



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS  
NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACION

Título:

---

AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE RESISENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli*  
 A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES EN BOVINOS DE LA HACIENDA LECHERA  
 LYG FARM EN LA CIUDAD DE QUITO, ECUADOR.

---

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

**Autor:**

Higuera López Jossué Alessander

**Tutora:**

Herrera Yunga Vanessa del Rosario, MVZ. Mtr.

**LATACUNGA – ECUADOR**

**Agosto 2022**

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Jossué Alessandro Higuera López, con cédula de ciudadanía No. 1718027699, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Aislamiento y estudio de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* a partir de hisopados rectales en bovinos de la hacienda lechera LYG FARM, en la ciudad de Quito, Ecuador”, 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, 30 de agosto del 2022

Jossué Alessandro Higuera López  
Estudiante  
CC. 1718027699

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

## CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DEL AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **HIGUERA LÓPEZ JOSSUÉ ALESSANDER**, identificado con cédula de ciudadanía **1718027699** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ingeniero PhD. 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.** – **EL 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 estudio de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* a partir de hisopados rectales en bovinos de la hacienda lechera LYM FARM en la ciudad de Quito, Ecuador”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad: y, las características que se continúan se detallan:

### **Historial Académico**

**Inicio de la carrera:** Abril 2018 – Agosto 2018

**Finalización de la carrera:** Abril 2022 - Agosto 2022

**Aprobación en Consejo Directivo:** 3 de Junio del 2022

**Tutora:** MVZ. Mtr. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga.

**Tema:** Aislamiento y estudio de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* a partir de hisopados rectales en bovinos de la hacienda LYG FARM en la ciudad de Quito, Ecuador.

**CLÁUSULA SEGUNDA.** - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por la 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 la presente investigación.

**CLÁUSULA TERCERA.** – Por el presente contrato, **EL CEDENTE** autoriza a **LA CESONARIA**, 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 **EL 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 y otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importancia 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 CESONARIA** 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 CESONARIA** 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 a 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 solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 30 días del mes de agosto del 2022.

Jossué Alessandro Higuera López  
**EL CEDENTE**

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, PhD.  
**LA CESIONARIA**

## **AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

En la calidad de Tutora del proyecto de Investigación con el título:

**“AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES EN BOVINOS DE LA HACIENDA LECHERA LYG FARM EN LA CIUDAD DE QUITO, ECUADOR”**, 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, 30 de agosto del 2022

MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

**DOCENTE TUTOR**

CI. 1103758999

## APROBACIÓN 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, el postulante: **HIGUERA LÓPEZ JOSSUÉ ALESSANDER**, con el título del Proyecto de Investigación: “AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES EN BOVINOS DE LA HACIENDA LECHERA LYG FARM, EN LA CIUDAD DE QUITO, ECUADOR.”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

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

Latacunga, 30 de agosto del 2022

Lector 1 (Presidente)

MVZ. Cristian Arcos Álvarez, Mg.

CC: 1803675634

Lector 2

MVZ. Gabriel Molina Cuasapaz, Mtr.

CC: 1722547278

Lector 3

Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar, Mg.

CC: 0501616353

## **DEDICATORIA**

A mi abuelo, Dr. MVZ. Germán López, quien en vida con sus anécdotas me inspiró a seguir sus pasos como profesional, que en donde te encuentres sepas que lo logré.

A mis hermanas, María José y Valeska, por ser mi sostén cuando todo se venía abajo. Son mis pilares, son mi todo.

A la Dra. Alejandra quien, con su dedicación y ánimos por enseñar, me ayudo a ver con más amor a la profesión.

Jossué Alessander



## **AGRADECIMIENTO**

A mis padres por siempre estar pendiente de mi avance como profesional.

A mi Tutora, por brindarme su ayuda y no desistir en resolver cualquier duda durante la elaboración del proyecto, gracias por brindarme su paciencia y su confianza y sobre todo su amistad.

A Dr. Gabriel, por abrirme las puertas de su propiedad y permitirme realizar esta investigación, sepa siempre que el respeto que le tengo va más allá de lo profesional. Gracias por ser más que un profesor, un gran amigo.

Jossué Alessander

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**

**TÍTULO:** “AISLAMIENTO Y ESTUDIO DE RESISENCIA ANTIMICROBIANA DE *Escherichia coli* A PARTIR DE HISOPADOS RECTALES EN BOVINOS DE LA HACIENDA LECHERA LYG FARM EN LA CIUDAD DE QUITO, ECUADOR.”

AUTOR: Higuera López Jossué Alessander

**RESUMEN**

La resistencia antimicrobiana es un fenómeno que se caracteriza por la capacidad total o parcial de los microorganismos de inhibir la actividad de un antibiótico por su uso descontrolado o irracional, fenómeno causal de gran porcentaje de muertes y pérdidas económicas a nivel mundial. *Escherichia coli*, como una de las bacterias catalogadas como resistente por la OMS, habita el intestino de animales de sangre caliente, sin generar enfermedad en el bovino adulto, pero si en el humano si se llega a diseminar. Su identificación es crucial y de interés clínico por su adaptabilidad a múltiples fármacos dando paso al estudio de su susceptibilidad. Por ello se analizaron un total de 38 muestras obtenidas de 38 bovinos de la hacienda lechera LYG FARM, se enriquecidas en caldo de soja con Tripticasa, y cultivaron en agar MacConkey II; se descartaron 23 de 38 catalogadas como negativas a fermentación de lactasa. Las 15 colonias positivas (40%), una vez purificadas, se las identificó mediante pruebas bioquímicas MICROGEN, con un 97% de probabilidad hacia *E. coli*; de las cuales en la prueba de sensibilidad resulto un 100% de resistencia hacia Penicilina, seguido de Tetraciclina con 57%, un 15% - 16% para Cefalexina, Amoxicilina, Sulfometoxazol/Trimetroprim, 5 % - 7% para Florfenicol, Fosfomicina, Ciprofloxacina, Enrofloxacin, Gentamicina, y 3% para Norfloxacina. El estudio resalto una inclinación de resistencia hacia b-lactámicos, tetraciclina, y cefalosporinas pese a que en la hacienda el uso de sulfonamidas consta como protocolo de tratamiento y prevención ante procesos infecciosos. Se concluye que *Escherichia coli*, se encuentra más presente en vacas jóvenes y que su resistencia es meramente genético, la cual se trasmite vía horizontal a través de genes mediadores de mecanismos de resistencia, estos transmitidos en la división celular mediante plásmidos. Esto hace énfasis a la importancia que tiene el realizar pruebas de sensibilidad de microorganismos en los sectores de producción y buscar métodos que eviten su diseminación.

**Palabras Clave:** *Escherichia coli*, Resistencia antimicrobiana, Bovinos.

**TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI**  
**NATURAL RESOURCES AND AGRICULTURAL SCIENCES SCHOOL**

**THEME:** ISOLATION AND STUDY OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF *ESCHERICHIA COLI* FROM RECTAL SWABS IN CATTLE FROM THE LYM FARM DAIRY FARM IN THE CITY OF QUITO, ECUADOR

AUTHOR: Higuera López Jossué Alessander

**ABSTRACT**

Antimicrobial resistance is a phenomenon by the microorganisms total or partial capacity to inhibit the antibiotic activity activity, due to its uncontrolled or irrational use, a deaths and economic losses worldwide large percentage causal phenomenon. *Escherichia coli*, as one of bacteria catalogued as resistant by the OMS inhibits the warm-blooded animal intestine, without causing disease into adult cattle, but it does spread into humans. Its identification is crucial and of clinical interest, due to its adaptability to multiple drugs, giving way to the study its susceptibility. For this reason, it was analyzed a 38 got samples total from 38 cattle the LYG FARM dairy farm, it is enriched in soy broth with Tripticasa, and cultured into MacConkey II agar, it was discarded 23 of 38 classified as negative for lactase fermentation. The 15 positive colonies (40%), once, it purified, they were identified by MICROGEN biochemical tests, with a 97% probability, towards E. coli; which the sensitivity test resulted into 100% resistance to Penicillin, followed by Tetracycline with 57%, 15% - 16% for Cephalexine, Amoxicillin, Sulfomethoxazole / Trimetoprim, 5% - 7% for Florfenicol, Fosfomycine, Ciprofloxacin, Enrofloxacin, Gentamicin, and 3% for Norfloxacin. The study highlighted a resistance inclination to b-lactams, tetracycline, and cephalosporins, despite the farm that it was recorded the sulfonamides use as a infectious processes treatment and prevention protocol. It is concluded, that *Escherichia coli* is more present into young cows and that its resistance is merely genetic, which is transmitted horizontally through resistance mechanisms mediator genes, these transmitted into cell division by plasmids means. This emphasizes the importance at making sensitivity tests of microorganisms in the production sectors and seeking methods what prevent their dissemination.

**Keywords:** *Escherichia coli*, Antimicrobial resistance, Cattle.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA .....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DEL AUTOR .....	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN .....	vi
APROBACIÓN DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vii
DEDICATORIA .....	viii
AGRADECIMIENTO .....	ix
RESUMEN .....	x
ABSTRACT .....	xi
ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xiv
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO.....	2
3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	3
5. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	4
6. OBJETIVOS.....	5
6.1. Objetivo General.....	5
6.2. Objetivos Específicos .....	5
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA .....	6
7.1. Definición de bacteria .....	6
7.2. Clasificación de las bacterias .....	6
7.3. <i>Escherichia coli</i> .....	7
7.4. Nutrición y crecimiento bacteriano in vitro. ....	10
7.5. Métodos de identificación de en tero bacterias.....	12
7.6. Antimicrobianos.....	15
8. VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS .....	20
9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	20
9.1. Metodología.....	20
9.2. Diseño experimental .....	20
9.2.3.1. Observacional .....	21
9.2.4.1. Enriquecimiento.....	21

9.2.4.2. Selección.....	21
9.3. Prueba de sensibilidad .....	24
10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	25
10.1. Resultado pruebas bioquímicas.....	26
10.2. Resultados pruebas de sensibilidad.....	27
11. IMPACTOS.....	30
11.1. Impacto Social.....	30
11.2. Impacto Ambiental.....	30
11.3. Impacto Económico.....	30
12. CONCLUSIONES.....	31
13. RECOMENDACIONES .....	31
14. BIBLIOGRAFÍA.....	32
15. ANEXOS.....	38
.....	38

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Clasificación de las bacterias en base a su morfología.....	6
<b>Tabla 2</b> Clasificación taxonómica de Escherichia coli .....	7
<b>Tabla 3</b> Clasificación de las bacterias en base a su tipo de metabolismo.....	10
<b>Tabla 4</b> Tipos de medios de cultivo en base a su interés clínico. ....	11
<b>Tabla 5</b> Bacterias clasificadas en base a la prueba de catalasa.....	14
<b>Tabla 6</b> Clasificación de antibióticos en base a su mecanismo de acción. ....	16
<b>Tabla 7</b> Estándares de sensibilidad antimicrobiana mediante medición del diámetro de halo determinado por el Clinical and Laboratory Standards Institute. ....	18
<b>Tabla 8</b> Mecanismos de resistencia de E. coli ante antibióticos.....	19
<b>Tabla 9</b> Conformación de caldo Trypticase soja-caseína por cada 1L de Agua destilada. ....	21
<b>Tabla 10</b> Conformación Agar MacConkey II por cada 1L de Agua destilada. ....	22
<b>Tabla 11</b> Conformación Agar Nutriente por cada 1L de Agua destilada. ....	22
<b>Tabla 12</b> Muestras positivas a fermentación de lactosa.....	25
<b>Tabla 13</b> Resultados pruebas bioquímicas de colonias testeadas en base a la reacción y producción de enzimas mediante MICROGEN GN-ID IDENTIFICATION.....	26
<b>Tabla 14</b> Diámetros de sensibilidad medidos post infusión de discos.....	27

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Ilustración morfológica de E.coli.....	8
<b>Figura 2</b> Contaminación y transmisión zoonótica de Escherichia coli a través de los alimentos.....	9
<b>Figura 3</b> Método de discos en difusión de agar.....	17
<b>Figura 4</b> Ubicación del Proyecto .....	20

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1</b> Recolección y transporte de muestras mediante hisopos en medio de transporte Stuart.....	38
<b>Anexo 2</b> Procesamiento de muestras en laboratorio, fase de enriquecimiento y aislamiento..	38
<b>Anexo 3</b> Respuesta de las muestras incubadas en agar MacConkey después de 24 h de incubación, la coloración rosada es indicadora de fermentación de lactosa, acción enzimática característica de Escherichia coli.....	38
<b>Anexo 4</b> Procesamiento de muestras en laboratorio: Fase de purificación de colonias positivas a fermentación de lactosa y pruebas bioquímicas. ....	39
<b>Anexo 5</b> Fase de pruebas de sensibilidad mediante técnica de discos en difusión de agar.....	39
<b>Anexo 6</b> Medios incubados con discos de sensibilidad después de 18 horas de incubación a 37°C, el tamaño del halo determina la susceptibilidad de las bacterias ante el antibiótico testado, la ausencia de halo refleja la capacidad de la bacteria en inhibir la actividad antimicrobiana .....	39
<b>Anexo 7</b> Software MICROGEN ID .....	40
<b>Anexo 8</b> Hoja de Vida Autor.....	41
<b>Anexo 9</b> Hoja de vida- Docente tutora.....	42
<b>Anexo 10</b> Medios de Verificación .....	43
<b>Anexo 11</b> Aval de Traducción. ....	45

## 1. INFORMACIÓN GENERAL

**Título del Proyecto:** Aislamiento y estudio de resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* a partir de hisopados rectales en bovinos de la hacienda lechera LYG FARM, en la ciudad de Quito, Ecuador

**Fecha de Inicio:** 02 Abril 2022

**Fecha de finalización:** 25 Agosto 2022

**Lugar de ejecución:** Barrio San Buenaventura-La ecuatoriana-Quito-Pichincha-

**Unidad Académica que auspicia:** Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Laboratorio de Microbiología.

**Carrera que auspicia:** Medicina Veterinaria

**Equipo de Trabajo:**

MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr. (Anexo 9)

Jossué Alessander Higuera López (Anexo 8)

**Área de conocimiento:** Ciencias Agropecuarias

**SUB – ÁREA:** Veterinaria

**Línea de Investigación:** Salud Animal

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

## 2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

La batalla contra las infecciones causadas por bacterias mediante el uso de antimicrobianos han sido de mucha ayuda en las últimas décadas, pero como el sector de salud va evolucionando, los microorganismos lo van haciendo de manera exponencial desarrollando resistencias ante antimicrobianos de uso tanto en medicina humana como veterinaria, es por ello que como objetivo del proyecto, determinar la resistencia antimicrobiana es la clave para poder desarrollar nuevas terapias que puedan controlar desde cero la infección causada por microorganismos.

Las enterobacterias son habitantes del micro-biota intestinal de todos los organismos de sangre caliente, pero un desequilibrio causado por una falta o incapacidad de controlar, puede llevar a patologías que perjudiquen la salud del mismo. *Escherichia coli*, como una de las más comunes de su familia, es de interés clínico ya permite evaluar la eficacia terapéutica antimicrobiana, por ello en este proyecto se determinó su susceptibilidad ante antimicrobianos testeados.

Se analizaron un total de 38 muestras de hisopados rectales de 38 bovinos de la hacienda lechera LYG FARM, en la ciudad de Quito, las cuales pasaron por medios de aislamiento, selección e identificación para confirmar la presencia de *E. coli* en el 50% de muestras obtenidas, las cuales una vez purificadas y realizada la técnica de discos en difusión agar, el resultado que se obtuvo es de un 100% de resistencia hacia la Penicilina, seguido con un 53.3% ante Tetraciclina, un 20% para Ciprofloxacina, Enrofloxacina, Florfenicol, Fosfomicina y Gentamicina, y un 15% para Amoxicilina.

Esta resistencia es debido meramente a la capacidad de *Escherichia coli* de metabolizar los b-lactámicos, y esta adaptabilidad es gracias a la capacidad del microorganismo de transmitir mecanismos de resistencia a través de plásmidos.



### 3. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

Las enfermedades causadas por bacterias, han sido una de las causas más importantes de muerte en el área tanto de salud humana como de veterinaria; y la introducción de fármacos antimicrobianos desde entonces han funcionado como una herramienta de lucha para el control de las mismas. El uso de agentes antimicrobianos desde que Fleming descubrió por accidente la Penicilina, y los siguientes descubiertos a través de los años siendo merecedores de premios Nobel, hoy en la clínica diaria ha sido determinantes en el aumento de esperanza de vida de toda población. (10)

El uso de antibióticos ha salvado millones de vidas, y en áreas donde las infecciones son especialmente prevalentes e importantes, como trasplantes, supervivencia de pacientes prematuros e inmunodeprimidos, cirugías de prótesis, catéteres vasculares, han sido de gran ayuda, elevando el índice de vida. (1)

El realizar constantes estudios de resistencia antimicrobiana nos guía a una elección más minuciosa del antibiótico a utilizar, evitando que el microorganismo genere algún patrón de resistencia por su uso repetitivo y descontrolado. Un estudio estadístico realizado en Santa Marta, Colombia, en seres humanos septicémicos encontró que aumenta la mortalidad de 20% a 45,6% cuando el régimen antibiótico inicial es inapropiado y que los gérmenes gramnegativos son los principales causantes de sepsis, siendo las bacterias más frecuentes *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona areuginosa* y *Serratia mecescens*, esto conduciendo a que son bacterias que presentan actualmente ya resistencia a un número importante de antibióticos de uso clínico cotidiano. (2)

Por lo señalado el proyecto es viable en su ejecución.

#### 4. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

##### Directos

- Propietarios, personal médico y de apoyo de la hacienda lechera LYG FARM de la ciudad de Quito, Ecuador.

##### Indirectos

- Sector lechero
- Consumidores de lácteos, o derivados de productos de origen animal.

#### 5. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

Actualmente, la resistencia a antimicrobianos en la mayoría de los patógenos bacterianos prevalentes en la clínica humana y veterinaria se ha convertido en un problema clínico, epidemiológico, y de salud pública reconocido en todo el mundo. (3)

Una recopilación de datos en 2019 basado en 471 millones de registros individuales, 7585 estudios locales, 23 patógenos y 88 combinaciones patógeno fármaco en 204 países y territorios, en 2019, el estudio GRAM proporciona pruebas convincentes de que la resistencia a los antibióticos no es una amenaza ya considerada futura, debido a que actualmente es una de las principales muertes a nivel mundial; este estudio a nivel regional, se estimó el nivel más alto de resistencia en el oeste del Sahara en África con 27.3 muertes por cada 100000 habitantes, y el más bajo en Australasia con 6.5 muertes por cada 100000 habitantes. (41)

Según la Organización Panamericana de la salud, más de 700 mil muertes se presentan cada año en el mundo debido a infecciones por bacterias resistentes a los antimicrobianos; las investigaciones sobre patógenos multiresistentes, los más predisponentes se encuentran 6, entre ellos *E. coli*, como causal de 969.000 muertes, esto añadiendo el hecho de que son las bacterias más frecuentes en las heces de los bovinos y con más probabilidad de contaminación y diseminación hacia el consumo humano. (42)

Los bovinos son susceptibles a desarrollar cuadro sintomatológico causado por *Escherichia coli* a los primeros diez días de vida, con más probabilidad para aquellos terneros que no han ingerido calostro, o lo han consumido en forma deficiente; en adultos no desarrolla enfermedad pero se logra diseminar a través de leche no pasteurizada, aguas residuales y alimentos contaminados en producciones agropecuarias. (43)

A nivel mundial no se está controlando los procesos de análisis y detección de *Escherichia coli*, lo cual está generando problemas de salud alimentaria ya que los organismos como la Organización de las Naciones Unidas para Alimentos (FAO) trata de analizar y diseñar técnicas que permitan controlar sobre este tipo de factores microbiológicos. (40)

## **6. OBJETIVOS**

### **6.1. Objetivo General**

Determinar la resistencia y sensibilidad antimicrobiana de los principales antimicrobianos en la práctica médica veterinaria contra *Escherichia coli* en sistemas de producción lechera en bovinos de la hacienda lechera LYG FARM en la ciudad de Quito, Ecuador.

### **6.2. Objetivos Específicos**

- Identificar la presencia de *Escherichia coli* en la hacienda lechera LYG FARM mediante aislamiento selectivo y pruebas bioquímicas.
- Medir los patrones de sensibilidad *in vitro* de las colonias aisladas, frente a los antimicrobianos propuestos mediante técnica de disco en difusión de agar.

## 7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

### 7.1. Definición de bacteria

Las bacterias son organismos procariotas unicelulares, que se encuentran en casi todas las partes del planeta, y que Bush, añade que se encuentran entre las formas de vida más antiguas conocidas en el planeta, habiendo miles de tipos diferentes y pueden vivir en todos los medios y ambientes imaginables, en cualquier parte del mundo, esto inclinándose a que pueden adaptarse a cualquier medio tanto orgánico como inerte. (5)

### 7.2. Clasificación de las bacterias

La presencia de miles de tipos de bacterias se las ha llegado a catalogar en primera categoría en base a su morfología, y de manera observacional, como filtro en la ayuda del diagnóstico por laboratorio. (6)

**Tabla 1** Clasificación de las bacterias en base a su morfología.

Según su forma	Según su ordenamiento	Por composición de la pared celular en reacción a tinción Gram
Coco (esférico)	<u>Coco único o micrococo</u> , división en un solo plano vertical, conservando su individualidad.	La concentración de peptidoglicano en la pared celular genera la retención o liberación de los reactivos dando coloraciones de morado y rosado.
	<u>Diplococo</u> , las células hijas se presentan en parejas.	<u>Gram negativas</u> no retienen el cristal violeta, conservan el colorante de safranina
	<u>Estreptococos</u> , cocos en cadena.	
Espirilos	<u>Estafilococo</u> , las células permanecen unidas, pero en la división, los cocos quedan agrupados en forma de racimos.	<u>Gram positivas</u> absorben y conservan el colorante cristal violeta, son susceptibles a la penicilina y estreptomina.
	Bacilos	A semejan la forma de un bastón.

(6)

### 7.3. *Escherichia coli*

#### 7.3.1. Historia, taxonomía y nomenclatura del género *Escherichia*

Aislada y descrita por el alemán Escherich en 1885, como una bacteria huésped habitual del intestino, y posteriormente catalogada como la más frecuente de entre todas las enterobacterias, tiene su rango óptimo de crecimiento en temperaturas corporales de organismos de sangre caliente, sin causar patogenicidad, pero volviéndola de interés de salud pública. (4)

El género *Escherichia* comprende 5 especies; *E. blattae*; *E. coli*; *E. fergusonii*; *E. hermanni* y *E. vulneris*, pero de las 5 especies solamente *E. coli* tiene relevancia clínica tanto en el hombre como en los animales y a pesar que constituye parte de la flora bacteriana habitual del hombre y animal, se aleja de ser la especie predominante, ya que aerobios facultativos solo llegan a constituir el 0.1 a 1% del total, y más aún cuando el tamaño del organismo es mínimo. (7)

**Tabla 2** Clasificación taxonómica de *Escherichia coli*

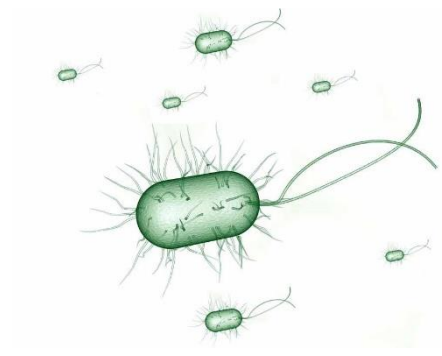
<b>Dominio</b>	Bacteria
<b>Filo</b>	Proteobacteria
<b>Clase</b>	Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	Eubacteriales
<b>Familia</b>	Enterobacteriaceae
<b>Género</b>	<i>Escherichia</i>
<b>Especie</b>	<i>Coli</i>

(4)

La entero bacteria de género *Escherichia*, de especie *coli*, puede llegar a medir entre 1-1.5  $\mu\text{m}$  x 2-6  $\mu\text{m}$ , estando en pares o sola; son de tipo *Bacillus*, gramnegativos, eso dando a decir que, en examen microscópico son de color rosados, y en forma de bastón. (2)

Las colonias de *E coli*, se caracteriza por su metabolismo, como microorganismos aerobios o anaerobios facultativos, no formadores de esporas, tanto fermentadores de lactosa como glucosa, y con la capacidad de producir gases o ácidos diversos a través de los mismos; también por no ser esporulados, móviles con flagelos peritricos o inmóviles, que, como características importantes, y que nos llega a permitir identificarlo sobre las demás enterobacterias. (8)

**Figura 1** Ilustración morfológica de *E.coli*.



**Fuente:** Cistitis, centro de información., 2016.

### 7.3.2. Infección causada por *Escherichia coli*.

Estas enfermedades son provocadas por el consumo de agua o alimentos contaminados con la bacteria, o por las sustancias tóxicas que esta produce, una gran variedad de alimentos puede ocasionar ETA, como son los alimentos de origen animal crudos o sin pasteurizar, frutas y verduras que pueden contaminarse en el campo debido a malas prácticas causando infección o intoxicación alimentaria (46).

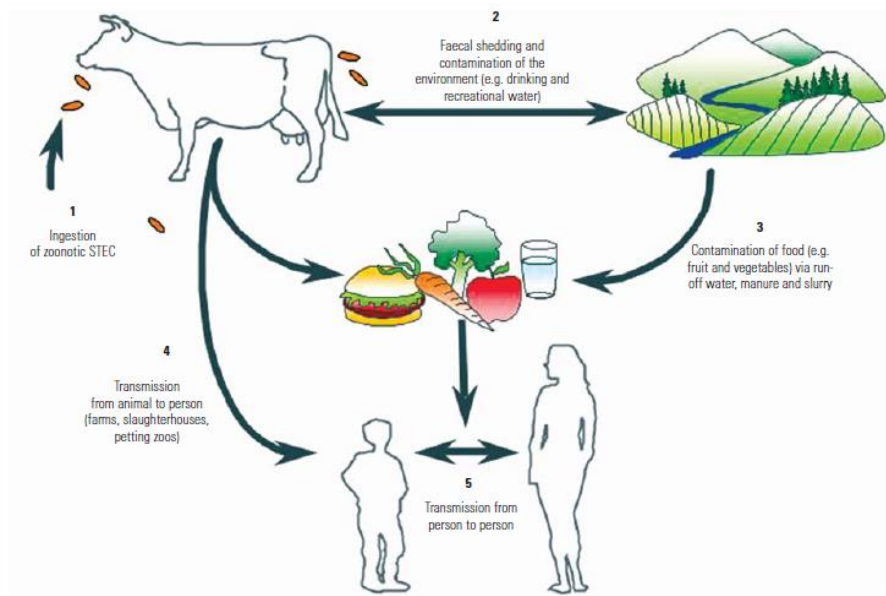
La contaminación de verduras y hortalizas puede ocurrir a nivel superficial o en los tejidos internos, ya que las posibles rutas de la contaminación son (47):

- El agua de irrigación contaminada con residuos de granjas de animales, así como de aguas del alcantarillado.
- Contacto directo de animales con el producto vegetal fresco cuando está creciendo en el campo.
- La irrigación por inundación puede convertirse en una ruta de contaminación potencial si las granjas ganaderas están cerca de los campos de cultivo.
- En el proceso de comercialización y preparación culinaria, las rutas de contaminación se relacionan con el uso de agua de lavado contaminada, junto con las deficientes prácticas de manejo higiénico de los productos.

La colibacilosis es la enfermedad atribuida a *E. coli*, y se presenta en todas las razas de ganado bovino, tanto de carne como de leche, principalmente durante las 2 primeras semanas de edad. Los síndromes en base a los hallazgos clínicos y bacteriológicos tomando en cuenta la posible patogenia se clasifican en:

- **Colisepticemia.** - Animales febriles, débiles y con fuertes diarreas; puede ser prolongado ya que *E. coli* tiene afinidad por los tejidos de uno o más órganos, dando origen a varios síndromes.
- **Entero toxemia.** - Colapso y muerte rápida del becerro debido a toxinas.
- **Colibacilosis entérica.** - La muerte puede ocurrir o no dependiendo de la severidad de los desajustes fisiológicos. (9)

**Figura 2** Contaminación y transmisión zoonótica de *Escherichia coli* a través de los alimentos.



**Fuente:** Nadeau, E. 2006

Como todas las bacterias, *E. coli*, Al tener una temperatura para un crecimiento óptimo, también cuentan con una temperatura de inhibición como de destrucción, se destruye a más de 70°C, sobreviviendo así al medio ambiente, y se inhibe por debajo de los 7°C. La congelación tiene poco efecto sobre la bacteria, siendo los alimentos congelados el lugar ideal para su transmisión. (10)

#### 7.4. Nutrición y crecimiento bacteriano in vitro.

Las bacterias se reproducen por fisión binaria y esta división de células se logra a partir de energía consumida o liberada a partir de reacciones catabólicas en logrando en la división, la formación de estructuras específicas. La nutrición es el proceso por el cual los organismos toman del medio de donde habitan, los compuestos químicos que necesitan para llevar a cabo sus procesos energéticos y biosíntesis que le permitan reproducirse. (11)

Las bacterias se llegan a clasificar en base al tipo de metabolismo que tienen y de las fuentes que usan para obtener energía:

**Tabla 3** Clasificación de las bacterias en base a su tipo de metabolismo.

Factor	Tipo de metabolismo	Fuente
Fuente de energía	Foto tróficos	Energía solar
	Quimiotróficos	Energía de reacciones químicas
Fuente de electrones	Litotrofos	Compuestos orgánicos
	Organotrofos	Compuestos inorgánicos
Fuente de carbono	Autótrofos	CO <sub>2</sub> única fuente de carbono
	Heterótrofos	No usan CO <sub>2</sub> como fuente de carbono

(11)

##### 7.4.1. Medios de cultivo

Los medios de cultivo son un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica genera que exista una variedad de medios de cultivo, sin tener presente uno universal que sea adecuado para todos ellos. (17)

- Agar. - Se utiliza como agente gelificante para dar solidez a los medios de cultivo, obtenido de ciertas algas marinas. No es utilizado como nutriente.
- Extractos. - Preparación a base de órganos o tejidos animales o vegetales, a menudo empleados en la elaboración de los medios de cultivo siendo el extracto de carne el mas utilizado.
- Peptonas. - Mezclas complejas de compuestos orgánicos, nitrogenados y sales minerales, que se obtienen por digestión enzimática o química de proteínas animales o vegetales. Ej. caseína, soja, carne, etc.



- Fluidos corporales. - El añadir sustancias como sangre completa, sangre desfibrinada, plasma o suero sanguíneo ayuda al crecimiento de agentes patógenos, aportando sustancias que neutralizan a inhibidores de algunas bacterias.
- Sistemas amortiguadores e indicadores de pH. - Componentes que mantienen el pH óptimo de crecimiento bacteriano.  
(12)
- Agentes reductores. - Cisteína y tioglicolato que permiten el desarrollo de gérmenes micro aerófilos o anaerobios.
- Agentes selectivos. - Cristal violeta, sales biliares, acida sódica, telurito potásico, antibióticos, etc., como agentes selectivos a determinados microorganismos.

**Tabla 4** Tipos de medios de cultivo en base a su interés clínico.

<b>Medios Selectivos</b>	Contienen compuestos que inhiben selectivamente el crecimiento de algunos microorganismos pero no el de otros.	XLD: Salmonella SDA+Cloranfenicol: hongos y levaduras MacConkey: <i>E. coli</i> Mannitol: <i>S. aureus</i>
<b>Medios Diferenciales</b>	Medio con indicador (ej. colorante), que permite diferenciación de reacciones químicas particulares que ocurren durante el crecimiento.	Agar EMB Agar sangre Agar Salmonella-Shigella
<b>Medios Generales</b>	Son aquellos que permiten el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.	Agar Nutritivo.
<b>Medios de Enriquecimiento</b>	Favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismos sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás.	Agar sangre. Lowenstein-Jensen DLA

## **7.5. Métodos de identificación de in vitro bacterias.**

La importancia de identificar un microorganismo es en base al procedimiento a realizar y se considera tanto las características fenotípicas descritas como genotípicas, siendo las segundas de interés una vez identificado de manera observacional, la morfología se la analiza mediante tinciones, siendo la Gram, de primer escalón, y la actividad química hacia diferentes atmósferas de incubación, y hacia reactivos. (13)

### **7.5.1. Métodos basados en criterios morfológicos**

Los rasgos morfológicos han ayudado a los taxonomistas por durante varios años a clasificar organismos; los organismos superiores tienen rasgos anatómicos tan diferentes que pueden ser fácilmente utilizados en su clasificación, pero con respecto a los microorganismos, éstos lucen bajo el microscopio tan similares que se dificulta su clasificación. (18)

Como se había mencionado anteriormente en la Tabla 1, las bacterias cumplen características típicas transmitidas de madre a hija en la división celular, estas características fenotípicas, desde un simple coco, hasta una agrupación en forma de racimo nos ayuda a guiarnos de alguna manera en que organismo se está observando, eso añadiendo a que las técnicas a usar son más asequibles. (6)

Los esquemas tradicionales de identificación fenotípica bacteriana se basan en su mayoría en las características “observables” de las bacterias, como su morfología, su desarrollo y reacción ante el medio alrededor. (13)

### **7.5.2. Métodos basados en la tinción diferencial**

La tinción nos permite revelar la forma, la agrupación, la estructura y tamaño de las células, y la mayor parte de las bacterias, teñidas con Gram, las podemos clasificar como, Gram positivas o Gram negativas, esto en base a su capacidad de retener los colorantes (Safranina y Gram), y de otras tinciones diferenciales, como la prueba de ácido resistente, se aplican a otro tipo de bacterias. (14)

### 7.5.3. Métodos basados en la biología molecular

Actualmente se opta más importancia al uso de biología molecular en el cual, a través de reactivos, que determinan la secuencia de ADN, las cuales son propias de un determinado agente microbiano; esto es realizado debido a que no todas las cepas de una misma especie llegan actuar igual, generando diferentes patrones en ensayos, o las propias limitaciones en las bases de datos llegando a ser problemas inherentes que se pueden presentar en los sistemas de identificación genotípica. (18)

Los métodos moleculares se han erigido como procedimientos complementarios, alternativos o incluso de referencia a los fenotípicos; y, en todas las bacterias la secuencia conocida como ARNr 16S la cual es la herramienta genética más utilizada y cuya función no se modifica con el tiempo y actúa como un marcador eficiente de evolución. Este gen estable, además de ser útil en la detección de bacterias, proporciona información útil y rápida sobre su identificación y filogenia mediante la comparación con bases de datos públicas que contienen un amplio número de secuencias bacterianas. (19)

La desventaja sobre la identificación molecular es en relación a la calidad de las secuencias depositadas en las bases de datos y en las erróneas asignaciones de especies, esto debido a la fuerte dependencia con la precisión de las secuencias depositadas produciendo así una identificación incorrecta. (20)

### 7.5.4. Métodos basados en pruebas bioquímicas

Estas pruebas se fundamentan en demostrar si el microorganismo a estudiar es capaz de fermentar u oxidar, su respuesta ante la presencia de enzimas específicas, la degradación y producción de compuestos coloreados, etc. (14)

Aun bacterias fuertemente relacionadas pueden separarse en dos especies, las bacterias entéricas Gram negativas, forman un grupo muy grande y heterogéneo cuyo medio habitual es el intestino de organismos de sangre caliente. Esta familia, *Enterobacteriaceae*, incluye a varios patógenos que causan síndromes diarreicos, por lo que su identificación es necesaria para un correcto tratamiento. (9)

### 7.5.5. Prueba de Catalasa

Esta es una prueba para determinar la presencia de una enzima capaz de catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno, en agua y oxígeno. Esta enzima conocida como

catalasa, se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen el citocromo oxidasa, a excepción de los estreptococos. (22)

El contacto de las colonias purificadas anteriormente durante 18-24 horas, ante agua oxigenada nos dará como resultado a una rápida efervescencia con desprendimiento de burbujas dándonos un visible positivo y las bacterias que sintetizan catalasa hidrolizan el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso, y como resultado se liberan burbujas de gas. (23)

**Tabla 5** Bacterias clasificadas en base a la prueba de catalasa

BACTERIAS CATALASA POSITIVO	BACTERIAS CATALASA NEGATIVO
<i>Micrococcus</i>	<i>Streptococos</i>
<i>Staphylococos</i>	<i>Clostridium</i>
<i>Bacilos</i>	<i>Erysipelothrix</i>
<i>Lysteria monocytogenes</i>	
<i>Corynobacterium</i>	

(22)

#### 7.5.6. Prueba de oxidación-fermentación

Los bacilos gramnegativos no entéricos por lo general producen bajas cantidades de ácidos, a diferencia de las bacterias entéricas, es así que Hugh y Leifson, desarrollaron una prueba que nos permite determinar el tipo de metabolismo, oxidativo o fermentativo, cuales utilizan al actuar sobre un hidrato de carbono, diferenciando principalmente a bacilos gramnegativos. (24)

En la vía oxidativa, el aceptor final de electrones debe ser el oxígeno y por consiguiente el proceso es aerobio produciendo poca acidez; las bacterias que respiran aerobiamente crecen en la superficie del medio del tubo abierto, transformando la glucosa en CO<sub>2</sub>, la superficie del medio se verá entonces ligeramente amarilla (por la formación de ácido carbónico originando al reaccionar el CO<sub>2</sub> con el agua del medio. (25)

### 7.5.7. Prueba de Ureasa

Algunas bacterias mediante la ureasa, son capaces de hidrolizar la urea y producir amoníaco mediante la reacción química:  $UREA + 2H_2O \rightarrow CO_2 + H_2O + 2NH_3$ . El amoníaco reacciona en solución en solución para formar carbonato de amonio, generando una alcalinización y aumento del pH en el medio. (26)

La actividad enzimática de ureasa es característica de todas las especies de Proteus y se usa sobre todo para diferenciar éste género de otras entero bacterias que dan negativo o positivo retardado. Las bacterias que hidrolizan urea rápidamente pueden producir reacciones positivas en 1 a 3 horas y las especies que hidrolizan más lentamente pueden requerir hasta 2 o más días. (27)

Una coloración rosa fucsia tanto en el caldo como en el agar indica alcalinización e hidrólisis de urea (prueba positiva), mientras que si no se produce hidrólisis no hay un cambio del color original (amarillo pálido), dándonos un negativo. (28)

### 7.6. Antimicrobianos

Son sustancias producidas por microorganismos y que tienen la capacidad de inhibir o destruir el crecimiento de otros; y desde el descubrimiento de la Penicilina por Fleming en 1929, el hallazgo de nuevos es clasificado y documentado en base a su acción, su selectividad y su eficacia ante los microorganismos tomando en cuenta que su eficacia no debe ser reducida por el metabolismo, sin obtener efectos secundarios como intoxicaciones. (29)

El intercambio de material genético, a través de mecanismos como:

La transferencia o incorporación ADN libre extracelular procedente de la destrucción de otras bacterias se lo conoce como transformación, y la transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra mediante un bacteriófago se le conoce como transducción.

**Transposición:** Movimiento de una sección de ADN que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros genes unidos en equipo para expresión de un promotor en particular. (6):

**Conjugación:** Intercambio de material genético entre dos bacterias (donante y receptor), a través de una hebra sexual o contacto físico entre ambas.

**Tabla 6** Clasificación de antibióticos en base a su mecanismo de acción.

<b>Familia</b>	<b>Mecanismo de Acción</b>	<b>Tiempo de retiro</b>	<b>Más utilizados</b>
Sulfonamidas	Inhibición de producción de GrH, mediante la inutilización del ácido para-amino-benzoico (PABA).	Dependiendo del fármaco; concentraciones en leche similares a la sangre. (2días aprox.)	Sulfatiazol Sulfametoxazol-trimetoprim Sulfacetamida Sulfametazina
B-lactámicos Penicilinas	Alteración en la reorganización de la pared bacteriana mediante el bloqueo de dos PFP (transpeptidasa y carboxipeptidasa)	No usar en vacas de ordeño. Interfiere en la transformación de la leche en derivados, posible resistencias adquiridas y reacciones alérgicas en el consumidor.	<u>1raGen</u> Penicilina G, Nafcilina <u>2daGen</u> Ampicilina, amoxicilina. <u>3raGen</u> Bacampicilina
Cefalosporinas	Alteración del anillo 7-aminocefalosporínico, estable a B- lactamasas.	Residuos mínimos a dosis mínimas; ceftiofur el tiempo de retiro llega a ser hasta de 0 días.	<u>1raGen</u> Cefazolina, Cefalexina. <u>2daGen</u> Cefamandol. Cefuroxima <u>3raGen</u> Ceftriaxona, Ceftiofur. <u>4taGen</u> Cefepima
Aminoglucósidos	Bacteriólisis por alteración de la permeabilidad de la membrana bacteriana uniéndose a la irreversible a receptores proteínicos en la unidad ribosómica de 30S, bloqueando la formación de mRNA & yRNA.	Abstención a su uso en animales de consumo, permanencia en loa tejidos por semanas.	Gentamicina Estreptomicina Kanamicina Amikacina
Tetraciclinas		Control más exhaustivo por ser de uso común en veterinaria.	Clortetraciclina Oxitetraciclina Tetraciclina
Fenicoles	Inhibición de la síntesis de proteínas bacterianas adhiriéndose al ribosoma 50S.	Varios días	Florfenicol Cloranfenicol Tianfenicol

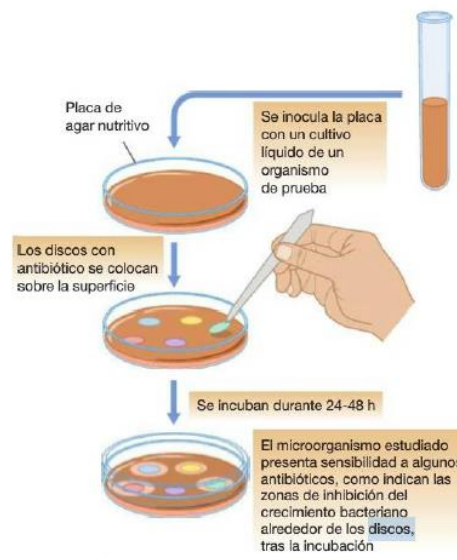
**Fuente:** Ocampo, Farmacología Veterinaria. 2006.

### 7.6.1. Determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos

En el diagnóstico clínico y la rutina de laboratorios es una técnica segura que nos permite determinar que antibiótico es el específico para controlar o eliminar la infección en proceso. Una de las herramientas es mediante la concentración mínima inhibitoria o CMI, determinado para cada antimicrobiano, y la es la que nos permite determinar la concentración más baja de la sustancia que logra inhibir el crecimiento de la bacteria. (30)

Una de las técnicas siendo la de antibiograma por difusión han sido normalizadas para microorganismos de crecimiento rápido, como *Staphylococos* y *Enterobacterias*; la determinación de la resistencia antimicrobiana, es descrita por Kirby y Baeur, en el cual se apoya en el uso de papel filtro impregnado con concentraciones específicas del antibiótico a estudiar, sobre un medio inoculado. La formación de un halo alrededor y la extensión que alcance ayuda a determinar la susceptibilidad o resistencia del organismo, el cual se mide y compara con estándares determinados por el Clinical and Laboratory Standards Institute. (31)

**Figura 3** Método de discos en difusión de agar.



**Fuente:** Brock, Biología de los microorganismos. 2009.

**Tabla 7** Estándares de sensibilidad antimicrobiana mediante medición del diámetro de halo determinado por el Clinical and Laboratory Standards Institute.

COD	FÁRMACO	CANTIDAD	Diámetro de la zona de inhibición (mm)			
			RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE	
1	AML	Amoxicilina	10 ug	< 13	14-17	> 18
2	CN	Gentamicina	10 ug	< 12	13-14	> 15
3	ENR	Enrofloxacin	5 ug	< 14	15-18	> 19
4	P	Penicilina G	10 ug	< 14	-	> 15
5	CL	Cefalexina	10 ug	< 13	14 - 17	> 18
6	TE	Tetraciclina	30 ug	< 14	15-18	> 19
7	SXT	Sulf + Trimetroprim	25 ug	< 10	11:15	> 16
8	FFC	Florfenicol	30 ug	< 11	12:18	> 19
9	FOS	Fosfomicina	50 ug	< 12	13-15	> 16
10	CIP	Ciprofloxacina	5 ug	< 15	16-20	> 21
11	NOR	Norfloxacin	10 ug	< 12	13-16	> 17

Los estándares se definen y actualizan por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI), una organización internacional sin ánimo de lucro que desarrolla estándares voluntarios por consenso para las pruebas de antibióticos y otras tecnologías sanitarias (<http://www.clsi.org>).

### 7.6.2. Mecanismos de resistencia antibiótica en *E. coli*

Resistencia Natural. - Este carácter es constante de todas las cepas de una misma especie bacteriana y su conocimiento permite prever la actividad de la molécula frente a bacterias identificadas o sospechosas. En ocasiones constituye una ayuda para la identificación ya que ciertas especies se caracterizan por sus resistencias naturales como los gramnegativos y su membrana que hace de barrera natural, volviendo este grupo resistentes a varios antibióticos. (32)

Resistencia Adquirida. - Es una característica propia de ciertas cepas dentro de una misma especie bacteriana naturalmente sensible, cuyo patrimonio genético ha sido modificado por mutación adquisición de genes, volviéndolas de carácter evolutivo y el uso de antibióticos lo vuelve más frecuente. El uso de antibiograma se vuelve indispensable cuando el espectro de actividad ya no es suficiente durante un tratamiento. (29)



**Tabla 8** Mecanismos de resistencia de *E. coli* ante antibióticos.

<b>Familia</b>	<b>Mecanismo de Resistencia</b>
B- Lactámicos	B-lactamasas: enzimas que se caracterizan por hidrolizar un enlace amida del núcleo $\beta$ -lactámico, inactivando de esta manera el antibiótico.
Quinolonas	Mutaciones puntuales que generan cambio de aminoácidos en la enzima blanca del antibiótico. Sistemas de expulsión. Presencia de genes plasmídico de resistencia antibiótica.
Tetraciclinas	Presencia de bombas de eflujo específicas para tetraciclinas.
Sulfometoxazol-Trimetroprim	Presencia de genes que codifican formas mutantes de la enzima blanco.

(32)

Resistencia cruzada y Asociada. - Varios antibióticos dentro de una misma familia o diferente son afectados simultáneamente.

Modificación gradual de la expresión de genes preexistentes. - Genes que modifican su actividad bajo presión a la presencia de un antibiótico, estos genes preexistentes tienen un propósito en circunstancias normales.

Mutación. - Son espontáneas, aleatorias y afectan a un gen cualquiera con frecuencia dentro del rango durante la división.

Plásmidos. - Molécula de ADN cuya replicación es independiente del cromosoma del ADN, teniendo la capacidad de movilizar genes horizontalmente, y tienen la capacidad de coexistir con la bacteria generando multirresistencia.

## 8. VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS

**H1.** Las colonias aisladas de *Escherichia coli* de hisopados rectales de bovinos de la hacienda lechera LYG FARM de la ciudad de Quito, Ecuador, hay presencia de resistencia antimicrobiana.

## 9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL

### 9.1. Metodología

Para el desarrollo del presente proyecto de investigación, se realizó en 38 bovinos de la hacienda lechera LYM FARM ubicada al sur occidente de la ciudad de Quito, en la parroquia de la Ecuatoriana, ubicada a una altitud de 3050 msnm, con clima templado, temperatura ambiental promedio 15°C, humedad relativa de 66% a 67%, latitud 0°17'S, longitud 78°35'O.

**Figura 4** Ubicación del Proyecto



Fuente: [www.google.com/earth](http://www.google.com/earth)

### 9.2. Diseño experimental

#### 9.2.1. Selección de bovinos

Se escogió y clasifíco a los bovinos en base a su estado productivo, 8 en estado de ordeño o producción, 8 vacas fierro, 8 vacas vientre, 8 vacas secas y 6 terneras en periodo de lactancia, tomando en cuenta su origen, estado de salud y que en la hacienda se maneja el uso de Sulfometoxazol + Trimetoprim como protocolo para el tratamiento ante procesos infecciosos.

### 9.2.2. Recolección y transporte de muestras

Las muestras rectales se las obtuvo a través de hisopados se las hizo con la ayuda de un medio agar de transporte Stuart, el cual nos permite retrasar la oxidación de la pared celular bacteriana y procesarlas en un tiempo no más de 24 horas. (*Anexo 1*)

### 9.2.3. Tipo de investigación

#### 9.2.3.1. Observacional

La investigación realizada fue de tipo observacional, esto debido a que se utiliza instrumentos y recursos concretos, que han sido diseñados específicamente para medir la susceptibilidad antimicrobiana de *Escherichia coli*.

### 9.2.4. Aislamiento e identificación.

#### 9.2.4.1. Enriquecimiento

Para la fase de enriquecimiento, se utilizó Agar caldo de Trypticase soja – caseína (CST), medio que permite el desarrollo y aislamiento de una gran variedad de microorganismos aerobios, y anaerobios facultativos y estrictos; se las inoculo mediante técnica de dilución en tubo de ensayo, y se incubo el caldo a una concentración de 3% por 24 h a una temperatura de 39°C. (*Anexo 2*)

**Tabla 9** Conformación de caldo Trypticase soja-caseína por cada 1L de Agua destilada.

<b>Caldo Trypticase soja - caseína</b>	<b>Cantidad g.</b>
Digerido pancreático de caseína	17,0
Digerido papaínico de soya	3,0
Cloruro de sodio	5,0
Fosfato dipotásico	2,5
Dextrosa	2,5
Agua destilada	1000 ml
<b>pH</b>	<b>7,3 ± 0,2</b>

#### 9.2.4.2. Selección

Los microorganismos fueron sembrados en Medio Agar MacConkey II con sorbitol, que como medio selectivo para *E. coli*, permitió el crecimiento de enterobacterias presentes en la muestras enriquecidas, para lo cual se preparó el Agar en agua destilada a una concentración del 5% , y según las instrucciones de laboratorio esterilizado en autoclave a 120°C durante 15

min antes de distribuir en las caja Petri esterilizadas (20ml c/u), en el interior del flujo laminar en un radio alrededor del mechero de Bunsen.

**Tabla 10** Conformación Agar MacConkey II por cada 1L de Agua destilada.

<b>Agar MacConkey II</b>	<b>Cantidad g.</b>
Digerido pancreático de gelatina	17,0
Digerido pancreático de caseína	1,5
Digerido péptico de tejido animal	1,5
Sorbitol	10,0
Sales biliares	1,5
Cloruro sódico	5,0
Rojo neutro	0,03
Cristal violeta	0,001
Agar	13,5
<b>pH</b>	<b>7,1 ± 0,2</b>

### 9.2.5. Purificación

Las colonias positivas a fermentación de lactosa (coloración rosada), características observables en agar MacConkey II, se las sembró en Agar Nutriente al 2.3%, que permite el crecimiento de *Escherichia coli* sobre otras bacterias. El inóculo es incubado por 24 horas durante

**Tabla 11** Conformación Agar Nutriente por cada 1L de Agua destilada.

<b>Agar Nutriente</b>	<b>Cantidad g.</b>
Extracto de res	3,0
Peptona	3,0
Agar	15,0
Agua destilada	1000 ml
<b>pH</b>	<b>6,8 ± 0,2</b>

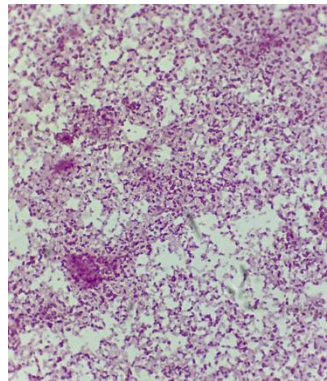
### 9.2.6. Pruebas bioquímicas y morfológicas.

La identificación microscópica fue realizada mediante tinción Gram, en el cual se pudo observar aglomeraciones de bacilos Gramnegativos (bastones rosados), característica asimilada a bacterias de la familia *Enterobacteriaceae* (Figura 5).

Para la identificación de las colonias purificadas en Agar Nutriente, se realizó mediante el método a partir de pruebas bioquímicas mediante el sistema de pocillos de MICROGEN para identificación de la familia *Enterobacteriaceae* y otros bacilos no- exigentes gramnegativos. El sistema adjunta un manual en donde determina que por cada pocillo de reactivo, se aplica con la ayuda de una pipeta Pasteur estéril, 100  $\mu$ L de emulsificado previamente de colonias en 3ml de suero fisiológico.

Se añadió aceite mineral en los pocillos marcados y se incubó por 24 horas a una temperatura de 36°C. Para la interpretación, una vez incubadas y añadidos los reactivos Kovac, TDA, VP I y II en su pocillo respectivo, se registró los resultados mediante la comparación con la guía de colores (Figura 6). El sistema de MICROGEN viene acompañado de un software (Microgen Identification System), el cual genera un informe en base a porcentaje de probabilidad y en el parecido con un análisis de la calidad de la diferenciación, esto en base al código generado por un panel de registro (Figura 7).

**Figura 5** Bacilos Gramnegativos observados en método de identificación morfológica mediante tinción Gram.



**Figura 6** Guía de colores según respuesta a reactivos - MICROGEN GNA-ID

WELL/NAPFCHEN /GODET	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Reaction	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	O.N.P.G.	Indole	Urease	V.P.	Citrate	T.D.A.
Negative	Yellow circle	Green circle	Yellow circle	Blue circle	Blue circle	Blue circle	White circle	Yellow circle	Yellow circle	Light blue circle	Yellow circle	Yellow circle
Positive	Green circle	Blue circle	Red circle	Yellow circle	Yellow circle	Yellow circle	Yellow circle	Red circle	Pink circle	Red circle	Blue circle	Red circle

**Fuente:** MICROGEN Bioproducts Ltd.

Figura 7 Panel de reporte reacción

GN-ID A+B PANEL REPORT FORM				MICROGEN BIOPRODUCTS																							
Lab. No.				Specimen Type: <i>Exstante 01</i>																							
				Date: <i>30/07/2022</i>																							
Well Number	GN A wells												GN B wells														
	Oxidase	Motility	Nitrate	Lysine	Ornithine	H <sub>2</sub> S	Glucose	Mannitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	VP	Citrate	TDA	Gelatine	Malonate	Inositol	Sorbitol	Rhamnose	Sucrose	Lactose	Arabinose	Adonitol	Raffinose	Salicin	Arginine
Reaction				+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-												
Result				+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-												
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Sum of Positive Reactions				6			6			7			0														
Octal Code:												Final Identification:															

MF6125/2017\_Rev.02

Fuente: Higuera, J. Laboratorio de Microbiología. 2022

### 9.3. Prueba de sensibilidad

La evaluación de la resistencia bacteriana a las colonias previamente purificadas en agar nutriente de peptona y extracto de res, y se la realizó mediante la técnica de Kirby-Bauer estandarizada por el Clinical Laboratory Standards Institute. Se usaron once compuestos antimicrobianos: amoxicilina (AML 10 µg), cefalexina (CL 30 µg), ciprofloxacina (CIP 5 µg), enrofloxacin (ENR 5 µg), florfenicol (FFC 30 µg), fosfomicina (FOS 50 µg), gentamicina (CN 10 µg), norfloxacina (NOR 10 µg), penicilina g (P 10 UI), sulfometoxazol mas trimetoprim (SXT 25 µg), tetraciclina (TE 30 µg).

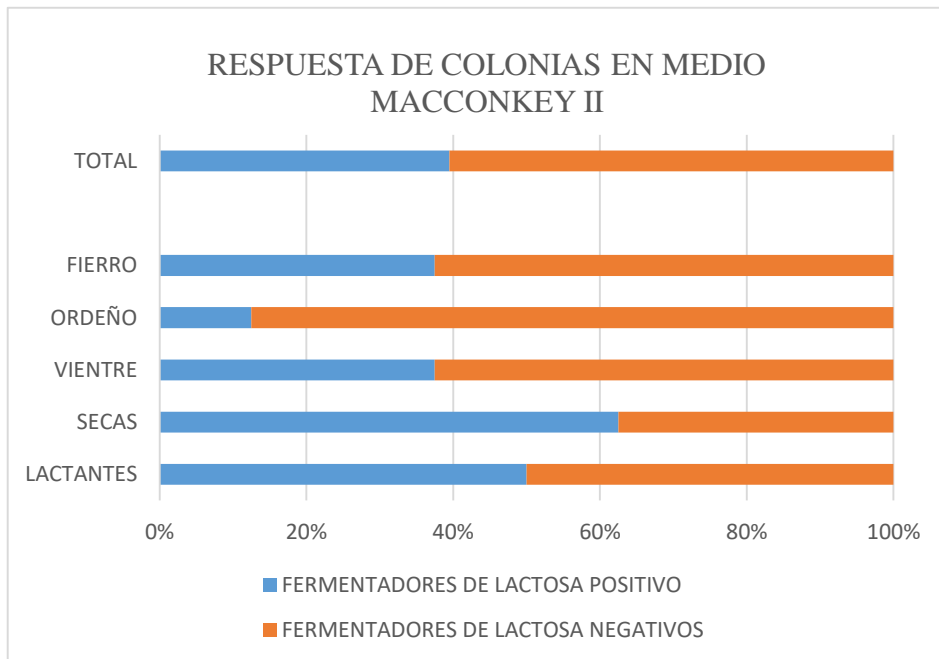
Se ajustó el inóculo bacteriano, homogenizándolo en un tubo con un medio líquido apropiado (Cloruro de Sodio al 0.9%), hasta alcanzar una turbidez equivalente a 0.5 de la escala McFarland; con los discos templados previamente a la temperatura ambiente del área en donde se realizara la prueba antes de su uso (una hora aproximadamente), se los colocó en el medio elaborado de Agar Mueller Hinton catalogado como medio óptimo para pruebas de sensibilidad y se los incubó por 18 horas a una temperatura de 37 °C.

Todos los aislados se clasificaron como resistentes, intermedios, susceptibles en base a los estándares de sensibilidad determinado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (Tabla 11). Los aislados que llegaron a presentar resistencia a tres o más tipos de agentes antimicrobianos se clasificaron como resistentes o fármacos múltiples.

## 10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

De la investigación realizada se desprende que de las 38 muestras de hisopados rectales, recolectadas entre los meses de junio y agosto del 2022; de los cuales el 40% (15/38), resultó positiva a la fase de aislamiento en respuesta a la reacción de la colonia con el medio, y cabe especificar que, se descartaron el otro 60% (18/38), que no presentó indicador de fermentación de lactosa, reacción específica de *Escherichia coli*.

**Tabla 12** Muestras positivas a fermentación de lactosa



De las colonias investigadas, tras 24 horas de incubación se observó crecimiento en su totalidad de las placas inoculadas, las cuales se las clasificó en base a su morfología y color, es así que, el 40% cumplió con las especificaciones tratadas en previas investigaciones sobre el comportamiento de *Escherichia coli* en medios de Agar, en los cuales la coloración rosada denotó un 60% de probabilidad a la bacteria estudiada. (32) (33). Es así que, de los grupos estudiados, se hizo menos presente en vacas que se encuentran en ordeño sobre el resto, como se observa en la tabla 7, esto debido a que se ha reportado que la presencia de *Escherichia coli*, parece estar influenciado por la edad del animal. (34)

### 10.1. Resultado pruebas bioquímicas

Mediante MICROGEN GN-ID IDENTIFICATION, y la generación de códigos asignados en base estándares porcentuales de microorganismos bacilos gramnegativos testeados, en relación a reacción ante sustratos bioquímicos, las colonias testeada del 100% de las muestras evaluadas, resultaron con un 97% de probabilidad para *Escherichia coli*, *Yersenia enterocolitica* con 22.24%; *E. coli* inactivo 14.98%; *Serrata marcescens* 0.1% y *Hafnia alvei* 0.02%

**Tabla 13** Resultados pruebas bioquímicas de colonias testeadas en base a la reacción y producción de enzimas mediante MICROGEN GN-ID IDENTIFICATION.

Reactivo	Lactantes			Fierro			Vientre			Secas			Prod		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
	L01	L04	L06	F02	F03	F05	V01	V02	V08	S01	S02	S03	S05	S06	OR05
LYSINA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ORNITINA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H2S	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
GLUCOSA	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MANNITOL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
XYLOSA	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ONPG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
INDOL	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
UREASA	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
VP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CITRATO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TDA	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- **6670:** *E. coli* 62.65%; *Y. enterocolitica* 22.24%; *E. coli* inactivo 14.98%; *S. marcescens* 0.1%; *H. alvei* 0.02%
- **6760:** *E. coli* 97.11% *E. coli* inactivo 2.85% *H.alvei* 0.02%

Las colonias de las 15 muestras positivas a fermentación de lactosa, fueron positivas en conjunto a lisina, ornitina, glucosa, manitol, xilosa, B- galactosidasa, indol, mientras que resultado negativo en la utilización de ureasa, citrato, TDA y VP, resultados que siguen el patrón del metabolismo de *Escherichia coli* documentado por Madigan, Martinko, Dunlap y Clark. (35)



## 10.2. Resultados pruebas de sensibilidad.

Tabla 14 Diámetros de sensibilidad medidos post infusión de discos.

DIAMETRO HALO PRUEBA DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA															
	Lactantes			Vaconas Fierro			Vaconas Vientre			Vacas Secas				Ordeño	
	L01	L04	L06	F02	F03	F05	V01	V02	V08	S01	S02	S03	S05	S06	OR05
AML	6	6	18	20.3	19	19	16	18.3	19	18.5	18	18	19.2	18	21
P	7	7	8.5	7	8.3	7	7.3	7	8	6	7.5	8	6.5	7	6
CL	17	17	18.6	19.5	17	21.5	19	19.5	17	16.3	16	17	16	16	18.5
CN	8	19.3	21	19	16.5	19	16.6	22	24	20.3	21	17.2	18	22	24
FOS	30	30	31	27	23	16	15	36.2	40	32.3	30	29	23	10	33
TE	6	6	26	10	8	8.5	8.3	23.4	20	22.3	22	22.3	8	6	21
SXT	17	17	27.5	28.5	24	28	12	29	23	31	29.5	27	27	20	30
FFC	25	25	25	25	26	24	7	27	27	21	18	23.3	24.5	30	25.5
ENR	24	24	33	30	29.3	24	14	28.7	31	32	25	19	23	19	26
CIP	37	37	37	33.5	36	26	8.7	31	32	33.5	25	22	23	30	35
NOR	30	30	34.5	30	33.5	28	13	29	31.5	34	22	22	24	26	32

Resistente   
 Sensible   
 Resistencia intermedia

AML: Amoxicilina, P: Penicilina, CL: Cefalexina, CN: Gentamicina, FOS: Fosfomicina, TE: Tetraciclina, SXT: Sulfometoxazol/Trimetroprim, FFC: Florfenicol, ENR: Enrofloxacina, CIP: Ciprofloxacina, NOR: Norfloxacina.

En la valoración de la susceptibilidad a antimicrobianos mediante técnica de discos en difusión de agar, hubo un 100% de resistencia hacia Penicilina, seguido de Tetraciclina con 57%, un 15% - 16% para Cefalexina, Amoxicilina, Sulfometoxazol/Trimetroprim, 5 % - 7% para Florfenicol, Fosfomicina, Ciprofloxacina, Enrofloxacina, Gentamicina, y 3% para Norfloxacina.

La ubicación y los resultados obtenidos se comparan con una investigación realizada en cepas de *E. coli* aisladas de agua obtenida en la porción sur del río Machangara en la ciudad de Quito en 2020, y en la que se hace presente una multirresistencia del 100% hacia cefalosporinas de 3ra generación (cefotexima, ceftriaxona), penicilinas de 2da generación (Ampicilina), 60 % hacia aminoglucósidos (Gentamicina), fluorquinolonas (Ciprofloxacina), y alta sensibilidad hacia Sulfonamidas (Sulfometoxazol/Trimetroprim). Ortega, D. et al, resaltaron que la presencia de cepas resistentes aumentaban conforme el río se acerca a la actividad ganadera. (44)

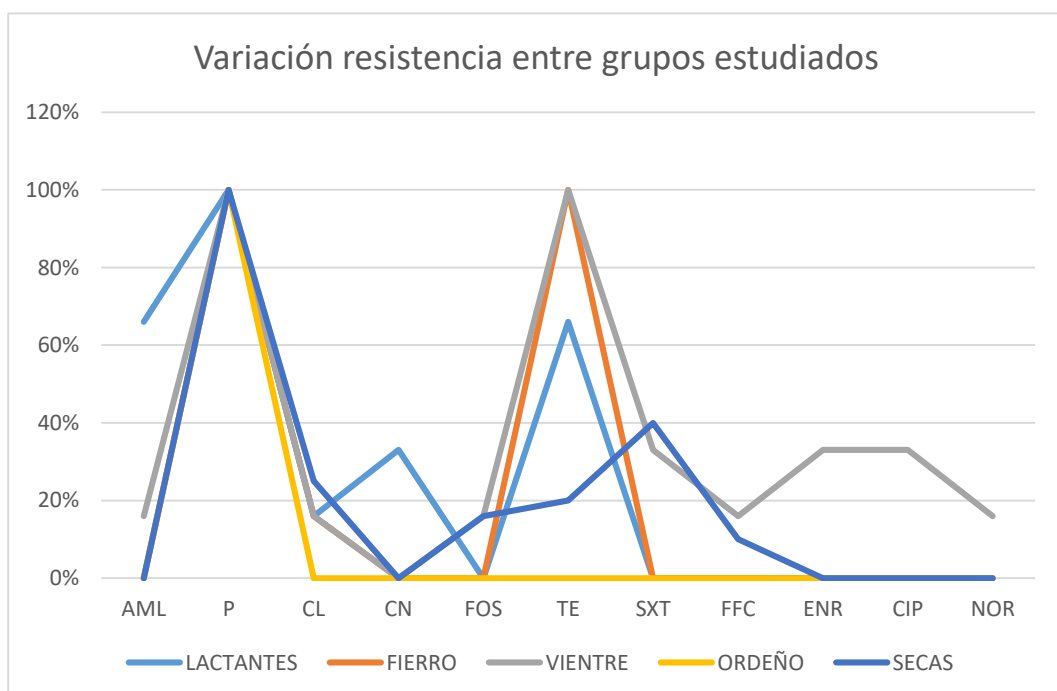
La presencia de *Escherichia coli* resistente no llega a tener solo antecedentes de transmisión a través de productos de origen directamente del animal; los ríos que alimentan los sistemas de riego, llegan a contaminar los sistemas de producción de frutas y vegetales, y eso se refleja en la investigación realizada por Mena, S. et al, en la que se halló presencia de la Entero bacteria

en muestras de frutas y vegetales frescos de un mercado municipal de Quito, mas no en agua de tuberías del mercado. (45)

En la diseminación de la resistencia la bacteria La resistencia hacia Quinolonas o familias de antibióticos de uso emergente, se registra en sistemas de salud humano, y eso lo registra el Comité de Resistencia Antimicrobiana del Ministerio de Salud Pública del 2019, estudios de resistencia anual durante los años 2014 -2018 de *E. coli* con resistencia hacia cefalosporinas y Quinolonas de hasta 50% en áreas hospitalarias, en muestras aisladas de unidades de cuidados intensivos. (3)

Estudios nacionales en sistemas de cuidados intensivos En un estudio nacional, realizado en el Hospital Básico de Paute, Azuay, se encontró una resistencia de 80% hacia sulfometoxazol/trimetoprim, seguido de un 50% hacia cefalexina y penicilina, esto indicando el aumento de resistencia hacia antibióticos de la familia de las Sulfonamidas.

La resistencia inclinada hacia B- lactámicos se puede comparar en estudio realizado en pacientes pediátricos en Uruguay, en el cual los aislados de *E. coli* presentaron una resistencia del 70% hacia Ampicilina y 10% Amoxicilina + Ac. Clavulánico, teniendo en cuenta que el último se ha demostrado su acción sinérgica en la disminución de la resistencia hacia b- lactámico. (4)



En relación a los grupos estudiados, la presencia de cepas resistentes a antibióticos, depende del tiempo de retiro, debido a que existe una gran pérdida y descarte de productos por la mínima presencia de antibióticos, con ello, en los resultados se refleja una alta sensibilidad y baja resistencia en vacas en etapa de ordeño, reflejando un escaso uso de tratamiento con antibióticos en esta etapa. El anular parcial o completamente el tratamiento con un antibiótico con antecedente de resistencia, disminuye la necesidad de la bacteria de generar mecanismos de resistencia, anulando la replicación de genes involucrados. (45)

### Resistencia a B-lactámicos

Las bacterias mediante inactivación enzimática, como  $\beta$  lactamasas, pueden generar resistencia no sólo a un antibiótico, sino a un grupo de ellos con estructura común, como es el caso de los betalactámicos, cuya estructura básica es el anillo tiazolidina unido a otro anillo  $\beta$  lactámico. Un estudio se determinó que la enzima  $\beta$ -lactamasa que posee la *E. coli*, hidroliza los antibióticos B-lactámicos, y la familia de las cefalosporinas empiezan a tener una resistencia intermedia en tendencia al alta, eso reflejándose en el porcentaje de resistencia intermedia hacia la cefalexina. (48)

El uso de amoxicilina en combinación con un inhibidor de B- lactamasa tiene alta eficacia antimicrobiana, incluso con los géneros catalogados como resistentes. La enzima B-lactamasa influye en gran medida en la resistencia de la bacteria *Escherichia coli* a los antibióticos como las penicilinas y cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, siendo en los últimos años en los que se han registrados incremento en casos con ese tipo de resistencias

Las resistencias a sulfonamidas dado a que tienen una existencia de 50 años, esto mediante a mutaciones en los cromosomas que hacen que la sulfonamida no tenga una eficaz actividad sobre la pared y no tenga una correcta penetración. (20)

Las resistencias bacterianas adquirida ocurre frente a la exposición de un antimicrobiano y puede diseminarse mediante dos grandes procesos, la evolución vertical donde las mutaciones en el cromosoma bacteriano se transmiten a la descendencia y la evolución horizontal, con un traspaso de genes de resistencia mediante procesos de conjugación, transducción y transformación (50)

## **11. IMPACTOS**

### **11.1. Impacto Social**

La presencia de residuos de antibióticos en la leche es un problema que aqueja a toda la industria debido a que cantidades mínimas ya se inclinan hacia un problema de salud pública, ya que está determinado que pequeñas cantidades de antibióticos como 0.003 UI de penicilina/ml, pueden afectar a una persona que sea alérgica a dicho antibiótico, y añadiendo el hecho de que la resistencia diseminada a través de productos de origen animal, aumenta la mortalidad de procesos infecciosos en humanos por la nula respuesta hacia el tratamiento.

### **11.2. Impacto Ambiental**

La diseminación de antibióticos por medios residuales altera la convivencia natural de microorganismos propios del ambiente, ya que su acción no solo es determinante para bacterias patológicas, y como fuente de diseminación juega un papel importante en la generación de resistencia en el humano volviéndolo un desafío de salud pública.

Aunque las plantas de tratamiento de aguas residuales suelen remover las bacterias y los genes resistentes de orina y heces, los volúmenes que se liberan al ambiente son de verdadera amenaza en puntos de volcado.

### **11.3. Impacto Económico**

El uso de antibióticos de forma empírica y con índices de resistencia, provoca que su tiempo de uso sea más prolongado, afectando al sector productivo ganadero, ya que los tiempos retiro por evitar la salida de producto con residuos y que el producto sea incluso descartado.

## 12. CONCLUSIONES

- La realización de aislamiento y pruebas bioquímicas se determinó la presencia de *Escherichia coli* en la granja LYM FARM, independiente del grupo que se encuentre con un 97% de probabilidad, teniendo relación hacia la edad del bovino, ya que se conoce que se presenta más en animales jóvenes.
- Existe un 100% de resistencia a Penicilina y una inclinación de resistencia hacia B-lactámicos, esto en base a la capacidad natural de *Escherichia coli* de presentar resistencia con la transmisión horizontal de genes determinantes mediante plásmidos, esto también llega a influir en el desarrollo de resistencia hacia otras familias, mientras que los demás antibióticos testeados, presenta sensibilidad independientemente del grupo estudiado. Existen antecedentes que demuestran que las bacterias son capaces de generar mecanismos de defensa frente a una exposición permanente a un determinado antimicrobiano, cuando se dejan de exponer las bacterias a este fármaco, por presión selectiva dejan de crecer las resistentes, exacerbándose las bacterias sensibles a otros antimicrobianos.

## 13. RECOMENDACIONES

- La realización de antibiogramas ayuda a determinar la probabilidad de un microorganismo en desarrollar algún tipo de resistencia y su importancia de estudio en los perfiles de resistencia antibiótica es una herramienta útil para vigilar el comportamiento en áreas determinadas de las bacterias.
- Programa para el uso razonable de antibióticos en bovinos de leche establecido por el Plan Nacional de resistencia a antibióticos, esto como objetivo principal de la alianza es promocionar el uso prudente de antibióticos y el desarrollo e implantación de nuevas medidas preventivas, definir e implantar pautas de manejo y tratamiento con base científica de cara a realizar un uso más racional evitando la proliferación de la resistencia. y por ultimo reducir el consumo total de antibióticos críticos (Quinolinas y cefalosporinas 3y4ta generación)

## 14. BIBLIOGRAFÍA

1. Alós, JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. Enfermedades infecciosas y microbiología clínica., ELSEVIER. 2016 Dic; 33(10):692-699
2. Pertuz-Meza, Y. Perez-Quintero, C. Pabón-Varela, Y. Aspectos epidemiológicos de la sepsis, en unidades de cuidados intensivos, Santa Marta. [Internet]. Colombia; Universidad del Magdalena; Duazary. 2016; [Citado 21 Junio 2022]. 13(2):126-132. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/5121/512164587008/html/>
3. MSP. Resistencia antimicrobiana. Reporte de datos de resistencia a los antimicrobianos en Ecuador 2014-2018. Instituto nacional de investigación en salud pública. sf. [Internet]. [citado 21 Jun 2022]; Disponible en: [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKewiluofuuNv5AhWmSTABHdVXAysQFnoECAwQAAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.salud.gob.ec%2Fwp-content%2Fuploads%2F2019%2F08%2Fgaceta\\_ram2018.pdf&usg=AOvVaw0tWEMANjwTfcCang7oAduh](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKewiluofuuNv5AhWmSTABHdVXAysQFnoECAwQAAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.salud.gob.ec%2Fwp-content%2Fuploads%2F2019%2F08%2Fgaceta_ram2018.pdf&usg=AOvVaw0tWEMANjwTfcCang7oAduh)
4. OMS. *E. coli*. Detail. [Internet]. 2018 Feb; [Citado 22 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/e-coli>
5. Bush, L. Introducción a las bacterias. Infecciones. [Internet]. Manual MSD. 2020 Sep. [citado 20 Jun 2022]; Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-introducci%C3%B3n/introducci%C3%B3n-a-las-bacterias>
6. López, M. Jesús, M. Estudio taxonómico polifásico de bacterias procedentes de ambientes antárticos: descripción de cuatro nuevas especies. [Tesis de pregrado]. Barcelona, España: Universidad de Barcelona; 2016 [Citado 21 Junio 2022]. 73 p. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/2394#page=1>
7. López-Álvarez, J. *Escherichia coli*: mecanismos de patogenicidad. Ciencia Veterinaria. [Internet]. Departamento de bacteriología. México: UNAM; [Citado 22 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol1/CV1v1c01.pdf>
8. Armijos-Nieves, B. Herrera-Silva, L. Santos-Luna, J. Medina-Preciado, A. Segura-Osorio, M. Resistencia de la bacteria *Escherichia coli*. [Revista]. Revista Ciencia. 2017 Sep. [Citado 22 Junio 2022]: 24(10): 66-73

9. Ballina, A. Manejo Sanitario Eficiente del Ganado Bovino: Principales Enfermedades. Programa especial para la seguridad alimentaria. [Manual]. 2010 Sep: Nicaragua. Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria. [Citado 24 Junio 2022]. 1(2) 9-11
10. Solís, MB. Romo, S. Granja, M. Sarasti, JJ. Paz-Miño, A. Zurita, J. Infección comunitaria del tracto urinario por *Escherichia coli* en la era de resistencia antibiótica en Ecuador. Metro Ciencia. [Internet]. 2022. [Citado 25 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.revistametrociencia.com.ec/index.php/revista/article/view/321/397>
11. Vega-Castillo, LF. Nutrición y crecimiento bacteriano. Bacteriología y microbiología veterinaria. México: Universidad Autónoma del Estado de México. [Congreso].
12. UGR. Preparación de medios de cultivo. [Internet]. Universidad de Granada. sf. [Citado 25 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.ugr.ed/~cjl/medios%20de%20cultivo.pdf>
13. Garcés, A. Saravia, K. Morfología y estructura de los microorganismos. Norma de castro, cátedra de microbiología. [Internet]. Caracas; Universidad Central de Venezuela. 2008. [Citado 25 Junio 2022]. Disponible en: [https://www.uve.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/08\\_Tema\\_2\\_morfología.pdf](https://www.uve.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/08_Tema_2_morfología.pdf)
14. Bou, G. Fernández-Olmos, A. García, C. Sáez-Nieto, JA. Valdezate, S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. [Internet]; 2010. SEIMC. [Citado 25 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/index.php?p=revista&pRevista=pdf-sim>
15. Anónimo. *Escherichia coli* o157:h7 en carne molida comercializada en los mercados de Guayaquil. [Internet]. Sf. . [Citado 25 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.jah-journal.com/index.php/jah/article/view/45/93>
16. Fairbrother, JM. Nadeau, E. *Escherichia coli*: on-farm contamination of animals. [Internet]. Canadá: 2006. [Citado 27 Junio 2022]. 25(2), 555-569
17. EduLabC. Medios de cultivo. Laboratorio clínico. [Internet]. 2019 Jun. [Citado 27 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.edulabc.com.mx/medios-de-cultivo/>
18. Carrasco-F, J. Millas-Ortiz, P. Santelices-S, C. Castro-F, JF. Identificación de microorganismos. Boletín INIA. Perú. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA. [Citado 28 Junio 2022].
19. Foley, S. Grant, K. Molecular Techniques of detection and discrimination of foodborne pathogens and their toxins. Foodborne diseases. [Internet]. 2007. [Citado 28 Junio 2022]. Disponible en: <https://rd.springer.com/chapter/10.1007/978-1-59745-50>

20. Palomino-Camargo, C. González-Muñoz, Y. Técnicas moleculares para la detección e identificación de patógenos en alimentos: ventajas y limitaciones. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*. [Artículo en línea]. Perú. 2014; 31(3): 535-46. [Citado 28 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.scielo.org/article/rpmesp/2014.v31n3/543-546>
21. Gil. M. Prueba de catalasa: fundamento, técnica y usos. lifeder. [Internet]. 2009. [Citado 28 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/prueba-catalasa/>
22. Koneman, E. Allen, S. Janda, W. Diagnóstico Microbiológico. Panamericana [Internet]. 2004. Argentina. [Citado 27 Junio 2022]. Disponible en: [https://www.academia.edu/23777163/Manual\\_de\\_Bacteriologia](https://www.academia.edu/23777163/Manual_de_Bacteriologia)
23. Gil, M. Prueba de la catalasa: fundamento, técnicas y usos. [Internet]. Lifeder. [Citado 27 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.lifeder.com/prueba-catalasa/>
24. Rodriguez-Cavallini, E. Principios y prácticas de laboratorio. Bacteriología general. 2016. [Citado 28 Junio 2022]. Disponible en: <https://www.microbiologiobioanalisis.blogspot.com/2012/07/prueba-oxidación-fermentación-of.html?m=1>
25. Castillo-Martinez, LC. Identificación de bacilos Gram negativo no fermentadores para aplicación de celdas de combustible microbianas y en bioremedación. Querétaro: Centro de investigaciones en materiales avanzados. 2012. [Citado 28 Junio 2022]: 14-17. Disponible en: <https://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1004/394/1/Tesis%20Luz%20Carmen%20Castillo%20Mart%C3%ADnez.pdf>
26. Aracel, H. Martinez, B. Propuesta de guía de aplicación de técnicas de microbiología (Bacterias y hongos) para ser utilizado en microbiología general. San Salvador: Universidad del Salvador. 2007 Oct. [Citado 28 Junio 2022]: Disponible en: <https://ri.ues.edu.sv/id/eprint/4768/1/16100029.pdf>
27. Pérez, C. Goitía, K. Mata, Hartung, C. Colella, MT. Reyes, H. Hernández, C. Villarroel, M. Ontiveros, J. Magaldy, S. Suárez, S. Utilización del caldo de urea de Stuart para el test de la ureasa, como prueba en el diagnóstico de las levaduras. [Internet]. *Revista sociedad venezolana de microbiología*. Caracas. 2002 Jul. . [Citado 28 Junio 2022]. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S13b15-25562002000200008](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S13b15-25562002000200008)
28. Moncayo, JI. Santacruz, JJ. Álvarez, A. Reinoso, EC. Meissel, E. Salazar, F. Serrano-López. Estudio comparativo de dos pruebas rápidas de ureasa elaboradas en el laboratorio



- de Microbiología de la Universidad Tecnológica de Pereira frente a una comercial para detección de *H pylori* en biopsia gástrica. Revista médica de Risalda. Universidad Tecnológica de Pereira. . [Citado 28 Junio 2022]: H. 13(1): 1-10. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/download/articulo/5030360.pdf>
29. Sumano-López, HS. Ocampo-Cabreros, L. Antimicrobianos. Quimioterapia de las enfermedades antimicrobianas. [libro]. Farmacología Veterinaria. 2007. McGraw-Hill. [Citado 28 Junio 2022]: 3115-145
  30. Quintana-Horna, G. Silvia-Díaz, M. Tamariz-Ortiz, J. Vicente-Taboada, W. Concentración mínima bactericida de ciprofloxacina en bacterias uropatógenas aisladas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. Revista Médica Herediana. 2005. [Citado 29 Junio 2022]. 16(1). Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=338029544007>
  31. Bernal-R, M. Guzmán-U, M. El antibiograma de discos, normalización de la técnica de Kirby-Bauer. Biomédica. 1984. 4(4): 3-5.
  32. González, MJ. Caracterización fenotípica de cepas de *Escherichia coli* uropatógenas (UPEC) en pacientes pediátricos y sus perfiles de resistencia a Aminoglucósidos, Quinolonas y betalactámicos. [Tesis]. Uruguay: 2013 Disponible en: [https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKewjN0sL2mu75AhUYRDABHbV6BqwQFnoECCgQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.colibri.udelar.edu.uy%2Fjspui%2Fbitstream%2F20.500.12008%2F1546%2F1%2Fuy24-16734.pdf&usg=AOvVaw2xDoPFkcmBQAsvmc\\_VUMEC](https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&ved=2ahUKewjN0sL2mu75AhUYRDABHbV6BqwQFnoECCgQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.colibri.udelar.edu.uy%2Fjspui%2Fbitstream%2F20.500.12008%2F1546%2F1%2Fuy24-16734.pdf&usg=AOvVaw2xDoPFkcmBQAsvmc_VUMEC)
  33. Supriatin, Y. Sumirat, VA. Herdiani, M. Growth Analysis of *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* on MacConkey Agar Modification. Journal of Physics.[Conference]: 2021
  34. Lara-Durán, JA. Silvia-Vega, M. Bañuelos-Valenzuela, R. Delgadillo-Ruiz, L. Delgadillo-Ruiz, O. Incidencia de *Escherichia coli* O157:H7 en heces de rumiantes lactantes con síndrome diarreico. [Revista]. Revista MVZ Córdoba. [Citado 29 Junio 2022].
  35. Madigan, M. Martinko, J. Dunlap, P. Clark, D. Biología de los Microorganismos. [Libro]. Nutrición y crecimiento. 2006. [Citado 29 Junio 2022].
  36. Murray, C. Shunji-Ikuta, K. Sharara, F. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. [Internet]. The Lancet. 2022 Ene. [Citado 29 Junio 2022]. Disponible en: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(21\)02724-0/fulltext#%20](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(21)02724-0/fulltext#%20)

37. González, MJ. Caracterización fenotípica de cepas de *Escherichia coli* uro patógena (UPEC) en pacientes pediátricos y sus perfiles de resistencia a Aminoglucósidos, Quinolonas y betalactámicos. [Tesis de pregrado]: Disponible en: <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/handle/20.500.12008/1546>
38. Santos-López, A. Importancia de los plásmidos ColE1 en la resistencia a antibióticos. Departamento de salud animal. 2017. [Tesis Grado]; Madrid: Universidad Complutense de Madrid. [Citado 30 Junio 2022]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/44191/1/T39064.pdf>
39. Palacios-Rojas, M. Mejía-Fernández, Alcivar-Banguera, R. Maldonado-Reinoso, N. Medina-Apolo, M. Bermeo-Ortega, J. Aguilar-Saquicili, A. Calle-Carrasco, MF, Pacheco-Borja, F. Muñoz-González, J. Caracterización clínico-demográfica y resistencia bacteriana de las infecciones del tracto urinario en el Hospital Básico de Paute, Azuay-Ecuador. [Internet]. AVFT. Archivos Venezolanos de farmacología y terapéutica. 2018. [Citado 30 Junio 2022]: 37(2). Disponible en: [http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_aavft/article/view/15166](http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_aavft/article/view/15166)
40. Mosquito, S. Ruiz, J. Bajee, JL. Ochoa, T. MECANISMOS MOLECULARES DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN *Escherichia coli* ASOCIADAS A DIARREA. [Internet]. Perú: Revista Médica. 2011; 28(4): 648-656. [Citado 01 Julio 2022]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v28n4/a13v28n4.pdf>
41. Cásenlas, JM. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Revista Panamá de Salud Pública. [Internet]. 2011; 30(06): 519-528. [Citado 01 Julio 2022]. Disponible en: <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/9428/a04v30n6.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
42. Argüez, AR. Rodríguez-Chávez, A. Rojas-Hernández, N. *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli* productoras de betalactamasas en pacientes con infección del tracto urinario. Cuba: Revista cubana de Medicina Intensiva y Emergencia. [Internet]. 2015. 4(14). [Citado 02 Julio 2022]. Disponible en: [http://www.revmie.sld.cu/index.php/mie/article/view/114/html\\_30](http://www.revmie.sld.cu/index.php/mie/article/view/114/html_30)
43. Zurita-Arevalo, L. Diarrea infecciosa del ternero causada por *Escherichia coli* enterotoxigénica. TECNO VET. [Internet]. 1995. [Citado 03 Julio 2022]. Disponible en: [https://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet\\_articulo/0,1409,SCID%253D8377%2526ISID%253D427,00.html](https://web.uchile.cl/vignette/tecnovet/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D8377%2526ISID%253D427,00.html)

