNI 70184755 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado
de Biología

, informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado

Título Profesional denominado:

“ Calidad bacteriológica del tejido superficial y susceptibilidad antibiótica en
Escherichia coli y Staphylococcus aureus en corachi negro (Drestias agassii) y corachi amarillo (Drestias lotan)

” Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos ^{expandidos en el} los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, ^{mercado Unión -} los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el ^{Dignidad de la} repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno. ^{ciudad de Puno, 2022.}

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 03 de mayo del 2023



FIRMA (obligatoria)



Huella



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo Heidy Camila Flores Flores
, identificado con DNI 70184755 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

de Biología

, informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación para la obtención de Grado

Título Profesional denominado:

“Calidad bacteriológica del tejido superficial y susceptibilidad antibiótica en Escherichia coli
y Staphylococcus aureus en carachi negro (Orestias agassii) y carachi amarillo (Orestias luteus)
” Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero. expedidos en el mercado Unión-Dignidad de la ciudad de Puno, 2022.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno 03 de mayo del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella