



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *Salmonella spp.*
A PARTIR DE HUEVOS DE GALLINAS QUE SE COMERCIALIZAN EN
LOS MERCADOS DEL CANTÓN LATACUNGA”**

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

Autor:

Valencia Meneses Guido Daniel

Tutora:

Herrera Yunga Vanessa del Rosario, MVZ. Mtr.

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2022

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Guido Daniel Valencia Meneses, con cédula de ciudadanía No. 1751502830, declaro ser autor del presente proyecto de investigación: “Determinación de resistencia de *Salmonella spp.*, a partir de huevos de gallinas que se comercializan en los mercados del cantón Latacunga”, siendo 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, 29 agosto del 2022

Guido Daniel Valencia Meneses

Estudiante

CC: 1751502830

MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

Docente Tutora

CC: 1103758999

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **GUIDO DANIEL VALENCIA MENESES**, identificado con cédula de ciudadanía **1751502830** de estado civil soltero, a quien en lo sucesivo se denominará **EL CEDENTE** y, de otra parte, el Ingeniero Ph.D. 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 “Determinación de resistencia antibiótica de *Salmonella spp.*, a partir de huevos de gallinas que se comercializan en los mercados del cantón Latacunga”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Abril 2018- Agosto 2018

Finalización de la carrera: Abril 2022- Agosto 2022

Aprobación en Consejo Directivo: 3 de junio del 2022

Tutora: MVZ. Mtr. Vanessa del Rosario Herrera Yunga

Tema: “Determinación de resistencia antibiótica de *Salmonella spp.*, a partir de huevos de gallinas que se comercializan en los mercados del cantón Latacunga.”

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

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

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **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 u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- e) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL 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 **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

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

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

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

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

Valencia Meneses Guido Daniel

EL CEDENTE

Ing. Cristian Tinajero Jiménez, Ph.D.

LA CESIONARIA

AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *Salmonella spp.* A PARTIR DE HUEVOS DE GALLINAS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS MERCADOS DEL CANTÓN LATACUNGA”, de Guido Daniel Valencia Meneses, 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, 31 de agosto del 2022

MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

DOCENTE TUTORA

CC: 1103758999

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, el postulante: Guido Daniel Valencia Meneses, con el título de Proyecto de Investigación: “DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *Salmonella spp.*, A PARTIR DE HUEVOS DE GALLINAS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS MERCADOS DEL CANTÓN LATACUNGA”, ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

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

Latacunga, 31 de agosto del 2022

Lector 1 (Presidenta)

Dra. Blanca Mercedes Toro Molina, Mg.

CC: 0501720999

Lector 2

Dra. Nancy Margoth Cueva Salazar, Mg.

CC: 0501616353

Lector 3

MVZ. Paola Jael Lascano Armas, Mg.

CC: 0502917248

AGRADECIMIENTO

Expreso mi agradecimiento infinito a Dios por haberme permitido culminar con éxito esta etapa importante en mi vida. A mis padres y hermana, por ser un ejemplo en brindarme su apoyo incondicional, su cariño, amor y consejos, quienes son el motor que impulsa mis sueños y objetivos, quienes serán siempre una base a seguir por ser unos padres tan cariñoso, unas personas de bien.

A mi novia Francisned, por su apoyo, amor y comprensión en este último tiempo, por ser una fortaleza y soporte en alcanzar este sueño.

A mi tutora MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr. Quien me apoyo a lo largo de todo el proyecto de investigación, brindándome sus consejos, experiencias y guías.

Guido Daniel Valencia Meneses

DEDICATORIA

En primer lugar, dedico este trabajo a Dios, por guiarme y acompañarme en el proceso de mi formación profesional.

A mis queridos padres Guido y Rosa, y mi hermana, quienes siempre estuvieron conmigo en cada paso a lo largo de esta hermosa etapa, por ser los promotores de este sueño, por los consejos, valores y principios que me han inculcado.

A mi novia Francis, por su cariño, por ser una fortaleza en esta etapa de la vida, por brindarme su apoyo incondicional.

Guido Daniel Valencia Meneses

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE *Salmonella spp.*, A PARTIR DE HUEVOS DE GALLINAS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS MERCADOS DEL CANTÓN LATACUNGA

AUTOR: Valencia Meneses Guido Daniel

RESUMEN

El presente estudio se llevó a cabo con el objetivo de determinar la resistencia antibiótica de *Salmonella spp.*, a partir de huevos de gallinas que se comercializan en los mercados del cantón Latacunga. se estudiaron 30 muestras compuestas de 3 huevos cada una, realizando una toma al azar teniendo en cuenta características específicas de cada muestra cómo; una tamaño homogéneo y huevos sanos sin grietas o aberturas. El proceso de las muestras fue mediante el método de la norma ISO 6579:2002 según AOAC, aplicando conjuntamente con pruebas bioquímicas de enterobacterias (Microgen GN ID). Los resultados respectivos evidenciaron que no se identificó la presencia de *Salmonella spp.*, en los 90 huevos de gallina comercializados de los 2 mercados de la ciudad de Latacunga, presentando así otros microorganismos pertenecientes a la familia de *Enterobacteriaceae*, como: *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, y *Escherichia coli* causantes de enfermedades gastrointestinales y sistémicas. Por lo que no se logró demostrar la determinación de resistencia antibiótica del género de *Salmonella spp.*

Palabras claves: *Salmonella spp.*; huevos; mercados; Latacunga

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
AGRICULTURAL SCIENCE AND NATURAL RESOURCES FACULTY

**TOPIC: “DETERMINATION OF ANTIBIOTIC RESISTENCE OF *Salmonella spp.*,
FROM HEN SOLD EGGS IN LATACUNGA CANTON MARKETS”**

AUTHOR: Valencia Meneses Guido Daniel

ABSTRACT

The present study was carried out with the objective to determine antibiotic resistance of *Salmonella spp.* from eggs of hens sold in the markets of Latacunga canton. Thirty samples composed of three eggs each were studied, taking into account specific characteristics of each sample, such as homogeneous size and healthy eggs without cracks or openings. The samples were processed using ISO 6579:2002 according method to AOAC, in conjunction with biochemical tests for enterobacteria (Microgen GN ID). The respective results showed that *Salmonella spp.* presence was not identified in 90 chicken eggs marketed in 2 markets of Latacunga city, presenting other microorganisms belonging to the *Enterobacteriaceae* family, such as: *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, and *Escherichia coli*, which cause gastrointestinal and systemic diseases. Therefore, it was not possible to demonstrate determination to antibiotic resistance of *Salmonella spp.* genus.

Keywords: *Salmonella spp.*; eggs; markets; Latacunga

ÍNDICE

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA.....	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO.....	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	2
3.1. Directos	2
3.2. Indirectos	2
4. PROBLEMÁTICA.....	3
5. OBJETIVOS.....	5
5.1. Objetivo General.....	5
5.2. Objetivos Específicos	5
6. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	6
6.1. Generalidades de <i>Salmonella</i>	6
6.2. Clasificación taxonómica.....	6
6.3. Manifestación de <i>Salmonella</i>	7
6.3.1. En Humanos	7
6.3.1.1. Transmisión	7
6.3.1.2. Patogenia.....	7
6.3.1.3. Signos clínicos	8
6.3.2. En Aves	8
6.3.2.1. Transmisión	9
6.3.2.2. Patogenia.....	9
6.3.2.3. Signos clínicos	9
6.3.2.3.1. Tifosis Aviar	10
6.3.2.3.2. Pullorosis Aviar	10
6.4. Mecanismo de Transmisión de <i>Salmonella spp.</i> En el huevo.....	10
6.4.1. Transmisión vertical de <i>Salmonella</i>	11
6.4.2. Transmisión horizontal de <i>Salmonella</i>	11

6.4.3.	Transmisión lateral de <i>Salmonella</i>	12
6.5.	Tratamiento	12
6.6.	Epidemiología de la infección por <i>Salmonella</i>	13
6.7.	Diagnóstico Microbiológico de <i>Salmonella spp.</i>	13
6.7.1.	Etapa de Pre-enriquecimiento.....	13
6.7.2.	Etapa de Enriquecimiento selectivo	14
6.7.3.	Etapa de Aislamiento en medios selectivos.....	14
6.7.4.	Pruebas bioquímicas diferenciales.....	14
6.7.5.	Pruebas Bioquímicas para detección de Enterobacterias Microgen GN ID	15
6.8.	Resistencia a Antibióticos.....	18
7.	VALIDACIÓN DE PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS:	19
8.	METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL	20
8.1.	Lugar de la investigación	20
8.2.	Metodología	20
8.2.1.	Tipo de investigación	20
8.2.2.	Método de investigación	20
8.2.3.	Población y muestra	20
8.3.	Diseño Experimental.....	22
8.3.1.	Manejo de la investigación	22
8.3.1.1.	Procesamiento microbiológico de las muestras.	22
9.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	24
9.1.	Resultados de los análisis microbiológicos:	24
9.2.	Resultados de la prueba bioquímica para detección de enterobacterias (Microgen ID-A) 24	24
10.	IMPACTOS (SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS).....	27
10.1.	IMPACTO SOCIAL	27
10.2.	IMPACTO AMBIENTAL	27
10.3.	IMPACTO ECONÓMICO.....	27
11.	CONCLUSIONES	28
12.	RECOMENDACIONES	28
13.	BIBLIOGRAFÍA	29
14.	ANEXOS	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Patogénesis de la contaminación del huevo por salmonella enteritidis	11
Figura 2. Pruebas Bioquímicas de Salmonella spp.	15
Figura 3. Tabla de colores según la reacción a los reactivos – Microgen GN A ID	17
Figura 4. Mercados en el cantón de Latacunga	20
Figura 5. Porcentaje a las muestras sospechosa en cada mercado de Latacunga	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Pruebas Bioquímicas de Microgen ID A	17
Tabla 2. Mercados seleccionados para el estudio	21
Tabla 3. Identificación y número de huevos por cada muestra.	21
Tabla 4. Resultados de las pruebas bioquímicas preliminares de la investigación	25
Tabla 5. Resultado de las pruebas Bioquímicas para detección de enterobacterias.	25

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

Determinación de resistencia antibiótica de *Salmonella spp.* a partir de huevos de gallinas que se comercializan en los mercados del cantón Latacunga.

Fecha de inicio: Abril 2022

Fecha de finalización: Octubre 2022

Lugar de ejecución:

Provincia Cotopaxi, Cantón Latacunga.

Facultad académica que auspicia:

Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Carrera de Medicina Veterinaria

Proyecto de investigación vinculado:

Equipo de Trabajo:

Guido Daniel Valencia Meneses

MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

Área de Conocimiento:

Agricultura - Veterinaria

Línea de investigación:

Salud Animal.

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Microbiología, Parasitología, Inmunología y Sanidad Animal

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

En la actualidad, existen patógenos que se suman día a día a presentar patrones resistentes y multirresistentes hacia los antimicrobianos resultando un riesgo mundial para la salud pública, como es el caso de la *Salmonella spp.*, que toma un gran impacto en la sociedad en fluctuar los casos año tras año de Salmonelosis a nivel mundial, por lo que este problema está directamente relacionado por el consumo de productos o subproductos (carne / huevos) de animales por parte de la población mundial en el consumo de cada dieta diaria, a igual de ingerir frutas y verduras crudas sin estar desinfectadas, al beber agua de vertientes que estas están en contacto con heces de diferentes animales. Que resulta una preocupación global al infectarse por estas bacterias resistentes llegando a cursar cuadros de mayor riesgo en diferentes personas. Es así que varias organizaciones como Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la Salud (OPS), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), entre otras, están implementando medidas de control al identificar las fuentes de infección, estudiar cómo surge y se propaga la resistencia, promoviendo el uso responsable de antibióticos tanto en animales como en personas como las más importantes.

Por ello, el presente proyecto de investigación brindó una actualización sobre la presencia o ausencia de *Salmonella spp.*, en huevos que se expenden en los mercados del cantón Latacunga, Cotopaxi – Ecuador, evidencias que servirán para precautelar la salud en los consumidores.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Directos

- Población general quienes son consumidores de huevos del cantón de Latacunga.

3.2. Indirectos

- Comerciantes y expendios de huevos de los mercados del cantón de Latacunga.

4. PROBLEMÁTICA

Según la Organización Mundial de Salud Animal (OIE), la salmonelosis es una enfermedad infecciosa del ser humano y de los animales causada por bacterias del género *Salmonella*, la cual llegan a causar clínicamente infecciones diarreicas y sistémicas (1). Por ello varias organizaciones mundiales se preocupan por evidenciar las prevalencias de este tipo de bacteria que afecta gravemente tanto a seres humanos como a los animales. Según el informe sobre zoonosis de 2019 de Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), se realizaron una comparación de prevalencia de los países que lo conforman, de parvadas de pollos de engorde con serotipo objetivo de *Salmonella spp.* determinando una prevalencia de 1,60% (CI 95% 1.27;1.98, 80/5013) (2). En Colombia se encontró una prevalencia (25,5%) de *Salmonella spp.* en muestras de carne de pollo cultivadas (3). Mientras que en nuestro país Ecuador en 2014, la prevalencia de *Salmonella spp.* En granjas avícolas fue de 12.7% en Granjas De pollos de engorde, 11.5% en manada de gallinas reproductoras y un 8.9% en manadas de gallinas ponedoras (4). Y en 2020, se determinó la prevalencia de *Salmonella spp.* encontrada en los huevos de tipo criollo comercializados en los tres principales mercados municipales de la ciudad de Cuenca dando resultado de 9,72% (5).

De tal manera que la salmonelosis causada en el ser humano está directamente relacionada con la contaminación en aves de corral y productos avícolas (4). Teniendo en cuenta que es una afección zoonótica mayormente frecuente que resulta trasladada a cada persona al nutrirse con productos de procedencia animal. La enfermedad puede afectar a todas las especies de animales domésticos incluido los seres humanos, siendo los más vulnerables las especies que se encuentran de temprana edad, gestantes o lactantes, en la cual la causa más habitual de infección por *Salmonella* en las personas es, principalmente la ingesta o el consumo de subproductos de aves como es huevo y la carne de pollo y a su vez verduras crudas que estén contaminadas por esta bacteria (1,6). La cual, resulta que el contenido interno de los huevos recién puestos es generalmente estéril, al momento de la oviposición, los huevos tienen cierto grado de contaminación en la superficie debido al paso a través de la cloaca de la gallina. No obstante, en prolongado lapso de relativamente corto finalizando la ovoposición, en su exterior se pueden encontrar gran cantidad de microorganismos que, bajo condiciones apropiadas pueden penetrar en los huevos, crecer en su interior y alterarlos, entre aquellos se encuentra la *Salmonella* (7).

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la salmonelosis causada en las personas generalmente después de su ingesta los síntomas de la enfermedad aparecen a partir de 6 a 72 horas, caracterizada por la aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y en

ocasiones regurgitaciones de todo el contenido estomacal (8). Por esta razón, se considera un enigma del sistema sanitario público global, considerando que afecta a una amplia cifra de regiones y se encuentra relacionada con la ingesta de sustento de diversos orígenes (9). Siendo una de las enfermedades zoonóticas más frecuentes como es el caso de Estados Unidos se estima que cada año *Salmonella* causa 1.35 millones de casos con 26 500 hospitalizaciones y 430 muertes siendo la infección por alimentos contaminados la principal causa de casos de salmonelosis (10). Mientras que en Ecuador se reportó 2041 casos de salmonelosis en el año 2017 con un porcentaje mayor de casos en Manabí (16.6%) (11). Además, su consumo resulta en gran cantidad, según la Corporación Nacional de Avicultores del Ecuador (CONAVE) en 2019, en nuestro país la ingesta total fue de 30,62 kg/persona/año de pollo (*Gallus gallus domesticus*) y 226 huevos/persona/año fueron reportados. Teniendo en cuenta a su valor nutricional y precio accesible en comparación con otras fuentes de proteína animal (12).

La resistencia de *Salmonella spp* a los antibióticos constituye un motivo de gran preocupación en el dominio del sistema sanitario público a nivel ecuménico (13). Donde las circunstancias de aparición y propagación de la resistencia a los antimicrobianos son complejas, siendo una de las primordiales causas desde el punto epidemiológico, es el uso generalizado de agentes antimicrobianos en animales destinados a consumo humano (14). Ya que en los últimos años se han evidenciado en diferentes regiones del mundo resistencias a los antimicrobianos como es el caso de Estados Unidos en 2015, donde la mayor parte de cepas de *Salmonella* aisladas en alimento aviar condujeron persistente a sulfisoxazol, gentamicina, estreptomina, tetraciclina y trimetopin-sulfametoxazol (15). Además, en 2017 la OMS publicó cierta nómina de microorganismos preferente para la I+D de nuevos antibióticos, donde la *Salmonella* fue catalogada como prioridad 2 (Elevada), resistentes a las fluoroquinolonas (16). En Colombia en 2015, también se evidenció una resistencia antimicrobiana a cepas de *Salmonella* aislada de muestras de alimento presentaron mayor resistencia a amikacina, cefalotina, cefoxitina, cefuroxina y gentamicina (17). Mientras que en Ecuador en 2017 presentaron patrones de resistencia en cepas de *Salmonella* aisladas a partir de piensos y sus materias primas, en 3 antibióticos: nitrofurantoína (75%), ciprofloxacina (62,5%) y azitromicina (37,5%), presentando patrones multirresistentes en los 2 primeros antibióticos (18).

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

Determinación de resistencia antibiótica de *Salmonella spp.* a partir de huevos de gallinas comercializados en los mercados del cantón Latacunga.

5.2. Objetivos Específicos

- Aislar *Salmonella spp.* mediante métodos microbiológicos tradicionales recolectando muestras de huevos de gallinas, en los mercados del cantón de Latacunga.
- Caracterizar las colonias sospechosas empleando el sistema de identificación y confirmación para enterobacterias (Microgen GN-ID).
- Determinar la susceptibilidad antibiótica de los serotipos de *Salmonella spp.* mediante la difusión de discos de sensibilidad antibiótica constando de 10 diferentes antibióticos.

6. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

6.1. Generalidades de *Salmonella*

De parte de Daniel E. Salmon et al (19) realizaron en 1885, el primer reporte de aislamiento de este microorganismo fue en la especie porcina. Sin embargo, se presenta evidencia epidemiológica previa a esta identificación de este agente causal, la cual lo habían asociado por la ingesta de agua y leche (5). Siendo la causa de la salmonelosis, enfermedad de distribución mundial que afecta a humanos y animales de sangre caliente y fría presentando una variación en la morbilidad y mortalidad según la especie y huésped interviniente (20).

Dentro de la etiología del grupo *Salmonella spp.*, compete a la consanguinidad de *Enterobacteriaceae*, integrado por microorganismo gramnegativas, dentro de cada célula facultativas (21). Las cuales, se han asociado fundamentalmente en los tipos de *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori* (22). Por otro lado, su morfología cuenta con dimensiones que aproximadamente es 0,3 a 1 µm x 1,0 a 6,0 µm. Este tipo de bacterias presentan flagelos por lo que resulta que pueden movilizarse en cualquier medio que se encuentra, pero en los casos de serotipos de *Salmonella gallinarum* y *Salmonella pullorum*, no influyen esta peculiaridad (23). Presentan una catalasa positiva y oxidasa negativa, acondicionando en beneficio en recursos corrientes de un periodo 18 a 24 horas posteriormente de existir una introducción en cada medio (24). En sus medios de crecimiento se adapta temperaturas ambientales con un rango extenso de 7 a 45 °C y una flexibilidad de pH óptimo para su proliferación presenta un pH neutra y alcalino en una categoría de 6.6 a 8.2, siendo insuficiente en soportar mayores manifestaciones de cloruro de sodio y perduran en temperaturas bajo cero en el transcurso de periodos extensos (25).

6.2. Clasificación taxonómica

La bacteria de tipo *Salmonella spp.*, adquiere aproximadamente de 2.400 serovariedades, asociadas en tres clases: *Salmonella enterica* (abarca 2.443 serovariedades), *Salmonella bongori*, (contienen 20 serovariedades) y *Salmonella subterranea*, la cual esta última especie mencionada fue aislada a partir de sedimentos del subsuelo considerándose una nueva especie (20).

En donde la *Salmonella enterica* se subdivide en 6 subespecies:

1. *Salmonella enterica subsp. Entérica* (I)
2. *Salmonella enterica subsp. Salamae* (II)

3. *Salmonella enterica subsp. Arizonae* (IIIa)
4. *Salmonella enterica subsp. Diarizonae* (IIIb)
5. *Salmonella enterica subsp. Houtenae* (IV)
6. *Salmonella enterica subsp. Indica* (VI)

Mientras que la *Salmonella bongori* (V) se la considera un grupo distante, siendo específica de reptiles y rara vez se encuentra en las infecciones humanas.

6.3. Manifestación de Salmonella

6.3.1. En Humanos

6.3.1.1. Transmisión

La ingesta de productos de aves contaminada provista como un primordial transmisor para su propagación por parte de este microorganismo a las personas (26). Dando como resultado que el componente del tipo *Salmonella spp.*, se transfieren a cada individuo por medio de la ingesta de suplementos que presenten este género de bacterias de animales positivos o contagiados por excrementos (27). Los productos avícolas se han considerado como principio de infecciones crónicas por parte de los alimentos en la población, por parte del género estudiado, donde distintos países se ven afectados por un déficit en las diferentes entidades que aplica en control de productos destinados al consumo de los habitantes (28).

6.3.1.2. Patogenia

El ingreso al organismo del ser humano por parte del género *Salmonella* es la vía bucal, al ingerir alimentos que haya enlazado con heces de animales contagiados por esta bacteria y en ciertos casos al ingerir verduras crudas (29). Este género de bacteria posee la disposición de tolerar un pH del estómago, sales biliares y el peristaltismo, de manera que invade el tracto digestivo de absorción (intestino delgado) y conquistar los ganglios linfáticos mesentéricos, comprometiendo una infestación específica. Esta bacteria evita los patrones de defensa de las células epiteliales intestinales sin desnaturalizarse de manera que empieza a proliferar en su interior de cada una de ellas (30).

Puesto que continúa al sistema circulatorio causando así, una contaminación a lo largo de todos los sistemas del organismo, dividiéndose en macrófagos, adhiriéndose especialmente en órganos anexos y la médula ósea. Se excreta mediante materia fecal proliferándose en medios naturales. Además en pocas ocasiones puede ingresar por vía de las fosas nasales, llegando a originar una multiplicación del patógeno a nivel de las amígdalas hasta llegar a

vías aéreas bajas como pulmones, bronquios (31). El contagio por *Salmonella spp.*, consiste de diferentes circunstancias: a) ingreso considerado de bacterias del mismo género, b) competencia en penetrar los obstáculos defensivos por parte convidado y c) facultad impertinente de las bacterias. (32). Los productos destinados para el consumo de la población procedente de explotaciones avícolas son usualmente los que origina a una infección o Enfermedades Transmitidas por Alimentos, donde la bacteria de *Salmonella spp.*, no integra la flora intestinal en un buen estado de salud de cada gallina, de modo que logran infectarse en los medios de hábitat, de tal manera puede estar infectado los suplementos de alimentación (28).

6.3.1.3. Signos clínicos

Según la OMS, los signos clínicos que singularizan en las personas es el origen brusca de fiebre, náuseas, dolores abdominales, diarrea, fiebre, dolor de cabeza, e pocas ocasiones vómitos; manifestándose en un lapso de horas que pueden ir de 6 y 72 horas una vez que se haya ingresado al organismo y afectado por el periodo de 4 a 7 días (8). Con respecto a componentes del hospedado, cantidad que haya ingresado al organismo y particularidad del serotipo. El cuadro del patógeno puede provocar ciertas etapas de recrudescimiento como son: elevados grados de deshidratación como consecuencia puede llegar a deceso especialmente en casos de individuos de temprana edad (neonatos) y niños, por otra parte los inmunodeprimidos al no estar con una atención médica en cuadros agudos, llegan a originar una septicemia o abscesos específicos en el organismo dependiendo por el medio que inició la infección (33).

Al difundirse la infestación de la bacteria hasta originarse una bacteriemia como consecuencias resultarían síntomas mayormente graves, “por ejemplo, si un hueso está infectado, la zona que lo recubre suele estar sensible o dolorida; si está infectada una válvula cardíaca, la persona siente dificultad para respirar, y si está infectada la aorta se siente dolor en la espalda y el abdomen” (34). La infección de *salmonella spp.*, naturalmente se autolimita en individuos con defensas altas o más conocidas de personas aparentemente llenas de salud, es decir su sistema inmune se encuentra intacto. (31,33).

6.3.2. En Aves

La enfermedad en aves en cambio se expresa de manera una infección intestinal, la cual, los géneros que mayormente llegan afectar en esta especie son: *Salmonella*

pullorum, *Salmonella gallinarum*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella arizona*.
(25).

6.3.2.1. Transmisión

Dentro de cada explotación de gallinas ponedoras logran transformarse en un medio de focos de infección al transmitir por medios de los huevos, las cuales al llegar a eclosionar estos individuos llegan a estar infectados. Teniendo en cuenta que las aves consiguen contaminarse a través de partículas existentes en el aire por una polución ambiental y mediante de ingesta de alimentos que este presenta la bacteria (35).

6.3.2.2. Patogenia

La afección causa por *Salmonella spp*, suele presentarse en ocasiones de modo subclínica, al no originarse algún tipo de manifestación a lo largo del organismo, pero causa un asentamiento y no contaminación afectando los subproductos que son directos para el consumo humano (36).

Pero en ciertas etapas las aves son muy susceptibles en cualquier enfermedad, en este caso el brote por parte de esta bacteria afectaría en gravedad en pollos inferior de una semana de ver eclosionado, teniendo en cuenta su bajo nivel de inmunidad. Por lo tanto, existen componente que influyen a todos los individuos de cualquier etapa al infectarse como son: estrés del medio de hábitat, déficit de bebida y alimentación que contenga el género (35).

Existen impedimentos de protección por parte de cada ave las cuales son: a) ácido gástrico, desnaturalizando cifras grandes de bacterias; b) movimientos de contracción intestinales, que tienden al aumentar por una infestación; c) disposición de escuadra saprofita; y d) existencia de inmunidad particular (28).

6.3.2.3. Signos clínicos

La presencia de esta bacteria tiene a generar signos clínicos como: diarrea blanca, enteritis, acompañado con somnolencia, decaimiento, debilidad, y en algunas ocasiones pues llegar a la muerte del individuo sin que su organismo presente síntomas. En los casos de gallinas productoras y reproductoras de huevos, estos van a caracterizarse al está infectado con formación anormal, de tamaño menor de lo inusual, con presencia de materia fecal con sangre (37).

Además, la contaminación hacia sus progenitores se produce mediante los individuos conductores de esta infección al llegar estos microorganismos a nivel de su sistema de reproducción sin que origine signos clínicos, de modo que al momento de su incubación la mayoría de los huevos no germinan y en pocos casos eclosionan estos pollos que permanecen infectados o se pueden mantener como animales portadores (5).

6.3.2.3.1. Tifosis Aviar

Producida directamente por *Salmonella gallinarum*, afectando a gran parte de las especies avícolas. Causando como signos clínicos de diarrea, una reducción de la productividad de los huevos, debilitación por parte de la fertilidad y un aumento de mortandad. De manera que se evidencia traumas en principales órganos del metabolismo como: hepatomegalia, hígado congestionado a igual que en los riñones y bazo (1,38).

6.3.2.3.2. Pullorosis Aviar

Ocasionada por el género *salmonella pullorum* la cual, tienen aumentar la mortandad al momento de la eclosión o incubación, en los individuos presentaran deshidratación por diarreas crónicas provocando, impedimento por aspirar u respirar y directamente actuando a nivel cardiovascular, presentando diferentes lesiones como miocarditis, pericarditis, hepatomegalia, esplenomegalia, congestionándose estos últimos órganos (6,38).

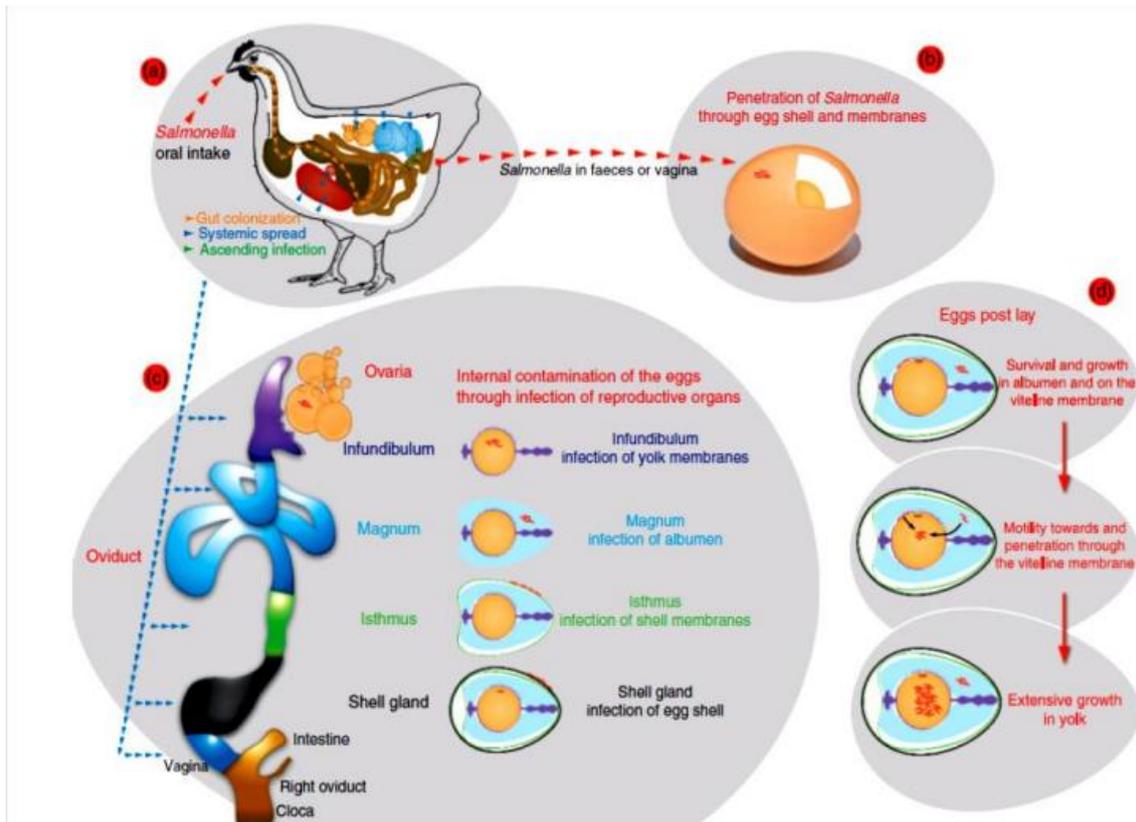
6.4. Mecanismo de Transmisión de *Salmonella spp.* En el huevo

La capacidad intrínseca de los huevos al momento de la oviposición habitualmente séptico o estéril. Donde los individuos positivos a salmonelosis prolifera en todo su sistema gastro intestinal, la cual al fin de la oviposición entra en contacto con las heces fecales por su traslado por la cloaca contaminando la parte exterior del huevo, llegando así hasta su interior mediante la presencia de los poros latentes por medio de la desigualdad térmica atmosférica o entre el medio exterior (39). (Fig. 1)

Al momento que los huevos comienzan a deteriorarse los componentes como es el hierro que se presenta en la yema se trasvasa a su albúmina, reduciendo así el porcentaje de lisozima, adquiriendo una proliferación de todo tipo de bacterias que se encuentran en su exterior al ingresar al interior principalmente la *salmonella* (28).

No obstante, en una etapa de ciclo parcialmente reducido posteriormente de la puesta, en su textura se pueden localizar un sin número de microorganismos entre estos se encuentra la *Salmonella* que, bajo condiciones apropiadas pueden penetrar, en los huevos, proliferando en todo el contenido y alterarlos (7).

Figura 1. Patogénesis de la contaminación del huevo por salmonella enteritidis



Fuente: Gantois, et. Al. 2009

6.4.1. Transmisión vertical de *Salmonella*

Por la contaminación transovárica, directa de la yema, la albumina, las membranas de cáscara de huevo o la cáscara de huevo antes de la oviposición, procedente de la infección de los órganos reproductivos con *Salmonella* (25).

6.4.2. Transmisión horizontal de *Salmonella*

Los huevos llegan a contaminarse por la penetración de microorganismos a través del cascarón desde el fin de la oviposición al transitar a través de la cloaca al estar presente o en contacto con heces contaminadas (25,39).

6.4.3. Transmisión lateral de *Salmonella*

La ruta de infección ocurre en una mayor duración por entrar en fricción con materia fecal contaminado o con estructuras infectadas por la bacteria, principalmente durante su depósito dependiendo del medio natural a altas temperaturas y alta humedad relativa (38).

6.5. Tratamiento

Con respecto al tratamiento en personas, las infecciones por *Salmonella spp.*, no tifoidea son autolimitantes, la terapia antibiótica no es apropiada en los casos no complicados de gastroenteritis. Al momento de la infección empieza a presentarse como un cuadro mayormente complejo se torna a nivel sistémico recomendando la aplicación de antibióticos que se expresen en estos sistemas de afección en el sistema linfático, como la aplicación de cloramfenicol y la ampicilina (27).

Al aplicar el procedimiento de conductores complejos se emplean antibióticos que se consolidan y suprimen por la bilis como la ampicilina o amoxicilina, la ciprofloxacina también es de elección (28).

De igual importancia, en ciertos individuos van aplicar su tratamiento a base de líquidos y electrolitos, acompañado de antieméticos y analgésicos (27). No son recomendables los fármacos antidiarreicos y antiespasmódicos que inhiben la motilidad intestinal en los casos de enteritis por *Salmonella spp.*, pues predisponen a la bacteriemia (40). Se han estudiado nuevos antimicrobianos, entre los que destacan las quinolonas y las cefalosporinas de tercera generación. Las 4-fluoroquinolonas constituyen una terapia adecuada en todas las formas de salmonelosis, como enterocolitis, por varias razones: por su administración oral, su eficacia frente a cepas multirresistentes y por su elevado nivel de penetración tisular (32).

La infección por salmonelosis induciendo a nivel gastrointestinal iniciando un tratamiento de líquido mediante vía endovenosa o directamente bucal (41). La población que den positivo *Salmonella* intestinal, los antibióticos no acortan el periodo de mejoría llegando así a producir que microorganismo se excreten en las heces durante un ciclo más extenso (42). A los individuos que presenten una bacteriemia se les aplica antibióticos como ciprofloxacina o ceftriaxona aproximadamente durante 2 semanas. Si la bacteriemia continúa, se administran antibióticos entre 4 y 6 semanas. Los abscesos se vacían quirúrgicamente, y se administran antibióticos durante 4 semanas como mínimo (43).

6.6. Epidemiología de la infección por *Salmonella*

La salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por los alimentos más comunes. El brote de esta infección se asocia a menudo con los huevos. Según el informe sobre zoonosis de 2019 de European Food Safety Authority (EFSA), se realizaron una comparación de prevalencia de los países que lo conforman, de parvadas de pollos de engorde con serotipo objetivo de *Salmonella spp.* determinaron una prevalencia de 1,60% (CI 95% 1.27;1.98, 80/5013) (2). En Colombia se encontró una prevalencia (25,5%) de *Salmonella spp.* en muestras de carne de pollo cultivadas (3).

En el estudio titulado “Prevalencia y características de *Salmonella spp* aisladas de granjas de ponedoras comerciales en Corea” De las 32 granjas y 67 rebaños examinados, 19 granjas (59,3%) y 34 rebaños (50,7%) se observaron a ser positivo para *Salmonella* contaminación. *Salmonella* se detectó en el medio ambiente circundante, como heces (41,8%), polvo (40,3%), cáscaras de huevo (17,2%), así como los contenidos de los huevos internos (5,2%). Siendo los siguientes serotipos identificados en los rebaños eran *Salmonella* Bareilly (41,2%), *Salmonella* Mbandaka (32,4%) y *Salmonella* Rissen (17,6%) (44).

Mientras que en nuestro país Ecuador en 2014, la prevalencia de *Salmonella spp.* en granjas avícolas fue de 12.7% en Granjas De pollos de engorde, 11.5% en manada de gallinas reproductoras y un 8.9% en manadas de gallinas ponedoras (4). Y en 2020, se determinó la prevalencia de *Salmonella spp.* encontrada en los huevos de tipo criollo comercializados en los tres principales mercados municipales de la ciudad de Cuenca dando resultado de 9,72% (5).

6.7. Diagnóstico Microbiológico de *Salmonella spp.*

6.7.1. Etapa de Pre-enriquecimiento

El objetivo de esta etapa es normalizar metabólicamente las células de *Salmonella spp.* que se encuentren en determinada matriz para su perfecto desarrollo y todos los microorganismos compiten por los nutrientes. Se realiza a partir de medios de cultivo no selectivos como agua peptonada, caldo nutritivo, caldo lactosado o agua destilada estéril adicionada con solución de verde brillante al 0,1% en el caso de leche en polvo. Es necesario una incubación a 37° Celsius durante 18 a 24 horas (45).

6.7.2. Etapa de Enriquecimiento selectivo

Esta etapa estimula y favorece el crecimiento de *Salmonella* spp. inhibiendo el crecimiento de la flora acompañante; los medios de cultivo utilizados son: Caldo Tetrionato-Bilis-Verde Brillante según Mueller-Kauffmann. En el medio selectivo caldo tetrionato Bilis-Verde Brillante: el tetrionato inhibe el crecimiento de coliformes y otras bacterias intestinales, la bilis estimula el crecimiento de *Salmonella* e inhibe la flora competitiva, el verde brillante impide el desarrollo de la flora gram positiva y el carbonato cálcico actúa como tampón para mantener el pH (46).

6.7.3. Etapa de Aislamiento en medios selectivos

Esta etapa permite la diferenciación de colonias de *Salmonella* de otras bacterias, esta diferenciación radica en la composición de los distintos medios que permiten el crecimiento de las colonias con aspectos característicos. Para aislar y diferenciar las colonias de *Salmonella*, los medios de cultivo contienen sustancias inhibitoras tales como: antibióticos, sales biliares, desoxicolato, verde brillante, bismuto de sulfito, los medios más empleados son: agar Entérico Hektoen (EH), agar Xilosa, Lisina, Desoxicolato (XLD) y agar Bismuto sulfito (BS). En estos medios, las colonias típicas de *Salmonella* se aprecian de la siguiente manera:

En Agar enterico Hektoen (HE): Colonias azules o verde azuladas con o sin centro negro. Muchos cultivos de *Salmonella* spp pueden producir colonias con un centro negro grande brillante o colonias casi completamente negras (46,47).

6.7.4. Pruebas bioquímicas diferenciales

En esta etapa se diferencian las bacterias por su actividad metabólica. La identificación o confirmación de las colonias presuntivas de *Salmonella*, se lleva a cabo en dos medios diferenciales usados simultáneamente como el agar triple azúcar hierro (TSI) y el agar Lisina hierro (LIA), también se realizan pruebas bioquímicas complementarias como urea, fermentación del dulcitol, crecimiento en caldo KCN, utilización del malonato de sodio y producción del indol (45)(48).

Figura 2. Pruebas Bioquímicas de *Salmonella spp.*

Especie	Salmonella enterica						Salmonella bongori
	enterica (I)	salamae (II)	arizonae (IIIa)	diarizonae (IIIb)	houtenae (IV)	indica (VI)	
Dulcitol	+	+	-	-	-	D	+
ONPG (2hrs)	-	-	+	+	-	D	+
Malonato	-	+	+	+	-	-	-
Gelatina	-	+	+	+	+	+	-
Sorbitol	+	+	+	+	-/+	-	+
KCN	-	-	-	-	+	-	+
D-tartrato	+	-	-	-	-	-	-
B-glucoronidasa	D	D	-	+	-	D	-
Mucato	+	+	+	-0,7	-	+	+
Salicina	-	-	-	-	+	-	-
Lactosa	-	-	-0,75	0,75	-	D	-

D, diferentes reacciones por serovars distintos. +,90% o más cepas positivas. -,90% o menos cepas negativas.

Fuente: Instituto nacional de enfermedades infecciosas deoartamento bacteriología, Manual de Procedimientos Salmonella Parte I Aislamiento, identificación y serotificación, 2003.

6.7.5. Pruebas Bioquímicas para detección de Enterobacterias Microgen GN ID

Las instrucciones del kit (Microgen GN ID) de pruebas bioquímicas que se puede ocupar en la detección de enterobacterias son (49):

- Emulsificar una única colonia obtenida de un cultivo de 18-24 horas en 3 ml de solución salina estéril para la tira Microgen ID GN A, Homogenizando hasta la dilución de la muestra.
- Quitar la lámina adhesiva que sella los pocillos cuidadosamente, sin retirar por completo ya que posteriormente se volverá a necesitar para su incubación.
- Usando una pipeta estéril, añadir 3-4 gotas (aproximadamente 100µL) de la suspensión bacteriana a cada pocillo de la tira.
- Después de la inoculación, revestir los pocillos 1,2 y 3 con 3-4 gotas de aceite mineral. Estos pocillos están marcados con un círculo negro alrededor para facilitar su identificación.
- Sellar la parte superior de la tira con la cinta adhesiva que se había retirado antes e incubar a 35-37°C. Asegurándose que los agujeros de la cinta adhesiva están sobre los pocillos 7, 11 y 12 en la tira GN A.
- Las tiras de Microgen GN A se leerán después de 18-24 horas de incubación para las *Enterobacteriaceae*.

6.7.5.1. Lectura y Adición de reactivos - Tira GN A

- a) Quitar la cinta adhesiva y anotar todas las reacciones positivas con la ayuda de la carta de color (Tabla 2) (Fig. 3). Anotar los resultados en la hoja de resultados proporcionada,
- b) Añadir los reactivos apropiados a los siguientes micropocillos:
 - a. Añadir 2 gotas de reactivo Kovac's al pocillo 8. Leer y anotar los resultados después de 60 segundos. Formación de color rojo indica un resultado positivo.
 - b. Añadir 1 gota del reactivo VP 1 y 1 gota del reactivo VP II al pocillo 10 y leer y anotar los resultados tras 15-30 minutos. La formación de un color rosa / rojo indica un resultado positivo.
 - c. Añadir 1 gota del reactivo TDA al pocillo 12 y leer después de 60 segundos. La formación de un color rojo cereza indica un resultado positivo.
- c) En la hoja de resultados de Microgen GN-ID A+B, los substratos se han organizado en triples (sets de 3 reacciones) y se ha asignado un valor numérico a cada substrato (1,2 o 4). La suma de las reacciones positivas para cada triplete da lugar a un único dígito, el perfil numérico, que se utilizará para determinar la identidad del organismo aislado. El perfil numérico se introduce en el Software Microgen Identification Systema (MID-60), que genera un informe de los cinco microorganismos más parecidos en una base de datos selectiva.
- d) El software proporciona una identificación basada en probabilidad, en % de probabilidad y en el parecido con un análisis de la calidad de la diferenciación. La definición completa de estos términos y la explicación de su utilidad e interpretación la encontrará en el manual de ayuda proporcionado con el software.

Tabla 1. Pruebas Bioquímicas de Microgen ID A

Prueba	Reacción/Enzimas	Negativo	Positivo
LYS	Lisina	Amarillo	Verde/Azul
ORN	Ornitina	Amarillo/Verde	Azul
H ₂ S	Producción de H ₂ S	Amarillo	Café/Negro
GLU	Fermentación/oxidación de Glucosa	Azul/Verde	Amarillo
MAN	Fermentación/oxidación de Manitol	Azul	Amarillo
XYL	Xilosa	Azul/Verde	Amarillo
ONPG	O-nitrofenil-D-galactopiranosido (ONPG)	Traslúcido	Amarillo
IND	Indol	Amarillo	Rosado/Rojo
UR	Ureasa	Amarillo/Rosado	Rosado
V.P	Producción de acetoína (Voges-Proskauer)	Traslúcido/ Rosado	Rojo
CIT	Citrato	Amarillo/Verde	Azul
TDA	Triptófano desaminasa	Amarillo	Café oscuro

Fuente: Microgen ID

Figura 3. Tabla de colores según la reacción a los reactivos – Microgen GN A ID

Colour chart/Farbtafel/Tableau 'de couleurs

Microgen™ GN A ID

WELLNAPFCHEN /GODET	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	7
Reaction	Lysine	Ornithine	H ₂ S	Glucose	Manitol	Xylose	ONPG	Indole	Urease	V.P.	Citrate	T.D.A.	Nitrate
1. Negative													
2. Positive													

Fuente: Microgen Bioproducts Ltd, Unit 1, Watchmoor Ponit, Camberley, Surrey GU15 3AD, UK

6.8. Resistencia a Antibióticos

Los aislamientos de *Salmonella spp.*, en los estudios incluidos mostraron, con frecuencia, resistencia a antibióticos que son usados como primera opción en el tratamiento de salmonelosis en humanos, como cloranfenicol, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfametoxazol y ceftriaxona. De acuerdo con los resultados, los aislamientos de *Salmonella spp.* presentaron resistencia a cefotaxima con menor frecuencia que a otros antibióticos de uso frecuente en la salmonelosis, por lo que este antibiótico podría resultar la mejor opción terapéutica para iniciar un tratamiento empírico (50). Sin embargo, estos resultados deben ser confirmados en un mayor número de estudios.

Hay dos categorías principales de resistencia a los antimicrobianos adquirida en la *Salmonella*: 1) la captación de nuevo material genético o 2) las mutaciones en el cromosoma bacteriano. La resistencia a los antimicrobianos, como el cloranfenicol, la ampicilina y trimetoprima-sulfametoxazol, surgió primeramente y se propagaron por la captación de nuevo material genético transferible (51). Por otro lado, la resistencia a las fluoroquinolonas surge generalmente como resultado de las mutaciones en el genoma bacteriano. Las fluoroquinolonas se consideran ampliamente como el antimicrobiano de elección para el tratamiento de la salmonelosis en los adultos, cuando tal tratamiento está indicado. Son más rápidamente y confiablemente eficaces que los medicamentos más viejos, como el cloranfenicol, ampicilina, y trimetropim-sulfametoxazol. La tercera generación de cefalosporinas se utiliza ampliamente para tratar a los niños con graves infecciones de *Salmonella* (29).

La aparición de *Salmonella* multiresistente, incluidas las cepas resistentes a las fluoroquinolonas y las cefalosporinas de tercera generación, es una evolución seria, que plantea limitaciones graves en las posibilidades del tratamiento eficaz de las infecciones humanas. Las cepas multiresistentes de *Salmonella* ahora se encuentran con frecuencia. La ocurrencia de multiresistencia ha aumentado considerablemente en años recientes debido a la propagación mundial de la cepa multiresistente de *Salmonella Typhimurium* DT104. Cuando las fluoroquinolonas se utilizaron por primera vez en terapia humana, sólo se observaron efectos muy pequeños en la ocurrencia de resistencia en las infecciones de *Salmonella* transmitida por alimentos. En los países donde las fluoroquinolonas posteriormente se autorizaron para uso en los animales destinados al

consumo, aumentó rápidamente la ocurrencia de *Salmonella* resistente a la fluoroquinolona en los animales y los alimentos y luego posteriormente en las infecciones humanas (18).

En la actualidad existen reporte en humanos de *S. typhi* y *S. paratyphi* resistentes a antibióticos como: Cloranfenicol, β -lactámicos, TMP-SMX, Azitromicina y un crecimiento emergente de resistencia a Fluoroquinolona (29). Entre 2001 y 2003 se analizaron 786 aislamientos obtenidos de materia fecal o sangre en diversos centros médicos de América del Norte y América Latina mediante microdilución en caldo de cultivo, de estas 89 (11,3 %) de las muestras eran resistentes a Ácido Nalidixico (52). Durante el año 2001, nueve localidades aportaron 11 (2,9 %) de las cepas que tenían resistencia a los antibióticos aztreonam, ceftazidima o ceftriaxona. La presencia de cepas multiresistentes varía entre países, pudiendo establecerse en un rango de 16-37 % (50)(29).

7. VALIDACIÓN DE PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS:

H0: No existe la presencia de *Salmonella spp.* en los huevos de gallina comercializados en los mercados del cantón de Latacunga.

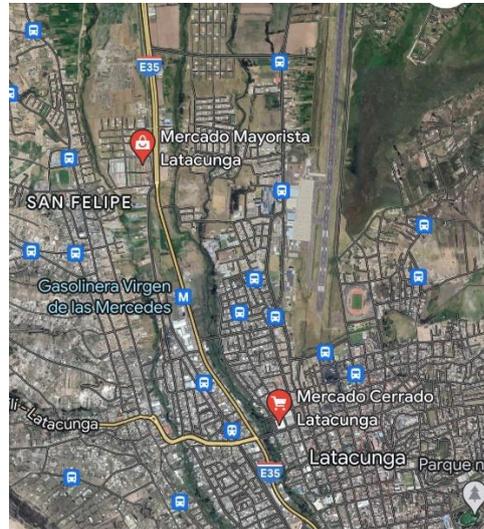
H1: Existe la presencia de *Salmonella spp.* en los huevos de gallina comercializados en los mercados del cantón de Latacunga.

Se valida la hipótesis nula donde se evidencio que no existe la presencia de *Salmonella spp.* en los huevos de gallina comercializados en los mercados del cantón de Latacunga, mediante las pruebas bioquímicas (Microgen GN ID A).

8. METODOLOGÍA Y DISEÑO EXPERIMENTAL

8.1. Lugar de la investigación

Figura 4. Mercados en el cantón de Latacunga



Fuente: Google maps.

El estudio se desarrolló en los mercados principales del cantón de Latacunga (Mercado Cerrado de Latacunga y Mercado Mayorista de Latacunga).

Zona geográfica: Longitud: $078^{\circ}36'55.94''$, latitud: $SO^{\circ}56'6.76''$.

8.2. Metodología

8.2.1. Tipo de investigación

Investigación observacional - experimental: Se empleó una variedad de procedimientos científicos que permitan obtener y aportar nuevos datos científicos, experimentales con el fin de visualizar, examinar y dar respuestas a las incógnitas generadas mediante la hipótesis.

8.2.2. Método de investigación

Método inductivo: a través de una serie de pasos desde el inicio de la investigación es posible observar una variedad de sucesos, que deberán ser registrados, estudiados y posteriormente clasificados para lograr abordar una explicación teórica de todos los sucesos.

8.2.3. Población y muestra

En el presente estudio se seleccionó al azar 90 huevos de entre las cubetas que se comercializan en el mercado cerrado de Latacunga y Mercado Mayorista de la ciudad de

Latacunga, formando una totalidad de 30 muestras, las cuales 15 muestras pertenecer a cada mercado que se recolectará.

Tabla 2. Mercados seleccionados para el estudio

N°	Nombre	Parroquia
1	Mercado Cerrado de Latacunga	San Felipe
2	Mercado Mayorista de Latacunga	La Matriz

Elaborado por: Guido Valencia Meneses.

Tabla 3. Identificación y número de huevos por cada muestra.

Cabinas	N° Huevos	ID	N° huevos x Muestra	Nombre de Mercado
Puesto 1	6	MCL-T-01	3	Mercado Cerrado de Latacunga
		MCL-T-02	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 2	6	MCL-T-03	3	Mercado Cerrado de Latacunga
		MCL-T-04	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 3	6	MCL-T-05	3	Mercado Cerrado de Latacunga
		MCL-T-06	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 4	6	MCL-T-07	3	Mercado Cerrado de Latacunga
		MCL-T-08	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 5	6	MCL-T-09	3	Mercado Cerrado de Latacunga
		MCL-T-10	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 6	6	MCL-T-11	3	Mercado Cerrado de Latacunga
		MCL-T-12	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 7	6	MCL-T-13	3	Mercado Cerrado de Latacunga
		MCL-T-14	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 8	3	MCL-T-15	3	Mercado Cerrado de Latacunga
Puesto 1	6	MML-T-16	3	Mercado Mayorista de Latacunga
		MML-T-17	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Puesto 2	6	MML-T-18	3	Mercado Mayorista de Latacunga
		MML-T-19	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Puesto 3	6	MML-T-20	3	Mercado Mayorista de Latacunga
		MML-T-21	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Puesto 4	6	MML-T-22	3	Mercado Mayorista de Latacunga
		MML-T-23	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Puesto 5	6	MML-T-24	3	Mercado Mayorista de Latacunga
		MML-T-25	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Puesto 6	6	MML-T-26	3	Mercado Mayorista de Latacunga
		MML-T-27	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Puesto 7	6	MML-T-28	3	Mercado Mayorista de Latacunga
		MML-T-29	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Puesto 8	3	MML-T-30	3	Mercado Mayorista de Latacunga
Total	90	Total	90	

Elaborado por: Guido Valencia Meneses

8.3. Diseño Experimental

8.3.1. Manejo de la investigación

Una vez que se seleccionó los respectivos mercados establecidos de los diferentes comerciantes de huevos de cada mercado, para dar inicio al proceso de colecta, en el mes de julio del año 2022. Simultáneamente, las muestras fueron depositadas en un contenedor térmicamente (cooler), y ser transportadas al laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

8.3.1.1. Procesamiento microbiológico de las muestras.

- a) Se procedió la desinfección de todas las muestras con alcohol al 70%, para depositarlas aleatoriamente 3 huevos en la funda Ziploc adecuadamente rotuladas.
- b) La cual las bolsas fueron previamente esterilizadas por exposición a luz ultravioleta, en cámara de flujo laminar, por 15 minutos.
- c) Se trituró 3 huevos dentro de cada funda Ziploc de forma manual hasta tener una muestra homogénea
- d) Se pesó 11,11 g de la muestra en un recipiente estéril junto al mechero
- e) **Etapa de Pre-Enriquecimiento:** Se colocó los 11,11 gramos de la muestra en 100 ml de caldo de lactosa y se incubaron a 40°C durante un periodo de 24 horas.
- f) **Etapa de Enriquecimiento selectivo**
Se transfirió 1ml de la muestra pre-enriquecida a un tubo estéril, colocando 9ml de suplemento de enriquecimiento selectivo (Caldo Tetrionato). Y se incubó a 40°C por 24 horas.
- g) **Etapa de Aislamiento en medios selectivos**
Una vez que finalizó la etapa de enriquecimiento selectivo en caldo Tetrionato; se sembró por estriación en el medio Agar Bismuto Sulfito, incubando a 37°C durante un periodo de 24 horas.
- h) **Pruebas Bioquímicas**
 - Una vez cumplidas las 24 horas de incubación de la tercera etapa de aislamiento en medios selectivos, se procedió a inspeccionar cada una de las muestras, donde se observó diferentes colonias de bacterias y se separó las muestras que no colonizaron de bacterias. Posteriormente se disolvió una única colonia obtenida de cada cultivo sospechoso en 3 ml de solución salina estéril, conjuntamente se homogenizó hasta la dilución de la colonia en la solución.