44. Ortega-Paredes, D. Barba, P. Mena-López, S. Espinel, N. Crespo, V. Zurita, J. High quantities of multidrug-resistant *Escherichia coli* are present in the Machangara urban river in Quito, Ecuador. *J Water Health*. [Internet]. 2020 18(1): 67-76 [Citado 12 Agosto 2022]. Disponible en: <https://iwaponline.com/jwh/article/18/1/67/71711/High-quantities-of-multidrug-resistant-Escherichia>
45. Ortega-Paredes, D. Barba, P. Mena-López, S. Espinel, N. Crespo, V. Zurita, *Escherichia coli* hyperepidemic clone ST410-A harboring bla CTX-M-15 isolated from fresh vegetables in a municipal market in Quito-Ecuador. [Internet]. *International Journal of Food Microbiology*. ScienceDirect (280): 41-45 [Citado 12 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S016816051830196X?via%3Dihub>
46. Chelaghma, W. Loucif, L. Bendahou, M. Rolain, JM. Vegetables and Fruit as a Reservoir of  $\beta$ -Lactam and Colistin-Resistant Gram-Negative Bacteria: A Review. [Internet] [Citado 13 agosto 2022]. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2076-2607/9/12/2534>
47. Dirección de bromatología. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs). SF. [Citado el 14 agosto 2022]. Disponible en: [https%3A%2F%2Framallo.gob.ar%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fdescargas%2Fmodulo\\_ndeg4.pdf&clen=789472&chunk=true](https%3A%2F%2Framallo.gob.ar%2Fsites%2Fdefault%2Ffiles%2Fdescargas%2Fmodulo_ndeg4.pdf&clen=789472&chunk=true)
48. López A, Cepeda A, Herrera A, De Santos M. 2012. [Internet]. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre medidas de prevención y recomendaciones aplicables para evitar posibles infecciones alimentarias por cepas de *Escherichia coli* verotoxigénicos/productores de toxinas Shiga/entero hemorrágicos (VTEC/STEC/EHEC). [Citado el 20 de enero de 2022]. Disponible en: [https%3A%2F%2Fwww.aesan.gob.es%2FAECOSAN%2Fdocs%2Fdocumentos%2Fseguridad\\_alimentaria%2Fevaluacion\\_riesgos%2Finformes\\_comite%2FESCHERICIA](https%3A%2F%2Fwww.aesan.gob.es%2FAECOSAN%2Fdocs%2Fdocumentos%2Fseguridad_alimentaria%2Fevaluacion_riesgos%2Finformes_comite%2FESCHERICIA)
49. Duarte-Díaz, E. Uso de antibióticos en la ganadería lechera. DAIRY-CATTLE. [Internet]. 2019 Ago. EEUU: Utah State University. [Citado 15 agosto 2022]. Disponible en: <https://dairy-cattle.extension.org/uso-de-antibioticos-en-la-ganaderia-lechera/https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial>
50. Puig-Peña, Y. Espino-Hernandez, M. Leyva-Castillo, V. Resistencia antimicrobiana en *Salmonella* y *E. coli* aisladas de alimentos: revision de la literatura. Instituto de nutrición e higiene de los alimentos y Escuela latinoamericana de medicina. [Internet]. Sf. [Citado 26 agosto 2022]. Disponible en: <http://revpanorama.sld.cu/index.php/panorama/article/view/74/pdf>

## 15. ANEXOS

### Anexo 1 Recolección y transporte de muestras mediante hisopos en medio de transporte Stuart



Figura1. Toma muestras

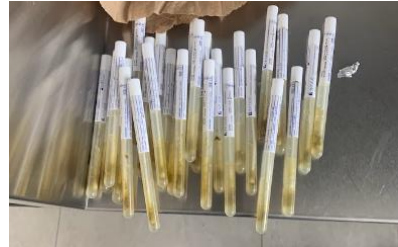


Figura2. Medio de transporte Stuart

### Anexo 2 Procesamiento de muestras en laboratorio, fase de enriquecimiento y aislamiento.



Figura3. Enriquecimiento de muestras por dilución en tubo.



Figura4. Preparación e inoculación de muestras enriquecidas en agar MacConkey

### Anexo 3 Respuesta de las muestras incubadas en agar MacConkey después de 24 h de incubación, la coloración rosada es indicadora de fermentación de lactosa, acción enzimática característica de *Escherichia coli*.



Figura 5. Crecimiento tras 24 h

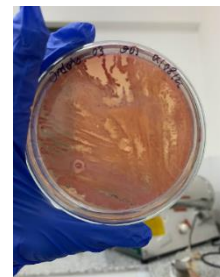
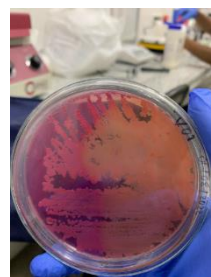


Figura6, 7y8. Respuesta de *E. coli* al medio en base a Fermentación de lactosa, rosado positivo.

**Anexo 4** Procesamiento de muestras en laboratorio: Fase de purificación de colonias positivas a fermentación de lactosa y pruebas bioquímicas.



Figura9. Inoculación en pocillos de prueba bioquímica.

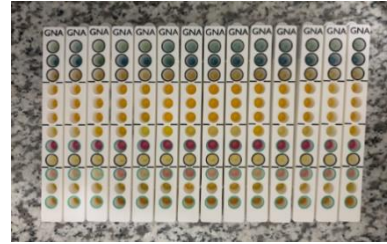


Figura10. Poca diferenciación por 97% resultado a *E.coli*

**Anexo 5** Fase de pruebas de sensibilidad mediante técnica de discos en difusión de agar

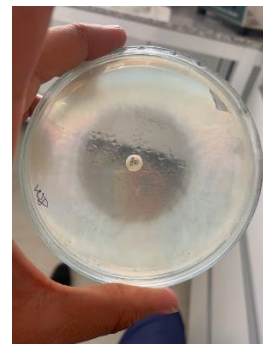
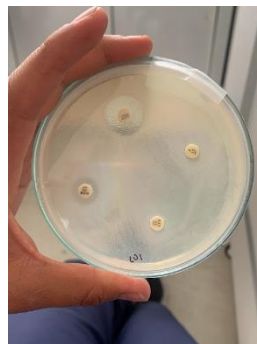


Figura 11. Inoculación en medio para discos



Figura12. Discos de sensibilidad

**Anexo 6** Medios incubados con discos de sensibilidad después de 18 horas de incubación a 37°C, el tamaño del halo determina la susceptibilidad de las bacterias ante el antibiótico testado, la ausencia de halo refleja la capacidad de la bacteria en inhibir la actividad antimicrobiana



### Anexo 7 Software MICROGEN ID

Microgen ID
✕

---

**File Edit System Help**

**Specimen Details**

Date: 10/08/2022

Lab Ref: UTC Microbiología

Name: L04

Specimen Type: Bovino

Source (ward/location): LYM FARM Quito

Notes: Bovino Holstein Hembra Lactante N° 4 Color: Cafe oscuro / Blanco

---

**Results Entry**

Test System: Microgen GNA

Octal Code: 6760

Press ENTER to Calculate Identification      Lysine Decarboxylase

+ LYS    + ORN    - H2S    + GLU    + MAN

+ XYL    + ONP    + IND    - UR      - VP

- CIT    - TDA

---

**Identification Analysis**

	E. coli	E.coli-inactive	H.alvei	S.liquefaciens	Y.enterocolitica
Select ID Choice	↓	↓	↓	↓	↓
Probability	1/2	1/55	1/9,053	1/17,635	1/33,096
Percent Probability	<b>97.11%</b>	2.85%	0.02%	<0.01%	<0.01%
Likelihood	<b>100%</b>	13.64%	0.02%	<0.01%	0.01%
Human Isolate	<b>Yes</b>	Yes	Yes	Yes	Yes
Tests against					
Test 1		ORN (20%)	IND (0.1%)	IND (1%)	LYS (0.1%)
Test 2			VP (85%)	VP (93%)	UR (90%)
Test 3				CIT (90%)	
Additional Tests	✓	✓	✓	✓	✓
Motility (37C)	<b>95%</b>	5%	85%	95%	2%
Gelatin Liquefaction	<b>0.1%</b>	0.1%	0.1%	90%	0.1%
Acid from Sucrose	<b>50%</b>	15%	10%	98%	95%
Acid from Sorbitol	<b>94%</b>	75%	0.1%	95%	99%
Additional Comments		7		12	

---

**Identification Comments**

Append
Results
Print...
Close

**Anexo 8** Hoja de Vida Autor**NOMBRES:** Jossué Alessander**APELLIDOS:** Higuera López**CÉDULA:** 1718027699**FECHA DE NACIMIENTO:** 03/09/1998**ESTADO CIVIL:** Soltero**DIRECCIÓN:** Pichincha, Quito, Manuel Orozco y psje 2D**TELÉFONO:** 0987818343**E-MAIL:** [jossue.higuera7699@utc.edu.ec](mailto:jossue.higuera7699@utc.edu.ec)**PREPARACIÓN ACADÉMICA****ESTUDIO PRIMARIO:** Colegio Militar “Eloy Alfaro”**ESTUDIO SECUNDARIOS:** Colegio Militar “Eloy Alfaro”

**Anexo 9** 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](mailto: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	Nacio nal	1008-10- 1019290	2010- 09-29
4TO	MASTER UNIVERSITARIO EN MICROBIOLOGÍA APLICADA	UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA	Extran jero	7297R- 13- 11148	2013- 11-20



## Anexo 10 Medios de Verificación

**CLINICA VETERINARIA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**  
**SELECCIÓN MUESTRAS EN RESPUESTA AL MEDIO MACCONKEY II**

	N°	NOMBRE	COD	CRECIMIENTO MACCONKEY FERMENTACI ÓN LACTOSA	N°	NOMBRE	COD	CRECIMIENTO MACCONKE FERMENTACI ÓN LACTOSA
LACTAN	1	S/N	L01	SI POSITIVO	20	S/N	L04	SI POSITIVO
	2	S/N	L02	SI NEGATIVO	21	S/N	L05	SI NEGATIVO
	3	S/N	L03	SI NEGATIVO	22	S/N	L06	SI POSITIVO
VACONAS	4	RITA	F01	SI NEGATIVO	23	VALENTIN	F05	SI POSITIVO
	5	FRIDA	F02	SI POSITIVO	24	ELEONOR	F06	SI NEGATIVO
	6	SAMI	F03	SI POSITIVO	25	VALE	F07	SI NEGATIVO
	7	ALICE	F04	SI NEGATIVO	26	EYLUL	F08	SI NEGATIVO
VACONAS	8	PAU	V01	SI POSITIVO	27	CUENCANA	V05	SI NEGATIVO
	9	NOELIA	V02	SI POSITIVO	28	GAVIOTA	V06	SI NEGATIVO
	10	LILI	V03	SI NEGATIVO	29	LINDA	V07	SI NEGATIVO
	11	GRACE	V04	SI NEGATIVO	30	ORNELA	V08	SI POSITIVO
VACAS	12	TANIA	S01	SI POSITIVO	31	MARIE	S05	SI POSITIVO
	13	FILOMENA	S02	SI POSITIVO	32	JOHANA	S06	SI POSITIVO
	14	SANGAY	S03	SI POSITIVO	33	GERTRUDIS	S07	SI NEGATIVO
	15	VENUS	S04	SI NEGATIVO	34	GRINGA	S08	SI NEGATIVO
VACASEN	16	PILA	OR01	SI NEGATIVO	35	JONTANA	OR05	SI POSITIVO
	17	MORELIA	OR02	SI NEGATIVO	36	SUCA	OR06	SI NEGATIVO
	18	INES	OR03	SI NEGATIVO	37	PALMA	OR07	SI NEGATIVO
	19	GRECIA	OR04	SI NEGATIVO	38	CAPERUSA	OR08	SI NEGATIVO



Firmado electrónicamente por:  
**VANESSA DEL  
 ROSARIO HERRERA  
 YUNGA**

**RESPONSABLE DE LABORATORIO**  
 MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga, Mtr.  
 CI. 1103758999

**CLINICA VETERINARIA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA**  
**IDENTIFICACIÓN PRUEBAS BIOQUÍMICAS**

**Espécimen:** Bovino

**Tipo de muestra:** Hisopados rectales

**Propiedad:** Hacienda LYG FARM

**Dirección:** Barrio San Buenaventura, Parroquia la Ecuatoriana, Quito, Ecuador.

**RESULTADOS MICROGEN GN-ID**

N°	ID	LYS	ORN	H2S	GLU	MAN	XYL	ONP	IND	URE	VP	CIT	TDA	CODIGO ASIGNADO
1	L01	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	6670
2	L04	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
3	L06	+	+	-	+	+		+	+	-	-	-	-	6760
4	F02	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
5	F03	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
6	F05	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
7	V01	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
8	V02	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
9	V08	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
10	S01	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
11	S02	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
12	S03	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
13	S05	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
14	S06	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
15	OR05	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760

**RESULTADOS SEGÚN CODIGO ASIGNADO**

- **6670:** *E. coli* 62.65%; *Y. enterocolitica* 22.24%; *E. coli* inactivo 14.98%; *S. marcescens* 0.1%; *H. alvei* 0.02%
- **6760:** *E. coli* 97.11% *E. coli* inactivo 2.85% *H.alvei* 0.02%



Firmado electrónicamente por:  
**VANESSA DEL ROSARIO HERRERA YUNGA**

**RESPONSABLE DE LABORATORIO**  
 MVZ. Vanessa Del Rosario Herrera Yunga, Mtr.  
 CI. 1103758999

**Anexo 11** Aval de Traducción.