



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
Y RECURSOS NATURALES
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS
ANTIMICROBIANOS EN *Salmonella spp.* A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES Y
TEJIDOS DE CUYES (*Cavia porcellus*) EN CRIADEROS DE LOS CANTONES
PUJILÍ Y LATACUNGA DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”.**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de
Médico Veterinario

Autor:

Yaguapaz Cortez Ana Gabriela

Tutor:

Herrera Yunga Vanessa del Rosario

LATACUNGA – ECUADOR
Febrero 2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Ana Gabriela Yaguapaz Cortez, con cédula de identidad No. 1722945795, declaro ser autora del presente proyecto de investigación “Aislamiento y evaluación de la resistencia a los antimicrobianos en *Salmonella spp.* a partir de hisopados rectales y tejidos de cuyes (*Cavia porcellus*) en criaderos de los cantones Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi”, siendo la Médica Veterinaria Zootecnista, Mtr. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Tutora del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Ana Gabriela Yaguapaz Cortez
Estudiante
C.C. 1722945795

MVZ. Mtr. Vanessa Herrera Yunga
Docente Tutor
C.C. 1103758999

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **YAGUAPAZ CORTEZ ANA GABRIELA**, identificada con cédula de ciudadanía 1722945795 de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, el Doctor Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “Aislamiento y evaluación de la resistencia a los antimicrobianos en *Salmonella spp.* a partir de hisopados rectales y tejidos de cuyes (*Cavia porcellus*) en criaderos de los cantones Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Abril 2018-Agosto 2018

Finalización de la carrera: Octubre 2022-Febrero 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 30 de noviembre del 2022

Tutor: MVZ. Vanessa Herrera Yunga, Mtr.

Tema: “Aislamiento y evaluación de la resistencia a los antimicrobianos en *Salmonella spp.* a partir de hisopados rectales y tejidos de cuyes (*Cavia porcellus*) en criaderos de los cantones Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi”.

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.

d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad.

El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicite.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 15 días del mes de febrero del 2022.

Ana Gabriela Yaguapaz Cortez

LA CEDENTE

Dr. Cristian Tinajero Jiménez

LA CESIONARIA

AVAL DE LA TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutora del Proyecto de Investigación con el título:

“AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *Salmonella spp.* A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES Y TEJIDOS DE CUYES (*cavia porcellus*) EN CRIADEROS DE LOS CANTONES PUJILÍ Y LATACUNGA DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”, de Ana Gabriela Yaguapaz Cortez, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre defensa.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

MVZ. Vanessa Herrera Yunga, Mtr.

DOCENTE TUTORA

CC: 1103758999

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Yaguapaz Cortez Ana Gabriela, con el título de Proyecto de Investigación: “AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *Salmonella spp.* A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES Y TEJIDOS DE CUYES (*cavia porcellus*) EN CRIADEROS DE LOS CANTONES PUJILÍ Y LATACUNGA DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 15 de febrero del 2023

Lector 1 (Presidente)
MVZ. Cristian Arcos Álvarez, Mg.
CC: 1803675634

Lector 2
Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar, Mg.
CC: 0501616353

Lector 3
MVZ. Edie Gabriel Molina Cuasapaz, Mtr.
CC: 1722547278

AGRADECIMIENTO

A Dios por guiarme en este largo camino, cuidándome y protegiéndome en este largo camino para culminar con éxito mi carrera profesional.

A mis padres Kleber y María, quienes, me formaron a ser de mí una mejor persona y además con su dedicación, fortaleza, apoyo moral y económico durante toda mi vida estudiantil, para poder culminar con mi carrera profesional.

A la Universidad Técnica de Cotopaxi, por haberme dado la oportunidad para realizar y plasmar mis sueños, permitiéndome cumplir mis estudios superiores.

A mi tutora del proyecto de investigación Vanessa del Rosario Herrera Yunga, gracias por haberme enseñado sus conocimientos de Microbiología, por toda su paciencia y apoyo brindado, haciendo posible completar mi formación profesional.

Al doctor Diego, Marco y Alejandra, gracias por permitirme ser miembro de su equipo de trabajo, brindándome sus conocimientos y experiencias.

A Braulio, Jossué, Kevin, Sebastián, Mariela, Abigail y Nicol quiénes han sido parte esencial de esta aventura, por cada experiencia compartida, brindándome una grata amistad, y apoyo incondicional.

Ana Yaguapaz

DEDICATORIA

Con mucho cariño a mis padres quienes son pilares fundamentales de mi vida, por todo el esfuerzo y sacrificio que ha hecho por verme cumplir mis metas, gracias a ellos he podido realizar mi sueño anhelado de ser una profesional. Este logro también es de ustedes. A mi hermanito Javier, por sus sonrisas y su amor.

También quiero dedicar a mis abuelitos Miguel, Mariana, Eduardo y María Emilia quién está en el cielo, me han cuidado desde pequeña, con mucho amor y cariño.

Ana Yaguapaz

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS EN *Salmonella spp.* A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES Y TEJIDOS DE CUYES (*Cavia porcellus*) EN CRIADEROS DE LOS CANTONES PUJILÍ Y LATACUNGA DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI”.

AUTOR: Yaguapaz Cortez Ana Gabriela

RESUMEN

El presente proyecto de investigación tuvo como objetivo determinar la presencia de *Salmonella spp.* por medio de métodos de aislamiento bacteriano a partir de hisopados rectales y tejidos de cuyes provenientes de criaderos de los cantones de Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi, con el fin de evaluar los patrones de resistencia antimicrobiana. Para lo cual, se estudiaron 50 muestras distribuidas en tres criaderos identificados como A, B y C, realizando un análisis microbiológico de aislamiento mediante el método convencional para detección de *Salmonella spp.* propuesta en la norma ISO 6579:2002 considerado de referencia internacional, realizándose el pre-enriquecimiento de las muestras en caldo de Lactosa, seguido por un enriquecimiento con caldo de Tetratoato, y un aislamiento selectivo en Agar BS y SS para su confirmación por pruebas bioquímicas tradicionales por medio de TSI, LIA, SIM, CITRATO, UREA y MRVP, para el análisis de sensibilidad en 14 antimicrobianos mediante el método de difusión por discos de Kirby-Bauer. *Salmonella* fue aislada en el 30% (15/50) de las muestras analizadas. Obteniendo perfiles de resistencia a los antibióticos. Los resultados se evidenciaron que las bacterias aisladas son resistentes a más de un antibiótico, siendo un 100% a la penicilina, y fosfomicina, seguido con un 93.3% a la eritromicina, un 86.7% a la amoxicilina y ampicilina, un 80% a la tetraciclina y un 66.7% para la ampicilina/sulbactam. Presentando una sensibilidad del 100% en la gentamicina, norfloxacin, ciprofloxacina, sulfametoxazol/trimetropim y florfenicol, el 80% a la enrofloxacin, y el 73.3% a la amoxicilina/ácido clavulánico. Concluyendo que *Salmonella spp.* presenta mecanismos de resistencia en múltiples antibióticos, por lo que es importante sobre todo en países de América Latina se realicen estudios sobre la multiresistencia en esta bacteria, ya que uno de los antibióticos preocupantes en este estudio resultó la fosfomicina, que es utilizado de primera línea y tratado como último recurso de tratamiento cuando todas las alternativas han fallado, sobre todo cuando hay infecciones provocadas por bacterias multiresistentes., siendo un riesgo para la salud debido a que puede ser usado de forma indiscriminada dentro de los sectores productivos, por lo que se debe establecer y monitorear estrategias adecuadas de su control.

Palabras clave: *Salmonella*, cuyes, Resistencia antibiótica, Salud pública.

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: "ISOLATION AND EVALUATION OF RESISTANCE TO ANTIMICROBIALS IN *Salmonella* spp. FROM RECTAL SWABS AND GUINEA PIGS (*Cavia porcellus*) TISSUES IN FARMERS FROM PUJILÍ AND LATACUNGA CANTONS, COTOPAXI PROVINCE".

AUTHOR: Yaguapaz Cortez Ana Gabriela

ABSTRACT

This research aimed to determine the presence of *Salmonella* spp. through bacterial insulation methods from rectal swabs and tissues of guinea pigs from farms of Pujilí and Latacunga cantons, Cotopaxi province, to evaluate the patterns of antimicrobial resistance. So, 50 samples were studied in three hatcheries identified, such as A, B, and C, performing a microbiological analysis of isolation through the conventional method to detect *Salmonella* spp. proposed in ISO 6579: 2002 as an international reference, making pre-enrichment of samples in lactose broth, followed by enrichment with tetrathionate broth, and selective isolation in Bs and SS agar for confirmation by traditional biochemical tests through TSI, LIA, SIM, Citrate, Urea, and MRVP, for sensitivity analysis in 14 antimicrobials through the Kirby-Bauer dissemination method. The salmonella was isolated in 30% (15/50) of the analyzed samples. It was gotten antibiotic resistance profiles, and the results evidenced that the isolated bacteria are resistant to more than one antibiotic, being 100% to penicillin, and phosphoserine, followed by 93.3% to erythromycin, 86.7% to amoxicillin and ampicillin, 80% to the tetracycline and 66.7% for ampicillin/sulbactam. It was evident sensitivity of 100% in gentamycin, norfloxacin, ciprofloxacin, sulfamethoxazole/trimethoprim, and florfenicol, 80% to the enrofloxacin, and 73.3% to amoxicillin/clavulanic acid. Therefore, *Salmonella* spp. presents resistance mechanisms in multiple antibiotics, so it is essential, especially in Latin American countries, studies on multiresponse in this bacterium since one of the worrying antibiotics in this study resulted in phosphomicine, which is used first line and treated as the last treatment resort when all alternatives have failed, mainly when multiresistant bacteria cause infections., being a health risk because it can be used indiscriminately within the productive sectors so that it is necessary to establish and monitor appropriate strategies of its control.

Keywords: *Salmonella*, guinea pigs, antibiotic resistance, public health.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
AVAL DE LA TUTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
ÍNDICE DE CONTENIDOS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS	xiii
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	3
3.1. Directos	3
3.2. Indirectos	3
4. PROBLEMÁTICA	3
5. OBJETIVOS.....	6
5.1. Objetivo general.....	6
5.2. Objetivo específico	6
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	7
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	8
7.1. Generalidades <i>Salmonella</i>	8
7.2. Taxonomía	8
7.3. Estructura antigénica.....	9
7.4. Caracterización morfológica y bioquímica.....	10
7.5. Epidemiología	12
7.6. Etiología.....	13
7.7. Patogenia.....	14
7.8. Transmisión	14
7.9. Signos clínicos y lesiones	15
7.9.1. Lesiones anatomopatológicas	16
7.10. Diagnóstico.....	16

7.10.1.	Técnicas de Diagnóstico en Laboratorio de <i>Salmonella spp.</i>	17
7.11.	Tratamiento de la Salmonelosis	22
7.12.	Prevención de salmonelosis	23
7.13.	Antimicrobianos	23
7.13.1.	Resistencia a antimicrobianos.....	25
8.	VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS	29
9.	METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	30
9.1.	Metodología.....	30
9.1.1.	Descripción de la zona de estudio	30
9.1.2.	Población, tamaño y recolección de la muestra.....	30
9.2.	Diseño experimental	32
9.2.1.	Procedimiento de aislamiento de las muestras	32
9.2.2.	Pruebas Bioquímicas y morfológicas	33
9.2.3.	Prueba de sensibilidad	37
10.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
10.1.	Resultados de los análisis microbiológicos.....	39
10.1.1.	Resultados de aislamientos en medios de cultivo bacteriano.	39
10.1.2.	Resultados de las pruebas bioquímicas en medios selectivos para detección de enterobacterias.....	39
10.1.3.	Resultados de pruebas de sensibilidad.....	42
10.2.	DISCUSIÓN.....	44
11.	IMPACTOS	49
11.1.	Impacto social	49
11.2.	Impacto económico	49
11.3.	Impacto ambiental	49
12.	CONCLUSIONES.....	50
13.	RECOMENDACIONES	51
14.	BIBLIOGRAFÍA	52
15.	ANEXOS	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.....	7
Tabla 2. Clasificación científica de Salmonella..	8
Tabla 3. Especie, subespecie, número de serotipos y hábitat usual de Salmonella según la clasificación de Kauffman-White.....	9
Tabla 4. Caracteres bioquímicos del género Salmonella.....	11
Tabla 5. Clasificación de los antibióticos en base a su mecanismo de acción y espectro bacteriano.....	24
Tabla 6. Población, número de muestras recolectadas y tipo de sistema de crianza de cuyes de los criaderos A, B y C del cantón Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi.....	31
Tabla 7. Patrones estándar del halo de inhibición para Enterobacterias determinado por el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS).....	38
Tabla 8. Resultados de Pruebas Bioquímicas de las 17 muestras sospechosas.....	40
Tabla 9. Resultados de antibiograma del género Salmonella en 14 antibióticos.....	42
Tabla 10. Distribución de la susceptibilidad (%) a los antimicrobianos en Salmonella spp., aisladas en cuyes (n=15).....	43
Tabla 11. Resultado obtenidos en las 50 muestras	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de bacterias aisladas en las muestras de los criaderos A, B y C.	41
Figura 2. Distribución de la susceptibilidad (%) a los antimicrobianos en Salmonella spp. ..	44

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto: Aislamiento y evaluación de la resistencia a los antimicrobianos en *Salmonella spp.* a partir de hisopados rectales y tejidos de cuyes (*Cavia porcellus*) en criaderos de los cantones Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi.

Fecha de inicio: Octubre 2022

Fecha de finalización: Febrero 2023

Lugar de ejecución: Latacunga, Pujilí - Provincia de Cotopaxi.

Facultad que auspicia: Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia: Carrera de Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado: Microbiología, Farmacología, Patología.

Equipo de Trabajo:

Ana Gabriela Yaguapaz Cortez

MVZ. Vanessa Herrera Yunga. Mtr.

Área de Conocimiento: Ciencias Agropecuarias

SUB ÁREA: Veterinaria

Línea de investigación: Salud Animal

Sub líneas de investigación de la Carrera: Microbiología, Farmacología, Inmunología y Sanidad Animal.

2. JUSTIFICACIÓN

En los cuyes la salmonelosis es una infección entérica, que produce la mayor pérdida económica en los productores, pues los brotes de salmonelosis afecta a gran parte de la población en la crianza de cuyes, siendo la enfermedad más grave para estos animales, debido a los cuadros patológicos de mortalidad severa, morbilidad y aparición de abortos en hembras en gestación (1).

Sin embargo, el mayor riesgo de infecciones por microorganismos como el caso de *Salmonella spp.* no es la diseminación de la enfermedad, sino las diferentes cepas portadoras de resistencias a los antimicrobianos, pues se ha demostrado que las bacterias crean su auto resistencia al uso de antibióticos, el empleo incontrolado de estos fármacos ha acelerado este proceso, afectando tanto a los animales como a los humanos e incrementando costos económicos (1). Por ello se hace necesario mejorar la capacidad y competencia para detectar y caracterizar los brotes mediante un diagnóstico usando diferentes métodos de identificación, tipificación y determinación de los perfiles de susceptibilidad a los antimicrobianos, para identificar la resistencia o sensibilidad de *Salmonella spp.* a los antimicrobianos más habituales y así tomar medidas de control apropiadas en los tratamientos.

El propósito de este estudio es aislar e identificar el género de *Salmonella spp.* de hisopados rectales y muestras de órganos de cuyes, independientemente del estado fisiológico o de salud de los animales, es decir adultos, jóvenes y gazapos enfermos o sanos, de diferentes sistemas de crianza de dos cantones de la provincia de Cotopaxi; para su posterior caracterización mediante el uso de pruebas bioquímicas, y así mismo evaluar la resistencia antimicrobiana mediante la técnica de difusión en disco agar (Kirby-Bauer). De igual manera ayudar en beneficios potenciales dentro de estos sistemas de crianza como una forma de mejorar el bienestar animal y reducir la eliminación de patógenos entéricos en los animales y sus subproductos con mejores protocolos de bioseguridad, y así evitar el riesgo de enfermedad para la salud pública.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Directos

- Propietarios de los criaderos de los cantones de Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi.
- Población que consume la carne de cuy de los diferentes sectores de los cantones de la provincia de Cotopaxi.

3.2. Indirectos

- Comerciantes y expendios de cuyes de los diferentes cantones de la provincia de Cotopaxi.

4. PROBLEMÁTICA

La *Salmonella* es uno de los patógenos zoonóticos con mayor importancia en la salud pública, debido a que es una de las enfermedades transmisión alimentaria más comunes. Los últimos datos revelados por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) muestran una tasa del 20,4% de casos de salmonelosis por 100.000 personas, con un total de 94.530 brotes en la Unión Europea (UE) durante 2016, siendo el segundo patógeno con más casos reportados después de *Campylobacter*. La EFSA señala que los alimentos de origen animal, son una de las principales vías de contagio en humanos (2).

Según el Subsistema de Vigilancia SIVE-ALERTA, en Ecuador durante el 2022, los casos de enfermedades infecciosas debidas a *Salmonella spp.* disminuyeron a comparación de años anteriores, pues en ese año se notificó 19 casos a nivel nacional, mientras que en el año 2021 fueron de 300 casos de salmonelosis, los mismos que en su mayoría fueron reportados en la

provincia de Guayas con 82, y del año 2020 fueron de 1099 casos notificados, afectando al grupo de edad de 20 a 49 años (3).

En cuyes la infección de *Salmonella spp.* está asociada con factores predisponentes como el estrés, malas prácticas de manejo, deficiente nivel de bioseguridad y presencia de roedores y aves, y también el cambio de temperatura y humedad. En un estudio publicado de la Revista de Ciencias de la Universidad Ricardo Palma de Perú, se determinó la presencia de bacterias del género *Salmonella* en 14 cuyes con signos de Salmonelosis, recolectando muestras de intestino, bazo, pulmones e hígado, obteniéndose una prevalencia de 78.57% (4).

En cuanto a Ecuador un estudio realizado en el 2016 se evaluó la calidad microbiológica de cuyes faenados que se expenden en la ciudad de Cuenca, concluyendo que el 47.14% de las muestras presentaban una carga superior a los establecido para aerobios mesófilos, mientras que el 41.43% de las muestras mostraron presencia de *Salmonella spp* (5) .

En los últimos años, diversos estudios han reportado el aumento de resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella spp.* tanto en humanos como animales, debido al uso extenso de antibióticos, como promotores de crecimiento en animales, siendo de gran preocupación para el sistema sanitario público a nivel mundial. Los diferentes tipos de fármacos utilizados para controlar mortalidad y morbilidad de *Salmonella spp.* son extensos, y cada vez el uso inadecuado e indiscriminado de estos medicamentos hace que las bacterias se desarrollen, adapten y muten, creando auto resistencia, sin identificar muchas veces la causa principal de la enfermedad como las medidas de control.

En estudios realizados en Perú, en el 2018 se realizó la evaluación de la resistencia antimicrobiana de diferentes cepas de *Salmonella Typhimurium*, encontrándose cepas

resistentes a eritromicina 60% (12/20), nitrofurantoína 40% (8/20), estreptomina 30% (6/20), penicilina 25% (5/20), y enrofloxacin 10% (2/20) (6).

En el 2022 en Ecuador se realizaron aislados de 69 cultivos de enterobacterias identificados de *Escherichia coli*, *Shigella flexneri* y *Salmonella Typhimurium* de los que se obtuvo su perfil de susceptibilidad antimicrobiana y como conclusión se obtuvo que el mejor fármaco antibacteriano fue Enrofloxacin con 84,06% de sensibilidad contra *E. coli*; Enrofloxacin y Oxitetraciclina con 64,29% de sensibilidad contra *S. flexneri*; Sulfametoxazol/Trimetoprim con 100% de sensibilidad contra *Salmonella typhimurium* (7).

Esto ha demostrado que *Salmonella* es de importancia mundial dentro de la salud pública y animal, debido a su alta mortalidad, causa pérdidas económicas tanto en productores como en la salud, no por la enfermedad si no por su resistencia a los antimicrobianos en diferentes especies animales, siendo una amenaza creciente para el bienestar de los individuos, es por eso que se pretende realizar diagnósticos de *Salmonella spp.* en cuyes, ya que la mayoría de investigaciones se centran en aves debido a que es el principal reservorio, sin tomar en cuenta de que la salmonelosis es una zoonosis que incluso afecta en animales de sangre fría, y por otro lado es importante realizar actualizaciones de estudios sobre su resistencia a los antimicrobianos, ya que esto indica la necesidad de establecer sistemas de control y vigilancia adecuados para reducir la resistencia en aislamientos.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar la presencia de *Salmonella spp.* por medio de métodos de aislamiento bacteriano a partir de hisopados rectales y tejidos de cuyes provenientes de criaderos de los cantones de Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi, con el fin de evaluar los patrones de resistencia antimicrobiana.

5.2. Objetivo específico

- Aislar *Salmonella spp.* mediante métodos y protocolos microbiológicos cotidianos, obtenidos de muestras de hisopado rectal y tejidos de cuyes de los cantones de Pujilí y Latacunga.
- Identificar colonias compatibles con *Salmonella spp.* a partir del uso de pruebas bioquímicas.
- Determinar el perfil de sensibilidad antimicrobiana de *Salmonella spp.* aisladas, por el método de difusión en Agar.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 1. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.

Objetivo	Actividad	Resultado de la actividad	Medios de verificación
Aislar <i>Salmonella</i> spp. mediante métodos microbiológicos cotidianos, obtenidos de muestras de hisopado rectal y tejidos de cuyes de los cantones de Pujilí y Latacunga.	Recolección y procesamiento de las muestras, usando los métodos de aislamiento aceptado por la (AOAC). Etapa de pre-enriquecimiento usando Caldo Lactosado Etapa de enriquecimiento usando Caldo de Tetracionato Etapa de aislamiento en medios de cultivo usando Agar Bismuto-sulfito y Agar <i>Salmonella-Shigella</i>	-Placas inoculadas con crecimiento bacteriano 39/50 (78%). -Colonias compatibles a <i>Salmonella</i> spp. 17/39 (43.5%)	Instrucciones generales de la ficha técnica del medio de cultivo Agar bismuto-sulfito (Wilson Blair). Observación de los medios de cultivos con colonias típicas con aspectos característicos a <i>Salmonella</i> spp.
Analizar e identificar colonias compatibles con <i>Salmonella</i> spp. a partir del uso de pruebas bioquímicas.	Realización de las pruebas bioquímicas utilizando el método convencional con agares TSI, LIA, CITRATO DE SIMMONS, SIM Y IMViC y pruebas de catalasa y oxidasa de colonias sospechosas	Identificación de colonias positivas a <i>Salmonella</i> spp. 15/17 (88.23) Se aislaron 15 muestras de tejidos con <i>Salmonella</i> spp. de las 50 muestras procesadas (30%).	Tabla guía de identificación bioquímica de enterobacterias (Anexo 11) Comparación de colores en los agares TSI, LIA, CITRATO DE SIMMONS, SIM Y IMViC, de acuerdo a sus características metabólicas.
Evaluar el perfil de sensibilidad antimicrobiana de <i>Salmonella</i> spp. aisladas, por el método de difusión en Agar.	Preparación de agar Mueller-Hinton para realización de la prueba de susceptibilidad de colonias aisladas de <i>Salmonella</i> spp. Colocación de los 14 discos con antibióticos.	Determinación de los antibióticos resistentes, intermedios y sensibles a la bacteria <i>Salmonella</i> spp. de las muestras aisladas.	Medición de los halos de inhibición con calibrador o determinado por el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS) (Tabla 7).

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1. Generalidades *Salmonella*

El género *Salmonella* deriva su nombre del microbiólogo estadounidense Daniel Elmer Salmon, un patólogo veterinario que, junto con Theobald Smith, descubrió y aisló la cepa entérica o choleraesuis del intestino de un cerdo. Este género causa la salmonelosis, es el grupo más grande y heterogéneo de bacilos gramnegativos, y su hábitat es el aparato gastrointestinal de los animales y el hombre, pero no es parte de la microbiota normal (8).

7.2. Taxonomía

Es un género de bacterias perteneciente a la familia Enterobacteriaceae, filo proteobacteria (Tabla 2). La más reciente clasificación deriva de estudios realizados sobre la base de técnicas de hibridación de DNA de *Salmonella*, permitiendo determinar que existen dos especies *S. entérica* y *S. bongori*, que se encuentran constituidas por más de 2500 variedades serológicas, delimitadas por distintas asociaciones de antígenos somáticos O y flagelares H (9).

Tabla 2. Clasificación científica de *Salmonella*.

Dominio	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gammaproteobacteria
Orden	<i>Enterobacteriales</i>
Familia	<i>Enterobacteriaceae</i>
Género	<i>Salmonella</i>

Fuente: Villagómez S, 2015.

La *Salmonella entérica* se divide en seis subespecies que se distinguen por algunas características bioquímicas. Estas subespecies en numeración romana son I entérica; II salamae; IIIa arizonae; IIIb diarizonae; IV houtenae y VI indica. El símbolo romano V se reserva para los serotipos de *S. bongori* (Tabla 3) (9).

Tabla 3. Especie, subespecie, número de serotipos y hábitat usual de *Salmonella* según la clasificación de Kauffman-White.

Especie	Subespecie	No. De serotipos dentro de la especie.	Hábitat
<i>Salmonella</i>	<i>entérica</i> (I)	1531	Ser humano. Animales de sangre caliente
	<i>salamae</i> (II)	505	Animales de sangre fría Medio Ambiente
	<i>arizonae</i> (IIIa)	99	
	<i>diarizonae</i> (IIIb)	336	
	<i>houtenae</i> (IV)	73	
	<i>indica</i> (VI)	13	
<i>Salmonella bongori</i> (V)		22	Animales de sangre fría. Medio Ambiente
TOTAL		2579	

Fuente: Grimont P, 2007.

7.3. Estructura antigénica

La serotipificación está basada en el esquema, internacionalmente reconocido, de Kauffmann-White, que se basa en la caracterización, generalmente por aglutinación en portaobjetos, de los antígenos somáticos O, de los antígenos flagelares H y rara vez del antígeno capsular Vi (10).

Antígeno O: El antígeno (Ag) somático (O de pared celular) es polisacárido, termoestable, tipo-específico, resistentes a ácidos diluidos y alcohol, y se halla en todas las especies. Está formado aproximadamente por 60% polisacáridos, 20-30% lípidos y 3.5-4% hexosamina. Se han identificado alrededor de 60 antígenos diferentes (11).

Antígeno H: Su nombre deriva del alemán Hauch. El antígeno (Ag) flagelar (H) es proteico y termolábiles. Forman parte de las flagelinas de los flagelos. Estos microorganismos poseen dos fases de Ag en su antígeno flagelar (H1 y H2). La mayoría de las cepas del género *Salmonella* pueden expresar las dos especificidades de su antígeno H (difásicos), sin embargo, existen algunas que pueden expresar solamente una sola (monofásicas) (11) (12).

Antígeno K: El Ag capsular (K) presente es un antígeno termolábil, llamado en *Salmonella* el Ag (Vi), por ser el que determina la virulencia de la bacteria, ya que confiere resistencia contra la respuesta inmune celular y humoral del huésped. Protege a la bacteria dándole resistencia antifagocítica. Como este antígeno recubre toda la bacteria, es la causa de inaglutinabilidad con antisuero O (12).

7.4. Caracterización morfológica y bioquímica

Su morfología depende de la familia Enterobacteriaceae. Se trata de células en forma de bastones o bacilos gramnegativos, de 0.7 a 1.5 μm de ancho y 2.0 a 5 μm de largo, que se caracterizan por ser de metabolismo anaerobio facultativo y no formador de esporas, móviles por flagelos distribuidos en forma peritrica a excepción de dos especies *S. Gallinarum-Pullorum*, inmóviles, las cuales son responsables del tifus aviar y pullorosis (13).

Estas bacterias tienen un metabolismo fermentativo y oxidativo. Se desarrollan de manera óptima en condiciones de pH entre 6.6 y 8.2. No toleran concentraciones de sal, y pueden ser destruidas a temperaturas de 56 °C durante 10-20 minutos, e inactivadas con cloro, yodo y desinfectantes con fenol (14).

Son capaces de fermentar la glucosa produciendo ácido y gas, con lo cual producen ATP, CO₂ y H₂. También se alimentan de maltosa y maltodextrinas; raramente fermentan lactosa o sacarosa. Son citocromo-oxidasa negativas (un sistema que activa la oxidación del citocromo

el cual es reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana) y normalmente catalasa positivas (pueden catalizar la descomposición de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso formando burbujas). Son capaces de reducir los nitratos a nitritos, obtienen el carbono del citrato, y producen H₂S (15).

Tabla 4. Caracteres bioquímicos del género *Salmonella*.

Prueba	Resultado	Prueba	Resultado
Adonitol	-	Glucosa	+
Dulcitol	+/-	Indol	-
Sorbitol	+	H ₂ S	+
Arabinosa	+	Gelatinasa	-
Xylosa	+	Voges-Proskauer	-
Rhamnosa	+	Rojo metilo	+
Maltosa	+	Urea	-
Salicina	-	Citrato	+ ¹
Inositol	+/-	Lisindecarboxilasa	+
Lactosa	-	Ornitindecarboxilasa	+
Sacarosa	-	Phenilalanindeaminasa	-
Manitol	+		

¹ Algunas cepas reaccionan positivamente a las 48 h

+: El 90% o más de reacciones positivas

-: el 90% o más de reacciones negativas

+/-: reacciones variables

Son ureasa negativas (algunas bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberando amoníaco y dióxido de carbono), lisina descarboxilasa negativa (basado en la descarboxilación y desaminación de la lisina), y la prueba de indol es negativa (determina la capacidad de las bacterias para producir indol a partir del triptófano). Producen colonias de 2

a 3 µm de diámetro, pasadas las 18 a 24 horas, a excepción de algunos serotipos, que producen colonias enanas, y tienen una textura rugosa o lisa (Tabla 4) (15).

7.5. Epidemiología

La epidemiología de las infecciones por *Salmonella spp.* varía ampliamente debido a su distribución generalizada, el amplio grado de hospedadores y su patogénesis, el creciente número de serotipos en base a sus propiedades antigénicas flagelares y somáticas, dependiendo del tipo de *Salmonella spp* (17). Se estima que la Fiebre Entérica o Tifoidea causada por *S. typhi* y *S. paratyphi*, provoca en un año 200 000 muertes y 22 millones de enfermos, siendo así predominante en países con bajos ingresos (18).

De los datos obtenidos a partir de la Organización Panamericana de la Salud (OPS), junto con la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2018 se manifestó una alerta epidemiológica en humanos debido a infecciones por *Salmonella* serovar Typhi con resistencia amplia a fluoroquinolonas y cefalosporinas de tercera generación en África y Sureste Asiático, estimando que la tasa de enfermedad para *S. Typhi* en las Américas es de 10 por 100.000 habitantes (2-32; IC de 95%) y la mortalidad de 0,07 (0,01-0,2; IC de 95%) por 100.000 habitantes (19).

En Ecuador según datos obtenidos por el Ministerio de Salud Pública por medio de la Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica, en el 2021 se detectó 330 casos de infecciones por Salmonelosis, siendo en su mayoría en la provincia de Guayas con 94, siendo el grupo de edad más afectado de 20 a 49 años (20).

En cuanto al sistema de crianza en cuyes, se han logrado importantes avances técnicos a gran escala, sin embargo los conocimientos sobre aspectos sanitarios y epidemiología de las enfermedades son aún escasos, haciendo que disemine rápidamente a la población expuesta,

pues el principal medio de contagio se realiza mediante el contacto directo con las heces de cuyes infectados con la bacteria, o bien por otros animales portadores como ratas, ratones, etc (21).

7.6. Etiología

Salmonella spp. presenta diferencias refiriéndose a la especificidad del huésped; mientras que algunos serovares no se adaptan estrictamente a un huésped, y son capaces de provocar enfermedades con diversas características en diferentes especies animales y en los humanos, otros serovares sí son específicos, como *S. Gallinarum* para las aves o *S. Typhi* en el caso del hombre. El reservorio de las Salmonella (*S. Typhimurium* y *Enteritidis*) se compone de animales domésticos y salvajes, entre ellos aves de corral, ganado porcino y bovino, roedores y mascotas tales como iguanas y tortugas, perros y gatos, hámsters así como también el hombre. La condición de portador crónico es rara en los seres humanos (22).

La salmonelosis en cobayos es causada por serotipos del género *Salmonella spp.* pertenecientes a la familia enterobacteriaceae, serovariedad *typhimurium*, aislándose en los órganos de los cobayos, encontrándose en estado latente en estos animales, convirtiéndose en portadores y en situación de estrés se active (1).

En estudios realizados en cuyes de laboratorio, se ha podido identificar distintos tipos de serovares las cuales son *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. florida*, *S. bredeney*, *S. pomona*, *S. dublin*, *S. ochiogu*, *S. limite*, y de igual manera otros estudios en los cuyes se ha reconocido a *S. enteritidis*, *S. typhimurium* y *S. dublin*. (23).

7.7. Patogenia

Está determinada por una serie de factores entre los que se encuentran la vía de transmisión, la dosis infecciosa, el serotipo implicado, la presencia y grado de inmunidad y el grado de resistencia del hospedador. La patogenia de la salmonelosis puede dividirse en dos fases: primera fase de localización intestinal y en otros casos una segunda fase sistémica (24).

Luego de la ingestión oral, la bacteria experimenta severos cambios medioambientales, como la baja tensión de oxígeno, alta osmolaridad, pH ácido y aumento de temperatura. Las salmonellas modulan la expresión de sus genes lo que hace que puedan sobrevivir a estos cambios (23). Una vez superada la barrera gástrica, estas bacterias pasan al intestino delgado siendo un medio más adecuado, más aún si hay una alteración de flora intestinal normal por el uso previo de antibioterapia. La infección se localiza principalmente en la última porción del íleon y en el intestino grueso, adhiriéndose a receptores específicos de las vellosidades intestinales, atraviesan la mucosa, alcanzan los linfáticos de las placas de Peyer multiplicándose, y viajan a la sangre y son capturadas por fagocitos y macrófagos, y se acumulan en los órganos como el hígado, bazo y médula ósea. Por último vuelven a pasar al intestino y vesícula biliar (25).

En caso de entrada por la vía aerógena, se produce una invasión en las amígdalas y los pulmones (26).

7.8. Transmisión

La fuente principal de *Salmonella spp.* proviene de animales de granja que pueden ser frecuentemente portadores intestinales del microorganismo. El contagio se produce principalmente de forma directa a través de animales infectados por vía oral (por contacto fecal-

oral), aunque también por vía aerógena (por aire) y conjuntival; e indirecto por la contaminación del medio ambiente (alimento, agua, vectores, suelo, etc) (27).

La contaminación de alimentos para el consumo humano se debe a deficiencias higiénico-sanitarias y de conservación, y puede darse durante la fase de la producción animal o durante la realización de los procesos culinarios. Los productos alimenticios pueden contaminarse durante la recolección con materia fecal por transmisión horizontal (26).

7.9. Signos clínicos y lesiones

Se clasifica a las hembras en estado de gestación y cuyes lactantes como los más susceptibles a Salmonelosis, produciendo abortos en el caso de las hembras gestantes, y si la enfermedad ataca en la etapa de recría la infección es severa y grave produciéndose la muerte en esta etapa, siendo los serotipos aislados más frecuentes en estos animales *S. Typhimurium* y *S. Enteritidis* (1).

El periodo de incubación es variable. Suele durar varias semanas, aunque puede reducirse a pocas horas.

Las manifestaciones en cuyes se presentan de dos formas:

- Curso agudo: se produce una evolución a forma crónica, con un cuadro septicémico agudo, donde la muerte del animal se da en un lapso de 24 a 48 horas, sin mostrar a veces signos clínicos. En otras ocasiones se observa decaimiento, debilidad postración, anorexia, parálisis de las extremidades posteriores y según los órganos afectados, se pueden dar diarreas persistentes con moco (23).
- Curso crónico: Animales con grado severo de emaciación, pelaje erizado, incluso órganos afectados con alteraciones patológicas como procesos congestivos e

inflamatorios; afección de la parte superior del aparato respiratorio, inflamación de articulaciones, tendones, meninges, testículos, matriz, y abortos (28).

7.9.1. Lesiones anatomopatológicas

Según estudios de lesiones anatomopatológicas en necropsia se han encontrado órganos afectados, y presencia de focos necróticos de exudados (muerte de las células) e inflamación crónica (granulomas), en el hígado (hepatomegalia), bazo, riñón y pulmones. En el tipo de trastornos circulatorios de órganos afectados, se puede observar edema de la cavidad abdominal (ascitis), congestión renal e intestinal y edema del saco pericárdico (hidropericardio) (21, 28).

7.10. Diagnóstico

Los métodos de diagnóstico de salmonelosis pueden llevarse a cabo mediante un diagnóstico presuntivo a base de la historia del lote, manifestaciones clínicas, mortalidad. Las infecciones pueden identificarse mediante pruebas serológicas, seguidas de una evaluación de lesiones anatomopatológicas de necropsia complementada con un cultivo microbiológico y pruebas bioquímicas para confirmar (29).

La mayor parte de los estudios realizados, el cultivo microbiológico y las pruebas bioquímicas son los procedimientos más comúnmente utilizados para el aislamiento de la bacteria. El método ideal debe tener una alta sensibilidad y especificidad, y ser al mismo tiempo simple, rápido y económico. Ningún método cumple con todos los criterios y es óptimo para todas las condiciones (30).

7.10.1. Técnicas de Diagnóstico en Laboratorio de *Salmonella spp.*

7.10.1.1. Aislamiento mediante cultivo bacteriano

En el aislamiento del organismo a partir de tejidos recogidos asépticamente, heces o hisopos rectales, muestras ambientales, alimentos, productos etc., puede utilizarse una variedad de técnicas, siendo los métodos basados en cultivos las técnicas de detección más utilizadas. Organizaciones diferentes como la Organización Internacional de Normalización (ISO), la Asociación Americana de Químicos Analíticos (AOAC), el Departamento de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos (FDA), entre otras, han desarrollado métodos de referencia para el aislamiento de *Salmonella spp.* Dependiendo del enfoque, los métodos de cultivo estándar requieren de 5-7 días para obtener un resultado ya que se basan en la capacidad de la bacteria para crecer y formar colonias visibles, que luego se puedan caracterizar mediante la realización de pruebas bioquímicas y/o serotipificación y moleculares para proporcionar una confirmación definitiva de una cepa aislada (31). Los diferentes serotipos pueden ser identificados por los sueros de tipificación específica, y el serovar puede determinarse por referencia de las fórmulas antigénicas del esquema de Kauffman-White (32, 33).

7.10.1.1.1. Etapa Pre-enriquecimiento

Según la AOAC, el objetivo de esta etapa es normalizar metabólicamente las células lesionadas de *Salmonella spp.*, reparándolas y ofreciendo condiciones para su recuperación, rehidratación y dilución de sustancias tóxicas o inhibidoras, para su perfecto desarrollo y al mismo tiempo evitar demasiado crecimiento de todos los microorganismos que compiten por los nutrientes. Estos medios de cultivo son moderadamente selectivos, ya que las células lesionadas no crecen en condiciones altamente selectivas. El agua peptonada, caldo nutritivo, caldo lactosado o agua

destilada estéril adicionada con solución de verde brillante al 0,1% en el caso de leche en polvo, son utilizados como medios de cultivo no selectivos (34).

7.10.1.1.2. Etapa de Enriquecimiento selectivo

Se realiza en caldos de enriquecimiento, los cuales estimulan el crecimiento de las bacterias compatibles con *Salmonella spp.* e inhiben el crecimiento de bacterias intestinales y coliformes (flora competitiva), esto favorece la especificidad y sensibilidad de detección. Para *Salmonella spp.* se encuentran caldos:

- Caldo de selenito: Contiene peptona que aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano, lactosa es el hidrato de carbono fermentable, selenito que inhibe la flora acompañante (Gram positiva) e inhibe el crecimiento de bacterias intestinales y (*E. coli*, *Enterococcus*), sin afectar a *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomona* o *Proteus* (35).
- Caldo Rappaport: es un medio líquido a partir de carne vacuna y productos lácteos, heces y agua contaminada. El caldo selectivo según Peterz recomienda incubar 41.5-42 °C durante 24 h, para mejorar la recuperación de *Salmonella spp.* Tiene un pH bajo, contiene malaquita y cloruro de magnesio en concentraciones bajas que incrementa la presión osmótica para favorecer el crecimiento de la bacteria (36).
- Caldo tetrionato: contiene sales biliares y tetrionato el cual se forma por la reacción del tiosulfato con la solución de yodo, lo que inhibe el crecimiento de bacterias gram positivas intestinales y coliformes; el carbonato de calcio neutraliza y absorbe metabolitos tóxicos. Incubación a 35 ± 2 °C durante 18-34h (37, 38).

7.10.1.1.3. Etapa de Aislamiento en medios selectivos y diferenciales

Permite la diferenciación de colonias de *Salmonella* de otras bacterias suprimiendo parte de la microflora competidora, esta diferenciación radica en la composición de los distintos medios

que permiten el crecimiento de las colonias con aspectos característicos. Esto se hace inoculando el cultivo en un medio sólido, lo que también permite obtener cultivos puros para ser utilizados posteriormente en pruebas para confirmar la identidad microbiana. Los principales componentes inhibitorios de los medios de aislamiento selectivo incluyen (38):

- a. Sustratos nutritivos: soja o peptona, extracto de levadura y/o carbohidratos (lactosa, manitol, xilosa, etc.)
- b. Agentes selectivos: sales biliares, desoxicolato, verde brillante, novobiocina, etc.
- c. Colorantes e indicadores: azul bromotimol y rojo fenol.
- d. Detectores: citrato de ferria, citrato férrico de amonio o sulfato de ferria de amonio, que tiñen de negro a las colonias al reaccionar con sulfuro de hidrógeno. Estos compuestos producen sulfuro ferroso, un precipitado negro y soluble que se difunde en el medio de crecimiento causando ennegrecimiento del medio.

Dentro de estos medios de cultivos, que poseen estos componentes inhibitorios, los más utilizados son: agar Entérico Hektoen (EH), agar Salmonella-Shigella (SS), agar Bismuto Sulfito (BS), y agar Xilosa-Lisina-Tergitol (XLT) (Anexo 1) (34).

7.10.1.2. Perfil bioquímico

Una vez que se obtienen colonias morfológicamente compatibles con Salmonella spp. se les realizan diferentes pruebas bioquímicas para hacer una confirmación preliminar. Estas pruebas se pueden realizar con azúcares en agua de peptona o con sistemas comerciales tales como el sistema Índice de Perfil Analítico (API) o en medios de cultivo compuestos como (25):

- Agar Triple Hierro Azúcar (T.S.I.): composición de extracto de carne y pluripeptona para el desarrollo bacteriano. La lactosa, sacarosa y glucosa son hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido

- sulfhídrico, y el sulfato de hierro y amonio, los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y produce hierro, de color negro. Por fermentación de azúcares, se producen ácidos que se detectan por el indicador rojo fenol (indicador de pH), el cual vira al color amarillo en medio ácido (39).
- Agar Hierro Lisina (L.I.A.): su composición la peptona y el extracto de levadura aportan los nutrientes para el desarrollo bacteriano. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable y la lisina es el sustrato utilizado para detectar la presencia de las enzimas decarboxilasa y deaminasa. El citrato de hierro y amonio y el tiosulfato de sodio son los indicadores de la producción de ácido sulfhídrico produce ennegrecimiento del medio. El purpura de bromocresol, es el indicador de pH (su color es amarillo a $\text{pH} \leq 5.2$ y violeta a $\text{pH} \geq 6.8$) (40).
 - Agar Sulfato Indol Motilidad (SIM): composición en la cual la tripteína y la peptona aportan nutrientes para el desarrollo microbiano. El triptófano es un aminoácido constituyente de muchas peptonas y particularmente de la tripteína y puede ser metabolizado por algunas bacterias para formar indol. El indol producido se combina con el aldehído del reactivo de Ehrlich o de Kovac's, para originar un compuesto de color rojo. A partir del tiosulfato de sodio los microorganismos pueden generar ácido sulfhídrico que reacciona con el hierro presente formándose un compuesto de color negro (41).
 - Agar Base Urea: la tripteína y la glucosa, aportan los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, y el rojo de fenol es el indicador de pH. Las bacterias hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberan amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan el medio de cultivo haciendo virar el indicador rojo de fenol del color amarillo al rojo (42).

- Agar Citrato Simmons: El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico, el azul de bromotimol es el indicador de pH, que vira al color azul en medio alcalino y el agar es el agente solidificante. El medio de cultivo es diferencial en base a que los microorganismos capaces de utilizar citrato como única fuente de carbono usan sales de amonio como única fuente de nitrógeno, con la consiguiente producción de alcalinidad (43).
- MRVP: medio utilizado para realización de ensayo de rojo de metilo y Voges Proskauer, para revelar la presencia de productos ácidos, y por la adición de alfa naftol e hidróxido de potasio para evidenciar la presencia de productos finales neutros (44).

Catalasa: es un enzima presente en la mayoría de las bacterias aerobias que poseen citocromos. Las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera en forma de burbujas, indicando que la prueba es positiva (68).

Oxidasa: Esta prueba sirve para determinar la presencia de enzimas oxidasa. La reacción de la oxidasa se debe a la presencia de un sistema citocromo oxidasa que activa la oxidación del citocromo el cual es reducido por el oxígeno molecular produciéndose agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. El oxígeno actúa por tanto como aceptor final de electrones en la cadena transportadora de electrones. Por lo general, el sistema citocromo oxidasa solo se encuentra en las bacterias aerobias, algunas anaerobias facultativas, pero las bacterias anaerobias estrictas carecen de actividad oxidasa. Asimismo, la presencia de oxidasa va ligada a la producción de catalasa, ya que esta degrada el peróxido de hidrógeno que se produce como consecuencia de la reducción del oxígeno y cuya acumulación es tóxica (15).

7.10.1.3. Serotipificación

Entre las técnicas se encuentra los ensayos de aglutinación, ensayos de inmunoprecipitación, e inmunoenzimáticos como el test o kit ELISA (Ensayo por inmunoabsorción Ligado a Enzima) que es un ensayo específico de alta sensibilidad para la detección de los anticuerpos de *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhimurium* en muestras de suero, plasma y yema de huevo de aves (45).

7.10.1.4. Pruebas moleculares

Entre las técnicas moleculares aplicables a la detección de patógenos como *Salmonella spp.* la más usada es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), que tiene como objetivo la multiplicación *in Vitro* de uno o varios segmentos de ADN, por acción una enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar el ADN en la células. Para esto, el ADN bicatenario debe estar desnaturalizado para formar cadenas lineales en presencia de altas concentraciones de oligonucleótidos y cloruro de Magnesio, entonces dos cadenas nuevas del dúplex original deben ser formadas (46).

7.11. Tratamiento de la Salmonelosis

El uso de antimicrobianos no siempre es la solución a la infección y muchas veces no se obtienen resultados satisfactorios con un fármaco específico. Para emplear antibióticos en los animales enfermos, se recomienda realizar un antibiograma de la *Salmonella*, debido al incremento de resistencias y multiresistencias de las bacterias y al riesgo de prolongar el estado de portador.

Dentro de los antimicrobianos sugeridos para tratar la salmonelosis, se encuentran algunos fármacos que se absorben en el aparato digestivo, como la ampicilina, tetraciclinas y el

cloranfenicol. Muchas veces la terapia antibiótica no reduce la carga bacteriana, y la recuperación de la infección puede dejar lesiones y susceptibilidad en los animales sobrevivientes. Por lo que se puede recomendar eliminar la colonia o población afectada y repoblar (47).

7.12. Prevención de salmonelosis

Se recomienda controlar los factores que causan el estrés en la población animal, evitar cambios alimenticios bruscos, realizar limpieza total de ambiente, de jaulas o galpones, realizando desinfecciones periódicas de las instalaciones. Algunas medidas a tomarse para el control de la enfermedad son: eliminar animales enfermos e incinerar los animales muertos, y desinfectar el equipo e instalaciones (48).

En todas las fases de la cadena Alimentaria desde las explotaciones, durante el sacrificio y la transformación de los alimentos, así como en la cadena de producción, distribución y almacenamiento, se deben aplicar Buenas Prácticas Higiénicas y de Fabricación, así como un sistema de autocontrol basado en los principios del Análisis de Peligros y Puntos de Control Críticos (APPCC) (49).

7.13. Antimicrobianos

Los antimicrobianos incluyen toda sustancia de origen natural, semisintética o sintética, que inhibe o mate el desarrollo de los microorganismos, con el mínimo o nulo daño al huésped.

El uso terapéutico de estos fármacos en medicina veterinaria y humana constituye una de las contribuciones más importantes, al aumentar el espectro de enfermedades infecciosas que se pueden prevenir o tratar. Sin embargo, las bacterias han demostrado que tienen la capacidad de desarrollar resistencia a los agentes antibacterianos (33).

Tabla 5. Clasificación de los antibióticos en base a su mecanismo de acción y espectro bacteriano.

Grupos farmacológicos	Mecanismo de acción	Antibióticos más importantes	Espectro bacteriano
Penicilinas	Antibióticos que actúan en la pared bacteriana	Penicilina benzatina Bencilpenicilina Na, K Bencilpenicilina procaínica Penicilina V Amoxicilina Ampicilina	Aerobias grampositivas: <i>Streptococcus β-hemolíticos</i> , <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Actinomyces</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Erysipelothrix</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> . Anaerobios obligados: <i>Clostridium</i> , <i>Fusobacterium</i> y algunas del género <i>Bacteroides</i> . <i>Staphylococcus aureus</i> . Las enterobacterias en general son resistentes
Cefalosporinas	β-lactámicos (actúan sobre proteínas ligadas a la penicilina PLP)	1ra generación: cefalexina, cefapirina. 2da generación: cefuroxima, cefaclor. 3ra generación: ceftriaxona, ceftiofur. 4ta generación: cefepima	1ra generación: Grampositivas: <i>Streptococcus</i> , <i>Corynebacterium</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> . Gramnegativas: <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus mirabilis</i> 2da generación: Similar a la primera generación aumentan su eficacia contra gramnegativos como <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Enterobacter</i> y <i>Haemophilus influenzae</i> . 3ra generación: bacterias gramnegativas resistentes a los antibióticos. Incluyendo <i>Pseudomonas</i> y <i>Enterobacter</i> .
Quinolonas y Fluoroquinolonas	Antibióticos que inhiben la síntesis de DNA	Ácido nalidíxico y oxolínico Norfloxacino Enfloxacino Difloxacino Ciprofloxacino	Bacterias aerobias gramnegativas y algunos grampositivos. Micobacterias, micoplasmas, rickettsias, <i>Streptococcus</i> y <i>Enterococcus</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Chlamydia</i>
Tetraciclinas		Oxitetraciclina, Doxiciclina Clortetraciclina	Rickettsias, clamidias, espiroquetas, micobacterias, micoplasmas, <i>Pasteurella</i> , y <i>Listeria</i> .
Cloranfenicol y sus derivados	Antibióticos que inhiben la síntesis proteica	Florfenicol Cloranfenicol Tianfenicol	Bacterias anaerobias, rickettsias, clamidias y micoplasmas. <i>Bacteroides</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Haemophilus</i> , <i>Actinobacillus</i> , <i>Aeromonas</i> .
Aminoglucósidos		Estreptomina, Neomicina, Gentamicina	Gramnegativos aerobios, <i>Leptospira</i> , <i>Campylobacter</i> , <i>Brucella</i> , <i>Salmonella</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Pasteurella</i> y <i>Mycoplasma</i> .
Macrólidos		Eritromicina Azitromicina Tilosina	Grampositivos <i>Campylobacter</i> , <i>Rhodococcus</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Helicobacter</i> .
Sulfonamidas	Antibióticos que inhiben la síntesis de ácido tetrahidrofólico	Sulfametazina Sulfadimetoxina Sulfadiazina Sulfacetamida Combinación: Trimetoprima-sulfadiazina Sulfametoxazol-trimetoprima	<i>Streptococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Brucella</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Listeria</i> , <i>Erysipelothrix</i> , <i>Chlamydia</i> . Otros microorganismos como <i>Pseudomonas</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Mycoplasma</i> , <i>Mycobacterium</i> son habitualmente resistentes. <i>Pasteurella</i> , <i>Proteus</i> , <i>Salmonella</i> y <i>Haemophilus</i> muestras sensibilidad moderada.

Fuente: Adaptado. Botana L. 2002.

Estos antimicrobianos actúan por una serie de mecanismos según el efecto de su acción sobre las bacterias, se clasifican en bacteriostáticos y bactericidas. Las diversas regiones de ataque antibacterianos en general son consideradas sobre la pared bacteriana, membrana bacteriana, síntesis de proteínas o síntesis de ácidos nucleicos (53). En la Tabla 5 se presentan la familia y fármacos antibacterianos más comunes y el mecanismo de acción dentro de la estructura microbiana y un resumen de su espectro bacteriano.

7.13.1. Resistencia a antimicrobianos

La resistencia bacteriana es un tema importante dentro de la salud pública, su extensión a nivel mundial. Se puede definir como la disminución de la sensibilidad de un microorganismo a la acción nociva de un agente quimioterapéutico determinado. En la actualidad existen reportes en humanos de *S. typhi* y *S. paratyphi* resistentes a diferentes antibióticos como el cloranfenicol, β -lactámicos, TMP-SMX, Azitromicina y un crecimiento emergente de resistencia a fluoroquinolona (51).

Según los resultados obtenidos de recopilación y revisión de información de estudios sobre la resistencia antimicrobiana de aislamientos de *Salmonella spp.* en alimentos de origen animal para consumo humano en Latinoamérica, los serotipos más aislados con mayor frecuencia son *Salmonella typhimurium* y *Salmonella enteritidis*, de los cuales en 23 estudios se determinó que *Salmonella spp* fue resistente a más de un antibiótico, incluyendo ácido nalidíxico, estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, trimetoprim/sulfametoxazol, gentamicina, ciprofloxacina y cefalosporinas (52).

Tipos y mecanismos generales de resistencia:

- Natural o intrínseca: se presenta en los casos en que no hubo contacto previo con el antibiótico en uso. Es la consecuencia de la estructura y la fisiología natural de la especie, y está codificada en el cromosoma de todas las cepas. Las enterobacterias son

naturalmente resistentes a vancomicina, penicilinas, oxacilina, macrólidos, clindamicina y glicopéptidos.

- Mutacional: es la derivada de mutaciones espontáneas en la información contenida en el cromosoma, por la alteración de la secuencia natural de nucleótidos en el DNA. Las mutaciones pueden ser por genes preexistentes o por genes adquiridos como las enzimas de β -lactámicos, causan resistencia a los antibióticos.
- Adquirida: cuando hay antecedentes de utilización del mismo antibiótico en un individuo en tratamiento. Es la adquisición de un carácter de la resistencia previamente ausente en la bacteria, debido a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismo de transferencia genética.
- Transmisible: cuando se produce por transferencia de una bacteria a otra, no necesariamente similares, de factores extracromosómicos. Es lo que se conoce como resistencia mediada por plásmidos, segmentos de DNA que migran de una bacteria a otra, confiriendo resistencia al microorganismo que hasta ese momento era sensible al antibiótico en estudio (33, 53-54).

7.13.1.1. Virus terapéuticos para bacterias resistentes

Debido a la resistencia a los antibióticos es un problema en la salud pública, debido a la falta de tratamiento, la Organización Mundial de la Salud, se advierte de la necesidad de desarrollar terapias alternativas que ayuden a combatir estas bacterias multirresistentes. Dentro de esto ha favorecido el estudio de bacteriófagos o fagos como posibilidad de utilizarlos como terapia antibacteriana, ya que son virus que infectan o parasitan a las bacterias, con funciones en estado lítico o virulento, secuestrando a su célula anfitriona en el que el fago se replica causando lisis de la bacteria, liberando nuevos fagos. A diferencia de los antibióticos, los fagos son muy específicos, afectando solo a la bacteria diana sin dañar ninguna otra célula. Sin embargo su

inconveniente es que se requiere bastante conocimiento de la biología de estos bacteriófagos, como también de sus características genéticas, la especificidad de estos a sus bacterias objetivo es muy alta por lo que debe asegurarse que todas sus cepas sean eliminadas, y la aparición de resistencia contra los antimicrobianos derivados de los fagos, aunque no se ha demostrado aún su existencia de esta resistencia se han hecho numerosos estudios de exposición repetida a cantidades subinhibitorias de los mismos (70,71).

7.13.1.2. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana

Las pruebas de sensibilidad o antibiogramas son utilizadas para determinar la susceptibilidad de un microorganismo frente a los medicamentos antimicrobianos, a partir de la exposición de una concentración estandarizada del microorganismo a estos fármacos y para establecer qué tratamiento dará mejor resultado contra ciertas infecciones (55).

Las pruebas de sensibilidad se realizan *in vitro*, y se debe tener en cuenta numerosos factores que pueden afectar al fármaco *in vivo* (farmacodinámica y la farmacocinética, las concentraciones del medicamento en el sitio de acción, el estado inmunitario del huésped, las defensas específicas de sitio) y que influyen en el éxito de un tratamiento. Por ello, las pruebas de sensibilidad no siempre predicen los resultados de la terapia (56).

Para efectuar las pruebas de sensibilidad, se cuenta con los siguientes métodos:

7.13.1.2.1. Métodos de difusión

- Difusión en agar (Técnica de Bauer & Kirby)

Es un método cualitativo, los resultados se informan de Sensible (S), Intermedio (I) y Resistente (R), para los microorganismos de crecimiento rápido. Se basa en colocar discos impregnados con antibióticos en placas de agar inoculadas con el microorganismo que está probándose, incubando 18-24 horas, para medir el diámetro del halo de inhibición que rodea cada disco.

Cada combinación de microorganismo-antibiótico tiene diámetros diferentes que implican que es S, I o R (57).

- Epsilon test (E test)

Este método emplea una tira con una matriz plástica que tiene una concentración decreciente de un antibiótico determinado. Es un método semicuantitativo mediante lectura directa, determina la concentración inhibitoria mínima (CMI), se informa como un valor numérico que luego puede traducirse en S (sensible), I (intermedio), R (resistente), o a veces no susceptible (58).

7.13.1.2.2. Métodos de dilución

- Dilución en agar

En estos métodos se incorpora el antimicrobiano a evaluar a un medio con agar. El antimicrobiano se añade cuando el medio aún está fundido. Para lograr el rango de dilución deseado se prepara una serie de placas, cada una con una determinada concentración de antimicrobianos (56).

- Dilución en caldo

La característica de este método es que el crecimiento se realiza en un medio líquido, en el que se ha realizado una dilución conocida del antimicrobiano a utilizar en progresión aritmética, habitualmente en base dos, como en el método precedente (59).

7.13.1.2.3. Métodos automatizados

Este utiliza tarjetas de plástico transparente para la prueba de sensibilidad. Se trata de tarjetas de 30 pozos que llenan con el inóculo bacteriano estandarizado, mediante una bomba de vacío

y luego las tarjetas son selladas herméticamente, se introducen a un incubador a 35°C y cada 10 minutos el sistema hace una lectura y se mide la concentración del inóculo bacteriano (58).

7.13.1.3. Medios de cultivo para la realización de pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos

Cada grupo de organismos necesita de un medio específico para determinar su sensibilidad a los antibióticos. Esta línea de medios se ha desarrollado según las directrices del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) y el EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) sobre la estandarización de los resultados y la precisión óptima en las PSA. El agar Mueller-Hinton, se utiliza en el procedimiento de difusión de disco estandarizado para la determinación de la sensibilidad de cepas aisladas a partir de muestras clínicas (60).

8. VALIDACIÓN DE HIPÓTESIS

H0: Los aislamientos de *Salmonella spp.* de las muestras de hisopados rectales y tejidos de cuyes no presentan resistencia a los antimicrobianos, de los criaderos de los cantones de Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi.

H1: Los aislamientos de *Salmonella spp.* de las muestras de hisopados rectales y tejidos de cuyes presentan resistencia a los antimicrobianos, de los criaderos de los cantones de Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi.

Se valida hipótesis alternativa, en la cual se evidenció que los 15 aislamientos de *Salmonella spp.* de las muestras obtenidas de cuyes de uno de los criaderos, presentan resistencia de más del 90%, en 3 antimicrobianos estudiados (penicilina, fosfomicina, eritromicina).

9. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

9.1. Metodología

Tipo de investigación y diseño: Investigación de campo tipo observacional y correlacional.

9.1.1. Descripción de la zona de estudio

El presente proyecto de investigación se realizó en tres criaderos ubicados en los cantones de Pujilí sector Collas Bajo, y Latacunga sector Salache y Santa Marianita, de la provincia de Cotopaxi, localizada en el centro norte del Callejón Interandino de la República del Ecuador, ubicada a 45 km al sur de Quito, con una extensión de 6.985 km², con una altitud de 5897 metros sobre nivel del mar, con un clima parcialmente nublado, inviernos cortos y fríos, con veranos cortos.

Según datos oficiales del INEC, censo del año 2010, la población es de 504. 583 habitantes.

- Fase de campo: El trabajo de campo se desarrolló en tres criaderos de cuyes, del cantón de Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi dedicados al sistema de crianza familiar-comercial.
- Fase de Laboratorio: El trabajo de laboratorio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de la Clínica Veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi, ubicado en la ciudad de Latacunga en el campus Salache.

9.1.2. Población, tamaño y recolección de la muestra

Para el presente trabajo de investigación, el tipo de muestras que se aplicó en la investigación es un muestreo aleatorio y por conveniencia se consideró animales independiente del estado fisiológico sean sanos o enfermos, se analizó en total 50 muestras, de 45 cuyes procedentes de

tres criaderos de diferentes sistema de crianza comercial-familiar, que se los nombra por letras A, B y C, más 5 muestras del suelo.

La distribución de las 50 muestras para los tres criaderos fué se la siguiente forma (Tabla 6):

- 15 muestras del criadero A, de sistema familiar ubicado en el cantón Pujilí.
- 15 muestras del criadero B, de sistema comercial, del proyecto de cuyes del CEASA de la Universidad Técnica de Cotopaxi ubicado en el cantón Latacunga.
- 20 muestras del criadero C, de sistema comercial ubicado en el cantón Latacunga.

Del criadero A y B de las 15 muestras, 10 fueron de hisopados rectales de cuyes aparentemente sanos y enfermos incluyendo 5 muestras de hisopado del suelo.

Mientras que de un criadero C fueron un total de 20 muestras, de las cuales 16 se obtuvo de tejidos de animales enfermos con lesiones compatibles a la enfermedad de las cuales se recolectó principalmente de Intestino grueso y delgado, hígado, bazo, abscesos en ganglios, más 4 muestras de hisopados rectales de animales aparentemente sanos.

Tabla 6. Población, número de muestras recolectadas y tipo de sistema de crianza de cuyes de los criaderos A, B y C del cantón Pujilí y Latacunga de la provincia de Cotopaxi.

Criaderos	Población de cuyes	No. de muestras	Tipo de crianza
A	60	15	Familiar
B	168	15	Comercial
C	4000	20	Comercial
Total	4228	50	

Las muestras rectales se recolectaron en medios de transporte Stuart estériles, y las muestras de tejido se recolectó en fundas de ziploc, usando manera guantes estériles, siendo rotuladas cada muestra según su procedencia, y colocadas en una hielera para ser transportadas al

Laboratorio de microbiología de la Clínica Veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi para su respectivo análisis microbiológico.

9.2. Diseño experimental

9.2.1. Procedimiento de aislamiento de las muestras

Para el procesamiento y análisis de las muestras se realizó mediante el método aprobado de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC), y el aislamiento de *Salmonella spp.* se realizó según Normas ISO 6579:2002 con algunas modificaciones. Consta de cuatro etapas sucesivas: Pre-enriquecimiento en medio líquido no selectivo, enriquecimiento en un medio líquido selectivo, siembra en medios sólidos e identificación y confirmación.

- Pre-enriquecimiento en medio no selectivo.

Para pre-enriquecimiento de la muestra usando como medio Caldo Lactosado siguiendo las instrucciones del fabricante, las 50 muestras se preparó 450 ml de agua destilada añadiendo 5.85 g del medio para disolver y hervir en un vaso de precipitación para su esterilización en autoclave a 121 °C por 15 minutos y se deja enfriar y se coloca 9 ml de la dilución en tubos de ensayo, para inocular la muestra obtenida de hisopados rectales por el medio de transporte Stuart, para su incubación a una temperatura de $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 2\text{h}$.

- Enriquecimiento Selectivo

Se empleó como medio Caldo Tetrionato, siguiendo las instrucciones de fabricante, para las 50 muestras se preparó 450 ml de agua destilada añadiendo 20.7 g del medio en vaso de precipitación hasta dejar hervir sin autoclavar, y enfriar, para inocular con la micropipeta 1000 μl o 1 ml, de las 50 muestras preparadas del caldo Lactosado por cada 9 ml de medio en un tubo para obtener un dilución 1:10 para su posterior incubación a $36^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por $24\text{h} \pm 3\text{h}$.

- Aislamiento en medios selectivos

Resembrando de las muestras de Caldo Tetrionato, en agar Bismuto Sulfito (BD) según las instrucciones del fabricante se preparó para las 50 muestras 1000 ml de agua destilada y se agregó 52 g del medio en un vaso de precipitación para luego dejar hervir sin autoclavar y colocar la preparación en 50 cajas petri esterilizadas con un espesor de aproximadamente 20 ml, y se procedió a sembrar mediante la técnica de estría para incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 a 48 horas.

Las colonias sospechosas a *Salmonella spp.* con aspecto de color negro brillante metálico como resultado de la producción de sulfuro H₂S en el agar Sulfito-Bismuto fueron resembradas mediante técnica de estría en Agar SS (Salmonella- Shigella), debido a que es un medio altamente selectivo, para aislar nuevamente, y obtener colonias puras redondas de color negro gracias al tiosulfato de sodio que permite la formación de H₂S, para después ser incubadas en cajas petri y posteriormente realizar las pruebas bioquímicas convencionales.

9.2.2. Pruebas Bioquímicas y morfológicas

La identificación microscópica de las bacterias se realizó mediante Tinción Gram, con la utilización de Violeta de Genciana, Lugol, Alcohol Acetona, y Safranina, con el fin de observar bacilos gramnegativos, con características similares a las bacterias de la familia *Enterobacteriaceae*.

Para la identificación de colonias sospechosas de *Salmonella spp.* se realizó mediante el método convencional, se utilizó los medios de cultivos.

Agar TSI: con una aguja de inoculación se punzó el fondo y se hizo el proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubó a 37°C durante 24 h. Las colonias

presuntivas de *Salmonella spp.* son pico alcalino/fondo ácido (K/A), con o sin formación de gas, y producción de SH₂ precipitado negro.

Interpretación de resultados (39)

- Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rico/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta glucosa.
- Superficie ácida/profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.
- Superficie alcalina/Profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares.
- La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.
- El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

Agar LIA: con una aguja de inoculación se punzó el fondo y se hizo el proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubó a 37°C durante 24 h. Las colonias presuntivas a *Salmonella spp.* son pico alcalino/fondo alcalino (K/K) y producción de SH₂.

Interpretación de resultados (40):

- Descarboxilación de la lisina: Resultado Positivo: superficie alcalina / profundidad alcalina (pico violeta / fondo violeta). Resultado negativo: superficie alcalina /profundidad ácida (pico violeta / fondo amarillo).
- Desaminación de la lisina: Resultado positivo: superficie rojiza / profundidad ácida. Esto sucede con cepas del género *Proteus*, *Providencia* y algunas de *Morganella spp.*

- Producción de SH₂: Resultado positivo: ennegrecimiento del medio de cultivo (especialmente en el límite entre la superficie y profundidad). Resultado negativo: el medio de cultivo permanece sin cambio de color.

UREA: con una aguja de inoculación se punzó el fondo y se hizo el proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubó a 37°C durante 24 h. Las colonias presuntivas a *Salmonella spp.* son Urea (-).

Interpretación de resultados (41):

- Microorganismos que hidrolizan la urea: el medio de cultivo es de color rosado-rojizo.
- Microorganismos que no hidrolizan la urea: el medio de cultivo permanece de color amarillo.

AGAR CITRATO DE SIMMONS: con una aguja de inoculación se punzó el fondo y se hizo el proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubó a 37°C durante 24 h. Las colonias presuntivas a *Salmonella spp.* son positivos.

Interpretación de resultados (42):

- Positivo: crecimiento bacteriano con un intenso color azul en el pico de flauta.
- Negativo: ausencia de crecimiento y permanencia del color verde del medio de cultivo.

MEDIO SIM: para verificar la movilidad, producción de indol y sulfuro de hidrógeno de los microorganismos a estudiar, en el cual se realizó un punción utilizando la aguja de inoculación recta, se incubó a 37°C durante 24 h, después de observar movilidad y color del medio, se realizó la prueba de indol agregando de 5 gotas del reactivo. Las colonias presuntivas a *Salmonella spp.* motilidad positiva, indol negativa, y SH₂ positivo.

Interpretación de resultados (43):

- Movilidad: Resultado positivo: presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra. Resultado negativo: crecimiento solamente en la línea de siembra.
- Producción de SH₂: Resultado positivo: ennegrecimiento del medio de cultivo a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio. Resultado negativo: el medio permanece sin cambio de color.
- Prueba del indol: Resultado positivo: color rojo. Resultado negativo: el color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento

MEDIO MR-VP: se hizo la siembra por inoculación directa, incubando a 37°C durante 48 horas. Las colonias presuntivas a *Salmonella spp.* son positivos en rojo de metilo (RM) y negativos en Voges Proskauer (VP).

Interpretación de resultados (44):

- Prueba del rojo de metilo: Resultado positivo: color rojo. Resultado negativo: color amarillo.
- Prueba de Voges Proskauer: Resultado positivo: desarrollo de un color rojo en pocos minutos después de una completa agitación del tubo. Resultado negativo: ausencia de color rojo.

Prueba de Oxidasa: Se realizó la siembra de una colonia perteneciente a *Salmonella spp.* a un medio de cultivo nutritivo sin colorantes, indicadores o inhibidores, ya que si el cultivo bacteriano muestra un color puede alterar el resultado.

Con el asa de inoculación se tomó del medio de cultivo preferentemente una colonia aislada, que haya crecido adecuadamente. Se aplicó la colonia sobre la zona reactiva de la tira de oxidasa, frotando con el asa de inoculación, de 20 a 60 segundos para posteriormente comparar

con la escala colorimétrica si es positivo: la coloración será violeta o morada caso contrario sin coloración.

Prueba de Catalasa: En un portaobjetos colocó una colonia aislada del microorganismo y se depositó una o dos gotas de agua oxigenada al 30% con ayuda de una pipeta Pasteur y observar si hay formación de burbujas el resultado es positivo caso contrario es negativo.

9.2.3. Prueba de sensibilidad

Se preparó el agar Mueller-Hinton II, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (BD), en 300 ml de agua destilada y 11.4 g del medio dejando hervir y mezclando para posteriormente esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos y se vertió en 15 cajas petri esterilizadas dejando un espesor de 20 ml aproximadamente, incubando durante 24 horas a 37°C, para realizar prueba de esterilidad y comprobar que no haya crecimiento de colonias en el medio.

La evaluación de la resistencia antimicrobiana se realizó en colonias purificadas en agar Salmonella-Shigella (SS), y se realizó mediante la técnica de Kirby-Bauer (Difusión Agar).

Se realizó una suspensión de bacteria de las muestras aisladas, en solución salina al 0.9% en tubos, para alcanzar la turbidez en escala 0.5 de Mcfarland, lo que es equivalente a inocular $1,5 \times 10^8$ Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/ml, y se procedió a la siembra en el medio Mueller-Hinton. Se seleccionaron los sensidiscos teniendo en cuenta de que se tratan de enterobacterias gram negativas; se introdujeron 14 discos (Penicilina, Amoxicilina, Ampicilina, Amoxicilina/ác. clavulánico, Ampicilina/sulbactam, Enrofloxacino, Ciprofloxacino, Norfloxacino, Gentamicina, Eritromicina, Sulfametoxazol/trimetropin, Florfenicol, Tetraciclina y Fosfomicina) para 4 cajas, cada caja con 4 y 3 discos de sensibilidad (anexo 10), para incubar durante 18-24 horas a 37°C. Luego con el del periodo de incubación se midieron los halos con una regla de medición común. Los resultados se interpretaron como sensible,

intermedio o resistente de acuerdo al diámetro del halo de inhibición medido en mm y usando como referencia la tabla de NCCLS (Tabla 7).

Tabla 7. Patrones estándar del halo de inhibición para Enterobacterias determinado por el Comité Nacional de Normas de Laboratorio Clínico (NCCLS).

Abreviatura	Antimicrobiano	Diámetro del halo de inhibición (mm)		
		Resistente	Intermedia	Sensible
P	Penicilina G	-	-	-
AML	Amoxicilina	≤ 13	14-17	≥ 18
AM	Ampicilina	≤ 13	14-16	≥ 17
SAM	Ampicilina/sulbactam	≤ 11	12-14	≥ 15
AMC	Amoxicilina/ác. clavulánico	≤ 13	14-17	≥ 18
NA	Ácido Nalidíxico	≤ 13	14-18	≥ 19
ENR	Enrofloxacino	≤ 16	17-20	≥ 21
CIP	Ciprofloxacino	≤ 15	16-20	≥ 21
NOR	Norfloxacino	≤ 12	13-16	≥ 17
CRO	Ceftriaxona	≤ 13	14-20	≥ 21
CEP	Cefalotina	≤ 14	15-17	≥ 18
CN	Gentamicina	≤ 12	13-14	≥ 15
SXT	Sulfametoxazol/trimetoprim	≤ 10	11-15	≥ 16
FOS	Fosfomicina	≤ 12	13-15	≥ 16
FFC	Florfenicol	≤ 12	13-17	≥ 18
TE	Tetraciclina	≤ 14	15-18	≥ 19
E	Eritromicina	-	-	-

Fuente: Normas CLSI-NCCLS, 2005.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

10.1. Resultados de los análisis microbiológicos

10.1.1. Resultados de aislamientos en medios de cultivo bacteriano.

Se analizaron en total 50 muestras de hisopados rectales, hisopados de suelo, y tejidos (hígado, bazo, y otros órganos con lesiones), de los cuales 15 fueron del criadero A, 15 del criadero B, y 20 del criadero C, ubicados en los cantones Pujilí y Latacunga; resultando el 78% (39/50) con crecimiento bacteriano en los cultivos inoculados, y el 22% corresponde a muestras que no se aisló ningún microorganismo, tras las 24 a 48 horas de incubación, siendo de estos 39 cultivos bacterianos el 34% (17/50) colonias sospechosas con características compatibles a *Salmonella spp.* del total de la investigación, respuesta al medio de cultivo usado (agar Sulfito-Bismuto y agar Salmonella-Shigella); resultando ser 2 cultivos bacterianos provenientes de las muestras del criadero A, y 15 cultivos bacterianos de las muestras del criadero C. Posteriormente se realizaron las pruebas bioquímicas de estas 17 placas sospechosas para confirmar la presencia de *Salmonella spp.*

10.1.2. Resultados de las pruebas bioquímicas en medios selectivos para detección de enterobacterias

La presencia de *Salmonella spp.* se identificó mediante el uso de las pruebas bioquímicas convencionales (TSI, LIA, SIM, citrato, urea, y MRVP), tomando diferentes colonias provenientes de las 17 placas sospechosas inoculadas en el medio de cultivo Salmonela-Shigella (anexo 4), los cuales se obtuvieron resultados compatibles con los reportados para esta bacteria.

Tabla 8. Resultados de Pruebas Bioquímicas de las 17 muestras sospechosas.

CÓDIGO	TSI	GAS	LIA		Citrato	Motilidad	Indol	H ₂ S	Úrea	Oxidasa	Catalasa
			DCB	DAM							
LJ26	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM1	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM2	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM3	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM4	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM6	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM7	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM8	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM9	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM10	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM11	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM12	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM13	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM14	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
LM15	K/A	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+
BC8	A/A	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+
BC9	A/A	+	+	-	-	+	+	-	-	-	+

A: reacción ácida K: reacción alcalina

De las 17 muestras analizadas, en el 38.46% (15/39) se obtuvieron resultados compatibles a *Salmonella spp.* En el medio TSI se observó una reacción (K/A) debido a que la bacteria fermenta glucosa pero no lactosa produciendo gas, y con una reacción positiva en la producción de H₂S en un ambiente ácido; el medio SIM resultó positivo en movilidad y a la aplicación del reactivo indol fue negativo, debido a que *Salmonella* no produce indol e igual manera urea

negativo ya que no lo degrada; para la prueba de LIA resultó positivo en descarboxilación de lisina (DBC) y negativo en desaminasa (DAM), en el agar de Citrato de Simmons resultó ser positivo, ya que *Salmonella* puede utilizar el citrato como fuente de carbono. Y por último en la prueba de oxidasa resultó negativo debido a que no posee la enzima oxidasa que activa la oxidación del citocromo; y la prueba de catalasa positivo porque descompone el peróxido de hidrógeno en oxígeno y agua (Tabla 8).

De las 39 muestras que presentaron crecimiento bacteriano, la 22 restantes se realizó pruebas de TSI y Tinción gram resultado ser el 48.72% (19/39) bacterias coliformes, incluyendo las dos muestras que se realizó la prueba bioquímica completa; y el 12.82% restante fueron estafilococos (Figura 1, anexo 6).

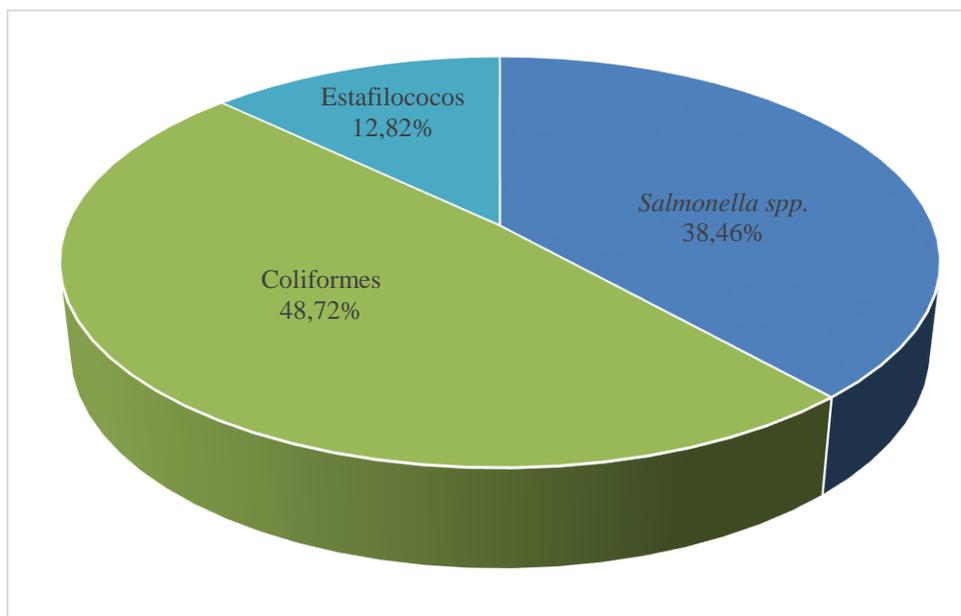


Figura 1. Porcentaje de bacterias aisladas en las muestras de los criaderos A, B y C.

10.1.3. Resultados de pruebas de sensibilidad

Finalmente se realizaron las pruebas de sensibilidad de antibióticos usando el método de difusión en agar (Kirby-Bauer) de las 15 muestras aisladas con *Salmonella spp.* que se desglosan en la Tabla 9 donde S representa sensibilidad de la bacteria al antibiótico, que se interpreta sin presencia de crecimiento bacteriano cercano al disco de sensibilidad y es de elección apropiada para un tratamiento, R que representa la resistencia al antibiótico, es decir, se manifiesta crecimiento cercano al disco de sensibilidad y no es un fármaco de elección para un tratamiento, e I representa el nivel intermedio que indica que la bacteria cae en un rango de susceptibilidad en el que la concentración mínima inhibitoria se acerca o excede el nivel del antibiótico, en el cual el fármaco puede ser efectivo a elevadas dosis o con dosificaciones más frecuentes.

Tabla 9. Resultados de antibiograma del género *Salmonella* en 14 antibióticos.

Abreviatura	LJ 26	LM 1	LM 2	LM 3	LM 4	LM 6	LM 7	LM 8	LM 9	LM 10	LM 11	LM 12	LM 13	LM 14	LM 15	LM 16
E	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
SAM	R	R	R	R	S	R	R	R	S	I	R	R	R	S	S	R
CN	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NOR	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SXT	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AMC	S	S	S	S	S	S	S	I	S	I	I	I	S	S	S	S
CIP	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
P	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
ENR	S	S	S	I	S	S	S	S	I	S	S	S	I	S	S	S
AML	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	S	R
FFC	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AM	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R
TE	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R
FOS	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R

*R: resistente

I: intermedio

S: Sensible

La mayoría de muestras aisladas con *Salmonella spp.* presentaron multiresistencia a por lo menos a 3 antibióticos, como resultado los antibióticos con mayor resistencia fueron la Penicilina, Fosfomicina con un porcentaje de 100%, seguido de la Eritromicina con 93.3%. Así

mismo, un alto porcentaje fue resistente a Ampicilina y Amoxicilina 86.7%, seguido de la Tetraciclina con un porcentaje 80%, y 66.7% en Ampicilina/sulbactam.

Tabla 10. Distribución de la susceptibilidad (%) a los antimicrobianos en *Salmonella spp.*, aisladas en cuyes (n=15).

Antibióticos	Resistentes		Intermedias		Sensibles	
	n	%	n	%	n	%
Eritromicina	14	93.3	1	6.7	0	0
Ampicilina/ Sulbactam	10	66.7	1	6.7	4	26.7
Gentamicina	0	0	0	0	15	100
Norfloxacina	0	0	0	0	15	100
Sulfametoxazol/ Trimetropim	0	0	0	0	15	100
Amoxicilina/ácido Clavulánico	0	0	4	26.7	11	73.3
Ciprofloxacina	0	0	0	0	15	100
Penicilina	15	100	0	0	0	0
Enrofloxacina	0	0	3	20	12	80
Amoxicilina	13	86.7	1	6.7	1	1.6
Florfenicol	0	0	0	0	15	100
Ampicilina	13	86.7	1	6.7	1	6.7
Tetraciclina	12	80	2	13.3	1	6.7
Fosfomicina	15	100	0	0	0	0

Los resultados obtenidos en cuanto a la sensibilidad, se determinó que *Salmonella spp.* es 100% sensible a cinco antibióticos: Gentamicina, Norfloxacina, Ciprofloxacina, Sulfametoxazol/trimetropim, y Florfenicol. Así mismo, un alto porcentaje fue sensible a Enrofloxacina 80%. Por otro lado el 26.7% mostraron una susceptibilidad intermedia contra Amoxicilina/ác. Clavulánico, (Tabla 10, figura 2).

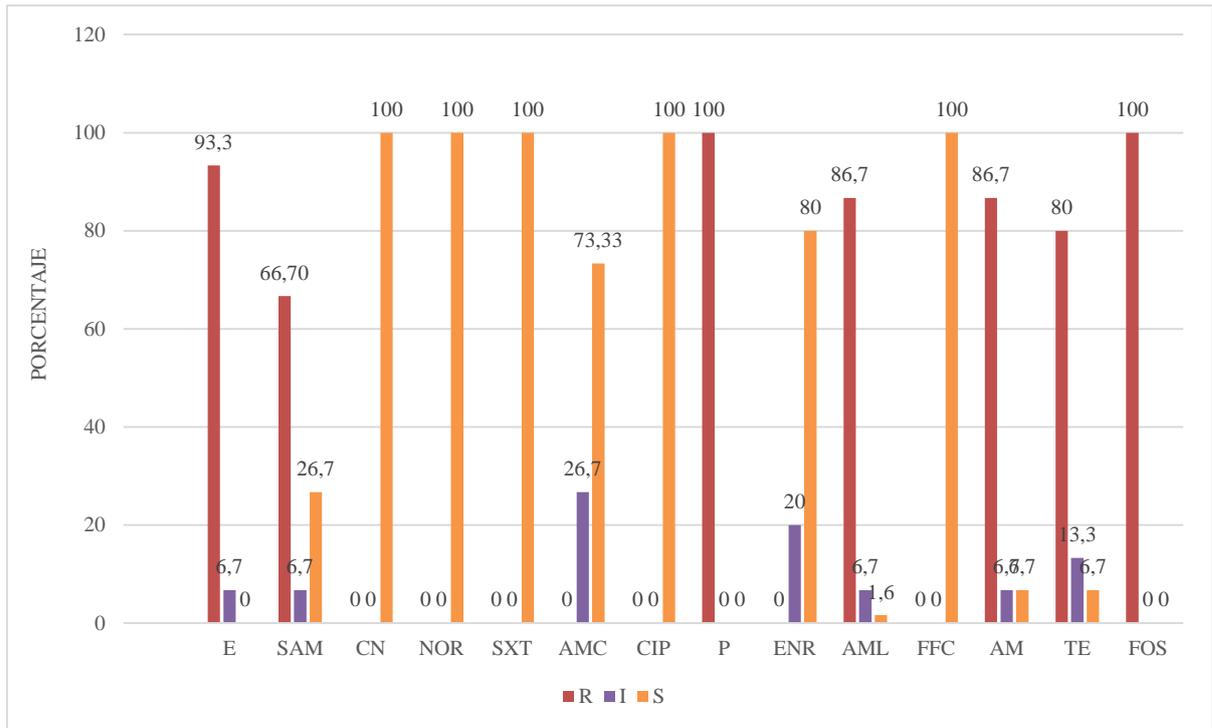


Figura 2. Distribución de la susceptibilidad (%) a los antimicrobianos en *Salmonella spp.*

10.2. DISCUSIÓN

Las 15 muestras aisladas que se procesaron mediante el uso de pruebas bioquímicas tradicionales fueron identificados como *Salmonella spp.* sin embargo, este método tradicional de diagnóstico usando medios de cultivo es una técnica lenta y laboriosa que ofrece seguridad en los resultados, y puede alterar en un porcentaje bajo estos resultados, al igual que otros estudios explican que en estas pruebas las características fenotípicas pueden ser afectadas por variaciones en los medios de cultivo y en las condiciones de incubación, y sobre todo no puede identificar el tipo de especies bacterianas, por lo que como alternativa se está utilizando pruebas con sistemas automatizados más eficaces incluyendo pruebas moleculares o serotipificación para determinar el género y especie, por ser un diagnóstico más rápido y simple de realizar, pues como describe en el estudio realizado por Ruiz M et al. 2018, en dos muestras dieron

resultados dudosos al realizar la prueba bioquímica tradicional, siendo confirmadas al obtener un resultado positivo para el gen *InvA* por PCR (30).

En el resultado de esta investigación se determinó que de los tres criaderos, sólo se aisló *Salmonella spp.* en el criadero C, que a diferencia del A y B, tiene un sistema de crianza comercial con una producción de aproximadamente 4000 cuyes, por lo que se puede decir que los casos de *Salmonella spp.* puede deberse al sistema de crianza y número de animales, sobre todo si no se realiza un adecuado manejo sanitario, y bienestar animal, en cambio Guamán en su estudio realizado en el 2014, en diferentes sistemas de crianza del cantón Saraguro, indica que el mayor porcentaje de aislamientos de *Salmonella typhimurium* se presentó en el sistema familiar con un 35% (61). Los factores de riesgo de morbilidad y mortalidad de infecciones en los cuyes dentro de los sistemas de crianza y explotación del mismo son diversos, puede incluir la edad, el diseño de galpón o cuyero (pozas, jaulas o pastoreo), vacunas entre otros. Estudios como el de Killerby, Huamán y Chauca en el 2019, considera que la dinámica y epidemiología de *S. typhimurium* es importante para establecer las medidas de prevención adecuadas mediante el manejo correcto de los cuyes y sus ambientes, pues en su estudio su presencia variaba según la estación climática aumentando en verano por aparente efecto acumulativo de estrés calórico, disminuyendo su sistema inmunológico, por lo que recomienda modificar su ambiente, proporcionar mayor disponibilidad agua, y sobre todo usar aditivos moduladores de la microbiota digestiva (probióticos y prebióticos). El uso de pozas a comparación de jaulas o parrillas incrementa mayor número de bacterias patógenas incluso parásitos, debido a la dificultad de limpieza, por lo que los animales están en contacto directo con los desechos produciendo una transmisión fecal-oral de estas bacterias, por acumulación de heces, contaminación de alimento, forraje y agua (62).

En cuanto a los órganos afectados en este estudio se encontró mayor lesiones anatomopatológicas en hígado, bazo y ganglios linfáticos obtenidos de cuyes enfermos evidenciando estas lesiones presentes también en otras investigaciones realizadas en esta misma especie, siendo el bazo el órgano más afectado con un 92.5 % y el hígado con un 87.5%, explicando por qué la bacteria invade células del intestino para diseminarse por vía linfática y sanguínea hacia el hígado y bazo (21).

Los resultados de susceptibilidad de *Salmonella spp.* contra enrofloxacin y sulfametoxazol/trimetropim fueron buenos; sin embargo en estudios realizados se demuestra que hay un aumento de resistencia a este antibacteriano en los cuyes, pues la comparación de los resultados obtenidos en un estudio de patrones de resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* en cuyes de crianza intensiva realizado por Huamán et al. (2020), indican que la resistencias más común está al antibiótico colistina (92.4%), seguido del sulfametoxazol (68.6%) y enrofloxacin (62.9%) resaltando que los resultados sugieren la presencia de cepas de *Salmonella Typhimurium* con moderada variabilidad (62).

En cuanto al aumento progresivo en la resistencia a betalactámicos en los aislamientos de *Salmonella spp.*, puede presentarse por resistencia natural, por presencia de enzimas hidrolíticas que inactivan o modifican el antibiótico, por lo que está contraindicado el uso de antibióticos con esta estructura común, por su toxicidad en cuyes, pues Matsuura *et al.* (2010) y Salvatierra G et al. (2018), indican que es importante evaluar la resistencia los betalactámicos por posible presencia de betalactamasas que degradan betalactámicos siendo involucrados en la resistencia y falla en los tratamientos. En cuanto a la sensibilidad de *Salmonella spp.* en la amoxicilina con ácido clavulánico, explican que podría deberse a que este es un inhibidor de betalactamasas, permitiendo la acción antimicrobiana de la amoxicilina (63).

En la resistencia ejercida en la Eritromicina, perteneciente a la familia de los macrólidos se ha demostrado mecanismos propios de la bacteria por medio de bombas de eflujo o expulsión del antibiótico del interior de la célula bacteriana por lo que no son el tratamiento de elección para la salmonelosis en cuyes porque puede resultar en toxicidad al igual que en betalactámicos por alteración de la flora Gram positiva del intestino, permitiendo la proliferación de bacterias Gram negativas patógenas (63,64).

Por otra parte la resistencia a las tetraciclinas no es extraña debido al uso frecuente de estos antimicrobianos en la producción animal. En diferentes estudios ya se ha confirmado la existencia de esta resistencia, debido al uso común de este antibacterianos. Según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria, explica que esto se debe a la adquisición de genes de resistencia de Salmonella conjugando con otras enterobacterias mediante transferencia de plásmidos, siendo una resistencia cruzada (65).

En cuanto a la resistencia de la fosfomicina encontrada en este estudio, es alarmante, ya que este antibiótico es usado para infecciones producidas por gramnegativos multirresistentes, comportándose como un antibiótico bactericida de amplio espectro, su mecanismo de acción único hace que la resistencia cruzada con otras clases de antibióticos sea menos probable y permita retener una actividad in vitro significativa frente a muchas bacterias tanto grampositivas como gramnegativas, incluyendo cepas con multirresistencia. De ahí que, recientemente, se haya incrementado en todo el mundo el interés de clínicos y microbiólogos por la fosfomicina en todas sus potenciales facetas de uso (66). Pues en la mayoría de estudios realizados con el objetivo de realizar la evaluación de resistencia de diferentes antibióticos en enterobacterias, demuestran que la fosfomicina no presenta elevada resistencia, como en el estudio de Mantilla et al (2010), demuestra un 5% de resistencia, o en el estudio de Cruz C (2017), donde presenta un 12.6% de resistencia., constituyendo una buena alternativa terapéutica (67). Sin embargo

comparando con este estudio realizado el aumento de su resistencia en fosfomicina en *Salmonella spp.* como el otros antibióticos de primera línea, y como en otras enterobacterias, según Carhuapoma V et al (2020), sería posiblemente porque son usados más frecuente en veterinaria, y utilizados indiscriminadamente desde muchos años atrás, formando nuevos mecanismos de resistencia adquirida ya sea por transferencia de ADN cromosómico o plasmídico, o por intercambio de material genético entre dos bacterias del mismo orden taxonómico., por lo que no es recomendable el uso de estos antibióticos de primera elección para el tratamiento, sin antes realizar las pruebas de susceptibilidad en los laboratorios. Por lo que es indispensable actualizar estudios para confirmar su resistencia (66).

La presencia de la resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp.* aisladas en estos animales ha determinado la presentación de resistencia en más de un antibiótico, relacionado a resistencias naturales de las bacterias, pero también ha resistencias adquiridas o transmitidas, provocando mutaciones en cepas bacterias en respuesta al uso de estos fármacos, principalmente porque se usan de manera errónea creando sin necesidad condiciones que favorecen su resistencia, según explica Quesada A, et al. (2016), que en la mayoría de estudios realizados sobre la resistencia antimicrobiana de *Salmonella spp.* aisladas en alimentos de origen animal para consumo humanos en América Latina, presentaron múltiples resistencias a los antibióticos que son usados como primera opción en el tratamiento de salmonelosis en humanos, como el cloranfenicol, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol y ceftriaxona, por lo que implementar alternativas para controlar esta problemática, limitando la comercialización de antibióticos para su uso en animales destinados a consumo humanos, como lo hacen en Colombia, Argentina y Perú (51). La Agencia de Alimentos y Drogas de Estados Unidos o FDA, junto con la Organización Mundial de Sanidad Animal OMSA fundada por la OIE, promueve el rol del veterinario para la supervisión del tratamiento, control y prevención de enfermedades en los animales productores de alimento, con recolección de datos sobre el uso

de los antimicrobianos en los humanos y animales, promoviendo buenas prácticas. La FDA considera que el cambio voluntario de los productores es la forma más eficaz para poner en práctica cambios duraderos orientados a proteger la salud pública y animal. Por lo que combatir contra la resistencia a los antimicrobianos es un deber mundial que debe abordarse por el medio del enfoque “Una salud”, siendo esencial la unión y colaboración entre los sectores de la sanidad animal, y la salud humana, vegetal y ambiental, para mejorar la salud a nivel mundial (69).

11. IMPACTOS

11.1. Impacto social

La contaminación dentro de la cadena alimentaria tiene un impacto social debido a que es una de fuentes de la propagación de salmonella debido a que tiene un alto riesgo para la salud pública por su transmisión entre humanos y animales, causando alta morbilidad y mortalidad.

11.2. Impacto económico

El impacto económico es alto a causa de la infección por salmonella tanto en los humanos como en los animales a causa de la resistencia de esta bacteria por lo que no se permite tratar la enfermedad adecuadamente, afectado a países de ingreso bajo, una pérdida de productividad, lo que a su vez afecta a la subsistencia de muchos hogares, ya que millones de personas en el mundo dependen de la producción animal para su sustento.

11.3. Impacto ambiental

La salmonelosis puede transmitirse por contacto directo, y por el medioambiente por contaminación en el agua, aire, suelo, alimentos, debido a malas prácticas o sistemas insuficientes de control, ligados por los núcleos de población, industria y agropecuaria intensiva

al generar bacterias resistentes a los antibióticos provenientes de animales tratados que pueden estar presentes en el estiércol y diseminándose al medio ambiente y en la fauna silvestre, causando riesgos de infecciones nuevas y reemergentes en los animales y a los humanos al entrar en contacto, presentando numerosos riesgos, amenazando la seguridad alimentaria, la calidad de vida y la salud.

12. CONCLUSIONES

- Con desarrollo de los aislamientos y pruebas bioquímicas se pudo identificar *Salmonella* spp en el criadero C evaluado en este estudio, siendo un criadero de sistema comercial, por lo que puede presentar mayor incidencia de la enfermedad, sobre todo si no se realiza buenas prácticas de manejo y control de los animales e instalaciones.
- Mediante el uso del antibiograma se llegó a determinar una resistencia de la Penicilina, Fosfomicina, la Eritromicina y Tetraciclina. Esto a causa de las características de resistencia que presenta la *Salmonella spp.* ya sea natural, adquirida o transmitida por la bacteria, siendo más relevante la fosfomicina, por lo que realizar más estudios sobre todo en países de América Latina para evaluar la multiresistencia permite establecer medidas de contingencia con el fin de disminuir esta resistencia, debido a que puede ser usado de forma indiscriminada dentro de los sectores productivos, por lo que se debe establecer y monitorear estrategias adecuadas de su control.

13. RECOMENDACIONES

- Realizar métodos de diagnóstico más precisos que puedan determinar el género y especie de la bacteria, así como realizar estudios de tipificación molecular y evaluar su importancia en la salud pública.
- Realizar manejos sanitarios de prevención y control para evitar la propagación de infecciones bacterianas como *salmonella* y de otras bacterias que producen zoonosis, y así evitar el uso de antibióticos cuando no se requieren.
- Usar nuevos métodos de terapias alternativas para bacterias multirresistentes como el uso de bacteriófagos, debido a sus ventajas basadas en elevada especificidad, no alteran las propiedades organolépticas en alimentos, ni microbiota buena del organismo en animales, ya que los fagos infectan un único género y especie bacteriana, y puedan ser incrementados en un futuro cercano en consonancia con el desarrollo tecnológico.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Alegría C. Efecto de la Norfloxacin en el tratamiento de *Salmonella spp.* en cuyes. [Internet]. Tesis. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 2008. Perú. [citado el 15 de septiembre de 2022]; Disponible en: <https://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/889/ZT-416.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
2. Salmonella [Internet]. ELIKA. 2021 [citado el 15 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://seguridadalimentaria.elika.eus/fichas-de-peligros/salmonella/>
3. Dirección Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Ministerio de Salud Pública. Enfermedades transmitidas por agua y alimentos Ecuador [Internet]. 2021. [citado el 15 de septiembre de 2022]; Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/06/GACETA-ETAS-SEM-22.pdf>
4. Justo S, Saldaña C, Guerra A. Aislamiento e Identificación de *Salmonella Enterica* a partir de cuyes con signos de Salmonelosis [Internet]. Vol. 11 (2015): Revista de Ciencias. [citado el 15 de septiembre de 2022]; Disponible en: https://doi.org/10.31381/revista_ciencias.v11i0.572
5. Tacuri P. Evaluación de la calidad microbiológica de cuyes faenados expendidos en la ciudad de Cuenca [Internet]. Universidad del Azuay, Cuenca: 2016. [citado el 15 de septiembre de 2022]; Disponible en: <https://dspace.uazuay.edu.ec/bitstream/datos/5599/1/11928.pdf>
6. Salvatierra G, Rimac R, Chero A, Reyna I, Rosario R, Maturrano L. Resistencia antimicrobiana y genotipificación de cepas de *Salmonella Typhimurium* aisladas de cuyes (*Cavia porcellus*) provenientes de granjas de producción intensiva de la ciudad de Lima, Perú [Internet]. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú vol.29 no. 1

- Lima. 2018 [citado el 15 de septiembre de 2022]; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14089>.
7. Noriega J. Determinación de Resistencia Bacteriana en Enterobacterias aisladas en cobayos de producción mediante antibiogramas [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana. Cuenca. 2022. [citado el 15 de septiembre de 2022]; Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/22333/1/UPS-CT009669.pdf>
 8. ¿Qué es Salmonella? [Internet]. MICROLAB INDUSTRIAL. 2011. [citado el 17 de septiembre de 2022]; Disponible en: <https://www.microlabindustrial.com/blog/que-es-la-salmonella>
 9. Villagómez S. Aislamiento y Serotipificación de *Salmonella* Enteritidis, Typhimurium, e Infantis En carcasas de pollos destinadas para consumo humano en un camal industrializado de la provincia de Pichincha [Internet]. Universidad Central del Ecuador. Quito. 2015. [citado el 17 de septiembre de 2022]; Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6677/1/T-UCE-0014-027.pdf>
 10. Grimont P. Fórmulas Antigénicas de la serovar de *Salmonella* [Internet]. Instituto Pasteur. WHO. 9th edition. 2007. [citado el 15 de septiembre de 2022]; Disponible en: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf
 11. Larco N. Aislamiento de cepas móviles e inmóviles de *Salmonella spp.* en contenido cecal de pollos faenados en camales industriales de la provincia de Pichincha [Internet]. Universidad Central del Ecuador. Quito. 2015. [citado el 24 de septiembre de 2022]; Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/6785/1/T-UCE-0014-047.pdf>
 12. Maldonado B. Detección y epidemiología de *Salmonella spp.* en aves silvestres en la Península Ibérica [Internet]. Universidad Complutense de Madrid. 2021. [citado el 24

- de septiembre de 2022]; Disponible en:
<https://eprints.ucm.es/id/eprint/67432/1/T42793.pdf>
13. Gómez V. ¿Qué es la *Salmonella enterica*? [Internet]. Lifeder. 2022. [citado el 24 de septiembre de 2022]; Disponible en: <https://www.lifeder.com/salmonella-enterica/>
 14. Hernández L, Rivas S, Sánchez N, Zuñiga D. Salmonelosis [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de México. 2016. [citado el 04 de octubre de 2022]; Disponible en: <https://prezi.com/dnzybqsrzh20/salmonella/>
 15. Fernández A, García C, Saéz J, Valdezate S. Procedimientos en Microbiología Clínica: Métodos de identificación bacteriana en el Laboratorio de Microbiología [Internet]. España. 2010. [citado el 04 de octubre de 2022]; Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
 16. Mejía W. Epidemiología de la Salmonelosis porcina en granjas de Cataluña y determinación de los factores de riesgo de la infección [Internet]. Universidad Autónoma de Barcelona. 2003. [citado el 10 de octubre de 2022]; Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5596/wjms1de1.pdf>
 17. Navarro R. Salmonella, biofilms y persistencia [Internet]. España. Betelgeux. 2017. [Citado 10 noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.betelgeux.es/blog/2017/02/14/539/#:~:text=Salmonella%20desde%201885,de%20cerdos%20infectados%20de%20c%C3%B3lera.>
 18. Alfaro-Mora Ramsés. Aspectos relevantes sobre *Salmonella* sp en humanos. Rev Cubana Med Gen Integr [Internet]. 2018 Sep [citado 2023 Feb 10]; 34(3): 110-122. ISSN 1561-3038 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252018000300012&lng=es.

19. Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. Alerta Epidemiológica: Salmonella entérica serovar Typhi haplotipo H58. Washington, D.C. OPS/OMS. 2018. [Citado 29 diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/documentos/alerta-epidemiologica-10-octubre-2018-salmonella-enterica-serovar-typhi-haplotipo-h58#:~:text=Ante%20la%20aparici%C3%B3n%20de%20infecciones,a%20los%20Estados%20Miembros%20fortalecer>
20. Ministerio de Salud Pública. Enfermedades transmitidas por agua y alimentos infecciones debidas a SALMONELLA Ecuador, SE 25, 2021 [Internet]. [Citado 29 diciembre de 2022]. Disponible en: <https://www.salud.gob.ec/wp-content/uploads/2021/07/GACETA-SEM-25-ETAS.pdf>
21. Layme M Américo, Perales C Rosa, Chavera C Alfonso, Gavidia C César, Calle E Sonia. Lesiones anatomopatológicas en cuyes (cavia porcellus) con diagnóstico bacteriológico de salmonella sp. Rev. investig. vet. Perú [Internet]. 2011 Dic [citado 2023 Feb 16]; 22(4): 369-376. ISSN 1609-9117 Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000400011&lng=es.
22. anmat. Salmonelosis. Enfermedades transmitidas por alimentos [Internet]. Ficha técnica no 9. [citado el 30 de diciembre de 2022]; Disponible en: <http://www.anmat.gov.ar/alimentos/salmonelosis.pdf>
23. Moya A. Prevalencia de Salmonelosis en cuyes (cavia porcellus) procedentes de granjas del centro poblado “Huancaquito Alto”-Virú-La Libertad [Internet]. Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo. 2019. [citado el 30 de diciembre de 2022]; Disponible en: https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/5577/1/REP_MED.VETE_AN

[GHY.MOYA_PREVALENCIA.SALMONELOSIS.CUYES.CAVIA.PORCELLUS.PROCEDENTES.GRANJAS.CENTRO.POBLADO.HUANCAQUITO.ALTO.VIR%3A.LA.LIBERTAD.pdf](#)

24. Telles R. Factores de riesgo de Salmonelosis en las granjas de cuyes de Valle Viejo de Tacna [Internet]. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. Perú. 2017. [citado el 30 de diciembre de 2022]; Disponible en: http://repositorio.unjbg.edu.pe/bitstream/handle/UNJBG/3550/44_2017_telles_velasquez_rdp_espg_doctorado_epidemiologia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
25. Amasino C. Salmonelosis. En: Zapata J, et al, editor. Enfermedades infecciosas de los animales y zoonosis. Universidad Nacional de la Plata. 1ra ed. Argentina: edulp editorial. 2017. p. 40-48.
26. Centro de Investigación en Sanidad Animal. Salmonelosis [Internet]. (s/f). [citado el 30 de diciembre de 2022]; Disponible en: <http://www.cresa.es/granja/salmonelosis.pdf>
27. Arias A. Determinación de la prevalencia de *Salmonella spp.* en huevo de gallina tipo criollo comercializados en mercados municipales [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador. 2020. [citado el 30 de diciembre de 2022]; Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/18591/1/UPS-CT008721.pdf>
28. Casart, Y. Tipificación molecular de *Salmonella* aislada de cuyes (*Cavia porcellus*) de Loja, Ecuador [Internet]. Revista Científica Ecuatoriana vol 3. Agrocalidad. 2016. [citado el 2 de enero de 2023]; Disponible en: <https://revistaecuadorescalidad.agrocalidad.gob.ec/revistaecuadorescalidad/index.php/revista/article/download/19/54/#:~:text=Los%20signos%20cl%C3%ADnicos%20de%20la,las%20extremidades%20posteriores%20y%20caquexia.>
29. Huarcaya F. Serotipificación y detección genética de *Salmonella spp.* de origen aviar [Internet]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. 2020. [citado el 2 de

- enero de 2023]; Disponible en:
https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/16267/Huarcaya_rf.pdf?sequence=3&isAllowed=y
30. Ruiz M, Ramallo G, Colello R, Villalobo C, Monteavaro C, Etcheverría A, Padola N. Diferentes métodos para aislamiento y detección de *Salmonella spp.* en canales porcinos [Internet]. Revista Colombiana de Biotecnología, vol. XX, núm. 2, pp. 117-123. 2018. [citado el 2 de enero de 2023]; Disponible en:
<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n2.71680>
31. Soria M. Medios de cultivos para detectar salmonella en diferentes productos avícolas [Internet]. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. 2015. [citado el 2 de enero de 2023]; Disponible en: <https://inta.gob.ar/documentos/medios-de-cultivos-para-detectar-salmonella-en-diferentes-productos-avicolas>
32. Paloma A, Montaña L, Villarreal J, Wiesner M. Caracterización molecular y fenotípica de aislamientos Typhimurium variante monofásica recuperados en Colombia [Internet]. Revista Biomédica. Vol. 40 Núm. 4. 2020 [citado el 5 de enero de 2023]; Disponible en: <http://dx.doi.org/10.7705/biomedica.5417>
33. Stanchi N, Martino P, Gentilini E, Reinoso E, Echeverría M, Leardini N, Copes J. Microbiología Veterinaria. 1ra. ed. Buenos Aires: Inter-Médica, 2007.
34. Gonzalez J, Pereira N, Soto Z, Hernández A, Villareal J. Aislamiento microbiológico de *Salmonella spp.* y herramientas moleculares para su detección [Internet]. Revista Salud Uninorte vol.30 no.1 Barranquilla: 2014. [citado el 5 de enero de 2023]; ISSN 2011-7531. Disponible en:
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522014000100009#:~:text=Para%20aislar%20y%20diferenciar%20las,\(XLD\)%20\(29\)%20y](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-55522014000100009#:~:text=Para%20aislar%20y%20diferenciar%20las,(XLD)%20(29)%20y)

35. Angel G. Aislamiento e identificación de *Salmonella spp.* a partir de muestras de leche en dos hatos de la Sabana de Bogotá [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. 2015. [citado el 7 de enero de 2023]; Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/20886/AngelRodriguezGeraldinLorena2015.pdf?sequence=1>
36. BD. Rappaport Vassiliadis Broth [Internet]. 2003. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: <https://legacy.bd.com/europe/regulatory/assets/ifu/hb/ce/ba/es-ba-257257.pdf>
37. BD. BBL Tetrathionate Broth Base [Internet]. 2013. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=20801#:~:text=El%20caldo%20de%20tetrathionate%20fue.pat%C3%B3genos%20ent%C3%A9ricos%20pr%C3%A1cticamente%20sin%20restricci%C3%B3n1.>
38. Perkins E. En: Soria M, Bueno D ed. Métodos basados en cultivos para detectar salmonella en diferentes productos avícolas [Internet]. In Food Microbiología. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Nova Science publishers. New York. 2016. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: https://books.google.com.ec/books?id=clSSDwAAQBAJ&pg=PA57&hl=es&source=gbv_toc_r&cad=3#v=onepage&q&f=true
39. BRITANIA. T.S.I. Agar (Triple Sugar Iron Agar) [Internet]. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070971eb11bd.pdf
40. BRITANIA. Lisina Hierro Agar [Internet]. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6054e85d48c47.pdf

41. BRITANIA. Christensen Medio (Urea Agar Base) [Internet]. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6054e95043249.pdf
42. BRITANIA. Simmons Citrato Agar [Internet]. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_607092758cfa8.pdf
43. BRITANIA. SIM Medio [Internet]. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070922459b84.pdf
44. BRITANIA. MR-VP Medio [Internet]. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070751064820.pdf
45. García R. Microbiología Veterinaria II [Internet]. Universidad Nacional Agraria. Nicaragua. 2013. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: <https://cenida.una.edu.ni/textos/nl70g216.pdf>
46. Palomino C, González Y. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones [Internet]. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública vol.31 no.3. Perú. 2014. [citado el 10 de enero de 2023]; ISSN 1726-4634. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342014000300020
47. Chauca L. Sanidad en los cuyes. Producción de cuyes (*Cavia porcellus*) [Internet]. Instituto Nacional de Investigación Agraria. FAO. Perú. 1997. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.fao.org/3/W6562S/w6562s07.htm>
48. Parra M, Durango J, Máttar S. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por salmonella [Internet]. Universidad de

- Córdoba. Revista MVZ Córdoba, vol 7, núm. 2. Colombia. 2022. [citado el 10 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/693/69370201.pdf>
49. International Dynamic Advisors. HACCP-Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control [Internet]. [citado el 12 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.intedya.com/internacional/51/consultoria-haccp-analisis-de-peligros-y-puntos-criticos-de-control.html>
50. Botana L, Landoni F, Jiménez T. Quimioterapia de las enfermedades bacterianas Farmacología y Terapéutica Veterinaria. 1ra ed. McGRAW-HILL/INTERAMERICANA. España. 2002. pg. 437-493.
51. Quesada Adriana, Reginatto Gabriel A, Ruiz Español Ayelen, Colantonio Lisandro D, Burrone María Soledad. Resistencia antimicrobiana de Salmonella spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. Rev. perú. med. exp. salud pública [Internet]. 2016 Ene [citado 2023 Feb 16]; 33(1): 32-44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2016.331.1899>.
52. Mora R. Aspectos relevantes sobre Salmonella sp en humanos [Internet]. Universidad Latina de Costa Rica. Revista Cubana de Medicina General Integral vol. 34, no.3. 2018. [citado el 12 de enero de 2023]; Disponible en: <https://revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/957/208>
53. Baene I. Resistencia Bacteriana. Revista Colombiana de Cirugía vol. 12. no. 3. 1998.
54. Pérez D. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria [Internet]. Hospital Veterinario Clínica Puerta de Hierro. Vol.22 no.3. España. 1998. [citado el 12 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>
55. MedlinePlus. Prueba de sensibilidad a los antibióticos [Internet]. Librería Nacional de Medicina. [citado el 15 de enero de 2023]; Disponible en:

- <https://medlineplus.gov/spanish/pruebas-de-laboratorio/prueba-de-sensibilidad-a-los-antibioticos/>
56. Vázquez M. Pruebas de sensibilidad o antibiogramas [Internet]. Manual MSD. 2020. [citado el 12 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/diagn%C3%B3stico-de-laboratorio-de-las-enfermedades-infecciosas/pruebas-de-sensibilidad-o-antibiogramas>
57. Kapital. Antibiogramas, pruebas de sensibilidad microorganismos [Internet]. 2023. [citado el 12 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.kapitalinteligente.es/antibiogramas-pruebas-de-sensibilidad-microorganismos/>
58. Herrera M. Pruebas de sensibilidad antimicrobiana [Internet]. Rev. méd. Hosp. Nac. Niños vol. 34. 1999. [citado el 12 de enero de 2023]; ISSN 1017-8546. Disponible en: https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1017-85461999000100010
59. Fernández N, Delmiro A, García J, Jaqueti J. Estudio de sensibilidad a los agentes antimicrobianos [Internet]. Asociación Española de Biopatología Médica. 2012. [citado el 15 de enero de 2023]; Disponible en: <https://www.aebm.org/formacion%20distancia/distancia%202011-2012/Actualizaciones/monografias%202011/5.-%20ANTIMICROBIANOS.pdf>
60. BRITANIA. Mueller Hinton Agar [Internet]. [citado el 16 de enero de 2023]; Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070756160103.pdf
61. Chuquizuta C, Morales S. Identificación de agentes bacterianos aislados de gazapos muertos de cuyes en una granja de crianza intensiva en Lima, Perú. REDVET. Revista

- Electrónica de Veterinaria, vol. 18, núm. 12, diciembre, 2017, pp. 1-13 Veterinaria Organización Málaga, España. E-ISSN: 1695-7504. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640041.pdf>
62. Huamán M, Pérez C, Rodríguez J, Killerby M, Lovón S, Chauca L. Caracterización genética y patrones de resistencia antimicrobiana en cepas de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium en cuyes de crianza intensiva. *Rev. investig. vet. Perú* [Internet]. 2020 [citado 2023 Feb 09] 31(1): e17542. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381.v31i1.17542>.
63. MATSUURA S., Annie; MORALES C., Siever; CALLE E., Sonia y ARA G., Miguel. Susceptibilidad a antibacterianos in vitro de *Salmonella enterica* aislada de cuyes de crianza familiar-comercial en la provincia de Carhuaz, Áncash. *Rev. investig. vet. Perú* [online]. 2010, vol.21, n.1, pp.93-99. ISSN 1609-9117. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172010000100014
64. Elisenda Miró, Clara Vergés, Isabel García, Beatriz Mirelis, Ferrán Navarro, Pere Coll, Guillermo Prats, Luis Martínez-Martínez. Resistencia a quinolonas y betalactámicos en *Salmonella enterica*, y su relación con mutaciones en las topoisomerasas, alteraciones en la permeabilidad celular y expresión de un mecanismo de expulsión activa, *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, Volume 22, Issue 4, 2004, Pages 204-211, ISSN 0213-005X. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(04\)73067-0](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(04)73067-0)
65. EFSA (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria) y ECDC (Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades), 2015. Informe resumido de la UE sobre la resistencia a los antimicrobianos en bacterias zoonóticas e indicadoras de humanos, animales y alimentos en 2013. *EFSA Journal* 2015;13(2):4036, 178 págs. Disponible en:

- <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.2903/j.efsa.2015.4036#:~:text=https%3A//doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4036>
66. Carhuapoma V., et al. Resistencia antibiótica de Salmonella sp, Escherichia coli aisladas de alpacas (Vicugna pacus) con y sin diarrea. La Granja. Revista de Ciencias de la Vida, vol. 31, núm. 1, pp. 98-109, 2020. Disponible en: <https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.08>
67. Mantilla J, Pulido M, Jaime J. Prueba de sensibilidad antimicrobiana de cepas de salmonella grupo D (móviles e inmóviles) aisladas de ponedoras comerciales en Colombia. Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia [Internet]. 2010;57(III):168-177. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=407639225003>
68. Gil M. Prueba de catalasa: fundamento, técnica y usos [Internet]. Lifeder. 2019. [citado 2023 Feb 20]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/prueba-catalasa/>
69. OIE. Resistencia a los agentes antimicrobianos: una amenaza para los seres humanos y los animales [Internet]. Infografía. Disponible en: <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/es-oie-amrstrategy-factsheet.pdf>
70. Reina J, Reina N. Fagoterapia ¿una alternativa a la antibioticoterapia? [Internet]. [Phage therapy, an alternative to antibiotic therapy?]. Rev Esp Quimioter. 2018 Apr; 31(2):101-104. Spanish. Epub 2018 Feb 16. PMID: 29451376; PMCID: PMC6159377. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6159377/#:~:text=La%20fagoterapia%20ya%20fue%20utilizada,2%2C6%2C7%5D>.
71. Domínguez Navarrete Nicanor. Bacteriófagos. Rev. Fac. Med. Hum. [Internet]. 2020 Ene [citado 2023 Feb 20]; 20(1): 164-165. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.25176/rfmh.v20i1.2554>.