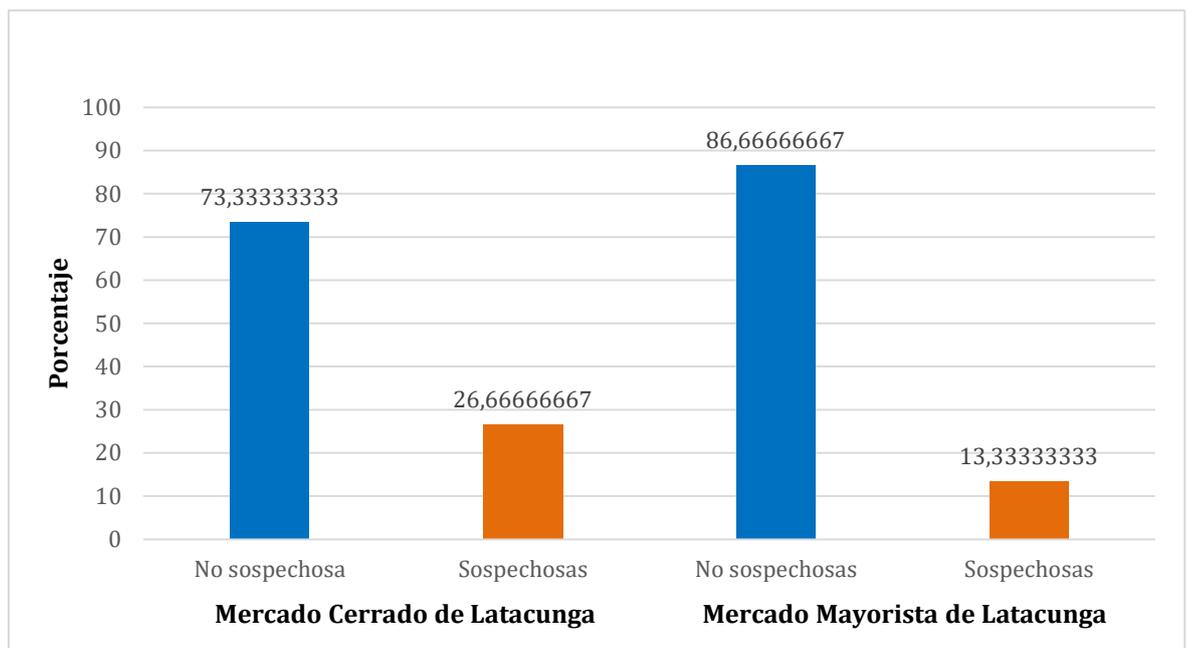
- Se procedió, con ayuda de una pipeta estéril, a añadir 100µL de la dilución bacteriana en cada uno de los pocillos del kit de Microgen ID GN A. Después de la inoculación, se revistió los pocillos 1,2 y 3 con 3 gotas de aceite mineral e inmediatamente se selló cada kit con su lámina adhesiva, se incubó a 37°C durante 24 horas y posteriormente se realizó la lectura respectiva.
- Finalizada la incubación, se retiró la cinta adhesiva del kit, y se añadió 2 gotas de reactivo índole kovac's al pocillo 8, para su consecuente lectura, una vez cumplidos 60 segundos. En el segundo reactivo, se agregó 1 gota de cada reactivo VP I y VP II al pocillo 10, donde para su lectura respectiva tuvo que transcurrir 30 minutos. Para finalizar se agregó 1 gota del reactivo TDA al pocillo 12 donde su lectura fue a los 60 segundos. En base a la tabla de colores del kit aplicado, se identificó en cada pocillo las tonalidades respectivas que identificaban resultados positivos o negativos, estas reacciones se transcribieron en la hoja de resultados de Microgen GN-ID A+B; para la obtención del resultado final se sumaron las reacciones positivas en cada substrato, del conjunto de sets de 3 reacciones, así se arrojó un único dígito por conjunto, con lo cual se obtuvo el código para la identificación de microorganismos, este se introdujo en el Software Microgen Identification Systema (MID-60) de tal manera se generó una identificación de cinco microorganismos basados en porcentaje de probabilidad.

9. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

9.1. Resultados de los análisis microbiológicos:

Se analizó microbiológicamente 30 muestras de huevos, de las cuales 15 fueron del mercado cerrado de Latacunga y las sobrantes del mercado mayorista de Latacunga. Cada muestra constó de tres huevos, con un total de 90 huevos analizados. De las cuales, se encontraron crecimiento de colonias sospechosas con características a *Salmonella* en 6/30 del total de la investigación, resultando ser 4 colonias sospechosas (26,66%) recolectadas en el mercado cerrado de Latacunga (Fig. 5) y 2 colonias sospechosas (13,33%) recolectadas en el mercado mayorista de Latacunga (Fig. 5). Estas colonias sospechosas fueron sometidas a las pruebas bioquímicas confirmatorias para Enterobacterias.

Figura 5. Porcentaje a las muestras sospechosa en cada mercado de Latacunga



Elaborado por: Guido Valencia Meneses.

9.2. Resultados de la prueba bioquímica para detección de enterobacterias (Microgen ID-A)

Se analizó las colonias sospechosas en los kits de Microgen ID A para la detección de diferentes especies de enterobacterias. Las cuales los 12 diferentes substratos reaccionaron de diferente tonalidad dependiendo a cada género dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, dando un resultado positivo o negativo que se aprecia en la Tabla N°4, reflejando así un código específico que se procesó en el software de Microgen GN ID-A.

Tabla 4. Resultados de las pruebas bioquímicas preliminares de la investigación

ID	LYS	ORN	H2S	GLU	MAN	XYL	ONPG	IND	UR	VP	CIT	TDA	Código
MCL-T6	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	3627
MCL-T7	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	3421
MCL-T11	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	6762
MCL-T12	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
MML-T16	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	6146
MML-T22	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	4760

Elaborado por: Guido Valencia Meneses.

Las colonias sospechosas que fueron procesadas, ninguna perteneció al género *Salmonella spp.*, evidenciando así otros tipos de microorganismos perteneciendo a la familia de *Enterobacteriaceae*, que se puntualizan en la Tabla N°5.

Tabla 5. Resultado de las pruebas Bioquímicas para detección de enterobacterias.

ID	Mercado	Código	Género/especie	% Probabilidad según Microgen ID A
MCL-T6	Mercado Cerrado de Latacunga	3627	<i>Proteus mirabilis</i>	86,29
MCL_T7	Mercado Cerrado de Latacunga	3421	<i>Morganella morganii</i>	75,55
MCL-T11	Mercado Cerrado de Latacunga	6762	<i>E. coli</i>	84,29
MCL-T12	Mercado Cerrado de Latacunga	6760	<i>E. coli</i>	97,11
MML-T16	Mercado Mayorista Latacunga	6146	<i>Enterobacter. aerogenes</i>	25,87
MML-T22	Mercado Mayorista Latacunga	4760	<i>E. coli</i>	59,88

Elaborado por: Guido Valencia Meneses.

En la presente investigación no se logró aislar *Salmonella spp.*, en huevos de gallina comercializados en los mercados del cantón de Latacunga a pesar de seguir con las respectivas indicaciones por parte de AOAC, en la detección de *Salmonella spp.*, según la revisión de la literatura existen diferentes estudios análogos, realizados en Ecuador que se asemeja el resultado obtenido en la investigación. Como es el estudio realizado en Loja por Casierra, en el cual se encontraron 11 muestras sospechosas (15,25%), las cuales al ser sometidas al proceso de confirmación bioquímica resultaron negativas a través del sistema 3M petrifilm salmonella express (53). De la misma manera por parte de Cozano, L. que obtuvo un resultado 100% negativo a *Salmonella spp* en huevos de gallinas de traspatio coincidiendo con el resultado obtenido de la presenta investigación, (54). Sin embargo, en un estudio en la ciudad de Quito en huevos frescos de gallina por parte de Estrada J. y B.

Valencia, no demostraron la presencia de *Salmonella spp.*, pero evidenciaron otras enterobacterias como: *Enterobacter cloacae*, *Pantoea spp.*, *Proteus mirabilis*, *Aeromona spp.*, *Pseudomona spp.*, *Providencia rettgeri*, *Aeromona spp.* y *Burkholderia cepacia* (38). De modo que el presente estudio se asemeja al último mencionado donde si bien no se detectó el género *Salmonella spp.*, se identificó diferentes microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* como son los géneros *Proteus mirabilis* y *Enterobacter*.

A juicio de valor tomando en cuenta la identificación negativa de *Salmonella spp.* en este estudio y conforme la revisión de otras investigaciones similares, se pone a consideración la interpretación de los resultados negativos ya que no quieren decir que el cantón de Latacunga se encuentra libre de *Salmonella spp.*, en huevos de gallinas; se debe tomar en cuenta que, la salmonelosis afecta en una gran magnitud causando millones de casos en todo el mundo cada año, llegando a una tasa de muertes altas según la OMS/OPS (16). De este modo, en estudios similares se identificó la presencia de *salmonella spp.*, en el cantón Cuenca de la provincia del Azuay, que presentó una prevalencia del 9,72% de *Salmonella spp.*, en huevos de gallina tipo criollo (5). Por parte de Arias A. Mientras que en la provincia de Tungurahua por Sánchez, obtuvo una prevalencia de 0.0133%, la cual pueden deberse a una posible contaminación cruzada por medios de transporte o almacenamiento por parte de las avícolas (25). A pesar de que no es una prevalencia muy alta esta bacteria puede difundirse por huevos u ovoproductos. Donde, la presencia de salmonelosis es una de las enfermedades transmitidas por los alimentos más comunes. El brote de esta enfermedad se asocia a menudo con los huevos, pero es una bacteria de difícil cultivo y compite con otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* provenientes del medioambiente, heces fecales y la manipulación (38). Ya que pueden estar contaminados en el medio externo de la cáscara e internamente, resultando alguna penetración a través de la cáscara del huevo por la contaminación externa o afectando frente a la membrana vitelina antes de que pueda ocurrir la migración a la yema (39). Por contaminación directa del contenido del huevo antes de la oviposición, por infección de órganos reproductivos, por lo que llegan a contaminarse por diferentes vías de transmisión.

El estudio evidenció el desarrollo de otros microorganismos en medios de cultivo selectivo para *Salmonella*, como es *Eschericia coli*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* y *Morganella morgani*. Presentando una preocupación, de estos géneros de microorganismos al ser parte de las principales causas de Enfermedades Transmitidas por alimentos (ETA), la cual según la OMS los patógenos más comunes que se asocian son *Salmonella spp.*, y *E.*

coli. Originando la aparición brusca de fiebre, dolor abdominal, diarrea, náuseas y a veces vómitos (8). Por lo tanto, se considera un problema de salud pública mundial, teniendo en cuenta que afecta a un gran número de países y se encuentra relacionada con el consumo de alimentos de diversos orígenes (9).

10. IMPACTOS (SOCIALES, AMBIENTALES O ECONÓMICOS)

10.1. IMPACTO SOCIAL

El consumo de huevos por parte de la población mundial es ambiguo por su alto porcentaje de proteína y su valor asequible a comparación de otras fuentes de proteína animal. Si estos productos se encuentran infectados con diferentes microorganismos esto podría desencadenar en Enfermedades Transmitidas por los alimentos (ETA) de aquella población que consuman dichos productos. Por ello se ha realizado el presente estudio, para salvaguardar a los consumidores de huevos de gallinas, haciendo un aporte de datos a entidades de salud pública.

10.2. IMPACTO AMBIENTAL

Al existir una contaminación del género de *Salmonella spp.*, en los huevos de gallinas pueden ocasionar una proliferación ya que la comercialización de estos productos es mantenida a temperatura ambiente, ocasionando a la contaminación ambiental en diversos productos y un crecimiento de diversos microorganismos.

10.3. IMPACTO ECONÓMICO

La salmonelosis afecta en gran magnitud a la población influenciada directamente por el consumo de huevos de gallinas, generando cuadros gastrointestinales agudos o crónicos, de tal grado para acudir a consultas médicas hasta llegar a hospitalización ocasionando un costo económico al estar infectado por esta bacteria.

11. CONCLUSIONES

- De acuerdo a las pruebas bioquímicas (Microoogen GN ID-A), no se identificó la presencia de *Salmonella spp.*, en los 90 huevos de gallina comercializados de los 2 mercados de la ciudad de Latacunga, que fueron procesados en un total de 30 muestras, mediante la norma ISO 6579:2002 según AOAC.
- Se evidenciaron otros microorganismos pertenecientes a la familia de *Enterobacteriaceae*, como: *Proteus mirabilis*, *Morganella morganii*, *Enterobacter aerogenes*, y *Escherichia coli* causantes de enfermedades sistémicas entre ellas *E. coli*.
- En base a los respectivos resultados de la investigación no se determinó la susceptibilidad antibiótica de *Salmonella spp.* mediante la difusión de discos de sensibilidad antibiótica constando de 10 diferentes antibióticos.

12. RECOMENDACIONES

- Trabajar conjuntamente con Ministerios de Salud Pública (MSP) y Agrocalidad para mejorar un estudio epidemiológico en diferentes etapas explotaciones avícolas así determinando el origen de contaminación de los huevos comercializados en los diferentes expendios, la cual en estas diferentes etapas deben ser un rastro en toda la cadena productiva, con temas de bioseguridad, manejo de animales, almacenamiento y transporte hasta finalizar en el consumidor.
- Ampliar la cantidad del número de muestras y número de expendios en toda la ciudad de Latacunga para tener un mejor valor epidemiológico.
- Evidenciar por parte de las autoridades un plan de vigilancia en control de enfermedades zoonóticas y transmisibles por parte de los alimentos directa a los consumidores principalmente en granjas de la provincia de Cotopaxi.

13. BIBLIOGRAFÍA

1. OIE. Manual Terrestre de la OIE para Salmonelosis. Organ Mund Sanid Anim [Internet]. 2018;Capítulo 3:20. Available from: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Health_standards/tahm/3.09.08_SALMONELLOSIS.pdf
2. Food E, Authority S. The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. EFSA J. 2021;19(2).
3. Donado-godoy P, Byrne BA, León M, Castellanos R, Vanegas C, Coral A, et al. Prevalence, resistance patterns, and risk factors for antimicrobial resistance in bacteria from retail chicken meat in Colombia. J Food Prot. 2015;78(4):751–9.
4. Casart Y, Martínez AND, , Mercy Falconí AK, Proaño-Perez F, . e IS, 1. Salmonella Prevalence in Poultry Farms of Ecuador and. Univ Del Zulia Rev Científica. 2018;XXVIII(3).
5. Maria CRA. Determinación de la prevalencia de Salmonella spp. En huevos de gallina tipo criollo comercializados en mercados municipales. 2018;1–26.
6. OIE. Salmonella enterica (all serovars). Tech Dis Card [Internet]. 2020; Available from: http://www.oie.int/wahis_2/public/wahidwild.php/Index.
7. Rincón Acero DP, Ramírez Rueda RY, Vargas Medina JC. Transmisión de Salmonella enterica a través de huevos de gallina y su importancia en salud pública. Rev la Univ Ind Santander Salud. 2011;43(2).
8. Organización Mundial de la Salud. Salmonella (no tifoidea). Oms. 2017;
9. Tauxe R V., Doyle MP, Kuchenmüller T, Schlundt J, Stein CE. Evolving public health approaches to the global challenge of foodborne infections. Int J Food Microbiol [Internet]. 2010;139(SUPPL. 1):S16–28. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.014>
10. Oman CM. Introduction. J Vestib Res Equilib Orientat. 2012;22(2–3):55.
11. (MSP) M de SP. Gaceta Epidemiológica Semanal No. 52 del 24 al 30 de diciembre. 2018;19.

12. (CONAVE) CN de A del E. Estadísticas de consumo avícola en Ecuador. 2019; Available from: <https://www.conave.org/informacion-sector-avicola-publico/>
13. Quesada A, Reginatto GA, Español AR, Colantonio LD, Burrone MS. Antimicrobial resistance of Salmonella spp isolated animal food for human consumption. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2016;33(1):32–44.
14. Quino Sifuentes W, Hurtado CV, Escalante-Maldonado O, Flores-León D, Mestanza O, Vences-Rosales F, et al. Multidrug resistance of Salmonella infantis in Peru: A study through next generation sequencing. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2019;36(1):37–45.
15. Miller EA, Elnekave E, Flores-Figueroa C, Johnson A, Kearney A, Munoz-Aguayo J, et al. Emergence of a Novel Salmonella enterica Serotype Reading Clonal Group Is Linked to Its Expansion in Commercial Turkey Production, Resulting in Unanticipated Human Illness in North America. *mSphere*. 2020;5(2):1–19.
16. Organización Mundial de Salud (OMS). La OMS publica la lista de bacteria para las que se necesita urgente nuevos antibióticos. 2017; Available from: <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
17. Rodríguez R, Fandiño C, Donado P, Guzmán L, Verjan N. Characterization of salmonella from commercial egg-laying hen farms in a central region of Colombia. *Avian Dis*. 2015;59(1):57–63.
18. Villagómez Estrada S, Logacho Pilataxi M VBC. Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de Salmonella enterica aisladas en una empresa avícola integrada del Ecuador. *REMCB [Internet]*. 2017;38(Núm 1):11–4. Available from: <http://remcb-puce.edu.ec/remcb/article/view/17>
19. Márquez RJA. La Sanidad animal al servicio de la Salud Pública: El Paradigma de Salmonella. *An (de la Real Acad Ciencias Vet Andalucía Orient [Internet]*. 2013;26(1):35. Available from: www.insacan.org/racvao.ahtml
20. Soria MA, Soria MA. Presencia de Salmonella y características físicas de huevos destinados a consumo humano. 2012; Available from: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8080/tesis/handle/11185/348>

21. Barreto M, Castillo-Ruiz M, Retamal Merino P. Salmonella enterica: a review or the trilogy agent, host and environment and its importance in Chile. *Salmonella enterica: Una revisión de la trilogía agente, hospedero y ambiente, y su trascendencia en Chile.* 2016;547–57.
22. Frieden TR, Harold Jaffe DW, Cardo DM, Moolenaar RL, Leahy MA, Martinroe JC, et al. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks — United States, 2009–2010. *Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2013 Jan 1 [cited 2022 Sep 10];62(3):41. Available from: </pmc/articles/PMC4604871/>
23. Parra M, Durango J, Máttar S, De Tema R. MICROBIOLOGÍA, PATOGÉNESIS, EPIDEMIOLOGÍA, CLÍNICA Y DIAGNÓSTICO DE LAS INFECCIONES PRODUCIDAS POR Salmonella. 2002 [cited 2022 Sep 10];7(2):187–200. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/693/69370201.pdf>
24. Batistas DC. Salmonella en huevos de gallina y factores de riesgo asociados. *SELL J.* 2020;5(1):55.
25. Sánchez M. Determinación de la prevalencia de enterobacterias del género Salmonella spp. en huevos frescos de gallina de empresas avícolas de la provincia del Tungurahua. Tesis Univ Cent del Ecuador, Fac Med Vet y Zootec [Internet]. 2013;59. Available from: http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1157/1/T-UCE-0014-36.pdf?fbclid=IwAR1cKLPCY2GKSmjJSakvZfxA3ZwdPINwSTiH84_5A8Mvk8pR6JsQqdkofmQ%0Ahttp://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1157
26. de Freitas Neto OC, Penha Filho RAC, Barrow P, Berchieri J. Sources of human non-typhoid salmonellosis: A review. *Rev Bras Cienc Avic.* 2010;12(1):1–11.
27. Herrera BY, Jabib RL. Salmonelosis, zoonosis de las aves y una patogenia muy particular. *Rev electrónica Vet* [Internet]. 2015 [cited 2022 Aug 10];Volumen 16(Nº 10):1–20. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63638739002.pdf>
28. Herrera BY, Jabib RL. Salmonelosis, zoonosis de las aves y una patogenia muy particular. *Rev Electron Vet.* 2015;16(1):39–50.
29. Mora Ramsés Alfaro. Aspectos relevantes sobre Salmonella sp en humanos | Alfaro-Mora | Revista Cubana de Medicina General Integral. *Rev Cuba Med Gen Integr* [Internet]. 2018 Jan [cited 2022 Aug 10];3(8). Available from: <http://www.revmgi.sld.cu/index.php/mgi/article/view/957/208>

30. Behnsen, J., Perez-Lopez, A., Nuccio, S. P., & Raffatellu M. Exploiting host immunity: the Salmonella paradigm. *Trends Immunol* [Internet]. 2015;36((2)):112–20. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.it.2014.12.003>
31. CRESA. Salmonelosis. 2018;6. Available from: <http://www.cresa.es/granja/salmonelosis.pdf>
32. Frías Salcedo MCJA. Bacteriemia por salmonela no tifoídica en pacientes inmunocomprometidos. *Enfermedades Infecc y Microbiol*. 2009;29(4):145–9.
33. ANMAT. Salmonelosis Enfermedades transmitidas por alimentos. Renapra [Internet]. 2017;9:11. Available from: <http://www.anmat.gov.ar/Alimentos/salmonelosis.pdf>
34. Guo X, Ni P, Li L. Association between asthma and the polymorphism of HLA-DQ genes. Vol. 24, *Zhonghua jie he he hu xi za zhi = Zhonghua jiehe he huxi zazhi = Chinese journal of tuberculosis and respiratory diseases*. 2001. 139–141 p.
35. Anderson L, Miller D, Trampel D. Tifosis aviar y Pullorosis. *Cent food Secur public Heal*. 2009;1–5.
36. Biarnés Suñé M del M, Borrel J, Domínguez F, Faus C, Girón J. Salmonelosis, Campylobacteriosis y Pasteurelisis. *Hig y Patol aviar* [Internet]. 2006;45–61. Available from: http://www.adiveter.com/ftp_public/Salmonelosis, Campylobacteriosis y Pasteurelisis..pdf
37. Flores Castro R. Epizootiología de la salmonelosis en bovinos, porcinos y aves. *Cienc Vet* [Internet]. 1981;148–77. Available from: <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol3/CVv3c05.pdf>
38. Estrada JP, Valencia BA. DETERMINACIÓN DE Salmonella spp. EN HUEVOS FRESCOS DE GALLINA EN LOS PRINCIPALES MERCADOS DE LA CIUDAD DE QUITO. 2012;88. Available from: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/599/1/T-UCE-0014-20.pdf>
39. Gantois I, Ducatelle R, Pasmans F, Haesebrouck F, Gast R, Humphrey TJ, et al. Mechanisms of egg contamination by Salmonella Enteritidis. *FEMS Microbiol Rev* [Internet]. 2009 Jul 1 [cited 2022 Aug 9];33(4):718–38. Available from: <https://academic.oup.com/femsre/article/33/4/718/583518>
40. Frías Salcedo J. Bacteriemia por salmonela no tifoídica en pacientes