15. ANEXOS

Anexo 1: Hoja de vida Autor

- DATOS PERSONALES

NOMBRES: Ana Gabriela

APELLIDOS: Yaguapaz Cortez

CÉDULA: 1722945795

FECHA DE NACIMIENTO: 30 Mayo de 1999

ESTADO CIVIL: Soltero

DIRECCIÓN: Pedro Moncayo-Malchinguí

TELÉFONO: 0983478484

E-MAIL: ana.yaguapaz5795@utc.edu.ec

- PREPARACIÓN ACADÉMICA

ESTUDIO PRIMARIO: Unidad Educativa Salesiana “Domingo Savio”

ESTUDIO SECUNDARIO: Unidad Educativa Salesiana “Domingo Savio”

ESTUDIOS SUPERIORES:

Universidad Técnica de Cotopaxi-Medicina Veterinaria-Aprobado Noveno nivel.



Anexo 2: Hoja de vida-Docente tutora.**NOMBRES:** Vanessa del Rosario**APELLIDOS:** Herrera Yunga**CÉDULA:** 1103758999**FECHA DE NACIMIENTO:** 26 junio de 1984**ESTADO CIVIL:** Divorciada**DIRECCIÓN:** Machala, San Felipe. Av. Eloy Alfaro**TELÉFONO:** 0991358446**E-MAIL:** vanherre9969@gmail.com**INSTRUCCIÓN FORMAL:**

DECLARACIÓN: DECLARO QUE, todos los datos que incluyo en este formulario son verdaderos y no he ocultado ningún acto o hecho, por lo que asumo cualquier responsabilidad.

MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

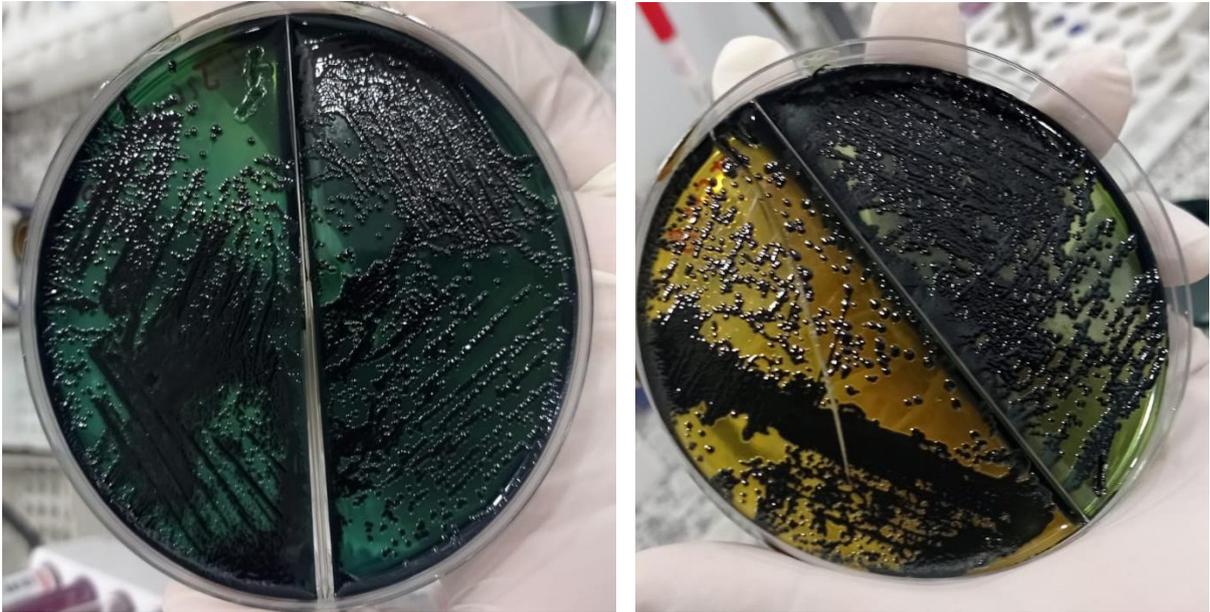


Nivel	Título	Institución de Educación Superior	Tipo	Número de Registro	Fecha de Registro
3ER	MEDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA	Nacional	1008-10-1019290	2010-09-29
4TO	MASTER UNIVERSITARIO EN MICROBIOLOGÍA APLICADA	UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA	Extranjero	7297R-13-11148	2013-11-20

Anexo 3. Placas incubadas con colonias características de *Salmonella spp.* en medio de cultivo agar Sulfito-Bismuto



Anexo 4. Placas incubadas con colonias características de *Salmonella spp.* en medio de cultivo agar Salmonella-Shigella

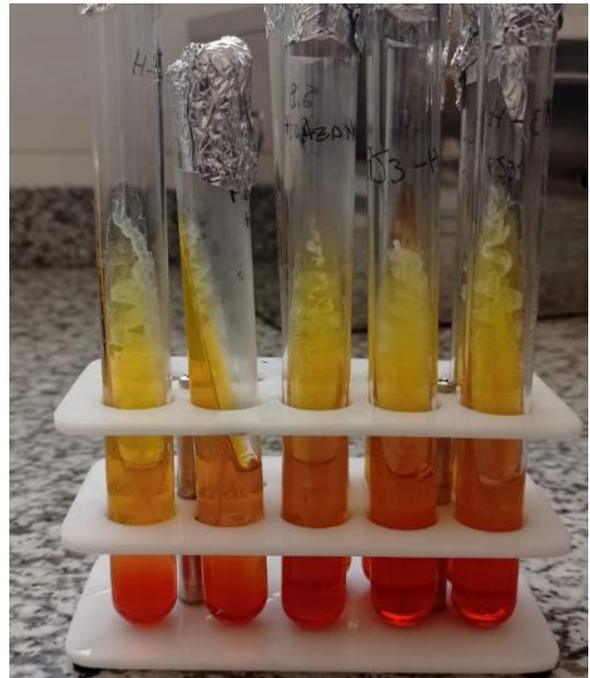
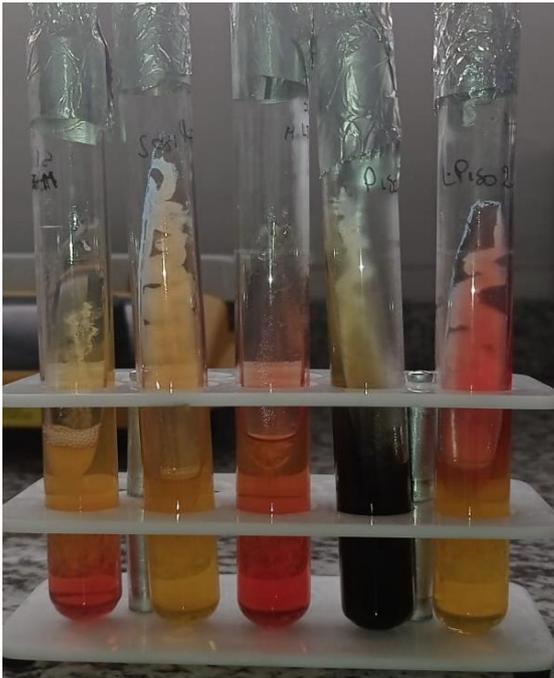


Placa izquierda colonias con características de *Salmonella spp.* (negras).
Placa derecha colonias sin características de *Salmonella spp.* (Anaranjadas) en medio de cultivo agar SS.

Anexo 5: Pruebas bioquímicas de TSI, LIA, UREA, Citrato, SIM y MRVP, de confirmación positivas a *Salmonella spp.*



Anexo 6. Pruebas bioquímicas negativa para *Salmonella spp.*

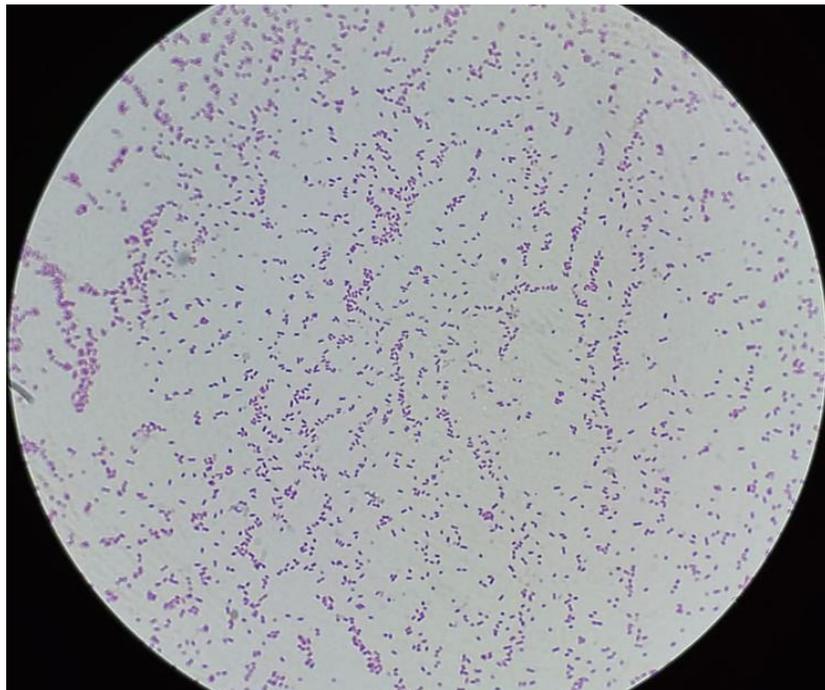


Prueba de TSI negativa a *Salmonell spp.*

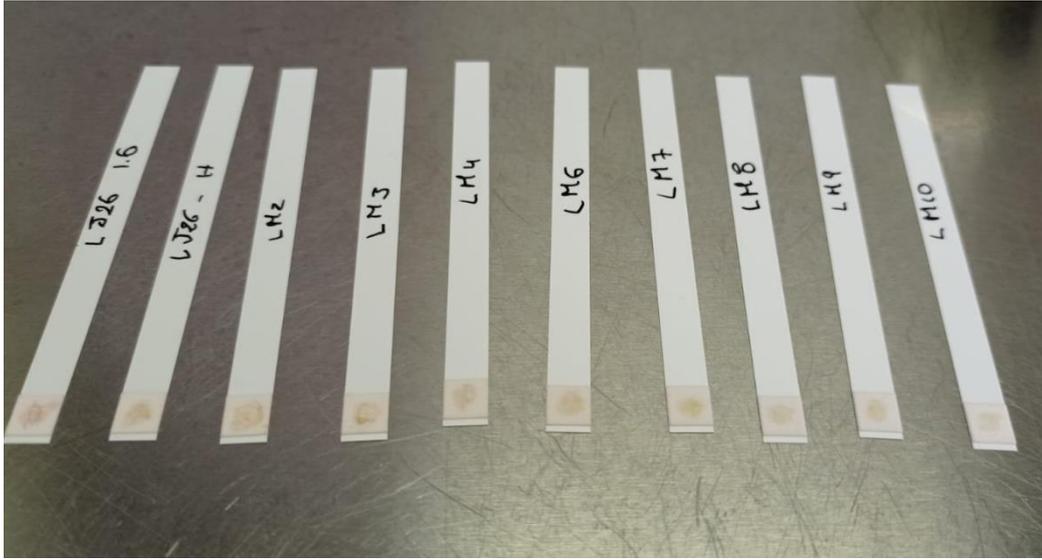


Prueba bioquímica de de TSI, LIA, UREA, Citrato, SIM y MRVP negativas para *Salmonella spp.*

Anexo 7. Tinción gram de Bacilos Gram-negativos



Anexo 8. Prueba de oxidasa en muestras aisladas con *Salmonella spp*, reacción negativa.



Anexo 9. Prueba de catalasa en muestras aisladas con *Salmonella spp*. reacción positiva.



Anexo 10: Fase de pruebas de sensibilidad mediante técnica de disco en difusión de agar



Placa con cultivo de *Salmonella spp.*, examinada ante los antibióticos gentamicina, norfloxacin, eritromicina y ampicilina/sulbactam.



Placa con cultivo de *Salmonella spp.*, examinada ante los antibióticos penicilina, amoxicilina/ác. clavulánico, cirpofloxacina y sulfametoxazol/trimetopim.



Placa con cultivo de *Salmonella spp.*, examinada ante los antibióticos amoxicilina, florfenicol y enrofloxacin.



Placa con cultivo de *Salmonella spp.*, examinada ante los antibióticos ampicilina, fosfomicina y tetraciclina.

Anexo 11. Guía de identificación bioquímica de algunas enterobacterias.

Pruebas/ microorganism o	TSI	GAS	Citrato	Lisina		Motilidad	Indol	H ₂ S	Úrea	R M	V P	Oxidasa	Catalasa
	Superficie / profundid ad			DCM (profundida d)	DAM (superfici e)								
<i>Escherichia coli</i>	A/A	+	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+
<i>Klebsiella spp.</i>	A/A	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	+
<i>Proteus spp.</i>	K/A ó A/A	+	V	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+
<i>Salmonella spp.</i>	K/A	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
<i>Providencia spp.</i>	K/A	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+
<i>Shigella spp.</i>	K/A	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+

Anexo 12. Medios de Verificación

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA-CLÍNICA VETERINARIA

Tabla 11. Resultado obtenidos en las 50 muestras

Criadero	Código de muestras	Tipo de muestra	Sulfito-Bismuto	TSI	SS
A	AC1	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	AC2	Hisopado rectal	Colonias celestes	X	No se realizó
	AC3	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	AC4	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	AC5	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	AC6	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	AC7	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	AC8	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS -	No se realizó
	AC9	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	AC10	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	AC11	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	AC12	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	AC13	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	AH14	Hisopado suelo	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	AH15	Hisopado suelo	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
B	BC1	Hisopado rectal	Colonias verdes cafés	A/A GAS +	No se realizó
	BC2	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	BC3	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	BC4	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	BC5	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	K/A GAS -	No se realizó
	BC6	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS +	No se realizó
	BC7	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	BC8	Hisopado rectal	Colonias negras	K/A GAS -	Colonias rojas
	BC9	Hisopado rectal	Colonias negras	A/A GAS +	Colonias rojas
	BC10	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	K/A GAS +	No se realizó
	BC11	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	BC12	Hisopado rectal	Sin crecimiento	X	X
	BC13	Hisopado suelo	Colonias verdes-cafés	A/A GAS + H2S +	No se realizó
	BH14	Hisopado suelo	Colonias verdes-cafés	A/A GAS + H2S +	No se realizó

	BH15	Hisopado suelo	Colonias verdes-cafés	K/A GAS +	No se realizó
C	LJ26	Intestino grueso	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM1	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM2	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM3	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM4	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM5	Intestino delgado	Colonias verdes-cafés	A/A GAS+	No se realizó
	LM6	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM7	Bazo	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM8	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM9	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM10	Ganglios/absceso	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM11	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM12	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM13	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM14	Hígado	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LM15	Ganglios/absceso	Colonias negras con brillo metálico	K/A GAS + H2S +	Colonias negras H2S +
	LJ10	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS+	No se realizó
	LJ2	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS+	No se realizó
	LJ16	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS+	No se realizó
LJ23	Hisopado rectal	Colonias verdes-cafés	A/A GAS+	No se realizó	