- inmunocomprometidos. *Enfermedades Infecc Microbiol* [Internet]. 2009 Jun [cited 2022 Aug 10];29(3):145–9. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/micro/ei-2009/ei094f.pdf>
41. Sahún Font R. Salmonelosis [Internet]. 2022 [cited 2022 Sep 8]. Available from: <https://www.sabervivirtv.com/enfermedades/salmonelosis>
 42. Álvarez Martínez M, Buesa Gómez J, Castillo J, Jordi G, Estape V. *Procedimientos en Microbiología Clínica Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* Editores: Emilia Cercenado y Rafael Cantón
Coordinador: Jordi Vila Estape Autores.
 43. Larry M. Bush, Charles E. Shmidt. *Infecciones por Salmonella - Infecciones - Manual MSD versión para público general* [Internet]. *Manual MSD*. 2022 [cited 2022 Aug 10]. Available from: [https://www.msmanuals.com/es-ec/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-salmonella](https://www.msmanuals.com/es-es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-salmonella)
 44. Im MC, Jeong SJ, Kwon YK, Jeong OM, Kang MS, Lee YJ. Prevalence and characteristics of *Salmonella* spp. isolated from commercial layer farms in Korea. *Poult Sci*. 2015 Jul 1;94(7):1691–8.
 45. Gonzalez Jose, Pereira Nicole, Soto Zamira, Hernández Enio, Villarreal José. Aislamiento microbiológico de *Salmonella* spp. y herramientas moleculares para su detección. *Salud Uninorte* [Internet]. 2014 [cited 2022 Aug 10];30(1):73–94. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/sun/v30n1/v30n1a09.pdf>
 46. Stecchini M. Detection of *Salmonella* in fresh cheese, poultry products, and dried egg products by the ISO 6579 *Salmonella* culture procedure and the AOAC official method: collaborative study | M. Stecchini - Academia.edu [Internet]. *Journal of AOAC International*. 2018 [cited 2022 Aug 10]. Available from: https://www.academia.edu/48579257/Detection_of_Salmonella_in_fresh_cheese_poultry_products_and_dried_egg_products_by_the_ISO_6579_Salmonella_culture_procedure_and_the_AOAC_official_method_collaborative_study
 47. Robledo López A. Investigación de *Salmonella* spp en alimentos mediante el método tradicional ISO 6579 y dos métodos inmunoenzimáticos [Internet]. [Barcelona]: Universidad Politécnica de Catalunya; 2015 [cited 2022 Aug 10]. Available from:

- <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/26111/memoria.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
48. Piñeros Jose, Rodríguez Manuel. Identificación de Salmonella Gallinarum y Salmonella Pullorum en pollo de engorde de la línea Ross 308 [Internet]. [Bogotá]: Universidad de La Salle; 2010 [cited 2022 Aug 10]. Available from: <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1144&context=zootecnia>
 49. Pazmiño Cortez M. Microgen TM GN-ID Identificación Instrucciones de Uso MID-64 A Panel MID-65 B Panel [Internet]. 2012 [cited 2022 Aug 26]. p. 1–21. Available from: <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/12143/MICROGEN-GN-ID-MID64-641-65.%5B2%5D.pdf?sequence=2&isAllowed=y>
 50. Quesada A, Reginatto GA, Español AR, Colantonio LD, Burrone MS. Resistencia antimicrobiana de Salmonella spp aislada de alimentos de origen animal para consumo humano. Rev Peru Med Exp Salud Publica [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2022 Aug 10];33(1):32–44. Available from: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342016000100005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
 51. Red Internacional de Autoridades de Inocuidad de los Alimentos (INFOSAN). Resistencia Antimicrobiana a Salmonella [Internet]. 2005 [cited 2022 Sep 8]. p. 1–4. Available from: https://www.adiveter.com/ftp_public/articulo1919.pdf
 52. SCIELO. Informe sobre la resistencia de Salmonella spp. en las Américas. Rev Panam Salud Pública. 2006 Feb;19(2):126–7.
 53. Casierra A. DETECCIÓN DE Salmonella spp. EN LA SUPERFICIE DE HUEVOS PROVENIENTES DE GALLINAS DE TRASPATIO, COMERCIALIZADOS EN LAS PRINCIPALES FERIAS LIBRES DE LA CIUDAD DE LOJA, A TRAVÉS DEL SISTEMA 3M PETRIFILM [Internet]. [Loja - Ecuador]: Universidad Nacional de Loja; 2015 [cited 2022 Aug 9]. Available from: <https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/11661/1/TESIS FINAL.pdf>
 54. Cozano L. EVALUACIÓN SANITARIA (FÍSICO, QUÍMICO, BACTERIOLÓGICO) DEL HUEVO DE GALLINA DE TRASPATIO, EN EXPENDIOS DEL MERCADO DE LA TERMINAL, ZONA 4 DE LA CIUDAD DE GUATEMALA. [Internet]. [Guatemala]: Universidad de San Carlos De Guatemala; 2003 [cited 2022 Aug 9].

Available from: <https://docplayer.es/21440850-Universidad-de-san-carlos-de-guatemala-facultad-de-medicina-veterinaria-y-zootecnia-escuela-de-medicina-veterinaria.html>

14. ANEXOS

Anexo 1: Hoja de vida estudiante

Datos informativos personal del estudiante

APELLIDOS: Valencia Meneses

NOMBRES: Guido Daniel

ESTADO CIVIL: Soltero

CÉDULA DE CIUDADANÍA: 1751502830

LUGAR Y FECHA DE NACIMINETO: Quito

DIRECCIÓN DOMICILIARIA: Alóg (Barrio Norte)

TELÉFONO CONVENCIONAL: 02-2389525

TELÉFONO CELULAR: 0989089815

NACIONALIDAD: Ecuatoriana

TIPO DE SANGRE: O+

CORREO ELECTRÓNICO: guido.valencia2830@utc.edu.ec



ESTUDIOS REALIZADOS	
Primaria:	Escuela Fiscal Mixta “Vicente Miranda”
Secundaria:	Colegio “Juan Pio Montúfar”

Anexos 2: Hoja de vida del tutor de titulación**TUTORA DE TITULACIÓN****Datos informativos personal docente****APELLIDOS:** Herrera Yunga**NOMBRES:** Vanessa del Rosario**ESTADO CIVIL:** Divorciada**CÉDULA DE CIUDADANÍA:** 1103758999**LUGAR Y FECHA DE NACIMINETO:** Machala**DIRECCIÓN DOMICILIARIA:** Eloy Alfaro (San Felipe)**TELÉFONO CONVENCIONAL:** 072614592**TELÉFONO CELULAR:** 0991358446**CORREO ELECTRÓNICO:** vanessa.herrera8999@utc.edu.ec**ESTUDIOS REALIZADOS Y TÍTULOS OBTENIDOS**

TÍTULO	NOMBRE	ÁREA	SUBÁREA	PAIS	SENESCYT
Maestría o Equivalente	Máster Universitario en microbiología aplicada	Ciencias de la vida	Microbiología	España	7237R-13-11148
Maestría o Equivalente	Médica Veterinaria Zootecnista	Agricultura, silvicultura, pesca y veterinaria	Veterinaria	Ecuador	1008-10-1019290

Anexo 3: Etapa de pre-enriquecimiento

Peso de Agar para realización de la dilución



Autoclavar la dilución de Agar Lactosa



Proceso de las muestras



Trituración de muestras



Muestras en proceso de incubación



Anexo 4: Etapa de Enriquecimiento

Traspaso de las muestras incubadas



Extracción de 1 ml de la muestra de pre-enriquecimiento



Implantación de 1ml de la muestra



Muestras en proceso de incubación de la etapa enriquecimiento



Anexo 5: Etapa de Medio selectivo



Siembra en el Agar de las muestras procesadas

Anexo 6: Corrida de pruebas bioquímicas



Anexos 7:

MEDIOS DE VERIFICACIÓN**Tabla 1. Tabla de resultados en base al Agar Bismuto Sulfito**

ID	Nombre de Mercado	Colonias
MCL-T-01	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-02	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-03	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-04	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-05	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-06	Mercado Cerrado de Latacunga	Sospechosa
MCL-T-07	Mercado Cerrado de Latacunga	Sospechosa
MCL-T-08	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-09	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-10	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-11	Mercado Cerrado de Latacunga	Sospechosa
MCL-T-12	Mercado Cerrado de Latacunga	Sospechosa
MCL-T-13	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-14	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MCL-T-15	Mercado Cerrado de Latacunga	No sospechosa
MML-T-16	Mercado Mayorista de Latacunga	Sospechosa
MML-T-17	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-18	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-19	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-20	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-21	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-22	Mercado Mayorista de Latacunga	Sospechosa
MML-T-23	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-24	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-25	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-26	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-27	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-28	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-29	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa
MML-T-30	Mercado Mayorista de Latacunga	No sospechosa

Elaborado por: Guido Valencia Meneses

MVZ. Herrera Yunga Vanessa del Rosario, Mtr.

Docente Tutora

CC: 1103758999

Anexo 8:

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Tabla 1. Resultados de las pruebas bioquímicas preliminares de la investigación

ID	LYS	ORN	H2S	GLU	MAN	XYL	ONPG	IND	UR	VP	CIT	TDA	Código
MCL-T6	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	3627
MCL-T7	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	+	3421
MCL-T11	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	+	-	6762
MCL-T12	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	6760
MML-T16	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	6146
MML-T22	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	4760

Elaborado por: Guido Valencia Meneses

Tabla 2. Resultado de las pruebas Bioquímicas para detección de enterobacterias.

ID	Mercado	Código	Género/especie	% Probabilidad según Microgen ID A
MCL-T6	Mercado Cerrado de Latacunga	3627	<i>Proteus mirabilis</i>	86,29
MCL_T7	Mercado Cerrado de Latacunga	3421	<i>Morganella morganii</i>	75,55
MCL-T11	Mercado Cerrado de Latacunga	6762	<i>E. coli</i>	84,29
MCL-T12	Mercado Cerrado de Latacunga	6760	<i>E. coli</i>	97,11
MML-T16	Mercado Mayorista Latacunga	6146	<i>Enterobacter. aerogenes</i>	25,87
MML-T22	Mercado Mayorista Latacunga	4760	<i>E. coli</i>	59,88

Elaborado por: Guido Valencia Meneses

MVZ. Herrera Yunga Vanessa del Rosario, Mtr.

Docente Tutora

CC: 1103758999



CENTRO
DE IDIOMAS

Anexo 9: Aval del Traductor

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal CERTIFICO que:

La traducción del resumen del proyecto de investigación al idioma Inglés cuyo título versa: **“DETERMINACIÓN DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA DE Salmonella spp. A PARTIR DE HUEVOS DE GALLINAS QUE SE COMERCIALIZAN EN LOS MERCADOS DEL CANTÓN LATACUNGA”**, presentado por **Valencia Meneses Guido Daniel**, estudiante de la carrera de **Medicina Veterinaria**, perteneciente a la **Facultad Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimare conveniente.

Latacunga, 06 de septiembre del 2022.

Atentamente,

.....
Lic. Edison Marcelo Pacheco Pruna Mg.
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 050261735-0